

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**EFFECTOS DEL DEFICIT HIDRICO SOBRE VARIABLES HÍDRICO-  
FUNCIONALES EN *Eucalyptus grandis* E HÍBRIDOS  
INTERESPECÍFICOS**

**por**

**Juan Ignacio VILLAR TREGARTHEN**

**Trabajo final de grado  
presentado como uno de los  
requisitos para obtener el  
título de Ingeniero Agrónomo**

**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2024**

HOJA DE APROBACION

Trabajo final de grado aprobado por:

Director/a:

---

Ing.Agr.(Mag.) José Gándara

Tribunal:

---

Ing.Agr.(Mag.) José Gándara

---

Ing.Agr.(Mag.) Silvia Ross

---

Ing.Agr.(MSc.) Matías Nión

Fecha:

28 de febrero de 2024

Estudiante:

---

Juan Ignacio Villar

## AGRADECIMIENTOS

A mi familia, especialmente a mis padres, Pablo y Marcela, que han sido mis pilares en esta etapa tan especial. Sin su apoyo y motivación no hubiera sido posible cumplir este sueño.

A mi abuelo por siempre estar presente, por aquellas charlas que tanto motivaron a seguir este camino, además de ser un apoyo incondicional en el transcurso de estos años.

A mi prometida Rut, que, a pesar de haberme acompañado a partir de la mitad de la carrera, ha sido mi gran apoyo emocional. A mi tutor José, por su gran labor, acompañándome en este gran proceso y por ayudarme a entender más en profundidad el mundo de la fisiología vegetal.

A la empresa LUMIN S.A por su colaboración y apoyo constantes durante el trabajo.

## TABLA DE CONTENIDO

HOJA DE APROBACION .....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
LISTA DE FIGURAS Y TABLAS.....	6
RESUMEN.....	8
SUMMARY.....	9
1. INTRODUCCIÓN .....	10
1.1 OBJETIVOS .....	11
1.1.1. Objetivo general .....	11
1.1.2. Objetivos específicos.....	11
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	12
2.1. ESPECIES DE <i>Eucalyptus</i> DE INTERÉS COMERCIAL.....	12
2.2. EVALUACIÓN DEL ESTADO HÍDRICO EN VEGETALES.....	12
2.2.1. Potencial hídrico.....	12
2.2.2. Conductancia estomática (gs).....	14
2.2.3. Contenido relativo de agua (CRA).....	15
2.2.4. Curvas de presión-volumen y parámetros asociados.....	15
2.2.5. Estado hídrico y contenido de clorofila.....	17
2.3. VARIABLES HÍDRICO-FUNCIONALES .....	18
2.3.1. Cavitación y embolia .....	18
2.3.2. Conductividad hidráulica ( $k_H$ ).....	20
2.3.3. Conductividad hidráulica específica ( $k_s$ ).....	20
2.3.4. Conductividad hidráulica foliar específica ( $k_L$ ) .....	20
2.3.5. Pérdida porcentual de conductividad hidráulica (PLC).....	21
2.3.6. Crecimiento y variables hídricas.....	21
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
3.1. INSTALACIÓN DEL ENSAYO.....	23
3.2. METODOLOGÍA.....	23
3.2.1. Preparación de material vegetal.....	23
3.2.2. Diseño experimental.....	23
3.2.3. Tratamiento de riego .....	23
3.3. EVALUACIÓN DEL ESTADO HÍDRICO Y VARIABLES FUNCIONALES .....	24
3.3.1. Potencial hídrico foliar ( $\Psi$ ).....	24
3.3.2. Conductancia estomática (gs).....	24

3.3.3. Contenido relativo de agua foliar (CRA) .....	25
3.3.4. Curvas presión-volumen (P-V) .....	25
3.3.5. Conductividad hidráulica ( $k_H$ , $k_S$ , $k_L$ ) .....	25
3.3.6. Área foliar de planta (AF) y área foliar específica (AFE) .....	27
3.3.7. Contenido de clorofila .....	27
3.3.8. Altura y diámetro de planta .....	27
3.3.9. Temperatura y humedad ambiente .....	27
3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	27
4. RESULTADOS .....	29
4.1. POTENCIAL HÍDRICO FOLIAR .....	29
4.1.1. Potencial hídrico base ( $\Psi_b$ ) .....	29
4.1.2. Potencial hídrico mediodía ( $\Psi_{md}$ ) .....	30
4.1.3. Gradiente de potencial hídrico ( $\Delta\Psi$ ) .....	32
4.2. CONTENIDO RELATIVO DE AGUA EN HOJA (CRA) .....	34
4.3. CONDUCTANCIA ESTOMÁTICA .....	34
4.4. RELACIÓN ENTRE $\Psi$ Y CONDUCTANCIA ESTOMÁTICA .....	35
4.5. CURVAS PRESIÓN-VOLUMEN (P-V) .....	37
4.5.1. Módulo de elasticidad de pared ( $\epsilon$ ) .....	38
4.5.2. Potencial osmótico en turgencia máxima ( $\Psi_{\pi_t}$ ) .....	39
4.5.3. Potencial osmótico en plasmólisis ( $\Psi_{\pi_0}$ ) .....	40
4.6. CONDUCTIVIDAD HIDRÁULICA .....	41
4.7. CORRELACIÓN ENTRE PARÁMETROS HÍDRICOS E HIDRÁULICOS .....	42
4.8. ÁREA FOLIAR DE PLANTA Y ÁREA FOLIAR ESPECÍFICA (AFE) .....	43
4.9. CONTENIDO DE CLOROFILA .....	44
4.10. CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS .....	45
5. DISCUSIÓN .....	48
5.1. ESTADO HÍDRICO Y ACTIVIDAD TRANSPIRATORIA .....	48
5.2. MECANISMOS DE RESPUESTA AL DÉFICIT HÍDRICO .....	49
5.2.1. Hídrico-funcionales ( $\epsilon$ , $\Psi_{\pi}$ , AFE) .....	49
5.2.2. Conductividad hidráulica ( $k_S$ ), cavitación (PLC) y estado hídrico .....	50
5.3. CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS Y ESTADO HÍDRICO .....	51
6. CONCLUSIONES .....	52
7. BIBLIOGRAFIA .....	53

