

Plasticidad ecofisiológica de plántulas de *Nothofagus pumilio* frente a combinaciones de niveles de luz y humedad en el suelo

GUILLERMO J. MARTÍNEZ PASTUR^{1,✉}; MARÍA V. LENCINAS¹; ROSINA SOLER ESTEBAN¹; HORACIO IVANCICH¹; PABLO L. PERI²; ALICIA MORETTO¹; LUIS HERNÁNDEZ^{3,4} & IVONE LINDSTROM³

1. Centro Austral de Investigaciones Científicas (CONICET). Ushuaia, Tierra del Fuego, Argentina.
2. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.- Universidad Nacional de la Patagonia Austral - CONICET. Río Gallegos, Santa Cruz, Argentina.
3. Departamento de Agronomía - Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.
4. Comisión de Investigaciones Científicas (CIC). La Plata, Buenos Aires, Argentina.

RESUMEN. Las propuestas silvícolas para el manejo de los bosques de *Nothofagus pumilio* se basan sobre la apertura del canopy para estimular el crecimiento de la regeneración natural; de esta manera se incrementa la disponibilidad de luz y humedad del suelo a nivel del sotobosque. El crecimiento de las plántulas estará en relación a la plasticidad frente a estas nuevas condiciones del rodal. Es por ello, que el objetivo fue analizar los cambios morfológicos y ecofisiológicos de plántulas creciendo en condiciones controladas bajo dos niveles de humedad del suelo, a lo largo de un gradiente de intensidad lumínica. Se trasplantaron plántulas de 2-3 años de bosques primarios durante el mes de septiembre del año 2005 y se colocaron en invernáculo bajo dos condiciones de humedad del suelo (40-60% y 80-100% de la capacidad de campo) y tres niveles de intensidad lumínica (4%, 26% y 64% de luz incidente natural). Durante el mes de enero de 2006 se midieron variables morfológicas (altura, número, tamaño y forma de las hojas, número de ramas, área foliar, densidad de raíces, biomasa en compartimentos e histología de hojas) y ecofisiológicas (fotosíntesis, respiración, contenido de pigmentos, contenido relativo de agua en hojas, conductancia estomática, contenido de nutrientes y potencial agua de los brotes apicales). Se realizaron análisis de varianza simples para evaluar las respuestas a los niveles de humedad del suelo en cada nivel de intensidad lumínica, así como análisis multivariados para analizar la interacción entre factores. Las plántulas tuvieron mejores crecimientos en los menores niveles de humedad (40-60% de la capacidad de campo). La respuesta del crecimiento a distintos niveles de humedad del suelo dependió de la disponibilidad de luz, donde niveles medios de intensidad lumínica generaron los mejores crecimientos. Niveles altos de luminosidad resultaron negativos para el crecimiento de las plántulas. En este trabajo se pudieron poner en evidencia cambios en las variables anatómicas, de composición química y de relaciones hídricas, manifestando una alta plasticidad para sobrevivir a diferentes condiciones de humedad del suelo e intensidades lumínicas. Estos resultados pueden contribuir a proponer mejores prácticas silvícolas que optimicen la supervivencia y el crecimiento de las plántulas luego del aprovechamiento forestal.

[Palabras clave: manejo forestal, regeneración, morfología, histología, fotosíntesis, nutrientes]

✉ Centro Austral de Investigaciones Científicas (CONICET). Houssay 200, (9410) Ushuaia, Tierra del Fuego, Argentina.
cadicforestal@cadic-conicet.gob.ar

Recibido: 28 de marzo de 2011; Fin de arbitraje: 29 de septiembre de 2011; Revisión recibida: 3 de octubre de 2011; Aceptado: 19 de octubre de 2011

ABSTRACT. Ecophysiological plasticity of *Nothofagus pumilio* seedlings under different light and soil moisture levels: Proposed silviculture for *Nothofagus pumilio* forests are based on the canopy open to stimulate natural regeneration growth through the increasing of soil moisture and light availability at the understory level. Seedlings growth will be related to the plasticity for these new stand conditions. For this, the objective was to analyze morphological and ecophysiological changes of seedlings growing in controlled conditions under two soil moisture levels along a light intensity gradient. Two to three years-old seedlings were obtained from one old-growth forests during September 2005, and were transplanted into plastic pots in a greenhouse under two soil moisture levels (40-60% and 80-100% soil capacity) and three light intensities (4%, 26% and 64% natural incident irradiance). Morphological (height, number, size and shape of the leaves, number of branches, foliar area, root density, biomass compartments and leaf histology) and ecophysiological (photosynthesis, respiration, pigment content, relative water content in leaves, stomata conductance, nutrient content and water potential of apical shoots) variables were measured during January 2006. One-way ANOVAs was conducted to evaluate changes according to soil moisture levels for each light intensity level, as well as multivariate analyses to evaluate interactions among factors. Seedlings showed best growth performances under a low soil moisture level (40-60% soil capacity). Growing response to the different soil moisture levels was related to light availability, where a middle light level presented the best growth rates. High light levels produced negative results for seedling growth. In this work, evidences suggested that changes in the anatomical variables, chemical composition and water status relations, allowing to a high plasticity to survive under different conditions of soil moisture and light intensities. These results can be used to suggest better silviculture proposals to improve seedling growth after harvesting.

[Keywords: forest management, regeneration, morphology, histology, photosynthesis, nutrients]

INTRODUCCIÓN

En los bosques de Patagonia sur, las plántulas de *Nothofagus* sobreviven por períodos largos bajo el canopy denso de los árboles padres y pueden restablecer la estructura forestal luego de un disturbio natural o antrópico (Martínez Pastur et al. 2009). Estos cambios en el canopy aumentan la disponibilidad de agua en el suelo y luz al nivel del sotobosque (Frangi & Richter 1994; Caldentey et al. 1999-2000). Estos son los dos factores más críticos que afectan la supervivencia y el crecimiento de las plántulas dentro de estos bosques (Heinemann et al. 2000).

Las plantas leñosas son muy variables en su respuesta a la disponibilidad de agua en el suelo (Sun et al. 1995) dado que pueden modificar su fisiología y morfología. La posibilidad de que las plántulas se ajusten plásticamente a las diferentes condiciones de luz y humedad del suelo determinará su establecimiento y crecimiento (Tognetti et al. 1998; Lieffers et al. 1999). Estos ajustes pueden darse a través de cambios en la capacidad

fotosintética, en la asignación de la biomasa a distintos compartimientos, en la morfología de las hojas, en la capacidad de absorción del agua, en las concentraciones de nutrientes, así como en los contenidos de pigmentos de los tejidos (e.g., Sun et al. 1995; Valladares et al. 2000; Evans & Poorter 2001; Lichtenthaler et al. 2007). La plasticidad de las plántulas muchas veces debe superar condiciones ambientales diferentes a las de los bosques primarios, por ejemplo, cambios en la estructura forestal derivan en mayores contenidos de humedad del suelo en los bosques aprovechados. Sin embargo, los ajustes también dependerán de la disponibilidad de luz causada por los cambios estructurales del bosque, pudiendo observarse un efecto negativo sobre plántulas de *Nothofagus pumilio* de la interacción entre altos niveles de luz y altos contenidos de agua en el suelo (Lencinas et al. 2007; Martínez Pastur et al. 2007).

Existen algunos estudios de ecología funcional para bosques de *Nothofagus* en Argentina, Chile y Nueva Zelanda (Caldentey 1992; Heinemann et al. 2000; Hart et al. 2003; Frangi et al. 2005;

Romanya et al. 2005; Peri et al. 2006, 2008, 2009; Lencinas et al. 2007; Martínez Pastur et al. 2007; Caldentey et al. 2009), pero muy pocos de ellos han descripto las respuestas plásticas ante cambios en las condiciones de crecimiento. El objetivo de este trabajo fue analizar los cambios anatómicos, morfológicos y ecofisiológicos de plántulas de *N. pumilio* creciendo en condiciones controladas bajo dos niveles de humedad del suelo, a lo largo de un gradiente de luminosidad. Se presenta un reanálisis y ampliación de los resultados de un experimento de gran magnitud realizado durante la estación de crecimiento (2005-2006). Los resultados de crecimiento y asignación de biomasa a los distintos órganos (de aquí en más, "partición") fueron informados en Lencinas et al. (2007) y los de fenología, intercambio de CO₂, y las curvas de respuesta fotosintética a la intensidad lumínica en Martínez Pastur et al. (2007). Aquí se presentan algunas de esas mismas variables resumidas (e.g., sin presentar su variación temporal) en un análisis conjunto con otras no publicadas, especialmente anatómicas, de composición química y de relaciones hídricas.

