



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES
ESCUELA DE CIENCIAS FORESTALES

DEPARTAMENTO DE SILVICULTURA

**RESPUESTAS ECOFISIOLÓGICAS DESARROLLADAS POR *Peumus*
boldus MOL. FRENTE A CONDICIONES DE RESTRICCIÓN
HÍDRICA**

Memoria para optar al Título
Profesional de Ingeniero Forestal

DAVID ALFREDO ILABACA SOTO

Profesores Guías: Ing. Forestal, Dra. Karen Peña Rojas.
Ing. Forestal, Dr. Sergio Donoso Calderón.

Santiago, Chile

2008

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES
ESCUELA DE CIENCIAS FORESTALES
DEPARTAMENTO DE SILVICULTURA

**RESPUESTAS ECOFISIOLÓGICAS DESARROLLADAS POR *Peumus*
boldus MOL. FRENTE A CONDICIONES DE RESTRICCIÓN
HÍDRICA**

Memoria para optar al Título
Profesional de Ingeniero Forestal

DAVID ALFREDO ILABACA SOTO

Calificaciones:	Nota	Firma
Prof. Guía Sra. Karen Peña Rojas	7.0	
Prof. Guía Sr. Sergio Donoso Calderón	7.0	
Prof. Consejero Sra María Teresa Serra Vilalta	7.0	
Prof. Consejero Sr. Juan Caldentey Pont	6.5	

“En su calidad de hombre tenía un bello pensamiento, o experimentaba una sensación noble y delicada, o ejecutaba una de las llamadas buenas acciones, entonces el lobo que llevaba dentro enseñaba los dientes, se reía y le mostraba con sangriento sarcasmo cuan ridícula le resultaba toda esta distinguida farsa a un lobo de estepa, a un lobo que en su corazón tenía perfecta conciencia de lo que le sentaba bien, que era trotar solitario por las estepas, beber a ratos sangre o cazar una loba....”

Hermann Hesse “El lobo estepario”

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar debo agradecer el infinito apoyo de mi madre, que ha estado siempre junto a mí, entregándome una palabra de aliento. Del mismo modo valoro el singular apoyo de mi padre, a su manera. Agradezco a mi hermana y su familia por su constante preocupación y buenas energías enviadas desde el sur.

De manera muy especial dedico este trabajo a mi abuela y mi tía que siempre me han acompañado, pero que el destino no permitió que estén presentes corporalmente al final de este camino.

También agradezco a Macarena, por todo el amor y apoyo entregado al finalizar esta etapa universitaria y su confianza para enfrentar nuestros nuevos desafíos.

Además debo agradecer a mis profesores guías Karen y Sergio, ya que en ellos encontré mucho más de lo relacionado al trabajo de la memoria, encontré a dos grandes maestros dispuestos a compartir su inmensa sabiduría de una manera muy particular.

Finalmente agradezco el apoyo de mis amigos y compañeros (Edgardo, Gonzalo, Carlota, Marife, Diego, Carola, Alex, Andrés, Jaime, Ana, Yenny, Ivo, Aldo, Marcelo, y otros...) que hicieron inolvidable mi etapa universitaria.

RESUMEN

Peumus boldus (Boldo), es una especie arbórea endémica de Chile, que comúnmente se desarrolla en un clima mediterráneo, en este, debe enfrentar períodos estivales desfavorables, principalmente por la elevada radiación, altas temperaturas y la restricción hídrica de la estación. En estas condiciones ambientales *P. boldus* desarrolla respuestas ecofisiológicas, para superar la época adversa.

Se evaluaron algunas respuestas ecofisiológicas de *P. boldus*, bajo condiciones de restricción hídrica. Para esto se estableció un ensayo de restricción hídrica controlada con 60 plantas, de 3 años de edad. Las plantas se pusieron en macetas de 9 litros y bajo condiciones naturales de verano, en la Región Metropolitana. Se seleccionaron 40 plantas que fueron sometidas a riego restringido (TR), llegando hasta un 20% de la capacidad hídrica de la maceta (CHM) y 20 se mantuvieron por sobre el 85% de CHM (TC). En TR y TC se determinó: el potencial hídrico al alba (Ψ_a), contenido hídrico relativo al alba (CHR_a) y parámetros derivados de las curvas presión/volumen (P/V) como: potencial de presión a 100% turgor (Ψ_{Pt}), potencial osmótico a 100% turgor (π_{100}), potencial osmótico a cero turgor (π_0), contenido hídrico relativo a cero turgor (CHR_0) y módulo de elasticidad (ϵ). Se midió mensualmente el incremento en longitud del ápice (L) y el incremento del diámetro a la altura del cuello (DAC). Además, se evaluó la biomasa total, por componente y la relación parte aérea/parte subterránea (Pa/Ps), al inicio y término del período de restricción hídrica.

Cuando el CHM alcanzo un 55%, el Ψ_a de TR fue significativamente más negativo que en TC y sólo cuando el CHM fue menor al 20% a un CHR_a del 59% el ϵ fue menor en TR, mientras que el π_{100} y π_0 no mostraron diferencias entre los tratamientos. No se vio afectado L en TR, no así el DAC que fue significativamente menor a TC. Finalizado el ensayo los valores de biomasa subterránea y total, sólo aumentaron significativamente en TC. Sin embargo la relación Pa/Ps disminuyó en ambos tratamientos, siendo menor el valor de TC. La distribución de biomasa indica que *P. boldus* da prioridad al crecimiento radicular por sobre la parte aérea, independiente del estado hídrico en que se encuentre. Además los resultados muestran que, *P. boldus* realizaría ajuste elástico, para superar la condición de restricción hídrica impuesta.

Palabras claves: *Peumus boldus*, restricción hídrica, potencial hídrico, biomasa.

SUMMARY

Peumus Boldus (Boldo) is an endemic tree of Chile which commonly grow in a Mediterranean climate. This specie usually has to tolerate adverse summer periods, due to the elevated radiation, high temperatures and lack of rain. These environmental conditions produce in *P.boldus* different ecophysiological response for surpass the adverse periods.

Different ecophysiological responses were evaluated from *P.boldus* under restrictive water conditions. To achieve this aim, a restrictive controlled essay was established using 60 plants of three year old. These plants were put into plant pots of nine liters and exposed to summer conditions in the metropolitan region. From the 60 plants, 40 were selected to be watered restricted (water restriction plants=Wr), reaching till 20% of the water plant pot capacity (WPC). The other 20 plants were continuously well watered (well watered plants=Ww) and maintained over 85% of the WPC. In Wr and Ww, the following items were measured: predawn water potential (Ψ_a) and its relative water content (RWC_{Pd}), and the parameters derived from pressure/volume curves as pressure potential at full turgor (Ψ_{Ft}) osmotic potential at full turgor (π_{100}) and loss point (π_0), relative water content at turgor loss point (CHR_0) and elasticity modulus (ϵ). In addition, it was monthly measured the shoot increment (L) of the main axis and the diameter at the height of collar (DHC). Finally, was evaluated the total biomass, by component and the shoot/root ratio at the beginning and at the end of water restrictive period.

When the WPC reached 55%, the Ψ_a of the Wr was significantly more negative than in Ww, and only when the WPC was under 20% to a RWC_{Pd} of 59%, the ϵ was minor in Wr; meanwhile, the π_{100} and π_0 did not show any difference between the treatments. The Wr height increment was not affected; on the other hand, the DHC was significantly minor in Wr. At the end of the water restrictive period, the root and the total biomass values only showed a significantly increment in Ww. However, the shoot/root ratio decrease in both treatments, being minor in Ww than in Wr. The biomass distribution show that *P.boldus* gives priority to the biomass root growing up than to the aerial part of it, independently of the water state. Furthermore, the results indicate that *P.boldus* would do an elastic fitting for tolerate the restrictive water condition imposed.

Key words: *Peumus boldus*, water restriction, water potential, biomass

ÍNDICE

1 INTRODUCCIÓN.....	1
2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1 ANTECEDENTES DE LA ESPECIE	2
2.1.1 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA Y HÁBITAT.....	2
2.1.2 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE LA ESPECIE.....	2
2.2 EFECTOS DE LA RESTRICCIÓN HÍDRICA EN LAS PLANTAS.	3
2.3 RESPUESTAS AL DÉFICIT HÍDRICO	4
2.4 RELACIONES HÍDRICAS EN LAS PLANTAS.....	6
2.5 EVALUACIÓN DEL ESTADO HÍDRICO DE LAS PLANTAS	6
3 MATERIAL Y MÉTODO	8
3.1 PREPARACIÓN DEL ENSAYO	8
3.2 MÉTODO	8
3.2.3 DISEÑO DEL ENSAYO	8
3.2.4 EVALUACIÓN DE PARÁMETROS HÍDRICOS.....	9
3.2.5 EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO	10
3.2.6 EVALUACIÓN DE LA BIOMASA.....	10
3.2.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	10
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	12
4.1 CONTENIDO HÍDRICO DE LA MACETA EN EL TIEMPO	12
4.2 PARÁMETROS HÍDRICOS AL ALBA.....	13
4.3 PARÁMETROS DERIVADOS DE LAS CURVAS PRESIÓN VOLUMEN.....	16
4.4 CRECIMIENTO EN ALTURA Y DIÁMETRO A LA ALTURA DEL CUELLO	19
4.4.1 CRECIMIENTO EN ALTURA	19
4.4.2 CRECIMIENTO EN DIÁMETRO A LA ALTURA DEL CUELLO.....	20
4.5 CRECIMIENTO Y DISTRIBUCIÓN DE BIOMASA.....	22
4.5.1 DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE LA BIOMASA.....	25
5 CONCLUSIONES.....	26
6 BIBLIOGRAFÍA.....	27

1 INTRODUCCIÓN

Las plantas que se desarrollan en ambientes mediterráneos, normalmente deben enfrentar largos períodos de restricción hídrica, durante la época de verano. El déficit hídrico, en los tejidos foliares, provoca un estrés hídrico, este afecta diversos procesos fisiológicos que tienen consecuencias en el crecimiento y supervivencia de la planta (Villagrosa *et al.*, 2003).

El conocimiento de los mecanismos de resistencia, a los diversos tipos de estrés, permite comprender los procesos evolutivos implicados en la adaptación de las plantas a un ambiente adverso, como el mediterráneo y predecir hasta cierto punto la respuesta del vegetal al incremento de la restricción medioambiental. Además, pueden ser aplicados para mejorar las características morfofisiológicas de las plantas, tanto en su fase de cultivo, como en la selección de variedades, que se ajusten a unos requerimientos ambientales determinados o simplemente en mejorar la productividad de una especie (Kozłowski *et al.*, 1991; Nilsen y Orcutt, 1996). Estos elementos son esenciales para establecer un adecuado manejo silvícola de las especies.

Con el fin de obtener información que pueda ser utilizada en el futuro manejo silvicultural del Boldo (*Peumus boldus* (Mol.)), se evaluaron las respuestas hídricas, de crecimiento y acumulación de biomasa en plantas de *P. boldus*, de tres años de edad, puestas en macetas, sometidas a condiciones de restricción hídrica controlada. Para cumplir con este objetivo:

- Se caracterizó y comparó la respuesta hídrica, a través del potencial hídrico y contenido hídrico relativo al alba, en plantas sometidas a diferentes contenidos hídricos de la maceta.
- Se determinaron las modificaciones de parámetros fisiológicos derivados de las curvas presión/volumen, en plantas sometidas a diferentes contenidos hídricos de la maceta.
- Se evaluó el efecto del déficit hídrico en el crecimiento y distribución de la biomasa de los individuos.