LISTA DE FIGURAS Y TABLAS

<b>Figura No.</b>	<b>Página</b>
<b>Figura No. 1.</b> Potencial hídrico base ( $\Psi_b$ , MPa $\pm$ E.E.) por clon y tratamiento en el ciclo 1 de estrés-recuperación .....	29
<b>Figura No. 2.</b> Potencial hídrico base ( $\Psi_b$ , MPa $\pm$ E.E.) por clon y tratamiento en el ciclo 2 de estrés-recuperación .....	30
<b>Figura No. 3.</b> Potencial hídrico mediodía ( $\Psi_{md}$ , MPa $\pm$ E.E.) por clon y tratamiento en el ciclo 1 de estrés-recuperación.....	31
<b>Figura No. 4.</b> Potencial hídrico mediodía ( $\Psi_{md}$ , MPa $\pm$ E.E.) por clon y tratamiento en el ciclo 2 de estrés-recuperación.....	31
<b>Figura No. 5.</b> Gradiente de potencial hídrico ( $\Delta\Psi$ , MPa $\pm$ E.E.) por clon y tratamiento en ciclo 1 de estrés-recuperación.....	33
<b>Figura No. 6.</b> Gradiente de potencial hídrico ( $\Delta\Psi$ , MPa $\pm$ E.E.) por clon y tratamiento en ciclo 2 de estrés-recuperación.....	33
<b>Figura No. 7.</b> Relación entre conductancia estomática (gs, mmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> ) y $\Psi_b$ (MPa) por clon y tratamiento.....	36
<b>Figura no. 8.</b> Curvas presión-volumen ( $-1/\Psi$ vs. CRA) por clon y tratamiento para el ciclo 1 de estrés-recuperación .....	37
<b>Figura No. 9.</b> Curvas presión-volumen ( $-1/\Psi$ vs. CRA) por clon y tratamiento para el ciclo 2 de estrés-recuperación .....	38
<b>Figura No. 10.</b> Relación entre conductividad hidráulica específica ( $k_s$ , kg s <sup>-1</sup> m <sup>-1</sup> MPa <sup>-1</sup> ) y potencial hídrico mediodía ( $\Psi_{md}$ , MPa) .....	43
<b>Figura No. 11.</b> Área foliar específica (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> $\pm$ E. E.) por clon y tratamiento al final del ciclo 2 de estrés-recuperación .....	43

<b>Tabla No.</b>	<b>Página</b>
<b>Tabla No. 1.</b> Gradiente de potencial hídrico promedio ( $\Delta\Psi$ , MPa $\pm$ E.E.) por clon y tratamiento.....	32
<b>Tabla No. 2.</b> Conductancia estomática promedio del experimento ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1} \pm$ E.E.) del experimento por tratamiento para cada clon .....	34
<b>Tabla No. 3.</b> Módulo de elasticidad de pared celular ( $\mathcal{E}$ , MPa $\pm$ E. E.) por clon y tratamiento en cada ciclo estrés-recuperación.....	39
<b>Tabla No. 4.</b> Potencial osmótico en turgencia máxima ( $\Psi\pi_t$ , MPa $\pm$ E. E.) por clon y tratamiento en cada ciclo estrés-recuperación.....	40
<b>Tabla No. 5.</b> Potencial osmótico en plasmólisis ( $\Psi\pi_0$ , MPa $\pm$ E. E.) por clon y tratamiento en cada ciclo .....	40
<b>Tabla No. 6.</b> Conductividad hidráulica específica ( $k_s$ , $\text{kg s}^{-1} \text{m}^{-1} \text{MPa}^{-1} \pm$ E. E.) y pérdida porcentual de conductividad hidráulica (PLC, % $\pm$ E. E.) por clon y tratamiento.....	41
<b>Tabla No. 7.</b> Conductividad hidráulica foliar específica ( $k_L$ , $k_{L\text{max}}$ ; $\text{kg s}^{-1} \text{m}^{-1} \text{MPa}^{-1} \pm$ E. E.) y pérdida porcentual de conductividad hidráulica (PLC, %) por clon y tratamiento.....	42
<b>Tabla No. 8.</b> Índice SPAD ( $\pm$ E. E.) por clon y tratamiento.....	45
<b>Tabla No. 9.</b> Altura de planta (cm $\pm$ E. E.) por clon en cada tratamiento durante el ciclo 1 de estrés-recuperación .....	45
<b>Tabla No.10.</b> Altura de planta (cm $\pm$ E. E.) por clon en cada tratamiento durante el ciclo 2 de estrés-recuperación .....	46
<b>Tabla No. 11.</b> Diámetro de planta (mm $\pm$ E. E.) por clon en cada tratamiento durante el ciclo 1 de estrés-recuperación .....	46
<b>Tabla No. 12.</b> Diámetro de planta (mm $\pm$ E. E.) por clon en cada tratamiento durante el ciclo 2 de estrés-recuperación .....	47