Las hipótesis de trabajo fueron: a) los ajustes ecofisiológicos plásticos durante el desarrollo de las plántulas están en relación a la disponibilidad de agua del suelo, mejorando el crecimiento ante mayores niveles de humedad hasta alcanzar un óptimo a capacidad de campo, y b) la respuesta del crecimiento dependerá de la disponibilidad de luz, siendo mayor el crecimiento a medida que se incrementa la disponibilidad de luz. En cuanto a las interacciones esperables en la respuesta a ambos factores ambientales, dado el gran número de variables estudiadas, se consideró apropiado evaluarlas a través de análisis multivariados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con plántulas de 6-7 cm de altura y 2-3 años de edad (determinada a partir del conteo de mucrones) (Cuevas 2002; Martínez Pastur et al. 2007). Estas plántulas fueron colectadas del sotobosque de un bosque primario de *N. pumilio* (54°06' S, 68°37' O) con

alta cobertura de dosel (94±5% DE) al comienzo de la estación de crecimiento durante el mes de septiembre de 2005. Inmediatamente, las plántulas fueron trasplantadas a condiciones controladas de invernáculo. Se colocaron en macetas plásticas (14 cm de diámetro y 15 cm de alto) que contenían un sustrato compuesto por turba molida de *Sphagnum*, arena fina de río y matillo del bosque (1:1:1). El contenido final del sustrato fue de arena/limo/arcilla de 36%-24%-40%, con 7% de materia orgánica, resultando en un pH final de 4.99 y un contenido de agua a capacidad de campo del 81% (81 ml H₂O/100 g suelo seco). La determinación del contenido de agua fue realizada gravimétricamente luego de dos días de drenaje luego de haber saturado el suelo. Las macetas se colocaron en un invernáculo, con cubierta de polietileno de 100 µm para evitar el aporte de lluvias, en la ciudad de Ushuaia (Tierra del Fuego, Argentina) (54°46' S, 68°12' O). La mortalidad de plántulas a lo largo de todo el ensayo fue inferior a 1%. En el invernáculo se simularon tres intensidades lumínicas (64%, 26% y 4% de la luz incidente natural, en adelante definidos como I64, I26 e I4) usando ninguna, una o dos capas de mediasombra comercial negra, respectivamente. La radiación solar incidente durante el verano fue en promedio 2085±534 µmol.m⁻².s⁻¹, con un valor máximo absoluto de 2702 µmol.m⁻².s⁻¹. La intensidad lumínica se midió mediante un luxímetro (Modelo Extech, Waltham, MA, USA). Asimismo, se ensayaron dos niveles de humedad del suelo a través de riego manual, manteniendo la mitad de las plántulas a 40-60% de capacidad de campo (32.4 a 48.6 ml H₂O/100 g de suelo seco) (HB), y la otra mitad a 80-100% (64.8 a 81 ml H₂O/100 g de suelo seco) (HA) de capacidad de campo. Los montos a regar se determinaron pesando las macetas cada tres días. La temperatura fue controlada forzando la ventilación hasta obtener una temperatura máxima inferior a 24 °C a nivel de las hojas de las plántulas. La temperatura del aire y del suelo, así como la humedad ambiental fueron monitoreadas mediante el uso de data loggers y son similares a las encontradas en bosques primarios y manejados en Patagonia sur [los datos se muestran en Martínez Pastur et al. (2007) y Lencinas et al. (2007)]. Las plántulas se mantuvieron bajo

las condiciones de cada tratamiento hasta la realización de las mediciones durante fines de enero y principios de febrero de 2006. En dicho período se midieron variables morfológicas (altura, número, tamaño y forma de las hojas, número de ramas, área foliar, densidad de raíces, biomasa en compartimentos e histología de hojas) y ecofisiológicas (fotosíntesis, respiración, contenido de pigmentos, contenido relativo de agua en hojas, conductancia estomática, contenido de nutrientes y potencial agua de los brotes apicales). Para las mediciones se seleccionaron aleatoriamente: a) treinta plantas por tratamiento para las mediciones morfológicas no destructivas, b) seis plantas por tratamiento para las mediciones de partición de biomasa, c) seis plantas por tratamiento para las mediciones de fotosíntesis, respiración, contenido de pigmentos, contenido relativo de agua en hojas y densidad de raíces, d) seis plantas por tratamiento para las mediciones de conductancia estomática y potencial agua en los brotes, y e) diez a quince plantas por tratamiento para la determinación de contenidos de nutrientes.

La altura de las plántulas (A) (cm) se consideró desde la base del tallo hasta la punta de la rama apical extendida. Se midió el tamaño de las últimas dos hojas totalmente expandidas del brote apical (LH - largo de hoja, AH - ancho de hoja) (cm), donde el largo no incluyó el pecíolo, y se contabilizó el número promedio de ramas (NR) (n/planta) y hojas por planta (NH) (n/planta). El área foliar total de las plántulas (AF) (cm²/planta) y la densidad de raíces (DRF=raíces finas<0.5 mm, DRM=raíces medias entre 0.5 y 1 mm, DRG=raíces gruesas>1.0 mm, DRT=raíces totales) (cm/cm³) se determinó por medio de fotografías digitales y análisis en ArcView GIS v3.0 (Environmental Systems Research Institute, Redlands, CA, USA). La biomasa (g/planta) se determinó mediante una balanza digital (precisión de 0.0001 g) luego de que el material fuera secado en estufa (65 °C) hasta peso constante (PH=peso de hojas, PT=peso de tallos, PRG=peso de raíces gruesas>1 mm, PRF=peso de raíces finas<1 mm, PA=peso aéreo total, PS=peso subterráneo total, PTP=peso total de la planta). Para los análisis

histológicos, las hojas se fijaron por 7 días en una solución con 70% etanol (Ruzin 1999). Posteriormente, se hicieron cortes de 100 µm de espesor en tejidos tomados a la mitad de las láminas sin presencia de nervaduras. Los tejidos fueron rehidratados en etanol por 24 horas, teñidos con Safranina - Fast Green y montados para su observación en microscopio (x100). Los cortes fueron fotografiados digitalmente para analizar la proporción (%) del área ocupada por cada tipo de tejido (EA=epidermis adaxial, PE=parénquima en empalizada, PEE=parénquima esponjoso, EV=espacios vacíos, EAA=epidermis abaxial), también mediante el programa ArcView GIS v3.0.

El intercambio de CO₂ se midió mediante un analizador de gas infra-rojo (Modelo S151, Qubit Systems, Kingston, Canadá), y se desarrollaron curvas de asimilación vs. irradiancia siguiendo la metodología descrita por Martínez Pastur et al. (2007). A partir de las curvas se estimaron las mediciones (µmol CO₂.m⁻².s⁻¹) de tasa de respiración en oscuridad (TRO) (valor de asimilación con irradiancia cero) y tasa neta de fotosíntesis en hojas saturadas de luz (TNF) (valor de asimilación cuando la curva alcanza la máxima pendiente).

Se realizaron análisis del contenido de pigmentos en la primera hoja totalmente expandida del brote apical de una plántula. Se maceraron discos foliares de 0.5 cm² en 2 ml de solución buffer acuosa de acetona-tris (80% v/v, pH 7.8), centrifugada a 1610 g/10 min a 20 °C. El sobrenadante fue usado para determinar las absorbancias mediante un espectrofotómetro (LP-80 ACCUPAR, USA). Se realizaron mediciones a 470, 537, 647 y 663 nm para obtener contenidos (mmol/m²) de carotenoides (CAR), clorofila A (CLA), clorofila B (CLB) de acuerdo a Sims & Gamon (2002).

Para el contenido relativo de agua en hojas (CRA) (%) se colectó mediante un bisturí la primera hoja totalmente expandida del brote apical de una plántula, la que fue después pesada en una balanza digital (precisión 0.0001 g). Se sumergió la misma en agua destilada

por 24 horas a 7 °C en heladera. Finalmente se obtuvo el peso hidratado de la hoja y el peso seco luego de secarla en estufa (65 °C) hasta peso constante. El cálculo posterior se realizó mediante las ecuaciones propuestas por Yamasaki & Dillenburg (1999).

Al mediodía de un día soleado se midieron la conductancia estomática (CE) (cm/s) al vapor de agua, mediante un porómetro (Delta-T Devices tipo AP4, Burwell, UK) (Keel et al. 2007), y el potencial agua de los brotes apicales (ψ_{Hmd}) (MPa) mediante una cámara de presión (PMS Instrument Company Modelo 600, Albany, OR, USA).