2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Antecedentes de la especie

2.1.1 Distribución geográfica y hábitat

El área de distribución de *Peumus boldus* (Boldo), árbol siempreverde endémico de Chile, tiene como límite norte la bahía de Tongoy (30° 20' S) y su límite sur a orillas del río las Damas en Osorno (41° 20' S), entre los 5 y 1.000 msnm. En la parte norte, de la zona central, se encuentra especialmente en la Cordillera de la Costa y desde San Fernando al sur se encuentra en la Precordillera Andina (Montenegro, 2000).

Corresponde a una especie rústica, con escasa exigencia de humedad, por lo que puede subsistir en áreas con pluviosidad anual de sólo 200 mm, además de valles y quebradas con presencia de neblina costera. Es poco resistente a las heladas y se adecua a períodos largos de sequía (Homann y Matte, 1967).

Gajardo (1994), identifica a Boldo asociado con *Trevoa trinervis* (Trevo), en sectores costeros erosionados, generando un matorral denso. Mientras que en las laderas orientales de la Cordillera de la Costa aparece junto a *Lithraea caustica* (Litre), en laderas intermedias y en exposiciones norte, esta última, formando parte del denominado Bosque Esclerófilo del Maule. Sin embargo, en exposición sur de áreas costeras se encuentra asociado con *Cryptocarya alba* (Peumo), *Beilschmiedia miersii* (Belloto del norte) y *Azara spp.* (Lilén), presentando los mayores porcentajes de cobertura en la región mediterránea de Chile, con las dos primeras especies (Pizarro, 1989).

2.1.2 Descripción botánica de la especie

Corresponde a un árbol o arbusto dioico, siempreverde, esclerófilo, de follaje denso, que puede alcanzar una altura de 20 metros y diámetros de hasta un metro, presenta una copa compuesta por abundantes ramas cilíndricas y ramillas con hojas dispuesta en forma opuesta (Rodríguez *et al.*, 1983). Sus hojas son simples y coriáceas, con la cara superior brillante áspera al tacto, envés pálido, pubescente y nervadura hundida en la lamina (Navas, 1976). Sus flores, de 5 a 10 mm de diámetro se caracterizan por crecer en forma de racimo, al respecto, las flores masculinas presentan numerosos estambres, lo que en las flores femeninas está representado por escamas nectaríferas (Rodríguez *et al.*,

1983). Su fruto es ovoide, de 6 a 8 mm de largo y se encuentra en grupos de 2 a 5, raramente solitarios (Navas, 1976).

2.2 Efectos de la restricción hídrica en las plantas.

Las especies vegetales que están expuestas a una restricción hídrica de forma natural o artificial, presentan un déficit hídrico en sus tejidos. Taiz y Zeiger (2002), definen el déficit hídrico como cualquier contenido hídrico de los tejidos o células que esta bajo el contenido hídrico exhibido en el estado de plena hidratación. Si este déficit hídrico es prolongado en el tiempo puede provocar un estrés hídrico en las plantas.

En las regiones con climas mediterráneos, es en la época de verano cuando las plantas están sometidas a restricciones hídricas acompañadas de temperaturas elevadas, con una mayor frecuencia de días claros y alta radiación solar (Lo Gullo y Salleo, 1988; Poole y Miller, 1978; Vita, 1993).

En arbustos siempreverdes los ciclos de estrés hídrico, a lo largo del año, estarían relacionados a sus hábitos de enraizamiento: las especies con raíz profunda, tienen potenciales hídricos del xilema menos negativos y más estables, en cambio las especies de sistemas radicales más superficiales, presentan valores más negativos y con niveles más variables de potencial hídrico (Giliberto y Estay, 1978). Cuando el agua se ha agotado en las proximidades del sistema radical y el potencial hídrico es muy negativo, las plantas, pueden aún recurrir al crecimiento de la raíz, como al aumento del área radical y de la profundidad de la zona de absorción. De esta manera, si se produce una sequía, puede ser que algunas partes de la raíz mueran y otras crezcan algunos metros y se ramifiquen densamente, siendo el agua absorbida preferentemente por las raíces en la región de los pelos radicales, con estructura primaria, ya que, el resto del órgano suele hallarse impermeabilizado por suberificación (Gil, 1995).

El estrés hídrico afecta prácticamente todos los aspectos del desarrollo de la planta, tiene efectos químicos e hidráulicos como; la reducción del potencial hídrico, disminución del potencial de turgencia, concentración de moléculas a medida que disminuye el volumen celular con la reducción de la turgencia, alteración de relaciones espaciales en el plasmalema, tonoplasto y membranas de orgánulo y cambios en la estructura o configuración de macromoléculas. Además, el estrés hídrico afecta a procesos fisiológicos

y metabólicos, su efecto más importante es la reducción del crecimiento, también modifican el desarrollo y la morfología del vegetal, puede existir una disminución en la relación parte aérea/parte radicular, y provocar la abscisión de hojas y frutos (Azcón-Bieto y Talón, 2000).

2.3 Respuestas al déficit hídrico

La escasa disponibilidad hídrica está considerada como el principal factor que afecta la actividad de las plantas, en ecosistemas mediterráneos (Di Castri *et al.*, 1981; Blondel y Aronson, 1999). Esta falta de agua o déficit hídrico sería un estrés que actuaría sobre las plantas, y todo estrés produce dos tipos de respuestas en los organismos: respuestas que tienden a evitar o prevenir el estrés y respuestas que permiten tolerar o resistir el estrés (Figura 1). En las plantas, las respuestas o mecanismos para afrontar esta situación han sido denominadas estrategias, y son características de cada especie (Larcher, 1995).

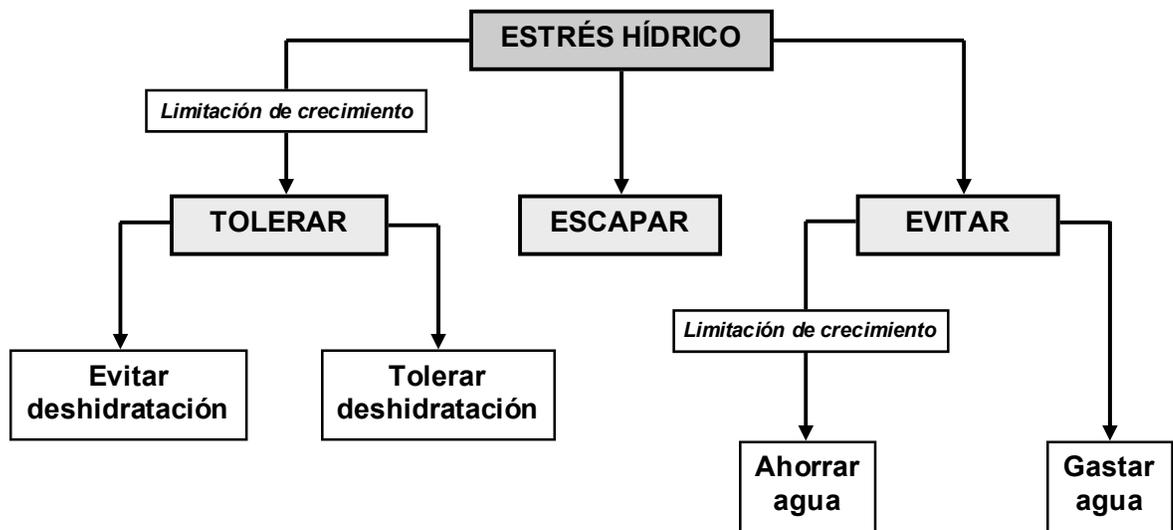


Figura 1: Esquema de las estrategias para superar el estrés hídrico en una planta (Modificado de Valladares, 2004)

Las especies que evitan el estrés hídrico serían especies homeohídricas (comportamiento hídrico estable) o bien reguladoras, ya que, regulando la transpiración evitarían tensiones excesivas en el xilema. En esta estrategia las plantas previenen o minimizan la penetración del estrés en sus tejidos, debido a que éstos son muy sensibles a la deshidratación. Las especies que siguen esta estrategia pueden maximizar la absorción de agua (gasto de agua), desarrollando sistemas radicales profundos, lo que permite mantener hidratados los tejidos en plena sequía siempre que el acceso al agua del suelo

y su distribución interna por el xilema no sea limitante o bien minimizan las pérdidas de agua (ahorro de agua). En este caso se pueden observar alguna de las siguientes respuestas; cierre de estomas rápido y sensible a ligeros descensos del contenido hídrico de los tejidos o al potencial hídrico, valores de conductancia estomática en general bajos, paredes celulares poco elásticas que inducen cambios rápidos de potencial hídrico en respuesta a pequeñas pérdidas de agua, hojas pequeñas y bajas tasas de transpiración. Estos mecanismos que evitan el estrés hídrico: uno por gasto de agua y otro por ahorro de agua, mantienen a las plantas dentro del estado de turgor adecuado, con potenciales hídricos relativamente altos. Cuando las condiciones de déficit hídrico se acentúan, los individuos gastadores de agua no pueden mantener las elevadas tasas de transpiración, estos se vuelven ahorradores de agua o bien el individuo muere. A diferencia de las anteriores las especies tolerantes serían las plantas que soportan que el estrés hídrico llegue a afectar sus tejidos (Levitt, 1980; Kozlowski *et al.*, 1991). Como lo indica Turner (1986), la resistencia al estrés hídrico se puede conseguir desarrollando tolerancia, a través de mecanismos capaces de mantener la turgencia de los tejidos a pesar de sufrir pérdidas importantes de agua, como lo es el ajuste osmótico o el aumento de la elasticidad de las paredes celulares, o simplemente incrementando la tolerancia de las células a desecarse, sin que sus membranas celulares pierdan su viabilidad. Siendo el ajuste osmótico, una activa acumulación de solutos dentro de las plantas, en respuesta a bajos potenciales hídricos del suelo bajo restricción hídrica. Mientras que, la elasticidad de las paredes celulares determina la razón de cambio de la presión de turgor, de una célula, respecto a los cambios en el contenido de agua (Cheung *et al.*, 1975).

Otro tipo de estrategia, no considerado por muchos autores como auténtica resistencia al déficit hídrico, es la estrategia elusiva o de escape del estrés, que es aquella donde las plantas completan su ciclo vital antes de la llegada del estrés hídrico, por lo tanto, el período desfavorable lo pasa en forma de semilla. No obstante, dentro de esta estrategia de escape cabe incluir especies que entran en una dormancia vegetativa parcial durante el período de sequía. Los mecanismos para evitar el estrés serían más exitosos que los tolerantes en climas áridos. Sin embargo, dado que una planta no es perfectamente impermeable a las pérdidas de agua, necesita mecanismos que le permitan tolerar un cierto déficit hídrico en sus tejidos. No obstante, y aunque las plantas deben desarrollar ambas estrategias, cada especie vegetal tiende a desarrollar principalmente una de las dos estrategias (Valladares, 2004).