## RESUMEN

La forestación en Uruguay cubre más de un millón de ha y *E. grandis* es una de las especies más cultivadas. El aumento en la frecuencia de sequías y olas de calor generan la necesidad de evaluar híbridos con eucaliptos colorados (*E. camaldulensis* y *E. tereticornis*), ya que estas especies mantienen el intercambio gaseoso y el crecimiento en déficit hídrico severo. También se considera el uso de híbridos con *E. urophylla* en regiones subtropicales. El objetivo del trabajo fue comparar los efectos del riego restringido (RR) sobre el estado hídrico y crecimiento en *E. grandis* (un clon; GG), *E. grandis* × *E. camaldulensis* (un clon; GC), *E. grandis* × *E. tereticornis* (un clon; GT), y *E. grandis* × *E. urophylla* (dos clones; GU1 y GU2). En estacas enraizadas se aplicaron dos ciclos de estrés-recuperación en invernáculo desde mediados de primavera hasta inicios del otoño. En cada ciclo se midió el potencial hídrico foliar prealba ( $\Psi_{pd}$ ) y al mediodía ( $\Psi_{md}$ ), contenido relativo de agua en hoja (CRA), conductancia estomática (gs), altura y diámetro de planta. Se calculó la fluctuación diaria del  $\Psi$  como:  $\Delta\Psi = \Psi_{pd} - \Psi_{md}$ . Se elaboraron curvas de presión-volumen para calcular el módulo de elasticidad de pared ( $\mathcal{E}$ ) y el potencial osmótico en plasmólisis incipiente ( $\Psi\pi_0$ ) y en turgencia plena ( $\Psi\pi_t$ ). Al final del segundo ciclo se midió: conductividad hidráulica específica ( $k_s$ ) y foliar específica ( $k_L$ ) en ramas, área foliar específica (AFE) y contenido de clorofila en hoja (índice SPAD). La pérdida porcentual de conductividad hidráulica (PLC) se midió luego de la remoción del embolismo. Los híbridos con eucaliptos colorados (GC y GT) presentaron mayor cavitación (PLC) en riego restringido (déficit hídrico), ya que mantuvieron elevados  $\Delta\Psi$  que permitieron altos niveles de transpiración y fijación de carbono. Estos clones presentaron ajuste elástico en RR y el ajuste osmótico se observó en *E. grandis* (GG). En GT el incremento de la cavitación en estrés triplicó al resto, la gs fue 50% mayor que GG (clon más sensible) y también presentó la menor reducción (17%) del crecimiento en diámetro. GC alcanzó mayor altura al final del estudio (40% mayor que GG). Los clones GU mostraron mayor crecimiento en diámetro. El AFE de GT y GU2 aumentó 25% con RR. En GC no hubo efecto. GC y GT presentaron mayor contenido de clorofila en riego restringido, lo cual sugiere una respuesta de tipo "hormesis" (más resilientes). Se analiza la correlación entre variables funcionales y la capacidad de suministro de agua al follaje en los diferentes taxa.

*Palabras clave:* déficit hídrico, cavitación, eucaliptos, transpiración, crecimiento

## SUMMARY

Afforestation with *Eucalyptus* species occupies over a million hectares in Uruguay, with *E. grandis* being one of the most cultivated species. The increasing frequency of drought and heat waves in the region raises the need to evaluate hybrids with red gums (*E. camaldulensis* and *E. tereticornis*) since they are known to sustain gas exchange and growth even under severe drought conditions. Hybrids with *E. urophylla* are suitable for humid-subtropical regions. This study aimed to compare the effects of water restriction (WR) on plant water status, hydraulics, and growth of *E. grandis* (one clone; GG), *E. grandis* × *E. camaldulensis* (one clone; GC), *E. grandis* × *E. tereticornis* (one clone; GT), and *E. grandis* × *E. urophylla* (two clones; GU1 and GU2). Two drought-stress cycles were applied to six-month rooted cuttings from mid-spring to early fall under greenhouse environmental conditions. Predawn ( $\Psi_{pd}$ ) and midday ( $\Psi_{md}$ ) leaf water potential, relative leaf water content (RWC), stomatal conductance (gs), and plant height and diameter were measured across each cycle. Daily fluctuation of  $\Psi$  was calculated as  $\Delta\Psi = \Psi_{pd} - \Psi_{md}$ . Pressure-volume curves were performed to calculate the elastic modulus ( $\mathcal{E}$ ) and the osmotic potential at turgor loss ( $\Psi\pi_0$ ) and full turgor ( $\Psi\pi_t$ ). Specific ( $k_s$ ) and leaf-specific ( $k_L$ ) branch hydraulic conductivity, specific leaf area (SLA), and chlorophyll content (SPAD index) were measured at the end of the second drought-stress cycle. Percentage loss of hydraulic conductivity (PLC) was calculated after removing the xylem embolism. Red-gum hybrids (GC and GT) had higher cavitation (PLC) under drought, as a consequence of maintaining high  $\Delta\Psi$  to sustain transpiration and carbon fixation. They showed elastic adjustment in WR, and osmotic adjustment was observed in the *E. grandis* clone (GG). GT clone showed a three-fold increase in cavitation and had 1.5 times stomatal opening (gs) than the most drought-sensitive clone (GG), exhibiting the lowest reduction (17%) in diameter growth under WR. GC hybrid attained the highest height at the end of the study (40% higher than GG) and GU clones reached the highest diameter. GT and GU2 increased by 25% the SLA in WR and GC clone did not show difference. GC and GT had higher chlorophyll content in WR, suggesting an “hormetic” response. Correlations among functional variables are explored, and the water supply capacity to the foliage among clones is discussed to better understand drought resistance strategies and growth performance of the different taxa.

**Keywords:** water deficit, cavitation, eucalypt, transpiration, growth

## 1. INTRODUCCIÓN

La producción forestal con *Eucalyptus grandis* ha mostrado un desarrollo sostenido en los últimos años en nuestro país, incrementándose tanto la superficie cultivada como la diversidad de productos industriales, especialmente los destinados a la producción de madera sólida (Oficina de Estadísticas Agropecuarias [DIEA], 2017). En tal sentido, es importante el uso de genotipos que optimicen el uso de recursos y maximicen la calidad del producto final. Por ello, es importante incluir genotipos adaptados a condiciones climáticas locales, especialmente durante las primeras etapas de crecimiento del cultivo.