Para obtener la concentración de nutrientes (%), el material vegetal fue secado en estufa (65 °C) hasta peso constante y molido hasta un tamaño de partícula menor a 1 mm. El nitrógeno (N) de los tejidos se determinó mediante el método Kjeldahl (Büchi K350, Flawil, Suiza), mientras que el carbono (C), el fósforo (P), el magnesio (Mg), el potasio (K) y el calcio (Ca) se determinaron mediante espectrometría por emisión de plasma (Shimadzu ICPS 1000 III, Kyoto, Japón). Con algunas de las variables obtenidas se definieron relaciones: (i) FH = forma de la hoja entre LH/AH, (ii) HP = área foliar promedio por hoja entre AF/NH (cm² / hoja), (iii) AFE = área foliar específica entre AF/PH (cm² / gr), (iv) RAB = relación entre clorofilas A/B, (v) CN = relación entre C/N, (vi) NP = relación entre N/P y (vii) RVR = relación vástago-raíz entre PA/PS. Posteriormente, todas las variables fueron clasificadas de acuerdo a su funcionalidad ecológica (parte aérea, parte subterránea o a nivel de planta entera). Los datos se analizaron por medio de ANDEVAs simples para cada una de las tres intensidades lumínicas ensayadas (I4, I26, I64), considerando el contenido de humedad del suelo como factor principal (HA, HB). La realización de ANDEVAs simples se debió a que muchas de las variables presentaron interacciones significativas al realizar ANDEVAs múltiples. También se realizaron análisis multivariados de ordenamiento por análisis de componentes principales con datos estandarizados (0 a 1) a través de una matriz conteniendo los coeficientes de correlación

entre las variables determinadas a nivel del compartimiento aéreo, subterráneo y de planta entera (Tablas 1 a 5). Posteriormente se realizaron PERMANOVAs para determinar la existencia de diferencias entre los centroides y dispersión entre las repeticiones de los tratamientos ensayados (Anderson 2001; Anderson & Ter Braak 2003).

RESULTADOS

Parte aérea

No se detectaron diferencias significativas para las variables morfológicas entre niveles de humedad cuando se analizó el menor nivel de luz (I4). Sin embargo, hubo una tendencia general de valores más altos en el tratamiento con menor contenido de humedad (HB) (Tabla 1). Cuando se analizó el efecto de la humedad del suelo bajo un nivel de luz intermedio (I26) se detectaron diferencias significativas en las ramas (NR), hojas (AF, HP) y biomasa (PH, PT y PA). Los valores de NR asumen valores inferiores a 1 por ser los promedios entre todas las plantas medidas dentro de cada tratamiento; varían entre 0 y 3 ramas/planta. Al igual que en I4, los mayores valores se encontraron en bajos contenidos de humedad (HB), salvo para AFE, EA y PE, pero sin presentar diferencias significativas. Finalmente, cuando se analizaron las variables en el mayor nivel de luz (I64) se encontraron diferencias significativas en las variables relacionadas con el tamaño de las hojas (LH, AH, FH y HP) y en la cantidad de espacios vacíos de los cortes histológicos (EV). Los mayores valores fueron encontrados en bajos niveles de humedad (HB), con excepción de NR, NH, RAF y tres de las variables histológicas (EA, PEE y EAA), pero sin presentar diferencias significativas.

Al analizar las variables ecofisiológicas entre diferentes contenidos de agua en el suelo bajo distintos niveles de luminosidad se encontraron diferencias en once de las quince variables estudiadas (Tabla 2). No se encontraron diferencias en la tasa de respiración en oscuridad. En cambio, la tasa

Tabla 1. Promedios para las variables morfológicas aéreas para las tres intensidades lumínicas (I) (4%-I4, 26%-I26, 64%-I64 de la luz incidente natural) y los dos niveles de humedad del suelo (H) (40-60%-HB, 80-100%-HA de la capacidad de campo) analizando largo de hoja (LH) (cm), ancho de hoja (AH) (cm), forma de la hoja (FH), número de ramas promedio por planta (NR) (n/planta), número de hojas expandidas (NH) (n/planta), área foliar (AF) (cm²/planta), área foliar promedio por hoja (HP) (cm²/hoja), peso de hojas (PH) (g/planta), peso de tallos (PT) (g/planta), peso aéreo (PA) (g/planta), área foliar específica (AFE) (cm²/g), epidermis adaxial (EA) (%), parénquima en empalizada (PE) (%), parénquima esponjoso (PEE) (%), espacios vacíos (EV) (%), y epidermis abaxial (EAA) (%).

Table 1. Average for aerial morphological variables under the three studied light intensities (I) (4%-I4, 26%-I26, 64%-I64 of the natural incident irradiance) and two soil moisture levels (H) (40-60%-HB, 80-100%-HA soil capacity) analysing leaf length (LH) (cm), leaf wide (AH) (cm), leaf shape (FH), average number of branches per plant (NR), number of expanded leaves (NH), foliar area (AF) (cm²/plant), average foliar area per leaf (HP) (cm²/leaf), leaves weight (PH) (g/plant), stem weight (PT) (g/plant), above-ground total weight (PA) (g/plant), specific foliar area (AFE) (cm²/gr), upper epidermis (EA) (%), palisade mesophyll (PE) (%), spongy mesophyll (PEE) (%), air space (EV) (%), and lower epidermis (EAA) (%).

I	H	LH	AH	FH	NR	NH	AF	HP	PH	PT	PA	AFE	EA	PE	PEE	EV	EAA
I	HA	2.384	1.802	0.755	0.233	8.000	15.64	1.985	0.049	0.054	0.103	324.4	0.233	0.291	0.082	0.305	0.090
	HB	2.436	1.912	0.786	0.300	8.167	18.88	2.304	0.059	0.073	0.132	317.6	0.225	0.287	0.066	0.342	0.081
	F	0.19	1.17	3.14	0.40	0.02	0.77	0.89	0.62	3.62	2.63	0.11	0.25	0.01	1.35	0.72	0.68
	P	0.673	0.305	0.106	0.541	0.900	0.400	0.368	0.451	0.086	0.135	0.746	0.640	0.925	0.310	0.445	0.454
I	HA	2.843	2.037	0.718	0.267	10.167	20.51	2.158	0.098	0.121	0.219	208.4	0.216	0.329	0.095	0.296	0.065
	HB	2.922	2.157	0.739	0.567	11.00	34.19	3.198	0.164	0.177	0.341	210.3	0.180	0.321	0.100	0.310	0.090
	F	0.43	2.81	0.88	5.55	0.18	11.14	6.53	12.19	5.88	11.78	0.02	3.16	0.15	0.06	0.08	1.51
	P	0.528	0.124	0.370	0.040	0.682	0.007	0.028	0.005	0.036	0.006	0.886	0.150	0.722	0.813	0.787	0.286
I	HA	1.557	1.120	0.719	0.700	8.333	8.14	0.958	0.064	0.091	0.155	127.8	0.209	0.386	0.175	0.149	0.082
	HB	2.122	1.643	0.775	0.667	7.333	11.11	1.489	0.083	0.097	0.180	135.8	0.187	0.390	0.128	0.228	0.068
	F	27.17	42.80	21.22	0.06	0.450	1.51	12.68	1.05	0.11	0.57	0.90	0.45	0.05	3.80	13.64	3.42
	P	<0.001	<0.001	0.001	0.876	0.517	0.247	0.005	0.329	0.748	0.466	0.365	0.540	0.836	0.123	0.021	0.138

F=prueba de Fisher, P=probabilidad a 0.05. Las diferencias significativas aparecen resaltadas en negrita entre tratamientos de humedad del suelo dentro de cada intensidad lumínica.

neta de fotosíntesis en hojas saturadas de luz presentó diferencias significativas sólo en los mayores niveles de luz; fue mayor en HB que en HA. Asimismo, los niveles de carotenoides (CAR) y clorofila B (CLB) fueron mayores en HB que en HA para este mismo nivel de luz. RAB presentó diferencias en I4 y en I64, siendo significativamente mayor en HB para el primer tratamiento, y en HA para el segundo. La conductancia estomática no presentó diferencias entre los tratamientos analizados. En relación a las concentraciones de nutrientes, sólo N varió en los tres tratamientos de luz, aunque no mostró un patrón claro con respecto a la humedad del suelo. Por otra parte, los tratamientos I4 e I64 mostraron diferencias significativas para Mg, Ca y la relación NP,

cuyos mayores valores se registraron en HB, y la relación CN que fue más elevada en HA. El P sólo varió significativamente en I26, siendo mayor en HA, mientras que la concentración de K mostró diferencias dentro de I4 e I26, siendo más elevado en HB y HA, respectivamente.