2.4 Relaciones hídricas en las plantas

La absorción de agua, la transpiración y su transporte desde su principal reservorio, el suelo, hasta las hojas son procesos básicos en el balance hídrico de los vegetales (Gil, 1995).

La cantidad de agua presente en una planta es la medida más frecuente del estado hídrico, así el contenido de agua en un tejido se expresa en función del peso del agua a plena hidratación, denominándose contenido hídrico relativo (CHR) (Martínez, 1994). Además del CHR de la planta es necesario conocer el potencial hídrico (Ψ_H), el cual corresponde desde el punto de vista energético al trabajo que habría que suministrar a una unidad de masa de agua ligada al suelo, o a los tejidos de una planta, para llevarla de un estado de unión a un estado de referencia, correspondiente al de agua pura o libre. Entre los principales factores que determinan el Ψ_H , de una planta, están la tasa transpiratoria, la sumatoria de las resistencias hidráulicas en la planta y el contenido de humedad del suelo, siendo la transpiración la más importante de ellas (Selles y Ferreyra, 1999).

En un sistema particular, el potencial hídrico total es la suma algebraica de varios componentes: $\Psi_H = \Psi_p + \Psi_\pi + \Psi_m + \Psi_g$, siendo respectivamente, componentes debido a fuerzas de presión, osmótica, mátrica y gravitacional. El potencial hídrico en las células vegetales está determinado fundamentalmente, por el potencial osmótico y por el potencial de presión. El potencial osmótico es negativo y expresa el efecto de los solutos en la disolución celular, el potencial de presión es positivo y representa la presión ejercida por el protoplasto contra la pared celular (Azcón-Bieto y Talón, 2000).

2.5 Evaluación del estado hídrico de las plantas

El concepto de potencial hídrico tiene dos usos principales: primero, el potencial hídrico gobierna el transporte a través de las membranas celulares, segundo, el potencial hídrico es regularmente usado como medida del estado hídrico de la planta (Taiz y Zeiger, 2002). Asimismo según Schaffer y Whiley citado por (Núñez, 2003), indican que mediciones del Ψ_H , se pueden usar para interpretar el déficit hídrico en las plantas. La técnica más común para evaluar el estado hídrico de las plantas es midiendo el potencial hídrico utilizando una bomba de presión, como lo indica Scholander *et al.*, (1965). Realizando curvas de

presión/volumen (P/V) en esta bomba y mediante la técnica descrita por Tyree y Hammel (1972) y Turner (1988), se pueden obtener parámetros derivados de la curva P/V, utilizados para describir el estado hídrico en que se encuentra la planta y algunos mecanismos para evitar daños debido a la restricción hídrica. La estimación de los parámetros hídricos se realiza utilizando la transformación tipo II de Tyree y Richter (1981), la cual relaciona el inverso del potencial hídrico (Ψ_H), con el contenido hídrico relativo (CHR) (Ecuación 1).

$$\textbf{Ecuación 1: } (1/\Psi) = a \cdot \text{CHR} + b$$

Donde Ψ , es el potencial hídrico total, que se asume como la suma del potencial osmótico (π) y el potencial de presión (Ψ_p), a y b son los coeficientes de regresión.

Los parámetros derivados de las curvas P/V son:

- Potencial osmótico a plena turgencia (π_{100}): obtenido mediante el valor recíproco de la ecuación 1, para CHR=1.
- Potencial osmótico a cero turgencia (π_0): es considerado el π correspondiente para $\Psi_p=0$
- Contenido hídrico relativo a cero turgencia (CHR₀): es el CHR correspondiente para $\Psi_p=0$
- Módulo de elasticidad (ϵ): se considera como $\Delta\Psi_p / \Delta\text{CHR}$ de la ecuación 2:

$$\textbf{Ecuación 2: } \Psi_p = a \cdot \text{CHR} + b$$

Donde a y b son los coeficientes de regresión.

- Potencial de presión a plena turgencia (Ψ_{Pt}): es el Ψ_p correspondiente para $\Psi_p=100$.

3 MATERIAL Y MÉTODO

En dependencias del Vivero Antumapu, de la Facultad de Ciencias Forestales, de la Universidad de Chile, ubicado en la Región Metropolitana, se realizó un ensayo de restricción hídrica controlada con plantas de *P.boldus*, bajo condiciones ambientales naturales durante la época de verano del año 2006.

3.1 Preparación del ensayo

Para la preparación del ensayo, se seleccionaron 63 plantas de *P.boldus*, de 3 años de edad, provenientes de semilla, cultivadas en el Vivero Antumapu en bolsas de 20 x 30 cm. Se procuró que las plantas elegidas tuvieran características homogéneas en cuanto a tamaño, biomasa aérea y estado sanitario.

Un mes antes del inicio del ensayo de restricción hídrica, las plantas fueron transplantadas a macetas plásticas de nueve litros, con una mezcla de sustrato conformada por suelo del lugar (60%), perlita (20%) y arena (20%). Se complementó nutricionalmente el sustrato con fosfato triple y urea (1,20 y 0,32 g/l respectivamente). Los individuos fueron ubicados bajo condiciones ambientales naturales, en un sitio sin cubierta del vivero Antumapu. Durante un mes las plantas se hidrataron periódicamente, manteniéndolas a capacidad de campo¹, con el fin de que los individuos superaran el efecto del transplante antes de aplicar los tratamientos.

3.2 Método

3.2.3 Diseño del ensayo

Luego del período de adaptación, se seleccionaron al azar 40 individuos que fueron sometidos a restricción hídrica controlada (tratamiento de restricción hídrica = TR) y 20 que tuvieron aporte hídrico regular (tratamiento control = TC).

¹ Es el contenido de agua que queda fijada por un suelo, en condiciones naturales tras haber circulado por su porosidad (Gil, 1995)

El control de la pérdida hídrica del sustrato se llevó a cabo mediante la determinación del contenido hídrico de la maceta en porcentaje (CHM%), que fue calculado con la siguiente ecuación:

$$\text{Ecuación 3: } \text{CHM\%} = 100 * \frac{(Pfs - Pss)}{(Phs - Pss)}$$

En donde *Pfs* es el peso fresco del sustrato, medido a los distintos niveles de riego, *Phs* es el peso hidratado del sustrato, medido transcurridas 24 horas desde la saturación del sustrato y *Pss* es el peso seco del sustrato, obtenido después de secar el sustrato en una estufa de aire forzado a 105° C, hasta obtener su peso constante. Para el seguimiento del CHM%, al inicio del ensayo, se determinó el 100% de CHM regando a saturación las macetas y pasadas 24 horas se controló el peso de 10 individuos para TR y 5 para TC. Cada 2 días se midió el CHM% de los mismos individuos con una balanza.

Durante todo el ensayo los individuos de TC fueron mantenidos a un CHM superior al 85%, saturando el sustrato después de cada control de peso. En los individuos de TR se fue restringiendo el riego de forma controlada hasta llegar a valores de CHM próximos al 19%. Estos valores mínimos de CHM se mantuvieron por un tiempo para finalmente realizar una rehidratación de los individuos de TR.

3.2.4 Evaluación de parámetros hídricos

Para evaluar los parámetros hídricos de los individuos, al alba, se extrajo una ramilla de seis plantas por tratamiento, en cada oportunidad de medición. A estas se les midió el potencial hídrico al alba (Ψ_a), con una bomba de presión y el peso fresco (*Pf*), con una balanza de precisión. Posteriormente cada ramilla fue colocada en un frasco con agua destilada por 24 horas, en oscuridad y a 4°C, para obtener el peso hidratado (*Ph*). De las seis ramillas de cada tratamiento rehidratadas se seleccionaron, al azar, cuatro ramillas de TR y cuatro de TC, con estas se realizaron las curvas presión/volumen (*P/V*), con una bomba de presión, PSI System 1100, siguiendo los procedimientos descritos por Tyree y Hammel (1972) y Turner (1988). Los parámetros calculados fueron los siguientes: potencial osmótico a 100% turgor (π_{100}), potencial osmótico a cero turgor (π_0), módulo de elasticidad (ϵ), contenido hídrico relativo a cero turgor (CHR_0) y potencial de presión a 100% turgor (Ψ_{Pt}).

Finalmente las muestras fueron colocadas en una estufa de aire forzado a 65°C, hasta lograr su peso constante y así obtener el peso seco (P_s) de la ramilla, para calcular el contenido hídrico relativo en porcentaje (CHR%), mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Ecuación 4: } \text{CHR}\% = 100 * \frac{(P_f - P_s)}{(P_h - P_s)}$$

3.2.5 Evaluación del crecimiento

Al inicio del ensayo, en todas las plantas, se marcó el vástago principal con cinta adhesiva a una distancia arbitraria del ápice para registrar el incremento en altura (L) y en la parte inferior del mismo vástago se marcó con un rotulador el lugar de medición del diámetro a la altura del cuello (DAC). Para evaluar el efecto de la restricción hídrica, en el crecimiento, se midió en todas las plantas TR y TC, el incremento en altura con una huincha de longitud con precisión de 1 mm y el DAC con un pie de metro con precisión de 0,1 mm. Estas variables se evaluaron mensualmente, registrándose los incrementos acumulados desde el inicio del ensayo.

3.2.6 Evaluación de la biomasa

Para evaluar la biomasa de las plantas, al inicio del ensayo, se seleccionaron tres plantas representativas del total de individuos utilizados en el ensayo. En las plantas seleccionadas, la biomasa se separó por componente (hojas, tallo y ramas, y raíces), para ser llevada a una estufa de aire forzado a 65°C, hasta obtener su peso constante. Se utilizó una balanza de precisión (0,0001 g), para medir el peso seco de cada componente, con estos valores se obtuvo la biomasa total y por componentes de cada planta. Además, se determinó la relación parte aérea/parte subterránea (P_a/P_s). Terminado el período de restricción hídrica se seleccionaron tres plantas por tratamiento, para obtener la biomasa total y por componente, y la relación P_a/P_s , siguiendo el mismo procedimiento utilizado al inicio del ensayo.

3.2.7 Análisis estadístico

El análisis estadístico del ensayo se realizó mediante un análisis de varianza, en este se comparó: el potencial hídrico al alba, el contenido hídrico relativo al alba, los parámetros derivados de las curvas presión volumen, la biomasa total, la biomasa por componente,

la distribución porcentual de biomasa y relación Pa/Ps. Para el análisis de incremento en DAC, así como el incremento en altura (L) se realizó un análisis de covarianza. Cuando se encontraron diferencias significativas, se utilizó la prueba de comparaciones múltiples de medias de Duncan con un $\alpha=0.05$. Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el programa Statgraphics 5.1 para Windows y graficados con Sigmaplot 2000 versión 6.1 para Windows.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Contenido hídrico de la maceta en el tiempo

Las plantas TC se mantuvieron a un CHM superior al 85% durante todo el ensayo. En las plantas TR, desde el inicio del ensayo hasta el día 53, se disminuyó el riego gradualmente, bajando desde un CHM del 100% hasta valores próximos al 20%. Este último valor es sólo de referencia, ya que, el nivel mínimo de CHM% estuvo determinado por el potencial hídrico al alba (Ψ_a), el cual no debía descender de valores cercanos a -3,7 Mpa, con el fin de evitar pérdidas por mortalidad. Por lo anterior, durante 44 días TR se mantuvo en valores mínimos de CHM cercanos al 20%. Posteriormente, durante 57 días, se aumentó levemente el CHM% por sobre el mínimo, hasta que se rehidrataron las plantas completamente, 23 días antes de finalizar el ensayo para evaluar el grado de recuperación de los individuos, después de permanecer por un prolongado período bajo restricción hídrica (Figura 2).