Los eventos de sequía asociados con olas de calor extremo son cada vez más frecuentes y por ello es importante seleccionar genotipos tolerantes a dichas condiciones. Así, surgieron diversos clones de *E. grandis* e híbridos interespecíficos que combinan las aptitudes de *E. grandis* con la rusticidad de los eucaliptos colorados (*Eucalyptus camaldulensis* y *Eucalyptus tereticornis*) y *Eucalyptus urophylla*. Sin embargo, es escasa la información sobre el desempeño de estos materiales en condiciones de déficit hídrico. El objetivo del trabajo fue estudiar los efectos del déficit hídrico moderado a severo sobre variables morfofisiológicas en clones de *E. grandis*, *E. grandis* × *E. camaldulensis*, *E. grandis* × *E. tereticornis* y *E. grandis* × *Eucalyptus urophylla*. La información generada permitirá conocer diferentes mecanismos de respuesta a la sequía entre los clones y, al mismo tiempo, identificar caracteres funcionales de utilidad para el screening de genotipos mejor adaptados.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1. Objetivo general

Estudiar los efectos del riego restringido sobre variables morfofisiológicas en clones comerciales de *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus grandis* × *Eucalyptus camaldulensis*, *Eucalyptus grandis* × *Eucalyptus tereticornis* y *Eucalyptus grandis* × *Eucalyptus urophylla*.

### 1.1.2. Objetivos específicos

- a) Analizar los efectos del riego restringido sobre el estado hídrico foliar en cada clon durante ciclos de “estrés-recuperación”.
- b) Estudiar la capacidad de ajuste osmótico y elástico, analizando los efectos del riego en cada ciclo “estrés-recuperación” para cada clon.
- c) Analizar la capacidad de abastecimiento de agua al follaje de cada clon, en función de la disponibilidad hídrica durante cada ciclo “estrés-recuperación”.
- d) Estudiar el crecimiento de las plantas y analizar su relación con el estado hídrico.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. ESPECIES DE *Eucalyptus* DE INTERÉS COMERCIAL

A nivel global, la forestación con *Eucalyptus spp.* cubre una superficie mayor a 20 millones de ha destinada principalmente a la producción de madera sólida, generación de energía e industria papelera. *Eucalyptus grandis* es una de las especies con mayor difusión en todo el mundo. Es originaria del este de Australia y está adaptada a suelos profundos, con buena capacidad de retención de agua, limosos y de buen drenaje. Su hábitat natural se extiende desde zonas templadas hasta la región subtropical, cubriendo un rango de temperatura máxima de 24 °C a 30 °C y mínima de 3 °C a 8 °C (Brussa, 1994).

Entre las especies con elevada densidad de madera se encuentran los eucaliptos colorados *Eucalyptus camaldulensis* y *Eucalyptus tereticornis* ("red gums"). *E. camaldulensis* es la especie con mayor amplitud en su área de distribución natural (entre 12 °S y 38° S) y fue la primera especie en cultivarse fuera de su área de origen (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAO], 1981). Es tolerante a la sequía, anegamiento y heladas. Se encuentra en regiones con precipitaciones promedio de 150 a 600 mm anuales, crece hasta 700 msnm y temperatura entre 3 y 40 °C. *E. tereticornis* es originaria del noreste de Australia y Papúa Nueva Guinea. Se desarrolla en suelos aluviales, franco-arenosos y crece entre 1 °C y 36 °C hasta 1000 msnm (Brussa, 1994).

*Eucalyptus urophylla* es una especie subtropical originada en Indonesia (entre los 8° y 10°S), adaptada a zonas con elevada humedad ambiente y precipitaciones (selva lluviosa). Sin embargo, los bosques naturales cubren zonas de clima variable (de 300 a 3000 msnm) con una temperatura promedio entre 17 °C y 29 °C. Presenta buen desarrollo sobre suelos profundos, con buen drenaje y de textura franco a franco-arcillosa (Brussa, 1994).

### 2.2. EVALUACIÓN DEL ESTADO HÍDRICO EN VEGETALES

#### 2.2.1. Potencial hídrico

El potencial hídrico ( $\Psi$ ) cuantifica la energía libre del agua, es decir, su capacidad de realizar trabajo y, por lo tanto, permite predecir el sentido de su movimiento en el sistema suelo-planta-atmosfera (SPAC, por sus siglas en inglés). El agua se mueve siguiendo el gradiente energético, desde zonas con mayor  $\Psi$  (valores más cercanos a cero) a zonas con menor  $\Psi$  (valores más negativos). Así se transporta desde el suelo hacia la raíz, atraviesa la endodermis e ingresa al

xilema. Una vez allí, se mueve siguiendo el  $\Delta\Psi$  originado por la transpiración. En el proceso de transpiración, la evaporación desde las paredes celulares del mesófilo genera tensión (disminución del  $\Psi$ ) y favorece el movimiento del agua. Cuando los estomas están cerrados (noche) el gradiente disminuye y el flujo de agua se enlentece, hasta detenerse cuando el  $\Delta\Psi$  desaparece (final de la noche) (Azcón-Bieto & Talón, 2008; Taiz & Zeiger, 2010).

En una célula el  $\Psi$  está determinado por los siguientes potenciales: osmótico ( $\Psi\pi$ ), de presión ( $\Psi_p$ ), mátrico ( $\Psi_m$ ) y gravitacional ( $\Psi_g$ ). El  $\Psi\pi$  expresa la energía que pierde el agua por los solutos disueltos y es mayor (más cercano a cero) en células turgentes (solutos menos concentrados). El  $\Psi_p$  indica la presión que ejerce el protoplasto sobre la pared celular. Si es mayor a cero, la célula está turgente (mayor volumen ocupado por la vacuola) y si es cero, la célula está plasmolizada. En el xilema el  $\Psi_p$  es negativo porque el agua está bajo tensión. El  $\Psi_m$  expresa la energía que pierde el agua por estar ligada a componentes de la pared celular y a macromoléculas del citoplasma (proteínas, carbohidratos, etc.). Su valor es relevante en tejidos muy secos (por ej. semilla). El  $\Psi_g$  indica la energía que gana el agua con la altura y también es despreciable (Taiz & Zeiger, 2010).