El ordenamiento de las variables analizadas a nivel de la parte aérea separó claramente los tres niveles de luz analizados (Figura 1). Asimismo, dentro de cada nivel de luz se diferenciaron los dos niveles de humedad tanto en I64 como en I4, pero no en I26. Las variables más correlacionadas con el eje 1 fueron NP, AF y CLB (en forma positiva) y CN y RAB (en forma negativa). Para el eje 2, las variables

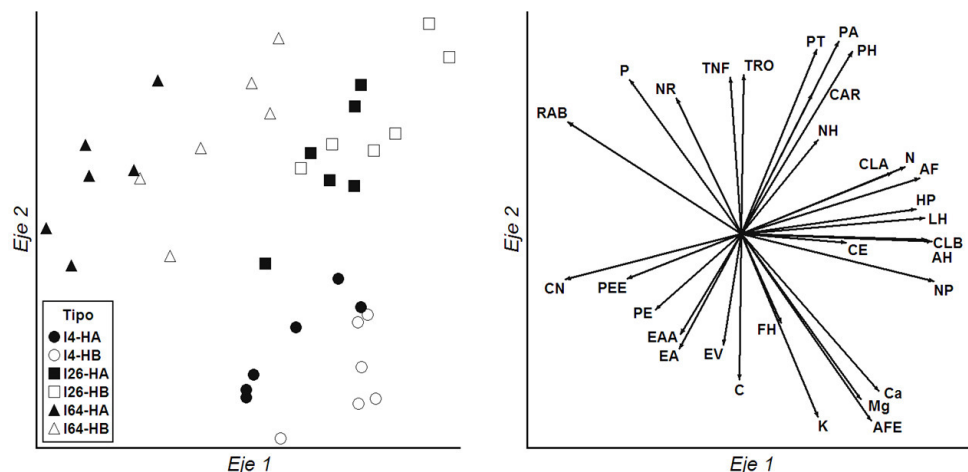


Figura 1. Análisis de componentes principales para las variables determinadas a nivel del compartimiento aéreo (variables descritas en Tablas 1 y 2) para las combinaciones de las tres intensidades lumínicas (4%-I4, 26%-I26, 64%-I64 de la luz incidente natural) y los dos niveles de humedad del suelo (40-60%-HB, 80-100%-HA de la capacidad de campo) ensayados.

Figure 1. Principal component analysis for the variables measured in the above-ground compartment (variables described in Tables 1 and 2) under the three studied light intensities (4%-I4, 26%-I26, 64%-I64 of the natural incident irradiance) and two soil moisture levels (40-60%-HB, 80-100%-HA soil capacity) assayed.

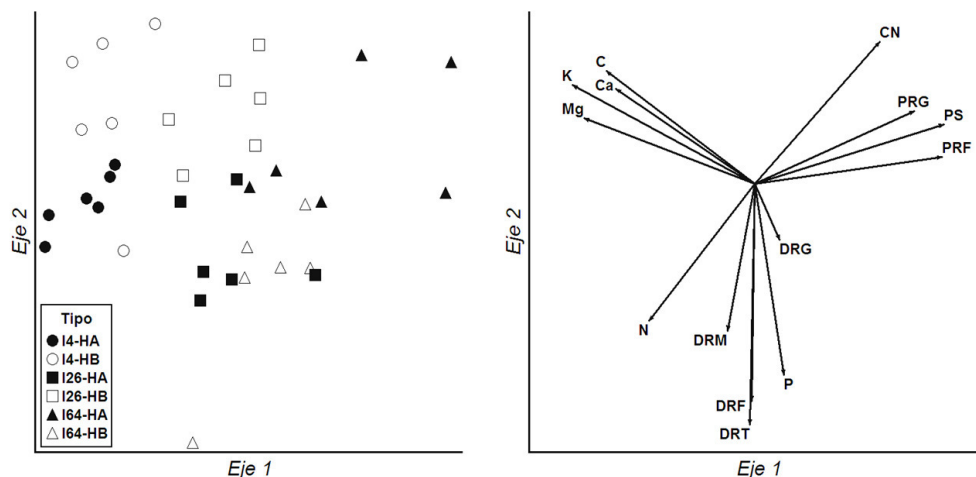


Figura 2. Análisis de componentes principales para las variables determinadas a nivel del compartimiento subterráneo (variables descritas en Tablas 3 y 4) para las combinaciones de las tres intensidades lumínicas (4%-I4, 26%-I26, 64%-I64 de la luz incidente natural) y los dos niveles de humedad del suelo (40-60%-HB, 80-100%-HA de capacidad de campo) ensayados.

Figure 2. Principal component analysis for the variables measured in the below-ground compartment (variables described in Tables 3 and 4) under the three studied light intensities (4%-I4, 26%-I26, 64%-I64 of the natural incident irradiance) and two soil moisture levels (40-60%-HB, 80-100%-HA soil capacity) assayed.

de mayor peso fueron las biomásas (PA, PT y PH) en forma positiva y AFE y K en forma

negativa. La distancia entre centroides fue significativamente diferente entre tratamientos

Tabla 2. Promedios para las variables ecofisiológicas aéreas para las tres intensidades lumínicas (I) (4%-I4, 26%-I26, 64%-I64 de la luz incidente natural) y los dos niveles de humedad del suelo (H) (40-60%-HB, 80-100%-HA de la capacidad de campo) analizando la tasa de respiración en oscuridad (TRO) ($\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), la tasa neta de fotosíntesis en hojas saturadas de luz (TNF) ($\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), contenido de carotenoides (CAR) (mmol/m^2), clorofila A (CLA) (mmol/m^2), clorofila B (CLB) (mmol/m^2), relación entre clorofilas A/B (RAB), conductancia estomática (CE) (cm/s), nitrógeno (N) (%), carbono (C) (%), relación C/N (CN), magnesio (Mg) (%), fósforo (P) (%), potasio (K) (%), calcio (Ca) (%) y relación N/P (NP).

Table 2. Average for aerial ecophysiological variables under the three studied light intensities (I) (4%-I4, 26%-I26, 64%-I64 of the natural incident irradiance) and two soil moisture levels (H) (40-60%-HB, 80-100%-HA soil capacity) analysing rate of dark respiration (TRO) ($\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), leaf level light-saturated net photosynthesis rate (TNF) ($\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), carotenoids (CAR) (mmol/m^2), chlorophyll A (CLA) (mmol/m^2), chlorophyll B (CLB) (mmol/m^2), A/B chlorophyll ratio (RAB), stomatal conductance (CE) (cm/s), nitrogen (N) (%), carbon (C) (%), C/N ratio (CN), magnesium (Mg) (%), phosphorous (P) (%), potassium (K) (%), calcium (Ca) (%) and N/P ratio (NP).

I	H	TRO	TNF	CAR	CLA	CLB	RAB	CE	N	C	CN	Mg	P	K	Ca	NP
I	HA	-0.581	5.542	0.153	0.294	0.109	2.718	2.983	2.026	45.31	22.68	0.164	0.142	0.455	0.753	14.33
	HB	-0.760	4.777	0.145	0.321	0.112	2.867	4.722	2.320	45.02	19.47	0.189	0.133	0.625	0.909	17.39
	F	0.84	0.93	0.44	1.10	0.12	5.79	3.95	5.55	3.4	5.96	9.64	2.02	196.8	9.18	7.56
	P	0.379	0.356	0.522	0.319	0.734	0.037	0.075	0.040	0.095	0.034	0.011	0.186	<0.001	0.012	0.020
I	HA	-2.547	12.06	0.166	0.316	0.106	2.989	5.602	2.934	44.98	15.47	0.121	0.182	0.436	0.595	16.26
	HB	-1.967	11.72	0.190	0.359	0.120	2.998	4.615	2.451	44.60	18.61	0.138	0.152	0.390	0.698	16.06
	F	3.06	0.03	3.17	1.79	1.73	0.02	0.48	5.34	1.17	4.86	3.50	7.04	7.34	3.25	0.03
	P	0.110	0.865	0.105	0.211	0.218	0.895	0.505	0.043	0.304	0.052	0.090	0.024	0.021	0.101	0.876
I	HA	-1.517	7.744	0.142	0.238	0.061	3.894	2.452	1.454	44.75	31.28	0.102	0.190	0.395	0.454	7.702
	HB	-2.067	16.40	0.202	0.313	0.092	3.450	1.655	2.304	44.45	19.45	0.131	0.198	0.419	0.532	11.72
	F	0.93	23.81	9.91	3.11	5.59	20.04	2.52	48.11	1.26	35.57	14.63	0.58	3.63	5.16	18.16
	P	0.358	<0.001	0.010	0.108	0.039	0.001	0.143	<0.001	0.288	<0.001	0.003	0.463	0.085	0.046	0.001

F=prueba de Fisher, P=probabilidad a 0.05. Las diferencias significativas aparecen resaltadas en negrita entre tratamientos de humedad del suelo dentro de cada intensidad lumínica.