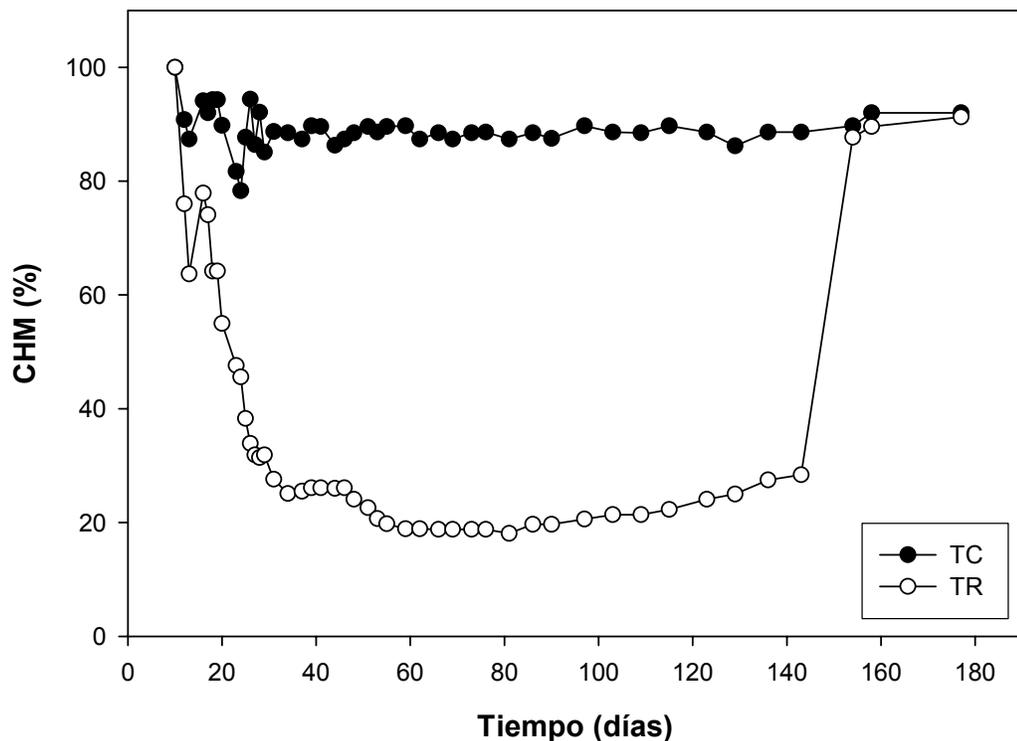


Figura 2: Contenido hídrico de las macetas (CHM%), promedio por día de medición para el tratamiento control (TC) y el tratamiento de restricción hídrica (TR), durante el desarrollo del ensayo.

4.2 Parámetros hídricos al alba

Durante el desarrollo del ensayo se ve que el potencial hídrico al alba (Ψ_a) está altamente relacionado con el contenido hídrico de la maceta (CHM%) ($r=0,88$; $p < 0,01$). En los individuos de TR los valores de Ψ_a muestran un cambio de la tendencia en valores de CHM cercanos al 30%, luego de este punto aumenta la tasa de descenso en el Ψ_a (Figura 3a). Luna (2006) y Aguirre (2008), establecieron una alta correlación entre el Ψ_a y el CHM% en plantas de *Quillaja saponaria* ($r=0,76$) y *Cryptocarya alba* ($r=0,86$) sometidas a restricción hídrica, esto indicaría que es apropiada la utilización del CHM% como variable de seguimiento del Ψ_a en especies esclerófilas del bosque mediterráneo.

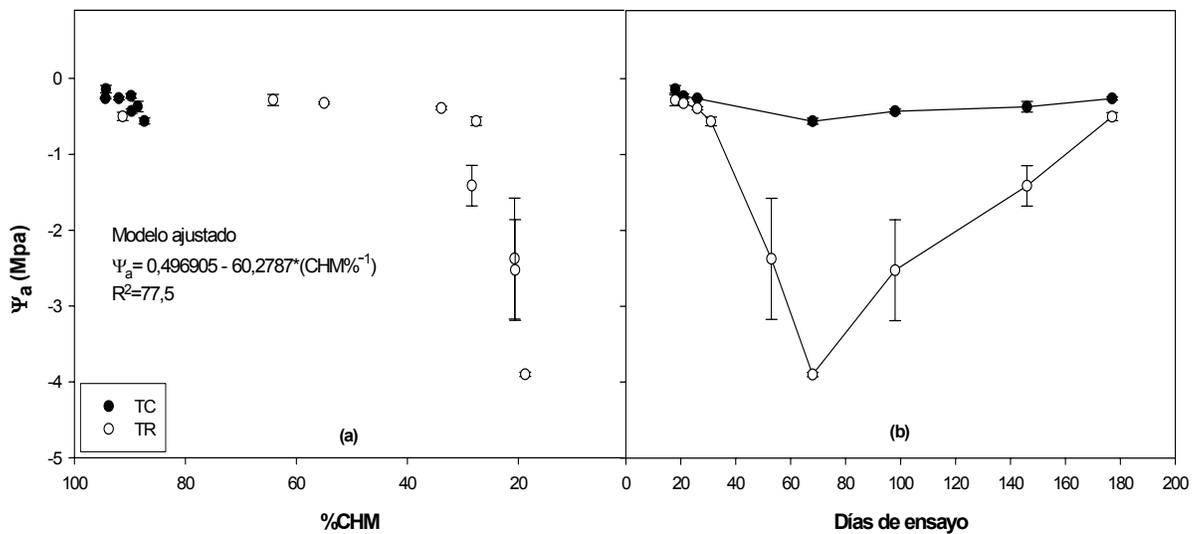


Figura 3: Evolución del potencial hídrico al alba (Ψ_a), versus el contenido hídrico de la maceta (%CHM) (a) y versus los días de ensayo (b) para el tratamiento control (TC) y el tratamiento de restricción hídrica (TR) durante el desarrollo del ensayo (medias \pm error estándar, $n=6$).

Galmes *et al.*, (2007), estudiaron curvas de Ψ_a v/s CHM% de varias especies mediterráneas, con distintos hábitos de crecimiento. De estas, *Pistacia lentiscus*, especie arbórea siempreverde presenta un comportamiento similar a *P.boldus*, puesto que exhibió una mayor tasa de descenso en Ψ_a cercana al 30% de CHM.

Luego de 53 días, desde el inicio del ensayo, cuando el CHM de los individuos de TR estuvo bajo el 20% con valores de Ψ_a próximos a -3,7 MPa (Figura 3b), se observa en las plantas notorios cambios morfológicos como: enroscamiento de las hojas, adoptando estas una disposición vertical a los rayos del sol, así como el marchitamiento y pérdida de flexibilidad en las hojas, lo que evidencia la falta de agua en sus tejidos. Sumado a lo

anterior, se registró la muerte de algunos individuos lo que hace suponer que este rango mínimo de Ψ_a puede ser letal para el tipo de planta utilizada en el ensayo. Algunos autores señalan que como consecuencia de la sequía, las especies vegetales desarrollan diversos mecanismos que le ayudan a aumentar su tolerancia a la sequía como por ejemplo: el desarrollo de un buen sistema radicular y/o claras modificaciones foliares, como las observadas en *P. boldus* (Larcher, 1995; Kozlowski y Pallardy, 2002).

Tabla 1: Valores de contenido hídrico de la maceta (CHM%), potencial hídrico al alba (Ψ_a), contenido hídrico relativo al alba (CHR_a) y día de medición desde el inicio del ensayo para el tratamiento control (TC) y el tratamiento de restricción hídrica (TR) durante el desarrollo del ensayo (medias \pm error estándar, n=6).

Día	Tratamiento	CHM (%)	Ψ_a (Mpa)	CHR _a (%)
18	TC	94,3	-0,14 \pm 0,05 Aa	90,70 \pm 2,35 Aa
	TR	64,2	-0,28 \pm 0,07 Aa	89,78 \pm 1,71 Aa
21	TC	89,8	-0,23 \pm 0,03 Aa	89,15 \pm 0,53 Aa
	TR	55,0	-0,32 \pm 0,01 Ba	83,71 \pm 6,00 Aa
26	TC	94,4	-0,26 \pm 0,01 Aab	91,84 \pm 1,20 Aa
	TR	33,9	-0,39 \pm 0,02 Bab	91,08 \pm 1,39 Aa
68	TC	87,4	-0,56 \pm 0,04 Ac	91,86 \pm 0,71 Aa
	TR	18,8	-3,90 \pm 0,03 Bc	58,68 \pm 3,79 Bb
177	TC	92,0	-0,26 \pm 0,02 Aab	89,07 \pm 0,60 Aa
	TR	91,3	-0,50 \pm 0,05 Bb	82,51 \pm 0,89 Ba

Las letras mayúsculas y minúsculas distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos y dentro del tratamiento respectivamente, para cada parámetro según %CHM durante el ensayo.

Como se desprende de la Tabla 1, los valores promedio de potencial hídrico al alba (Ψ_a) y contenido hídrico relativo al alba (CHR_a), para TC, son -0,32 Mpa y 90,2% respectivamente. En TC, durante todo el ensayo los valores de Ψ_a y CHR_a reflejan un adecuado estado hídrico de los individuos. Por otra parte, en TR se hace evidente el déficit hídrico puesto que el Ψ_a se hace más negativo a medida que disminuye el CHM%, registrándose el valor más bajo de Ψ_a con -3,90 Mpa a un CHR_a del 58,68%, cuando el CHM es de 18,8% (Tabla 1). Otros estudios, realizados en especies mediterráneas, muestran, que plantas bajo restricción hídrica presentan Ψ_a más negativos que aquellas regadas frecuentemente. Esto debido a que estas últimas tienen una mayor cantidad de agua disponible en el sustrato para ser absorbida y mejorar su estado hídrico durante la noche (Fort *et al.*, 1997; Martínez, *et al.*, 2004; Peña-Rojas *et al.*, 2004; Sun, *et al.*, 1995).

El período de restricción hídrica, al que fueron sometidas las plantas de TR, afecta los parámetros hídricos evaluados al alba, ya que el Ψ_a evidencia las primeras diferencias significativas con TC cuando el CHM llega al 55% (-0,32Mpa). Valor superior al encontrado por Aguirre (2008), en plantas de *C.alba* bajo restricción hídrica que mostraron diferencias significativas entre tratamientos cuando el CHM llegó al 45% (-2,7 Mpa) y por Luna (2006), en *Q.saponaria* bajo restricción hídrica que observó las primeras diferencias significativas de Ψ_a con valores de CHM de 35% (-3,30 Mpa). En comparación a *C.alba* y *Q.saponaria*, especies que también pertenecen al bosque esclerófilo, las plantas de *P.boldus* presentan diferencias significativas en Ψ_a a mayores CHM%, esto puede deberse a una menor regulación estomática y control de la transpiración. Lo anterior desfavorece el estado hídrico de los individuos donde la mayor transpiración frente a una restricción hídrica impide que la planta logre recuperar su estado hídrico durante las horas de oscuridad, debido a que la pérdida de agua por transpiración es mayor a la cantidad de agua que absorbe la planta desde el suelo, provocando un balance hídrico negativo. Otra causa podría ser que *C.alba* y *Q.saponaria* realizan ajuste osmótico, frente a una restricción hídrica, mecanismo de respuesta más rápido en comparación al ajuste elástico que necesita mayor tiempo para desarrollarse.