El potencial hídrico puede medirse en diferentes momentos. Los valores más bajos de  $\Psi$  se observan cuando la transpiración es máxima (mediodía) y los valores más altos ocurren antes del amanecer. Al final de la noche los potenciales entre la planta y el suelo se igualan ( $\Psi$  base). Dicho valor es útil porque refleja el  $\Psi$  del suelo (Franks et al., 2007). En *Eucalyptus* se registraron valores de  $\Psi$  inferiores a -4 MPa (White et al., 2000), llegando hasta -6 MPa antes del cierre de estomas (Bourné et al., 2015).

La demanda atmosférica (déficit de presión de vapor del aire,  $D_{pv}$ ) afecta la apertura estomática ( $g_s$ ) y la tasa transpiratoria ( $E$ ). Si es alto el  $D_{pv}$ , la transpiración ( $E$ ) aumenta y el  $\Psi$  xilemático se reduce. Esta disminución sigue básicamente tres patrones teóricos que definen un gradiente de comportamientos intermedios (Pallardy, 2007). Las especies isohídricas mantienen el  $\Psi$  mínimo relativamente constante a pesar del aumento de  $E$ , mientras que en las anisohídricas los valores de  $\Psi$  disminuyen. Entre estos patrones existe un gradiente de respuestas (especie-dependiente) en función de la sensibilidad de  $g_s$  al  $D_{pv}$  (Martínez-Vilalta & García-Forner, 2017; Tardieu & Simonneau, 1998).

Los eucaliptos se comportan como especies anisohídricas en comparación con las coníferas, aunque dentro del género existe un gradiente de respuestas.

También existe un comportamiento isohidrodinámico donde se mantiene constante el  $\Delta\Psi$  en la hoja, como en eucaliptos de regiones subhúmedas con fluctuaciones estacionales del contenido de agua del suelo (Franks et al., 2007).

### 2.2.2. Conductancia estomática (gs)

La apertura estomática regula la pérdida de agua de la planta y depende directamente del agua disponible, irradiancia y demanda de vapor de agua de la atmósfera. Se expresa mediante la conductancia estomática (gs), la cual depende directamente de la concentración de  $\text{CO}_2$  en el mesófilo y de la irradiancia (Taiz & Zeiger, 2010). Si gs se reduce, baja la tasa transpiratoria y entonces se reduce la pérdida de turgencia en los tejidos. En *E. grandis*, gs depende principalmente de la radiación fotosintéticamente activa, del déficit de presión de vapor (Dpv) y también del contenido de agua en el suelo (Whitehead & Beadle, 2004).

En *Eucalyptus* se reportan promedios de gs entre 200 y 980  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Mejía-de Tafur et al., 2017). En ausencia de limitante hídricas, la gs máxima puede alcanzar 500  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  en *E. globulus*, 600  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  en *E. grandis*, más de 700  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  en *E. camaldulensis* casi 1000 (980)  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  en *E. tereticornis* (Whitehead & Beadle, 2004). El cierre estomático evita la pérdida de agua del mesófilo y reduce los riesgos de cavitación. De esta manera baja la tensión xilemática y disminuye la conductividad hidráulica en la planta ( $k_H$ ). Por lo tanto, una reducción de  $k_H$  por falta de agua promueve el cierre de estomas (Martorell, 2014; Salleo et al., 2000).

En condiciones de déficit hídrico, la conductancia estomática es la principal causa de la disminución de la tasa fotosintética en especies leñosas (Chaves et al., 2003) y las respuestas al déficit hídrico (sequía) varían en un continuo entre evitación y tolerancia. La evitación consiste en reducir gs para disminuir la transpiración para evitar que el  $\Psi$  pase sobrepase un umbral mínimo. Es decir, estas especies se mantienen funcionando dentro de un “margen de seguridad”, aunque la desventaja es que reducen su fotosíntesis. Otras son tolerantes y mantienen elevadas tasas transpiratorias porque presentan mecanismos que les permiten reponerse a los daños que causa el exceso de tensión (Lambers et al., 2008; Levitt, 1980).

En *Eucalyptus* existe un gradiente de sensibilidad de gs al Dpv (Hérault et al., 2013; Whitehead & Beadle, 2004), en función del área de origen de las especies y especialmente, de la disponibilidad de agua del suelo y del Dpv. *E. grandis* es sensible al Dpv (Mejía-de Tafur et al., 2017; Merchant et al., 2007;

White et al., 2000; Whitehead & Beadle, 2004). Sin embargo, pueden observarse valores de  $g_s$  elevados, en condiciones de alta temperatura, (36 °C), buena disponibilidad hídrica y elevada demanda atmosférica (más de 2,5 kPa) (Andreu et al., 2008). Los eucaliptos colorados (como *E. camaldulensis* y *E. tereticornis*) son más tolerantes a la falta de agua y transpiran más activamente aún con elevada demanda atmosférica (Bourné et al., 2015). Probablemente, estas especies activan mecanismos compensatorios para mantener el intercambio gaseoso, como por ejemplo, mayor desarrollo radical y un aumento de la conductividad hidráulica de la raíz (Whitehead & Beadle, 2004).

Eksteen et al. (2013) estudiaron la respuesta al déficit hídrico en híbridos entre *E. grandis* con eucaliptos colorados y con *E. urophylla*. Los autores observaron que después de un estrés hídrico severo,  $g_s$  se recupera más rápidamente en *Eucalyptus grandis* × *camaldulensis* que en *Eucalyptus grandis* × *urophylla*. En estos últimos, los valores de conductancia estomática disminuyen significativamente (>70%) durante el déficit hídrico crónico.