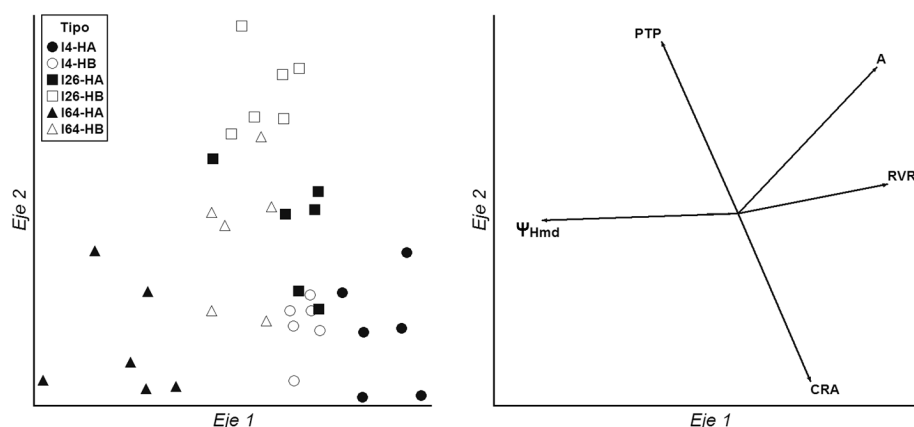


Figura 3. Análisis de componentes principales para las variables determinadas a nivel de planta entera (variables descritas en Tabla 5) para las combinaciones de las tres intensidades lumínicas (4%-I4, 26%-I26, 64%-I64 de la luz incidente natural) y los dos niveles de humedad del suelo (40-60%-HB, 80-100%-HA de la capacidad de campo) ensayados.

Figure 3. Principal component analysis for the variables measured at whole plant (variables described in Table 5) under the three studied light intensities (4%-I4, 26%-I26, 64%-I64 of the natural incident irradiance) and two soil moisture levels (40-60%-HB, 80-100%-HA soil capacity) assayed.

Tabla 3. Promedios para las variables morfológicas subterráneas para las tres intensidades lumínicas (I) (4%-I4, 26%-I26, 64%-I64 de la luz incidente natural) y los dos niveles de humedad del suelo (H) (40-60%-HB, 80-100%-HA de capacidad de campo) analizando densidad de raíces finas (DRF) (cm/cm³), medias (DRM) (cm/cm³), gruesas (DRG) (cm/cm³), total (DRT) (cm/cm³), peso de raíces finas (PRF) (g/planta), raíces gruesas (PRG) (g/planta) y peso subterráneo total (PS) (g/planta).

Table 3. Average for below-ground morphological variables under the three studied light intensities (I) (4%-I4, 26%-I26, 64%-I64 of the natural incident irradiance) and two soil moisture levels (H) (40-60%-HB, 80-100%-HA soil capacity) analysing density of fine roots (DRF) (cm/cm³), medium roots (DRM) (cm/cm³), thick roots (DRG) (cm/cm³), total roots (DRT) (cm/cm³), weight of fine roots (PRF) (g/plant), thick roots (PRG) (g/plant) and total below-ground biomass (PS) (g/plant).

I	H	DRF	DRM	DRG	DRT	PRF	PRG	PS
	HA	0.907	0.587	0.206	1.700	0.013	0.018	0.031
I	HB	0.815	0.411	0.282	1.508	0.028	0.057	0.085
4	F	0.38	9.41	0.93	0.82	9.61	8.02	11.08
	P	0.551	0.012	0.357	0.386	0.011	0.017	0.007
I	HA	0.962	0.542	0.198	1.703	0.043	0.057	0.100
2	HB	0.657	0.578	0.152	1.386	0.048	0.079	0.127
6	F	3.50	0.16	0.23	2.50	0.31	4.97	4.51
	P	0.090	0.698	0.644	0.144	0.590	0.049	0.059
I	HA	0.823	0.387	0.224	1.434	0.063	0.072	0.135
6	HB	1.196	0.676	0.261	2.132	0.037	0.076	0.113
4	F	4.02	4.61	0.11	7.68	4.37	0.05	0.60
	P	0.072	0.057	0.748	0.019	0.063	0.834	0.457

F=prueba de Fisher, P=probabilidad a 0.05. Las diferencias significativas aparecen resaltadas en negrita entre tratamientos de humedad del suelo dentro de cada intensidad lumínica.

($F=6.59$; $P<0.01$) diferenciando los dos niveles de humedad bajo alta luminosidad (I64-HA e I64-HB), de I26-HB, y de los tratamientos en I4, que a su vez no se diferenciaron entre sí, como tampoco I26-HA de I26-HB ni de I64-HB. Por otra parte, la dispersión de los datos de algunos tratamientos se diferenciaron significativamente entre sí ($F=6.21$; $P<0.01$) como los de I64, cuyos muestreos fueron más heterogéneos que los de I26 e I4.

Parte subterránea

Las mayores diferencias a nivel del compartimiento subterráneo se detectaron en el tratamiento I4, donde 4 de las 7 variables presentaron diferencias significativas entre los diferentes niveles de humedad ensayados (Tabla 3). La densidad de raíces medias (DRM) fue significativamente mayor en HB que en HA, al igual que las biomásas radicales (PRF, PRG y PS). Para el tratamiento I26, sólo se detectaron diferencias significativas en el peso de raíces gruesas (PRG), que también fue mayor en HB. Finalmente, para altos niveles de luz (I64) sólo se encontraron diferencias en la densidad de raíces totales (DTR), siendo también mayor en HB.

Al analizar los contenidos de nutrientes en el compartimiento subterráneo (Tabla 4) se encontraron diferencias para tres variables en I4, siendo mayor C y K en HB, y P en HA. El tratamiento I26 presentó diferencias significativas en seis de las siete variables analizadas, siendo CN, Mg, K y Ca mayor en HB, y N y P en HA. Finalmente, en el tratamiento I64, las diferencias estuvieron relacionadas al nitrógeno (N y CN); N fue mayor en HB y CN en HA.

El ordenamiento de las variables utilizadas para caracterizar el compartimiento subterráneo (Figura 2) separó claramente los tratamientos de menor disponibilidad de luz (I4-HA e I4-HB) del resto, cuyos valores más disímiles se presentaron en I64-HA. Las variables más correlacionadas con el eje 1 fueron PS y PRF en forma positiva, y K y Mg en forma negativa. Para el eje 2, las variables de mayor peso fueron CN en forma positiva, y DRT y DRF en forma negativa. La distancia entre centroides fue significativamente diferente entre tratamientos ($F=8.40$; $P<0.01$) diferenciando los tratamientos de luz y humedad entre sí, mientras que algunas de las dispersiones de los tratamientos también fueron significativamente diferentes entre sí ($F=4.85$; $P=0.002$) siendo I4-HA más homogéneo que I4-HB e I26-HA, y estos a su vez que I64-HA, sin que se encontraran diferencias en la dispersión de I26-HB con los más homogéneos ni I64-HB con los más heterogéneos.

Tabla 4. Promedios para las variables ecofisiológicas subterráneas para las tres intensidades lumínicas (I) (4%-I4, 26%-I26, 64%-I64 de la luz incidente natural) y los dos niveles de humedad del suelo (H) (40-60%-HB, 80-100%-HA de la capacidad de campo) analizando nitrógeno (N) (%), carbono (C) (%), relación C/N (CN), magnesio (Mg) (%), fósforo (P) (%), potasio (K) (%) y calcio (Ca) (%).

Table 4. Average for below-ground ecophysiological variables under the three studied light intensities (I) (4%-I4, 26%-I26, 64%-I64 of the natural incident irradiance) and two soil moisture levels (H) (40-60%-HB, 80-100%-HA soil capacity) analysing nitrogen (N) (%), carbon (C) (%), C/N ratio (CN), magnesium (Mg) (%), phosphorous (P) (%), potassium (K) (%) and calcium (Ca) (%).

I	H	N	C	CN	Mg	P	K	Ca
	HA	1.226	44.20	37.20	0.144	0.135	0.390	0.412
I	HB	1.324	45.43	34.45	0.132	0.103	0.455	0.389
4	F	0.85	20.48	0.87	3.98	12.72	14.18	0.87
	P	0.379	0.001	0.371	0.074	0.005	0.003	0.373
	HA	1.732	43.86	25.39	0.090	0.123	0.254	0.272
I	HB	1.095	43.99	43.58	0.129	0.112	0.294	0.426
2	F	21.07	0.23	10.06	29.66	8.29	10.45	65.24
6	P	0.001	0.642	0.009	<0.001	0.012	0.009	<0.001
	HA	0.735	43.56	60.91	0.090	0.132	0.249	0.272
I	HB	1.266	43.25	34.71	0.104	0.132	0.249	0.304
6	F	37.93	1.17	23.94	4.70	0.00	0.00	1.35
4	P	<0.001	0.305	<0.001	0.055	0.972	0.986	0.273

F=prueba de Fisher, P=probabilidad a 0.05. Las diferencias significativas aparecen resaltadas en negrita entre tratamientos de humedad del suelo dentro de cada intensidad lumínica.

Planta entera

Al analizar las variables morfológicas y ecofisiológicas a nivel de planta entera (Tabla 5), las mayores diferencias se encontraron en I64; se incrementaron los valores absolutos de la altura de las plántulas (A) y la relación vástago/raíz (RVR) en HB y el contenido relativo de agua en hojas (CRA) y el potencial agua de los brotes apicales (ψ_{Hmd}) en HA. En el tratamiento I26 sólo se detectaron diferencias para el peso total de la planta (PTP); los valores absolutos fueron mayores en HB. Finalmente,

dos variables presentaron diferencias para I4, donde RVR tuvo mayores valores absolutos en HA y PTP en HB.