Los valores de Ψ_a determinados en TR no son excepcionales, porque se ha visto, en otras especies esclerófilas, de la zona central de Chile, Ψ_a más negativos. Especies con un sistema radicular superficial como *Colliguaya odorifera* y *C.alba* presentan valores de Ψ_a más negativos que especies con un sistema radicular profundo como *Q.saponaria* y *L.caustica* (Poole y Miller, 1978; Gilberto y Estay, 1978). No es muy clara la diferencia de Ψ_a en especies con igual o distinto hábito de crecimiento como hierbas, especies arbustivas o arboreas, semidecíduas o siempreverdes, pero estas diferencias pueden estar asociadas a: la capacidad de exploración a distintas profundidades de las raíces, a la diferencia en la tasa de transpiración, a la distinta área foliar entre las especies y/o a la capacidad de realizar un ajuste osmótico por las raíces que permita extraer el agua disponible en el sustrato (Galmes *et al.*, 2007).

Al término del ensayo (día 177), pasados 23 días de la rehidratación completa de las plantas TR, se ve un aumento del Ψ_a (-0,5 Mpa). Sin embargo, los valores registrados son significativamente más negativos a los mostrados por las plantas de TC. Esto indica que

el tiempo de rehidratación no fue suficiente para recuperarse después del prolongado tratamiento de restricción hídrica (154 días), al que fueron sometidas, durante el cual algunas estructuras de la planta a nivel celular y de órgano pueden haber sufrido graves daños, por lo tanto el tiempo de recuperación hídrica debería ser mayor para reparar las estructuras dañadas y alcanzar un adecuado funcionamiento, ya que el tiempo de respuesta y recuperación frente al estrés hídrico puede depender de factores inherentes a la planta como de factores externos. Sun *et al.*, (1995), observaron en plantas de *Nothofagus solandri* var. *Cliffortioides* y *Nothofagus menziessi* sometidas a 52 días de restricción hídrica, una recuperación del Ψ_a a valores similares de las plantas control después de 14 y 21 días de rehidratación respectivamente. Esto ratifica que cada especie presenta un tiempo de respuesta y de recuperación particular, que depende de múltiples factores.

El CHR_a en TC no tiene variaciones significativas durante el ensayo. Mientras que, en TR se observan fluctuaciones del CHR_a , aparentemente por las variaciones en el CHM%, siendo significativamente menor a TC en el momento de mayor restricción hídrica. Este comportamiento concuerda con lo observado por Gulias *et al.*, (2002), que observaron una disminución significativa del CHR_a en dos arbustos esclerófilos siempreverdes (*Rhamnus alaternus* y *Rhamnus ludovico-salvatoris*), cuando fueron sometidas a un déficit hídrico moderado y severo. Los autores señalan que una disminución en el CHR_a mayor al 10%, en forma paralela al cierre estomático, es una característica común de especies que toleran la deshidratación.

4.3 Parámetros derivados de las curvas presión volumen

Los parámetros hídricos, derivados de las curvas presión volumen, se analizaron en momentos representativos del estado hídrico de la planta, de manera cronológica, a medida que se fue desarrollando el ensayo. Por lo anterior, las evaluaciones se realizaron cuando el CHM en TR llegó a niveles de 64% (día 18); 33% (día 26); 18,8% (día 68) y 91% (día 177). Simultáneamente se evaluaron las plantas TC con un CHM próximo al 90% en todas las ocasiones (Tabla 2).

El contenido hídrico relativo a cero turgor (CHR_0) y el potencial osmótico a 100% de turgor (π_{100}), no evidencian diferencias significativas entre y dentro de los tratamientos durante el ensayo (Tabla 2). La mantención del π_{100} en plantas de TR, en niveles similares a los de

las plantas TC, indica que *P.boldus* no realiza ajuste osmótico frente a la restricción hídrica impuesta. Según Martínez (1994), un descenso en los niveles de π_{100} observado de una curva P/V es un importante indicador para detectar un ajuste osmótico. Herralde (2000), señala que la capacidad de realizar ajuste osmótico depende tanto de factores inherentes a la planta como de: factores ambientales, diferencias genéticas, tipo de tejido y edad, grado y velocidad de desarrollo del estrés y de la historia previa de la planta.

Tabla 2: Valores promedio de: contenido hídrico relativo a cero turgor (CHR_0), potencial de presión a pleno turgor (Ψ_{Pt}), potencial osmótico a pleno turgor (π_{100}), potencial osmótico a cero turgor (π_0) y módulo de elasticidad (ϵ), a distintos %CHM y día de medición desde el inicio del ensayo para cada tratamiento (Trat) (medias \pm error estándar, n=4).

Día	Trat	CHM (%)	CHR_0 (%)	Ψ_{Pt} (Mpa)	π_{100} (Mpa)	π_0 (Mpa)	ϵ
18	TC	94,3	75,5 \pm 2,9 Aa	1,6 \pm 0,2 Aa	-1,7 \pm 0,2 Aa	-2,3 \pm 0,2 Aa	9,3 \pm 2,2 Aa
	TR	64,0	78,3 \pm 4,7 Aa	1,7 \pm 0,0 Aa	-1,8 \pm 0,0 Aa	-2,4 \pm 0,0 Aa	10,6 \pm 1,7 Aab
26	TC	94,4	84,0 \pm 0,9 Aa	1,9 \pm 0,0 Aab	-2,0 \pm 0,1 Aa	-2,5 \pm 0,0 Aab	14,0 \pm 0,9 Aa
	TR	33,0	81,5 \pm 2,1 Aa	1,9 \pm 0,1 Aa	-1,9 \pm 0,1 Aa	-2,4 \pm 0,1 Aa	13,7 \pm 1,9 Aa
68	TC	87,4	82,8 \pm 1,7 Aa	1,9 \pm 0,1 Aab	-2,0 \pm 0,1 Aa	-2,7 \pm 0,0 Abc	13,6 \pm 1,1 Aa
	TR	18,8	77,0 \pm 3,2 Aa	1,5 \pm 0,1 Ba	-1,6 \pm 0,2 Aa	-2,4 \pm 0,1 Aa	6,8 \pm 1,9 Bb
177	TC	92,0	78,5 \pm 3,8 Aa	2,2 \pm 0,1 Ab	-2,1 \pm 0,1 Aa	-3,0 \pm 0,1 Bc	10,8 \pm 1,6 Aa
	TR	91,0	76,5 \pm 3,7 Aa	1,8 \pm 0,1 Ba	-1,7 \pm 0,1 Aa	-2,5 \pm 0,1 Aa	8,9 \pm 1,4 Aab

Las letras mayúsculas y minúsculas distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos y dentro del tratamiento respectivamente, para cada parámetro según %CHM durante el ensayo.

El potencial osmótico a cero turgor (π_0), muestra un descenso significativo de forma gradual y continuo entre una medición y la siguiente para el tratamiento TC, siendo el π_0 al final del estudio un 33% menor al inicial. En cambio, las plantas de TR no presentan diferencias significativas en los valores de π_0 , durante todo el ensayo (Tabla 2).

El ϵ promedio para TC es de 11,92 valor que se encuentra dentro del rango obtenido por Galmés *et al.*, (2007), que observaron en dos especies mediterráneas arbustivas siempreverde, valores de ϵ promedio entre 6,40 y 12,16. Estos autores señalan que los valores de ϵ siguen un patrón que depende del crecimiento y forma de vida, y particularmente del grado de esclerofilia de la especie, señalado a este último como un fenómeno de resistencia mecánica en contra del estrés hídrico ambiental.

El ϵ es significativamente menor para TR respecto a TC, sólo en el período de mayor restricción hídrica (18,8 %CHM), esto indica que las paredes celulares de TR son más elásticas por lo que soportarían una pérdida del contenido hídrico celular sin perder el turgor celular, evitando que se desencadenen problemas metabólicos por la disminución de este. Esta respuesta apunta a la realización de un ajuste elástico, frente a condiciones hídricas desfavorables, respuesta similar a la encontrada en otros estudios de *C.alba* y *Acacia xanthophloea* (Aguirre, 2008; Otieno *et al.*, 2005). Se ha visto que un aumento en la elasticidad de la pared celular (disminución del ϵ) puede ayudar a mantener la presión de turgor cuando el contenido hídrico relativo es bajo, de esta forma las paredes celulares son capaces de ajustarse al contenido celular (Bowmann y Roberts 1985; Ruiz-Sánchez *et al.*, 1997). Por el contrario un aumento en el valor de ϵ es esperado cuando las paredes se vuelven más rígidas o gruesas (Dichio *et al.*, 2003). La elasticidad y plasticidad de las paredes celulares depende de la composición y estructura de la pared celular, principalmente de la razón: pectinas mas hemicelulosa / celulosa (Schultz y Matthews, 1993; Robichaux *et al.*, 1986).

En plantas de TC se ve un aumento gradual y significativo del Ψ_{Pt} , siendo este un 30% mayor con respecto al inicial (2,15 Mpa)(Tabla 2). En cambio las plantas de TR presentan valores de Ψ_{Pt} similares a través de todo el ensayo. Según Ayoub *et al.*, (1992), cambios en las propiedades elásticas de los tejidos o en la concentración de solutos pueden promover la mantención del turgor y volumen celular a pesar de presentar potenciales hídricos muy negativos. Se ha observado que la alta elasticidad de los tejidos podría ayudar a mantener el turgor durante periodos de sequía en especies leñosas, por lo que el ajuste elástico de las paredes celulares es considerado como un mecanismo para tolerar el estrés hídrico, sin embargo, en esos casos el ajuste osmótico generalmente no es expresado o es de un grado insignificante (Fan *et al.*, 1994; Marshall y Dumbroff, 1999). Por lo anterior, la mantención del Ψ_{Pt} , en TR a niveles similares durante el ensayo corrobora el comportamiento mostrado por las plantas de *P.boldus*, que muestran una tendencia a realizar ajuste elástico por sobre el ajuste osmótico, como mecanismo de respuesta, frente a las condiciones de restricción hídrica impuestas.

Según Bowman y Roberts (1985), valores de ϵ altos y valores de potencial osmótico más negativos, son responsables de generar gradientes de potencial hídrico altos entre las hojas y el suelo, lo que facilita la extracción del agua desde el suelo. Esta situación podría

estar sucediendo en las plantas control, ya que, los altos valores de ϵ se mantienen durante todo el ensayo por sobre valores de potencial osmótico mas negativos. El mantener estos parámetros constantes en plantas TC puede ser una forma de facilitar la absorción de agua desde el sustrato. Este comportamiento se ve incluso en plantas de TR antes y después del período de menor CHM%, esto indicaría que la elasticidad de las paredes en *P.boldus* aumenta sólo cuando se enfrenta a una restricción hídrica severa o bien sólo se evidencia después de permanecer sometidas a un período de restricción hídrica. Debido a que el ajuste elástico es un proceso gradual en el cual se producen cambios estructurales en las paredes celulares, por lo tanto las respuestas no se observan inmediatamente.