### 2.2.3. Contenido relativo de agua (CRA)

El CRA expresa el contenido de agua del tejido respecto a la cantidad máxima que pueda almacenar. Frecuentemente se emplea en ecofisiología porque permite comparar el estado hídrico entre especies en diferentes condiciones ambientales. Guarnaschelli et al. (2003) observaron que *E. camaldulensis* presenta mayor contenido de agua simplástica que *E. globulus*. En *E. camaldulensis* observaron valores de CRA de hasta 86% en condiciones de déficit hídrico. En *E. globulus* el CRA se redujo sensiblemente con la falta de agua (62 y 26%, control y estrés respectivamente). Carignato (2020) observó valores de 82% al inicio de la plasmólisis. En híbridos *E. urograndis* y en *E. urograndis* × *globulus*, la plasmólisis se observó en valores de CRA cercanos al 90% (87%), así como también en *E. dunnigrandis* × *globulus* (89%). Estas especies presentan paredes más rígidas y plasmolizan a CRA elevados.

### 2.2.4. Curvas de presión-volumen y parámetros asociados

Las curvas de presión-volumen (P-V) muestran la relación entre el contenido de agua, potencial hídrico, potencial osmótico ( $\Psi\pi$ ) y potencial de presión. Del análisis de las curvas surgen parámetros fisiológicos de gran utilidad: módulo de elasticidad de la pared celular ( $\epsilon$ ), potencial osmótico a plena turgencia ( $\Psi\pi_t$ ), potencial osmótico en plasmólisis incipiente ( $\Psi\pi_0$ ). A partir de esta

información es posible analizar la respuesta de las plantas a la sequía o salinidad (Harayama et al., 2006; Taiz & Zeiger, 2010).

A nivel foliar, la tolerancia al estrés hídrico está asociada con una alta capacidad de ajuste osmótico y/o elástico. Estos mecanismos permiten mantener la turgencia a potenciales hídricos bajos. Por otra parte, la posibilidad de mantener bajos potenciales hídricos sin cavitación (debido a rasgos anatómicos que impiden la entrada o propagación del aire entre conductos) requiere reforzar las paredes celulares, lo que implica una mayor densidad de la madera (Meinzer & McCulloh, 2013).

El ajuste osmótico consiste en reducir el  $\Psi_{\pi}$  por acumulación de solutos. De esta forma disminuye el potencial hídrico y la célula atrae agua y aumenta su potencial de presión. El objetivo del mecanismo es mantener la turgencia y la capacidad de expansión celular. La respuesta está asociada a una mayor producción de área foliar y un aumento de la capacidad de exploración radical (Argenteau et al., 2013). Si bien numerosas especies leñosas activan este mecanismo frente al estrés, no se trata de una respuesta constitutiva y varía enormemente entre géneros, especies y genotipos (Pallardy, 2007).

En varios trabajos se analizó la capacidad de ajuste osmótico de los eucaliptos, pero los resultados dependen de la especie y varían en gran medida con el genotipo. Lemcoff et al. (2002) observó que *E. camaldulensis* activa dicho mecanismo en condiciones de déficit hídrico, aunque varía con el genotipo. Guarnaschelli et al. (2014) también observaron un aumento de osmolitos compatibles (carbohidratos solubles y prolina) en *E. globulus* y un bajo potencial osmótico. Sin embargo, en distintos híbridos de *E. globulus*, en *E. camaldulensis* y *E. grandis*, los resultados no han sido consistentes.

El ajuste elástico consiste en cambios en el módulo de elasticidad de la pared celular ( $\epsilon$ ) frente al déficit hídrico. La disminución del  $\epsilon$  implica una reducción en la rigidez de la pared para mantener la turgencia (plasmólisis a menores CRA). En *Eucalyptus*, los valores de  $\epsilon$  son muy variables, así como también el sentido de su cambio. Por ejemplo, en *E. platypus* disminuye en sequía (de 20 a 15 MPa) pero en *E. camaldulensis* aumenta (de 18 a 23 MPa). En la primera especie la estrategia es incrementar la elasticidad de la pared y en la segunda es aumentar su rigidez (White et al., 2000) El ajuste elástico también depende de la edad de la planta. Por ejemplo, Carignato (2020) observó paredes más elásticas (menor  $\epsilon$ )

en plantas jóvenes de *E. grandis* (4,3 MPa), *E. urograndis* × *globulus* (7,9 MPa), *E. dunnigrandis* × *globulus* (12,4 MPa) y *E. urograndis* (7,8 MPa)

Algunas especies combinan el ajuste osmótico con el ajuste elástico para enfrentar el déficit hídrico. En general, existen diferentes patrones de respuesta que combinan ambos mecanismos. En especies de rápido crecimiento (como los eucaliptos) es frecuente observar ajuste osmótico (bajo  $\Psi\pi$ ) y un bajo  $\epsilon$ . Así, se favorece el aumento de turgencia que promueve el crecimiento. Otras especies aumentan el  $\epsilon$ , haciendo más rígidas sus paredes, ya que se desarrollan en hábitats adversos que no promueven altas tasas de crecimiento (Pallardy, 2007).

Las curvas de presión-volumen surgen a partir de diferentes métodos: el método de transpiración libre (TL) (Tyree & Hammel, 1972) y el método de expresión de la savia (ES) (Talbot et al., 1975). La diferencia radica en cómo se modifica el contenido de agua el contenido de agua (por deshidratación o por presión positiva). En el método TL se deshidrata el órgano fuera de la cámara, sin intervenciones y a temperatura ambiente. En el método ES se expulsa agua del brote a presión. El agua es recogida en intervalos de presión fijos y se pesa al instante. En ambos métodos se pesa el brote y se grafica  $-1/\Psi$  en función del CRA. A partir de dichas curvas se obtienen parámetros funcionales que permiten conocer el comportamiento fisiológico, por ejemplo, el ajuste osmótico y elástico de las células vegetales.