El ordenamiento de las variables utilizadas para caracterizar a la planta entera separó los tratamientos de luz y humedad, excepto I26-HA que se entremezclaron con I4-HB, I26-HB e I64-HB (Figura 3). Las variables más correlacionadas con el eje 1 fueron RVR y A en forma positiva, y ψ_{Hmd} en forma negativa. Para el eje 2, las variables de mayor peso fueron PTP y A en forma positiva, y CRA en forma negativa. La distancia entre centroides de los tratamientos fue significativamente diferente ($F=16.21; P<0.01$); se diferenciaron tratamientos de luz y humedad entre sí, mientras que no se encontraron diferencias significativas entre sus dispersiones ($F=0.19; P=0.965$).

DISCUSIÓN

La plasticidad fenotípica permite modificar la fisiología y morfología de las plántulas frente a nuevas condiciones ambientales, pudiendo incluir respuestas a corto y largo plazo (Larcher 2003). En nuestros ensayos, una estación de crecimiento fue suficiente para generar cambios significativos en las plántulas de *N. pumilio* en variables morfológicas y ecofisiológicas a nivel de parte aérea, subterránea y/o de planta entera. Esta plasticidad podría permitir a las plántulas mejorar su crecimiento y supervivencia frente a cambios en las condiciones ambientales en el campo (Grime 1979; Hart et al. 2003; Frangi et al. 2005; Lencinas et al. 2007), incluyendo cambios nutricionales a nivel de los tejidos (e.g., cambios en los contenidos de N, Mg, P, K y Ca o en sus relaciones como CN o NP). En general, el crecimiento aéreo de las plántulas de *N. pumilio* en suelos con alto contenido de humedad (80-100% de capacidad de campo) fue desfavorable en comparación con suelos menos húmedos (40-60% de capacidad de campo), presentando menores tasas de crecimiento y limitaciones ecofisiológicas. En nuestros ensayos, en las variables morfológicas, los suelos menos húmedos generaron hojas más largas y anchas (lo que afectó su forma y área), mayor área foliar, mayores biomásas,

Tabla 5. Promedios para las variables morfológicas y ecofisiológicas a nivel de planta entera para las tres intensidades lumínicas (I) (4%-I4, 26%-I26, 64%-I64 de la luz incidente natural) y los dos niveles de humedad del suelo (H) (40-60%-HB, 80-100%-HA de la capacidad de campo) analizando altura de las plántulas (A) (cm), relación vástago-raíz (RVR), peso total (PTP) (g/planta), contenido relativo de agua en hojas (CRA) (%) y potencial agua de los brotes apicales (ψ_{Hmd}) (MPa).

Table 5. Average at whole plant level for the morphological and ecophysiological variables under the three studied light intensities (I) (4%-I4, 26%-I26, 64%-I64 of the natural incident irradiance) and two soil moisture levels (H) (40-60%-HB, 80-100%-HA soil capacity) analysing total height (A) (cm), above- and below-ground biomass ratio (RVR), total weight (PTP) (g/plant), relative water content in leaves (CRA) (%) and water potential in apical sprouts (ψ_{Hmd}) (MPa).

I	H	A	RVR	PTP	CRA	ψ_{Hmd}
	HA	13.520	3.572	0.135	0.851	-1.368
I	HB	12.427	1.626	0.217	0.843	-1.421
4	F	1.08	18.16	3.42	0.08	0.64
	P	0.323	0.001	0.029	0.787	0.443
	HA	14.500	2.240	0.319	0.789	-1.633
I	HB	16.870	2.722	0.468	0.698	-1.707
2	F	4.62	2.22	12.35	3.66	1.62
6	P	0.057	0.167	0.005	0.085	0.232
	HA	6.587	1.186	0.290	0.798	-2.245
I	HB	12.040	1.589	0.293	0.724	-1.853
6	F	18.05	7.79	0.00	8.17	26.79
4	P	0.001	0.019	0.959	0.017	<0.001

F=prueba de Fisher, P=probabilidad a 0.05. Las diferencias significativas aparecen resaltadas en negrita entre tratamientos de humedad del suelo dentro de cada intensidad lumínica.

mayor densidad de raíces totales, mayores biomasa de raíces y mayores alturas. Este efecto fue más intenso en luminosidades altas (tratamiento I64) (Lencinas et al. 2007), lo que también ha sido citado para varias especies de *Quercus*, en las que la dinámica de crecimiento de las plántulas varió de acuerdo a las condiciones de humedad y luz durante el verano (Davis et al. 1999). Asimismo, Sun et al. (1995) reportan

una disminución de 60-65% en la tasa de fotosíntesis neta en plántulas de *N. solandri* y *N. menziesii* en suelos con mayores contenidos de agua que los aquí ensayados (suelos con signos de anegamiento). Cabe mencionar que los contenidos de humedad ensayados se correspondieron con los encontrados en condiciones de campo para bosques primarios y manejados de *N. pumilio* en Tierra del Fuego (Frangi & Richter 1994; Caldentey et al. 1999-2000).

Desde una perspectiva de planta entera, las principales modificaciones observadas en la literatura se centran en la partición de la biomasa, el desarrollo del follaje y los reemplazos en la producción de los tejidos como determinantes para la intercepción de la luz, la absorción del agua y el balance de carbono (Walters & Reich 1999; Lusk & Piper 2007). Este último juega un rol fundamental en la tolerancia de las plantas a la falta de luz (Lusk 2004), donde la aclimatación a las diferentes condiciones ambientales es determinante. Los cambios en la disponibilidad de luz y humedad del suelo pueden conducir a diferencias en las características fotosintéticas (Lusk & del Pozo 2002; Martínez Pastur et al. 2007), en la anatomía de las hojas, y consiguientemente, en el crecimiento de las plántulas (Tognetti et al. 1998; Lencinas et al. 2007). En nuestros ensayos casi no se detectaron cambios significativos en la anatomía de las hojas, pero sí, tendencias como las descritas en la bibliografía (e.g., mayor proporción de parénquima esponjoso en altas luminosidades) (Rôças et al. 1997). Asimismo, la humedad del suelo aumentó en ~10% el contenido relativo de aguas de las hojas (CRA). Por otra parte, la partición de la biomasa producida varía de acuerdo con la disponibilidad de agua y luz (Aussenac 2000), como también ocurre en *Fagus sylvatica* (Ammer 2003; Reynolds & Frochot 2003). En las plántulas de *N. pumilio*, la biomasa total y por compartimiento, así como muchas de las variables ecofisiológicas medidas, variaron en forma diferencial según el régimen hídrico-lumínico (Peri et al. 2009). En nuestros ensayos, los mayores valores de biomasa total se obtuvieron bajo una luminosidad intermedia (I26) y en bajos contenidos de humedad (HB), en coincidencia con los

mejores comportamientos ecofisiológicos (e.g., mayores tasas fotosintéticas). Sin embargo, algunas variables no presentaron tendencias claras [e.g., la relación vástago-raíz (RVR)]. En bajas luminosidades (I4) era de esperar una mayor producción de biomasa aérea ya que la luz es el factor limitante tal como se observó con una alta humedad en el suelo (HA), en comparación con medias y altas luminosidades (I26 e I64). Sin embargo, en menores contenidos hídricos, esta proporción fue mayor en I26, en coincidencia con las mejores condiciones de crecimiento. Numerosos estudios demostraron que especies demandantes de luz maximizan su potencial de crecimiento al desarrollar una alta área foliar, destinando más fotosintatos al crecimiento, y poco a defensas o acumulación (Lusk & del Pozo 2002). Es por ello, que en plantas con alta tolerancia a la sombra, el crecimiento se sacrifica en favor de la persistencia (Walters & Reich 1999; Lusk & del Pozo 2002).

La relación entre clorofilas A/B (RAB) en los tratamientos de baja y alta intensidad de luz es característica de hojas adaptadas a la sombra y a la exposición directa del sol, respectivamente (Damesin 2003), donde los valores encontrados en este trabajo son similares o levemente menores que los reportados para otras especies de *Nothofagus* (Hogan et al. 1997; Zúñiga et al. 2006). Asimismo, la intensidad de luz y la humedad del suelo influyeron sobre el contenido de clorofila de las hojas de *N. pumilio*. La clorofila B fue significativamente menor en I64, lo que podría explicarse por la destrucción de pigmentos (clorofila A) por fotoinhibición (Larcher 2003; Zúñiga et al. 2006). Por otra parte, el contenido de pigmentos en las hojas está estrechamente relacionado a la concentración de nutrientes en los tejidos (Larcher 2003), debido a la composición química de los pigmentos, como así también relacionado con otros procesos fisiológicos (Damesin 2003). Las bajas concentraciones de N y Mg en las plántulas de *N. pumilio* podrían asociarse a los contenidos bajos de clorofilas A y B en el tratamiento I64-HA. De acuerdo a la bibliografía, esto podría estar afectando la formación de los cloroplastos (Field & Mooney

1986; Larcher 2003) y la eficiencia fotosintética de las plántulas (Martínez Pastur et al. 2007).