4.4 Crecimiento en altura y diámetro a la altura del cuello

Al comenzar el ensayo las plantas seleccionadas para el tratamiento control presentaban una altura y un diámetro a la altura del cuello (DAC) promedio de 22,7 cm y de 7,3 mm respectivamente. Mientras que las plantas seleccionadas para ser sometidas a déficit hídrico tenían una altura promedio de 19,57 cm y un DAC promedio de 6,7 mm. Estas diferencias, al inicio del ensayo, fueron significativas en ambas variables entre los tratamientos, por lo que se debió realizar un análisis de covarianza para analizar el incremento en altura (L) y en DAC, tomando como covariable la medición inicial, en cada variable.

4.4.1 Crecimiento en altura

Los individuos de ambos tratamientos no muestran diferencias significativas en incremento en altura (L), durante todo el ensayo. Sin embargo dentro de cada tratamiento se ve un incremento gradual y significativo que podría ser atribuido al tiempo de duración del ensayo, durante el cual los individuos continúan incrementando su altura a bajas tasas de crecimiento, hecho que evidencia un lento crecimiento en altura de la especie (Figura 4). Los resultados anteriores concuerdan con los obtenidos por Berrios (2002), en plantas de *P.boldus*, de dos años de edad, con distintas densidades de plantación y bajo dos tratamientos de riego, este autor observó que las diferentes intensidades de riego no influyeron en el incremento de altura en las plantas estudiadas.

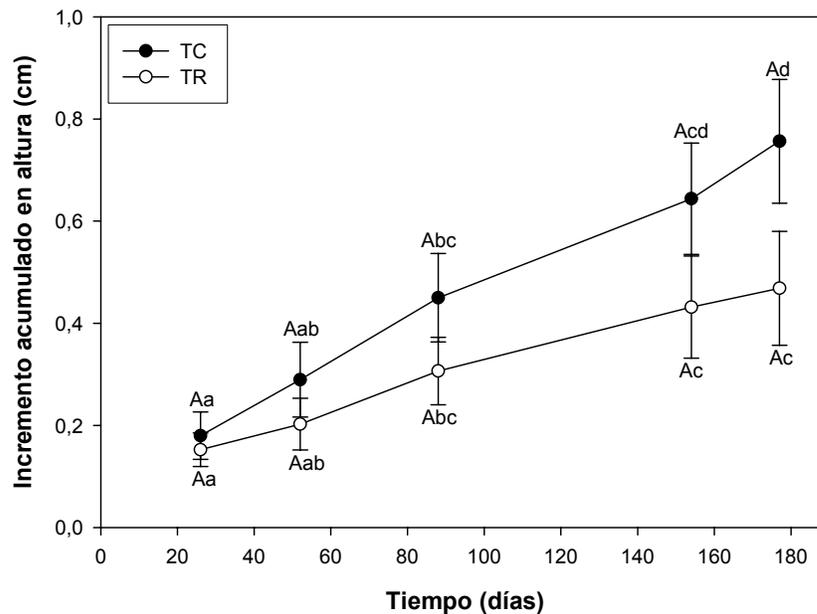


Figura 4: Incremento acumulado en altura (L) de las plantas a lo largo del tiempo (medias \pm error estándar). Las letras mayúsculas y minúsculas distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos y dentro del tratamiento respectivamente, durante el ensayo.

Los bajos incrementos en altura en condiciones naturales y en contenedores muestran que esta especie tiene un menor incremento en altura que otras especies del bosque esclerófilo, como *C.alba* y *Q.saponaria*, que si muestran un aumento significativo del incremento en altura de plantas regadas frecuentemente (Aguirre, 2008; Luna, 2006). Sin embargo, los autores anteriores observaron, en las plantas bajo restricción hídrica una reducción en altura debido a la deshidratación y posterior muerte de los brotes apicales, para favorecer el crecimiento de nuevos brotes. A diferencia *P.boldus* muestra una estrategia de mantención de los brotes apicales existentes a valores de Ψ_a similares a los alcanzados por *C.alba* y *Q.saponaria*

4.4.2 Crecimiento en diámetro a la altura del cuello

En todas las evaluaciones del incremento en DAC de las plantas control, estas son significativamente mayor, a los valores presentados por las plantas con déficit hídrico. Terminado el período de restricción hídrica (día 154), las plantas de TC incrementan su DAC 1,6 mm más que los individuos de TR. Esto significa un aumento en DAC del 78% por sobre TR. Esta tendencia continúa hasta finalizar el ensayo (día 177), donde los individuos de TR no muestran un aumento significativo en DAC después de haber sido

rehidratados. Durante casi todo el ensayo no existe crecimiento del DAC en plantas de TR, no así en plantas de TC que fueron aumentando gradualmente su DAC (Figura 5). Estos resultados muestran que el período de 23 días de rehidratación, al que fueron sometidas las plantas TR, no es suficiente para lograr una recuperación del crecimiento en DAC, después de un largo período de restricción hídrica. Esto indica que la restricción hídrica, asociada a los valores muy negativos de Ψ_a y bajos niveles de CHR_a tiene un efecto negativo en el incremento en DAC de *P. boldus*.

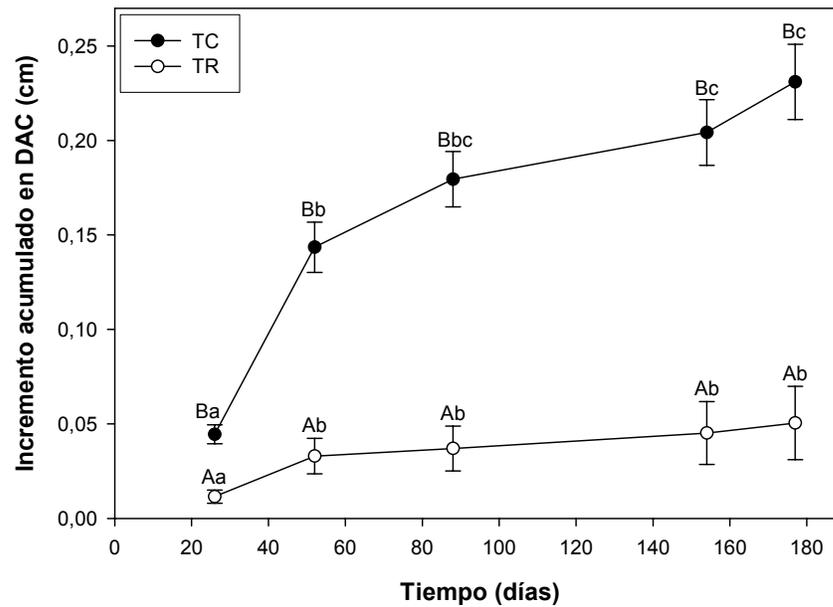


Figura 5: Incremento acumulado del diámetro a la altura del cuello (DAC) a lo largo del tiempo (medias \pm error estándar). Las letras mayúsculas y minúsculas distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos y dentro del tratamiento respectivamente, durante el ensayo.

Uno de los prerequisites más importantes para continuar el crecimiento de la planta, es tener adecuados niveles del $CHR\%$ en los tejidos que permiten mantener el turgor celular (Hsiao *et al.*, 1976). Este podría ser un factor importante en la diferencia de incremento en DAC entre plantas de ambos tratamientos, porque los resultados expuestos en las Tablas 1 y 2, muestran que en TC los valores de CHR_a son adecuados durante todo el ensayo, esto permite un aumento gradual significativo del Ψ_{Pt} . Mientras que en TR se ve una disminución significativa del CHR_a y del Ψ_{Pt} factores que incidirían en la menor tasa de crecimiento en DAC de plantas bajo restricción hídrica (Figura 5).

La reducción del incremento en DAC, bajo restricciones hídricas, ha sido registrada en otras especies pertenecientes al bosque esclerófilo. Aguirre (2008), observó en *C.alba* una marcada reducción del incremento en DAC, este autor señala que las plantas sometidas a restricción hídrica tuvieron un incremento final en DAC 96% menor al mostrado por plantas sin restricción hídrica. Además, se encontró en plantas de *Q.saponaria*, creciendo en contenedores, una reducción significativa en el incremento en DAC, en el tratamiento con restricción hídrica, pasados 55 días desde el inicio del ensayo, estas incluso mostraron una disminución del DAC, respecto al inicial (Luna, 2006).

Una respuesta similar a la de *P.boldus* se ha registrado en especies mediterráneas como: *Quercus ilex* y *Arbutus unedo*, creciendo en condiciones naturales, estas especies tuvieron una disminución significativa del incremento en diámetro cuando fueron sometidas a restricción hídrica (Ogaya *et al.*, 2003).

4.5 Crecimiento y distribución de biomasa

La biomasa foliar presentada por cada tratamiento, al final del período de restricción hídrica, no es significativamente diferente a la presentada al inicio del ensayo. No obstante, al final del período de restricción hídrica la biomasa foliar presentada por TR es significativamente menor a la mostrada por plantas TC, esto se debería a que los individuos del tratamiento TC incrementan su biomasa foliar mientras que en TR la mantienen e incluso disminuye en algunos individuos (Figura 6a).

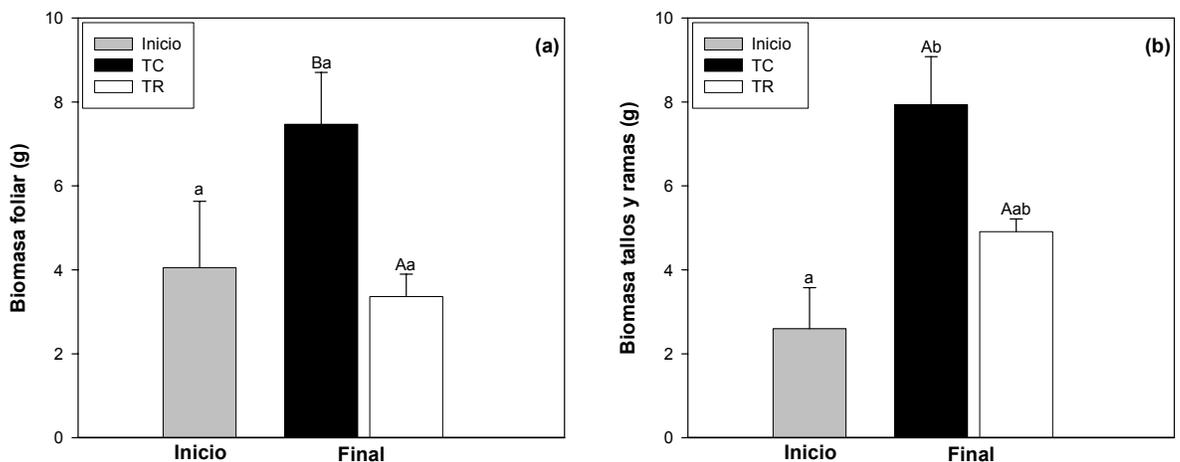


Figura 6: Biomasa foliar (a) y biomasa de tallos y ramas (b) al inicio y final del período de restricción hídrica (medias \pm error estándar; n=3). Letras mayúsculas y minúsculas distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$), entre los tratamientos y entre el inicio y término del ensayo de restricción hídrica, respectivamente.