#### 2.2.5. Estado hídrico y contenido de clorofila

El contenido de clorofila se relaciona directamente con la actividad fotosintética, específicamente con la fase fotoquímica de la fotosíntesis. A partir del transporte de electrones en los tilacoides se producen ATP y poder reductor (NADPH) que serán utilizados en la fijación de carbono (Ciclo de Calvin) (Taiz & Zeiger, 2010). Si bien los efectos del déficit hídrico sobre el proceso fotosintético se han estudiado ampliamente en especies leñosas, la información sobre los efectos del contenido de clorofila es escasa. Agathokleous et al. (2020) observaron un aumento en los niveles de clorofila en estrés hídrico moderado. Este aumento estaría relacionado con un mecanismo de defensa que implica la síntesis de metabolitos a partir de la clorofila, los cuales participarían de reacciones antioxidantes y también en la defensa al ataque de herbívoros o insectos.

Este patrón de aumento sigue un comportamiento bifásico, donde luego de una primera respuesta positiva (aumento de clorofila), se observa una disminución

abrupta (Mattson, 2008) que se relaciona a una respuesta inhibitoria, y se denomina hormesis. En general, el aumento en los niveles frente al estrés podría superar hasta 30 o inclusive 60% del valor observado en el control (Belz, 2018). Los autores señalan a esta respuesta bifásica como un mecanismo de adaptación frente al estrés.

## 2.3. VARIABLES HÍDRICO-FUNCIONALES

### 2.3.1. Cavitación y embolia

La transpiración consiste en la pérdida de agua por los estomas y genera tensión en el xilema (descenso del potencial hídrico). Sin embargo, cuando la tensión es excesiva, se rompe la columna líquida (cavitación). La cavitación produce burbujas de aire que bloquean la circulación del agua (embolia). El elemento de conducción deja de ser funcional hasta que se disuelva el gas de la burbuja. Existen diferentes mecanismos de entrada del gas, el más frecuente es a través de las puntuaciones y se denomina siembra de aire (Tyree & Zimmermann, 2002).

El embolismo es frecuente en situaciones de déficit hídrico y también en condiciones de elevada demanda atmosférica (alto Dpv) o en ciclos de congelamiento y descongelamiento (Azcón-Bieto & Talón, 2008). Así, el embolismo disminuye la conductividad hidráulica y es señal de cierre estomático para evitar daños mayores en el sistema hidráulico (Nardini et al., 2011). Si la mayoría de los conductos se obstruyen, el pasaje de agua se restringe, a menos que se generen nuevos conductos o que estos últimos logren desbloquearse (Hacke & Sperry, 2001).

Los mecanismos de reparación del embolismo son diversos y difieren entre especies, aunque la reparación en sí misma es un tema controversial. Es importante resaltar que las especies leñosas regulan su estado hídrico en función del  $\Psi$  mínimo a partir del cual se desata el embolismo generalizado, el cual podría provocar la muerte del árbol (Tyree & Zimmermann, 2002). En *E. grandis* la pérdida de conductividad se da en rangos más estrechos de  $\Psi$  y a valores más altos que los eucaliptos colorados. En los híbridos *E. grandis* × *camaldulensis* existe una mayor tolerancia a la sequía, asociada con una menor vulnerabilidad a la cavitación. Es decir, la pérdida de funcionalidad del xilema sucede más gradualmente y en un rango mayor de potencial hídrico (Pammenter & Vander Willigen, 1998).

Gándara et al. (2020) estudiaron los efectos del déficit hídrico estacional sobre el estado hídrico y crecimiento en árboles de 2 a 4 años de edad en Uruguay. Se observó mayor actividad transpiratoria instantánea y también intrínseca (isótopos de estables de C) en clones *E. grandis* × *camaldulensis* (GC) y *E. grandis* × *tereticornis* (GT). Estos clones fueron menos eficientes en el uso del agua y mostraron mayor gradiente diurno del potencial hídrico ( $\Delta\Psi$ ), aún durante la temporada con menor disponibilidad de agua en el suelo. En dicha condición, los híbridos GC y GT mantuvieron elevada la conductancia hidráulica de la planta ( $K$ ). Sin embargo, los clones de *E. grandis* y *E. grandis* × *urophylla* mostraron un mayor control estomático, menor transpiración y menor  $K$  en condiciones de restricción hídrica (menor precipitación efectiva).

La baja vulnerabilidad a la cavitación del xilema es un mecanismo adaptativo en leñosas para enfrentar el estrés por sequía. Expresa la pérdida de conductividad hidráulica en función de la tensión en xilema. La pérdida porcentual de conductividad hidráulica (PLC) para una especie se estudia mediante la curva de vulnerabilidad a la cavitación, definiendo varios parámetros ( $P_{12}$ ,  $P_{50}$ ,  $P_{88}$ ). Por ejemplo, el  $P_{50}$  indica a qué valor de  $\Psi$  se pierde el 50% de la conductividad hidráulica (Pammenter & Vander Willigen, 1998). Este parámetro indica a qué valor de  $\Psi$  se pierde el 50% de la conductividad hidráulica (Pammenter & Vander Willigen, 1998). A su vez, es posible construir curvas para diferentes órganos (hoja, tallo) y asociar la información con características del xilema (Tyree, 2003).