La disminución del área foliar observada en las plántulas creciendo con elevada intensidad de luz está asociada a mecanismos de las plántulas que les permiten limitar la evapotranspiración. Esta reducción en la evapotranspiración podría adecuar el nivel hídrico de la planta, y mejorar la actividad fotosintética y el crecimiento de la misma (Aussenac 2000). En nuestros ensayos, el área foliar por planta se incrementó con la luminosidad (de I4 a I26), pero disminuyó en los mayores niveles (I64). Asimismo, el área foliar fue mayor en menores (HB) que en mayores contenidos hídricos (HA) del suelo. Los niveles de humedad en el suelo como los aquí ensayados (80-100% de la capacidad de campo) pueden llegar a limitar el crecimiento radical de las plántulas por déficit de O₂ [40-60% de capacidad de campo es suficiente para lograr una mayor tasa de crecimiento potencial (Martínez Pastur et al. 2007)]. Para optimizar el crecimiento de las plántulas se deben combinar, al menos, los dos factores estudiados. Por un lado, altos niveles de luminosidad para alcanzar la máxima expresión de la tasa fotosintética potencial, y por el otro niveles adecuados de humedad, de modo de no limitar el crecimiento de las raíces. Si bien en nuestro estudio bajo condiciones controladas, la mortalidad fue escasa, se sabe que el grado de sombra que reciben las plántulas de especies leñosas puede, alternativamente, facilitar o inhibir la supervivencia de las mismas, dependiendo de las condiciones hídricas del suelo (Holmgren et al. 1997). Las plantas leñosas presentan marcadas diferencias en la respuesta y tolerancia al estrés hídrico. En general, un exceso de agua en el suelo produce una inadecuada aireación, que conduce a la rápida disminución del oxígeno disponible para las raíces que es capaz de inducir cambios ecofisiológicos y morfológicos de las mismas, afectando la mineralización y solubilidad de las sustancias minerales del suelo, pudiendo conducir a la formación de compuestos fitotóxicos en los tejidos (Sun et al. 1995). Es posible que la menor biomasa y densidad de raíces generada en las plántulas de *N. pumilio*

creciendo en I64-HA en comparación con I64-HB se deba a que la especie no tolera los niveles de humedad del suelo aquí ensayados, y a que las raíces más finas no se desarrollarían adecuadamente en suelos con altos niveles de humedad (en este trabajo no se llegaron a detectar diferencias significativas), y podría influir sobre la capacidad de crecimiento de las plántulas que se vio reflejado en las variables ecofisiológicas analizadas. Por ejemplo, los niveles de potencial agua (ψ_{Hmd}) son mayores en I64 bajo HA que en HB, tal como ocurre en el resto de los tratamientos. La mayor humedad en el suelo, además, afectó negativamente los contenidos de ambas clorofilas en las hojas, pudiendo ser una consecuencia del inadecuado desarrollo de las raíces (Lencinas et al. 2007; Martínez Pastur et al. 2007) que podrían afectar la captación de nutrientes y la subsiguiente formación de pigmentos, como fue descrito por Rojas (2007) para *N. nitida*.

En este trabajo fue posible registrar cambios morfológicos y ecofisiológicos de plántulas de *N. pumilio* en condiciones controladas, al variarse las condiciones de humedad del suelo a lo largo de un gradiente de luminosidad. Sin embargo, contrariamente a la primera hipótesis planteada, bajo menores niveles de humedad (40-60% de la capacidad de campo) se obtuvieron plántulas mejor aclimatadas, las que generaron mejores crecimientos. Por otra parte, la respuesta del crecimiento a distintos niveles de humedad del suelo dependió de la disponibilidad de luz (segunda hipótesis), donde niveles medios de luminosidad generaron los mejores crecimientos. Niveles altos de luminosidad generaron interacciones negativas para el crecimiento de las plántulas de *N. pumilio*. Estas interacciones entre tratamientos se reflejan en los análisis multivariados, donde las mayores separaciones entre combinaciones de humedad se observan bajo una luminosidad elevada (I64).

Dentro de la sucesión forestal, las especies puede clasificarse como pioneras, no pioneras o clímax (Lusk & del Pozo 2002). Los cambios que pueden observarse durante la sucesión secundaria pueden asociarse a las tasas de crecimiento de las especies en condiciones de alta luminosidad y/o su supervivencia

bajo condiciones de intensidad baja de luz (Kobe et al. 1995; Lusk & del Pozo 2002). *N. pumilio* puede asociarse a ambas condiciones (Gutiérrez 1994), y puede sobrevivir tanto bajo el denso dosel como ajustarse a condiciones de alta luminosidad con altas tasas de crecimiento (Martínez Pastur et al. 2007; Lencinas et al. 2007). En este trabajo se pudieron poner en evidencia cambios en las variables anatómicas, de composición química y de relaciones hídricas en *N. pumilio*, que mostró una plasticidad alta para sobrevivir a condiciones variadas de humedad del suelo e intensidades lumínicas.

Mejorar el entendimiento sobre la interacción del microclima y la ecofisiología de los árboles, en especial en cuanto a la humedad del suelo y luz disponibles, permite generar prácticas silvícolas viables y útiles para su manejo (Aussenac 2000). Cabe destacar que los cambios en las variables morfológicas y ecofisiológicas observadas en las plántulas de *N. pumilio* a lo largo de gradientes hídricos y lumínicos tienen una importancia enorme para la definición de nuevas estrategias de manejo forestal (e.g., Martínez Pastur et al. 2009). En los bosques mésicos (e.g., Patagonia sur), aperturas pequeñas o medianas del dosel resultan en una abundante regeneración (Gea et al. 2004; Rosenfeld et al. 2006), mientras que en condiciones más xéricas (e.g., Patagonia norte), donde la humedad del suelo es el factor determinante, la regeneración sólo ocurrirá en determinadas condiciones ambientales (Heinemann et al. 2000). De acuerdo a los resultados aquí presentados, la regeneración de *N. pumilio* tiene la capacidad de ajustarse rápidamente a los cambios potenciales que pueda generar el manejo forestal.

AGRADECIMIENTOS

A Emilce Gallo, Juan Manuel Cellini y Enrique Barrio que colaboraron en la toma de datos y procesamiento de las muestras. Este trabajo fue financiado parcialmente con fondos de los proyectos PAE2004 22428 (ANPCyT de Argentina) y BOSAMCA MIA (CATIE de Costa Rica).