Al final del período de restricción hídrica las plantas de TR presentan una biomasa aérea total significativamente menor a la observada en individuos de TC, además, TR no manifiesta diferencias significativas en biomasa aérea total, entre el inicio y final del ensayo, mientras que en TC la biomasa aérea total es significativamente mayor al final del estudio (Figura 7a).

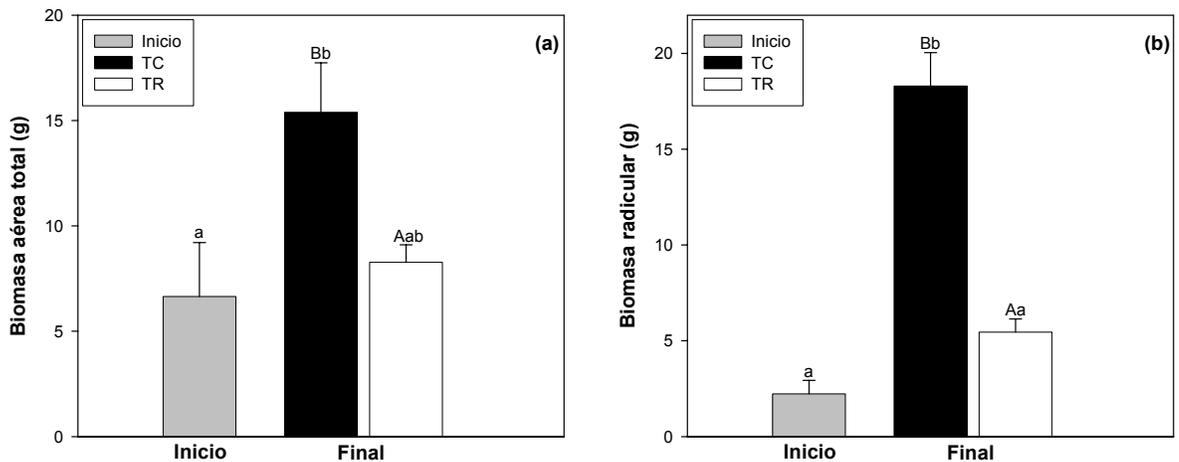


Figura 7: Biomasa aérea total (a) y biomasa radicular (b) al inicio y final del período de restricción hídrica (medias \pm error estándar; $n=3$). Letras mayúsculas y minúsculas distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$), entre los tratamientos y entre el inicio y término del ensayo de restricción hídrica, respectivamente.

Por otro lado, la biomasa radicular tiene un aumento significativo sólo en las plantas de TC, y esta es significativamente mayor a la presentada por el tratamiento TR al final del período de restricción hídrica, donde la biomasa radicular de TR es 70% menor a la presentada por TC (Figura 7b). Lo anterior concuerda con lo observado en individuos de otras especies sometidas a restricción hídrica, estos exhibieron reducciones entre 30% y 70% de la biomasa radicular, en distintas especies de Acacias (Nigel y Thukten, 2006) y de un 33% en *Quercus robur* creciendo en contenedor sin ser éste un limitante para el crecimiento (Fort *et al.*, 1997).

La biomasa total aumenta significativamente sólo para los individuos de TC al término del ensayo, mientras que en TR no se registran cambios significativos entre el inicio y final del período de restricción hídrica. Por otro lado, la biomasa total de TR es significativamente menor a la de TC, al término de la restricción hídrica (Figura 8a).

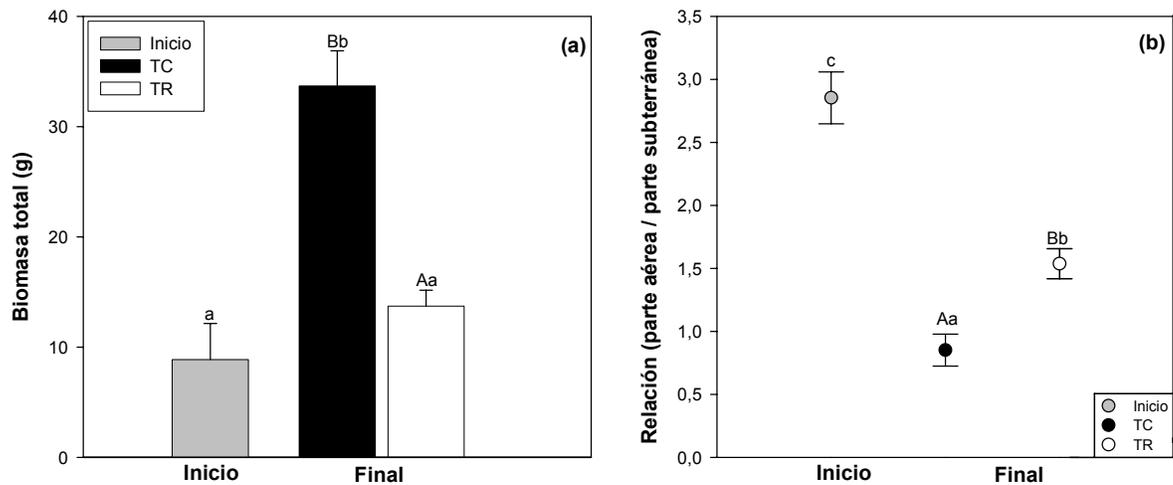


Figura 8: Biomasa total (a) y relación parte aérea/parte subterránea (b) al inicio y final del período de restricción hídrica (medias \pm error estándar; $n=3$). Letras mayúsculas y minúsculas distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$), entre los tratamientos y entre el inicio y término del ensayo de restricción hídrica, respectivamente.

La relación parte aérea/parte subterránea (Pa/Ps), disminuye significativamente en ambos tratamientos (TC y TR), finalizado el período de restricción hídrica, siendo menor el valor obtenido en las plantas de TC (Figura 8b). La respuesta de la relación Pa/Ps frente a una restricción hídrica es variable ya que Nigel y Thukten (2006), encontraron una disminución del 171% hasta un 66% de la relación Pa/Ps en distintos tipos de Acacias sometidas a restricción hídrica. Los valores de relación Pa/Ps obtenidos en otras especies del bosque esclerófilo son diversos. Aguirre (2008), no encontró diferencias significativas en la relación Pa/Ps para *C.alba* con o sin restricción hídrica, mientras que Luna (2006), registró valores menores de la relación Pa/Ps en plantas de *Q.saponaria* con restricción hídrica. Las diferentes respuestas en biomasa y relación Pa/Ps observadas en especies nativas, del bosque esclerófilo, evidencian que las especies desarrollan distintas estrategias para capturar y utilizar el recurso hídrico presente en el suelo. Según Wilson (1988), el crecimiento de hojas y raíces es una competencia entre estos órganos por productos asimilados por las hojas, y nutrientes y agua tomados por las raíces. Sin embargo, el crecimiento de hojas y raíces es coordinado y el tamaño relativo de cada uno varía dinámicamente en respuesta a las condiciones ambientales, bajo este escenario las especies tienden a optimizar la utilización de los recursos de forma diferente. En condiciones donde el agua es escasa, bajo un ambiente de alta competencia, las especies tenderán a buscar el camino más eficiente para asegurar el recurso hídrico.

4.5.1 Distribución porcentual de la biomasa

Ambos tratamientos muestran una disminución significativa de la proporción de biomasa aérea total y un aumento de la proporción de biomasa radicular, siendo este cambio más acentuado en plantas regadas permanente (TC) (Tabla 3). Una respuesta similar fue observada en plantas de Quillay sometidas a restricción hídrica, las que favorecieron el desarrollo del sistema radicular para aumentar la superficie de absorción y volumen de exploración para captar agua, en desmedro de la biomasa foliar, disminuyendo la superficie de transpiración (Luna, 2006).

Tabla 3: Distribución porcentual de la biomasa (%), estimados al inicio y final del ensayo para cada tratamiento (medias \pm error estándar, n=3).

Distribución porcentual de la biomasa (%)	Inicio del ensayo	Fin del ensayo	
		TR	TC
Aérea total (hojas + tallo y ramas)	73,9 \pm 1,3 a	60,4 \pm 1,9 Bb	45,5 \pm 4,0 Ac
- Hojas	45,1 \pm 1,2 a	24,3 \pm 1,6 Ab	21,9 \pm 1,8 Ab
- Tallo y Ramas	28,8 \pm 1,1 a	36,1 \pm 1,7 Bb	23,5 \pm 2,4 Aa
Raíces	26,1 \pm 1,3 a	39,6 \pm 1,9 Ab	54,5 \pm 4,0 Bc

Letras mayúsculas y minúsculas distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$), entre los tratamientos y entre el inicio y término del ensayo de restricción hídrica, respectivamente.

Algunos autores señalan que bajo una deficiencia de agua el crecimiento es rápidamente inhibido, favoreciendo el crecimiento radicular por sobre el crecimiento de hojas, esto refleja una mayor sensibilidad frente al estrés hídrico de las hojas y una mayor resistencia de las raíces (Hsiao y Liu-Xang, 2000; Boyer, 1968). Sin embargo, los resultados de la tabla 3, muestran que las plantas de ambos tratamientos aumentan la proporción de biomasa radicular, siendo el aumento en TC mayor al de TR. Estos resultados indicarían que las plantas de *P.boldus*, utilizadas en el ensayo, priorizan el crecimiento radicular por sobre el crecimiento de la parte aérea, como una estrategia independiente al estado hídrico de la planta. Siendo esta diferencia mermada cuando la planta esta enfrentada a una restricción hídrica. La menor proporción de biomasa radicular de TR, al final del ensayo en comparación a TC, se podría relacionar a los bajos potenciales hídricos y a lo bajos niveles de CHR_a obtenidos durante el período de restricción hídrica, factores que incidirían en una menor tasa de crecimiento radicular.

5 CONCLUSIONES

- *P. boldus* es una especie capaz de superar períodos de restricción hídrica severos, a pesar de llegar a contenidos hídricos relativos al alba muy bajos y potenciales al alba muy negativos, asociados a un contenido hídrico de maceta inferior al 20%.
- *P. boldus* frente a la restricción hídrica severa realiza ajuste elástico, para evitar pérdida de turgencia celular a pesar de reducir drásticamente el contenido hídrico relativo, evitando de esta forma que la pérdida hídrica afecte los procesos metabólicos, lo que causaría muerte celular.
- La restricción hídrica tiene un efecto negativo en el crecimiento en DAC y producción de biomasa aérea y radicular en *P. boldus*, mientras que el crecimiento en longitud no es afectado de forma importante, lo que se debería al hábito simpódico de la especie.
- La reducción de la relación parte aérea/parte subterránea, junto con el mayor incremento en biomasa radicular que aérea, observados al final ensayo, e independiente del tratamiento aplicado, indican que *P. boldus* tiene como estrategia para superar la restricción hídrica, el invertir en un mayor crecimiento radicular que aéreo, para así asegurar una mayor área de exploración del sustrato, facilitando una mayor captación de agua y nutrientes frente a los posibles períodos de sequía, que debe enfrentar periódicamente.