BIBLIOGRAFÍA

- AMMER, C. 2003. Growth and biomass partitioning of *Fagus sylvatica* L. and *Quercus robur* L. seedlings in response to shading and small changes in the R/FR-ratio of radiation. *Ann. For. Sci.* **60**:163-171.
- ANDERSON, MJ. 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Aust. Ecol.* **26**:32-46.
- ANDERSON, MJ & CJF TER BRAAK. 2003. Permutation tests for multifactorial analysis of variance. *J. Statistical Computation and Simulation* **73**:85-113.
- AUSSENAC, G. 2000. Interactions between forest stands and microclimate: ecophysiological aspects and consequences for silvicultura. *Ann. For. Sci.* **57**:287-301.
- CALDENTY, J. 1992. Acumulación de nutrientes en rodales naturales de lenga (*Nothofagus pumilio*) en Magallanes. Chile. *Cienc. For.* **8**:19-25.
- CALDENTY, J; A PROMIS; H SCHMIDT & M IBARRA. 1999-2000. Variación microclimática causada por una corta de protección en un bosque de lenga (*Nothofagus pumilio*). *Cienc. For.* **14**(2):51-59.
- CALDENTY, J; H MAYER; M IBARRA & A PROMIS. 2009. The effects of a regeneration felling on photosynthetic photon flux density and regeneration growth in a *Nothofagus pumilio* forest. *Eur. J. For. Res.* **128**:75-84.
- CUEVAS, J. 2002. Episodic regeneration at the *Nothofagus pumilio* alpine timberline in Tierra del Fuego, Chile. *Ecology* **90**:52-60.
- DAMESIN, C. 2003. Respiration and photosynthesis characteristics of current-year stems of *Fagus sylvatica*: from the seasonal pattern to an annual balance. *New Phytol.* **158**:465-475.
- DAVIS, MA; KJ WRAGE; PB REICH; MG TJOELKER; T SCHAEFFER; ET AL. 1999. Survival, growth, and photosynthesis of tree seedlings competing with herbaceous vegetation along a water-light-nitrogen gradient. *Plant Ecol.* **145**:341-350.
- EVANS, JR & H POORTER. 2001. Photosynthetic acclimation of plants to growth irradiance: the relative importance of specific leaf area and nitrogen partitioning in maximizing carbon gain. *Plant Cell Environ.* **24**:755-767.
- FIELD, C & HA MOONEY. 1986. The photosynthesis - nitrogen relationship in wild plants. In *On the economy of plant form and function*. Pp. 25-55 en: Givnish, TJ (ed.). Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- FRANGI, JL & L RICHTER. 1994. Balances hídricos de bosques de *Nothofagus* de Tierra del Fuego, Argentina. *Rev. Fac. Agron. La Plata* **70**:65-79.
- FRANGI, J; M BARRERA; L RICHTER & A LUGO. 2005. Nutrient cycling in *Nothofagus pumilio* forests along an altitudinal gradient of Tierra del Fuego, Argentina. *For. Ecol. Manage.* **217**:80-94.
- GEA, G; G MARTÍNEZ PASTUR; JM CELLINI & MV LENCINAS. 2004. Forty years of silvicultural management in southern *Nothofagus pumilio* (Poepp. et Endl.) Krasser primary forests. *For. Ecol. Manage.* **201**:335-347.
- GRIME, JP. 1979. *Plant strategies and vegetation processes*. New York, USA, John Wiley & Sons.
- GUTIÉRREZ, E. 1994. Els boscos de *Nothofagus* de la Terra del Foc com a paradigma de dinàmica successional del no-equilibri. *Treballs de la SCB.* **45**:93-121.
- HART, P; P CLINTON; R ALLEN; A NORDMEYER & G EVANS. 2003. Biomass and macro-nutrients (above and below- ground) in a New Zealand beech (*Nothofagus*) forest ecosystem: implications for storage and sustainable forest management. *For. Ecol. Manage.* **174**:281-294.
- HEINEMANN, K; TH KITZBERGER & TH VEBLEN. 2000. Influences of gap microheterogeneity on the regeneration of *Nothofagus pumilio* in a xeric old-growth forest of northwestern Patagonia, Argentina. *Can. J. For. Res.* **30**:25-31.
- HOGAN, KP; I FLECK; R BUNGARD; JM CHEESEMAN & D WHITEHEAD. 1997. Effect of elevated CO₂ on the utilization of light energy in *Nothofagus fusca* and *Pinus radiata*. *J. Exp. Bot.* **311**(48):1289-1297.
- HOLMGREN, M; M SCHEFFER & MA HUSTON. 1997. The interplay of facilitation and competition in plant communities. *Ecology* **78**:1966-1975.
- KEEL, S; S PEPIN; S LEUZINGER & CH KORNE. 2007. Stomatal conductance in mature deciduous forest trees exposed to elevated CO₂. *Trees* **21**:151-159.
- KOBE, RK; S PACALA; J SILANDER & C CANHAM. 1995. Juvenile tree survivorship as a component of shade-tolerance. *Ecol. Appl.* **5**:517-532.
- LARCHER, W. 2003. *Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups*. Springer-Verlag, Alemania. Pp. 513.
- LENCINAS, MV; G MARTÍNEZ PASTUR; A MORETTO; E GALLO & C BUSSO. 2007. Producción diferencial de biomasa en plántulas de *Nothofagus pumilio* bajo gradientes de luz y humedad del suelo. *Bosque* **28**(3):241-248.
- LICHTENTHALER, HK; A AC; M MAREK; J KALINA & O URBAN. 2007. Differences in pigment composition, photosynthetic rates and chlorophyll fluorescence images of sun and shade leaves of four tree species. *Plant Physiol. Biochem.* **45**:577-588.
- LIEFFERS, V; C MESSIER; F GENDRON; K STADT & P COMEAU. 1999. Predicting and managing light in understory of boreal forests. *Can. J. For. Res.* **29**:796-811.

- LUSK, CH & A DEL POZO. 2002. Survival and growth of seedlings of 12 Chilean rainforest trees in two light environments: Gas exchange and biomass distribution correlates. *Aust. Ecol.* **27**:173-182.
- LUSK, CH. 2004. Leaf area and growth of juvenile temperate evergreens in low light: species of contrasting shade tolerance change rank during ontogeny. *Funct. Ecol.* **18**:820-828.
- LUSK, CH & F PIPER. 2007. Seedling size influences relationships of shade tolerance with carbohydrate-storage patterns in a temperate rainforest. *Funct. Ecol.* **21**:78-86.
- MARTÍNEZ PASTUR, G; MV LENCINAS; P PERI & M ARENA. 2007. Photosynthetic plasticity of *Nothofagus pumilio* seedlings to light intensity and soil moisture. *For. Ecol. Manage.* **243**(2):274-282.
- MARTÍNEZ PASTUR, G; MV LENCINAS; JM CELLINI; P PERI & R SOLER ESTEBAN. 2009. Timber management with variable retention in *Nothofagus pumilio* forests of Southern Patagonia. *For. Ecol. Manage.* **258**:436-443.
- PERI, P; V GARGAGLIONE & G MARTÍNEZ PASTUR. 2006. Dynamics of above- and below-ground biomass and nutrient accumulation in an age sequence of *Nothofagus antarctica* forest of Southern Patagonia. *For. Ecol. Manage.* **233**(1):85-99.
- PERI, P; V GARGAGLIONE & G MARTÍNEZ PASTUR. 2008. Above and belowground nutrients storage and biomass accumulation in marginal *Nothofagus antarctica* forests in Southern Patagonia. *For. Ecol. Manage.* **255**(7):2502-2511.
- PERI, P; G MARTÍNEZ PASTUR & MV LENCINAS. 2009. Photosynthetic response to different light intensities and water status of two main *Nothofagus* species of southern Patagonian forest, Argentina. *Forest Science* **55**(3):101-111.
- REYNOLDS, PE & H FROCHOT. 2003. Photosynthetic acclimation of beech seedlings to full sunlight following a major windstorm event in France. *Ann. For. Sci.* **60**:701-709.
- Rôças, G; CF Barros & FR Scarano. 1997. Leaf anatomy plasticity of *Alchornea triplinervia* (Euphorbiaceae) under distinct light regimes in a Brazilian montane Atlantic rain forest. *Trees* **11**(8):469-473.
- ROJAS, PA. 2007. *Estudio del efecto del anegamiento prolongado en las especies Nothofagus dombeyi (Mirb.) Oerst, Nothofagus nitida (Phil.) Krasser y Nothofagus betuloides (Mirb) Blume.* Tesis de Doctorado. Valdivia, Chile: Universidad Austral de Chile.
- ROMANYA, J; J FONS; T SAURAS-YERA; E GUTIÉRREZ & VR VALLEJO. 2005. Soil plant relationships and tree distribution in old growth *Nothofagus betuloides* and *Nothofagus pumilio* forests of Tierra del Fuego. *Geoderma* **124**:169-180.
- ROSENFELD, JM; RM NAVARRO CERRILLO & JR GUZMÁN ÁLVAREZ. 2006. Regeneration of *Nothofagus pumilio* (Poepp. et Endl.) Krasser forests after five years of seed tree cutting. *J. Environ. Manage.* **78**:44-51.
- RUZIN, SE. 1999. Plant microtechnique and microscopy. Oxford University Press, USA. Pp. 322.
- SIMS, DA & JA GAMON. 2002. Relationship between pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. *Remote Sens. Environ.* **81**:337-354.
- SUN, OJ; GB SWEET; D WHITEHEAD & GD BUCHAN. 1995. Physiological responses to water stress and waterlogging in *Nothofagus* species. *Tree Physiol.* **15**:629-638.
- TOGNETTI, R; G MINOTTA; S PINZAUTI; M MICHELOZZI & M BORGHETTI. 1998. Acclimation to changing light conditions of long-term shade-grown beech (*Fagus sylvatica*) seedlings of different geographic origins. *Trees* **12**:326-333.
- VALLADARES, F; E MARTÍNEZ-FERRI; L BALAGUER; E PÉREZ-CORONA & E MANRIQUE. 2000. Low leaf-level response to light and nutrients in Mediterranean evergreen oaks: a conservative resource-use strategy? *New Phytol.* **148**:79-91.
- WALTERS, MB & PB REICH. 1999. Low-light carbon balance and shade tolerance in the seedlings of woody plants: Do winter deciduous and broad-leaved evergreen species differ? *New Phytol.* **143**:143-154.
- YAMASAKI, S & L DILLENBURG. 1999. Measurements of leaf relative water content in *Araucaria angustifolia*. *Rev. Brasileira de Fisiologia Vegetal* **11**(2):69-75.
- ZÚÑIGA, R; M ALBERDI; M REYES-DÍAZ; E OLIVARES; S HESS; ET AL. 2006. Seasonal changes in the photosynthetic performance of two evergreen *Nothofagus* species in south central Chile. *Rev. Chil. Hist. Nat.* **79**:489-504.