6 BIBLIOGRAFÍA

- AGUIRRE, A. 2008. Identificación de mecanismos fisiológicos desarrollados por *Cryptocarya alba* (Mol) Looser (Peumo) ante condiciones de sequía. Memoria de título. Universidad de Chile. Santiago, Chile. 33 p.
- AYOUB, A; KHALIL, M. y GRACE, J. 1992. Acclimation to drought in *Acer pseudoplatanus*, L (sycamore) seedlings. *Journal of Experimental Botany* 43: 591- 602.
- AZCÓN-BIETO, J. y TALÓN, M. 2000. Fundamentos de fisiología vegetal. McGraw-Hill-Interamericana. Madrid, España. 522 p.
- BERRIOS, C. 2002. Efectos de la densidad de plantación y dos niveles de riego sobre el rendimiento y los principios activos en boldo. Memoria de título. Universidad de Talca. Talca, Chile. 24 p.
- BLONDEL, J. y ARONSON, J. 1999. *Biology and wildlife of the Mediterranean region*. Oxford University Press, New York.
- BOWMAN, W. y ROBERTS, S. 1985. Seasonal changes in elasticity in chaparral shrubs. *Physiologia Plantarum* 65: 233-236.
- BOYER, J. 1968. Relationships of water potential to growth of leaves. *Plant Physiology* 43:1056-1062.
- CHEUNG, Y ; TYREE, M. y DAINTY, J. 1975. Water relations on single leaves obtained in a pressure bomb and some ecological interpretations. *Canadian Journal of Botany* 53: 1342 – 1346.
- DI CASTRI, F; GOODALL, D. y SPECHT, R. 1981. *Mediterranean-type shrublands*. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam. 644p.

DICHIO, B; XILOYANNIS, C; ANGELOPOULOS, K; NUZZO, V; BUFFO, S. y CELANO, G. 2003. Drought-induced variations of water relations parameters in *Olea europaea*. Plant and Soil 257: 381-389.

FAN, S; BLAKE, T. y BLUMWALD, E. 1994. The relative contribution of elastic and osmotic adjustment to turgor maintenance of woody plants. Physiologia plantarum 90:408 - 413.

FORT, C; FAUVEAU, M; MULLER, F; LABEL, P. GRANIER, A. y DREYER, E. 1997. Stomatal conductance, growth and root signaling in young oak seedlings subjected to partial soil drying. Tree Physiology 17: 281-289.

GAJARDO, R. 1994. La vegetación natural de Chile. Clasificación y Distribución Geográfica. Editorial Universitaria. Santiago, Chile. 165p.

GALMES, J; FLEXAS, J; SAVÉ, R. y MEDRANO, H. 2007. Water relations and stomatal characteristics of Mediterranean plants with different growth forms and leaf habits: responses to water stress and recovery. Plant Soil 290: 139-155.

GIL, F. 1995. Elementos de Fisiología Vegetal. Ediciones Mundi Prensa. Madrid, España. 1147p.

GILIBERTO, J. y ESTAY, H. 1978. Seasonal water stress in some Chilean matorral shrubs. Botanical Gazzete 139: 236-260.

GULIAS, J; FLEXAS, J; ABADIA, A. y MEDRANO, H. 2002. Photosynthetic responses to water deficit in six mediterranean sclerophyl species: possible factors explaining the declining distribution of *Rhamnus ludovici-salvatoris*, and endemic Balearic species. Tree Physiology 22: 687-697.

HERRALDE, F. 2000. Estudio integral de las respuestas ecofisiológicas al estrés hídrico: caracterización de las variedades de almendro. Tesis doctoral. Universidad de Barcelona. Barcelona, España. 140 p.

HOMANN, C. y MATTE, V. 1967. Para el conocimiento de la silvicultura del boldo (*Peumus boldus Mol.*). Boletín de la Universidad de Chile. Escuela de Ingeniería Forestal. Universidad de Chile. Santiago, Chile. (76-79) :19-24p.

HSIAO, T; ACEVEDO, E; FERERES, E. y HENDERSON, D. 1976. Water stress, growth and osmotic adjustment. Philosophical Transactions of the royal Society London, series B 273, 479-500.

HSIAO, T y LIU-XANG, X. 2000. Sensitivity of growth of roots versus leaves water stress: biophysical analysis and relation to water transport. Journal of Experimental Botany 51: 1595-1616.

KOZLOWSKI, T; KRAMER , P. y PALLARDY, S. 1991. The physiological ecology of woody plants. Academic Press, San Diego. 657 p.

KOZLOWSKI, T. y PALLARDY , S. 2002. Acclimation and adaptative responses of woody plants to environmental stresses. Botanical Review 68: 270-334.

LARCHER, W. 1995. Physiological Plant Ecology. Ecophysiology and stress physiology of functional groups. Springer-Verlag, Berlin -Heidelberg. 517p.

LEVITT, J. 1980. Responses of plants to environmental stresses. Academic Press, New York. 697p.

LUNA, G. 2006. Evaluación de parámetros fisiológicos y de crecimiento en plantas de *Quillaja saponaria* Mol. bajo condiciones de déficit hídrico. Memoria de título. Universidad de Chile. Santiago, Chile.35 p.

LO GULLO, M. y SALLEO, S. 1988. Different strategies of drought resistance in three Mediterranean sclerophyllous trees growing in the same environmental conditions. New phytol. 108: 267-276.

MARTÍNEZ, J. 1994. Relaciones agua-planta del almendro (*Amygdalus communis* L.) en condiciones hídricas adversas. Tesis doctoral. Universidad de Murcia. Murcia, España. 190p.

MARTÍNEZ, J; LUTTS, S; SCHANCK, A; BAJJI, M. y KINET, J. 2004. Is osmotic adjustment required for water stress resistance in the Mediterranean shrub *Atriplex halimus* L?. *Plant Physiology* 161: 1041- 1051.

MARSHALL, J. y DUMBROFF, E. 1999. Turgor regulation via cell wall adjustment in white spruce. *Plant Physiology* 119: 313-319.

MONTENEGRO, G. 2000. Chile nuestra flora útil. Guía para uso apícola, medicinal, folclórica, artesanal y ornamental. Ediciones Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. 26 p.

NAVAS, L. 1976. Flora de la cuenca de Santiago. Tomo II. Editorial Andrés Bello. Santiago, Chile. 301p.

NIGEL, W y THUKTENT. 2006. Water relations of phyllodinous and non-phyllodinous Acacias, with particular reference to osmotic adjustment. *Physiologia Plantarum* 127: 393-403.

NILSEN, E. y ORCUTT, D. 1996. *Physiology of plants under stress*. John Wiley & Sons, Inc, New York. 689 p.

NÚÑEZ, C. 2003. Relación experimental entre tratamientos de riego deficitario controlado y estrés hídrico en palto cv. Hass, en Chile central. Memoria de título. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Valparaíso, Chile. 51p.

OGAYA, R; PEÑUELAS, J; MARTÍNEZ-VILALTA, J. y MANGIRON, M. 2003. Effect of drought on diameter increment of *Quercus ilex*, *Phillyrea latifolia*, and *Arbuto unedo* in a hola oak forest of NE Spain. *Forest Ecology and Management* 180: 175 - 184.

OTIENO, D; SCHMIDT, M; ADIKU, S y TENHUNEN, J. 2005. Physiological and morphological responses to water stress in two *Acacia* species from contrasting habitats. *Tree Physiology* 25: 361-371.

PEÑA-ROJAS, K. ARANDA, X. y FLECK, I. (2004). Stomatal limitation to CO₂ assimilation and down-regulation of photosynthesis in *Quercus ilex L.* resprouts under slowly-imposed drought. *Tree Physiology*, 24:813-822.

PIZARRO, S. 1989. Estudio fitosociológico estadístico de los bosques de boldo de la cuenca del río Bueno. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile. 80p.

POOLE, D. y MILLER, P. 1978. Water related characteristics of some evergreen sclerophyll shrubs in central Chile. *Oecologia Plantarum* 13: 289-299.

ROBICHAUX, R; HOLSINGER, K. y MORSE, S. (1986). Turgor maintenance in *Hawaiian Dubautia* species: the role of variation in tissue osmotic and elastic properties. In: Givnish TJ (ed) *On the economy of plant form and function*. Cambridge University Press 253–280.

RODRÍGUEZ, R.; MATTEI, O. y QUEZADA, M. 1983. Flora arbórea de Chile. Editorial de la Universidad de Concepción. Concepción, Chile. 408p.

RUIZ-SÁNCHEZ, M; DOMINGO, R; SAVÉ, R; BIEL, C. y TORRECILLAS, A. 1997. Effects of water stress and rewatering on leaf water relations of lemon plants. *Biology Plantarum* 39: 623-631.

SCHOLANDER, P; HAMMEL, H; BRADSTREET, E y HEMMINGSEN, E. 1965. Sap Pressure in Vascular Plants. *Science* 148: 339-345.

SCHULZ, H. y MATTHEWS, M. 1993. Growth, Osmotic adjustment, and Cell-Wall Mechanics of Expanding Grape Leaves during Water Deficits. *Crop Science*. 33(2): 287-294.

SELLES, G. y FERREYRA, R. 1999. Aproximación para determinar el momento oportuno del riego, ventajas e inconvenientes. *Chile Riego Vol. 1* (dic.1999):23-25.

SUN, O; SWEET, G; WHITEHEAD, D. y BUCHAN, G. 1995. Physiological responses to water stress and waterlogging in *Nothofagus* species. *Tree Physiology*. 15: 629-638.

TAIZ, L. y ZEIGER, E. 2002. *Plant Physiology* Third edition. University of California. Sinauer associates, Inc., publishers. United States. 690p

TURNER, N. 1986. Adaptation to water deficits: A changing perspective. *Plant Physiology*. 13: 175-190.

TURNER, N. 1988. Measurement of Plant Water Status by the Pressure Chamber Technique. *Irrigation Science* 9: 289-308.

TYREE, M. y HAMMEL, H. 1972. The measurement of the turgor pressure and the water relations of plants by the pressure-bomb Technique. *Journal of Experimental Botany* 23: 267-282.

TYREE, M. y RITCHER, H. 1981. Alternative Methods of Analysing Water Potential Isotherms: Some Cautions and Clarifications. *Journal of Experimental Botany* 32: 643-653.

VALLADARES, F. 2004. *Ecología del bosque Mediterráneo en un mundo cambiante*. Ministerio del medio ambiente. Madrid. España. 163-190.

VILLAGROSA, A; BELLOT, J; VALLEJO, V. y GIL-PELEGRIN, E. 2003. Cavitation, stomatal conductance, and leaf dieback in seedlings of two co-occurring Mediterranean shrubs during an intense drought. *Journal of Experimental Botany* 54:2015-2024.

VITA, A. 1993. *Ecosistemas de bosques y matorrales mediterráneos y sus tratamientos silviculturales en Chile*. Segunda edición. Proyecto CONAF/PNUD/FAO-CHI/83/017. Investigación y desarrollo de áreas silvestres en zonas áridas y semiáridas de Chile. Documento de trabajo N°21. 235p.

WILSON, J. 1988. A review of evidence on the control of shoot: root ratio, in relations to models. *Annals of Botany*. 61: 433-449.