En *Eucalyptus*, los principales elementos de conducción son los vasos, los cuales presentan mayor diámetro que las traqueidas y mayor probabilidad de embolizarse (Pallardy, 2007). Son especies con una compleja estructura de xilema y vasos mayormente solitarios, por lo que el flujo de agua requiere de la intervención de otros tipos celulares (traqueidas vasicéntricas, fibrotraqueidas, parénquima). En *E. grandis* de 18 años se observaron  $P_{50}$  de -1,5 MPa (Tesón et al., 2014). Se trata de una especie con mayor vulnerabilidad a cavitarse que los eucaliptos colorados, como *E. camaldulensis* o *E. tereticornis*. En híbridos *E. grandis* × *camaldulensis* el valor  $P_{50}$  es menor que en *E. grandis*, es decir que la cavitación del 50% de los vasos del híbrido ocurre a menor  $\Psi$  que en la especie pura. Sin embargo, *E. globulus* es una de las especies con mayor variabilidad en la vulnerabilidad a la cavitación (Pita & Pardos, 2001). Barotto et al. (2016) registraron valores de  $P_{50}$  de -2,4 MPa en *E. globulus*, -3,8 MPa en *E. viminalis* y -4,2 MPa en *E. camaldulensis*. En *Eucalyptus camaldulensis* se hallaron valores

de  $P_{50}$  de -4,22 MPa), reforzando su capacidad de resistencia respecto a las especies anteriores.

### 2.3.2. Conductividad hidráulica ( $k_H$ )

En especies leñosas el agua circula por una compleja red de conductos donde la resistencia al transporte es clave, ya que afecta a la eficiencia del transporte. La tolerancia al déficit hídrico depende de factores relacionados con la eficiencia del transporte xilemático (Tyree & Zimmermann, 2002) que se mide a través de la conductividad hidráulica ( $k_H$ ). Ésta se define como la capacidad de conducir el agua y determina la capacidad de abastecimiento de agua a los tejidos (Hubbard et al., 2001).

La  $k_H$  es proporcional a la suma de los diámetros de conductos, elevada a la cuarta potencia (Tyree & Ewers, 1991). Entonces, un pequeño aumento en el diámetro produce un gran aumento de la conductividad hidráulica ( $k_H$ ) en el conducto. Carignato (2020) reportó los siguientes valores de conductividad hidráulica específica (ponderada por área conductiva,  $k_S$ ) en eucaliptos creciendo a campo: *E. globulus* 2,5 kg s<sup>-1</sup> MPa<sup>-1</sup>, *E. urograndis* × *globulus* 3,5 kg s<sup>-1</sup> m<sup>-1</sup> MPa<sup>-1</sup>, *E. dunnigrandis* × *globulus* 4,3 kg s<sup>-1</sup> m<sup>-1</sup> MPa<sup>-1</sup>, *E. urograndis* 4,8 kg s<sup>-1</sup> m<sup>-1</sup> MPa<sup>-1</sup>.

### 2.3.3. Conductividad hidráulica específica ( $k_S$ )

Es la conductividad hidráulica estandarizada por área de tejido conductor, es decir, por área de xilema activo. Este parámetro permite comparar genotipos y también analizar la conductividad en diferentes órganos. En ramas/fustes de árboles en las provincias de Buenos Aires y Entre Ríos (Argentina), Barotto et al. (2016) reportaron 53 kg s<sup>-1</sup> m<sup>-1</sup> MPa<sup>-1</sup> en *E. viminalis*. Carignato (2020) midió  $k_S$  en plantas de 2 años de varios híbridos dobles. Los autores reportaron 83 kg s<sup>-1</sup> m<sup>-1</sup> MPa<sup>-1</sup> en *E. globulus*, 111 kg s<sup>-1</sup> m<sup>-1</sup> MPa<sup>-1</sup> en *E. urograndis* × *globulus*, 126 kg s<sup>-1</sup> m<sup>-1</sup> MPa<sup>-1</sup> en *E. dunnigrandis* × *globulus* y 154 kg s<sup>-1</sup> m<sup>-1</sup> MPa<sup>-1</sup> en *E. urograndis*. La variabilidad de  $k_S$  entre especies y entre híbridos interespecíficos es grande y se asocia con los tipos, densidad y arreglos espaciales de los elementos de conducción (Barotto et al., 2016).

### 2.3.4. Conductividad hidráulica foliar específica ( $k_L$ )

Es la conductividad hidráulica ( $k_H$ ) ponderada por área foliar de la rama y expresa la capacidad de abastecimiento de agua al follaje ( $k_L$ ). No obstante, los valores varían en función de factores del ambiente dentro de una misma especie. Por ejemplo, en plantas jóvenes (2 años) del norte de España (Galicia) se

reportaron  $0,021 \text{ kg s}^{-1} \text{ m}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$  en *E. globulus* con déficit hídrico (Andreu et al., 2008), En la región sur (Andalucía) el mismo tratamiento presentó  $0,6 \text{ kg s}^{-1} \text{ m}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$  (Carignato, 2020).

En Uruguay se caracterizó la conductividad hidráulica en clones de *E. grandis*, *E. grandis* × *camaldulensis* y *E. grandis* × *tereticornis*. Los resultados mostraron que la capacidad de suministro de agua al follaje ( $k_L$ ) estaba reducida por el embolismo in situ de las plantas. *E. grandis* × *camaldulensis* presentó el mayor promedio ( $3,51 \pm 0,28 \text{ kg s}^{-1} \text{ m}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$  y  $7,63 \pm 0,53 \text{ kg s}^{-1} \text{ m}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$ , con y sin embolismo respectivamente). Este clon presentó mayor diámetro de vasos y mayores niveles de cavitación a campo, asociado a mayor transpiración. Los altos valores de  $k_H$  favorecieron el intercambio gaseoso en este híbrido (Arthús, 2019).

### 2.3.5. Pérdida porcentual de conductividad hidráulica (PLC)

En déficit hídrico, parte de los elementos conductores sufren embolia como consecuencia de la entrada de aire, lo que interrumpe su función. A partir de este fenómeno se calcula la pérdida de conductividad hidráulica como el porcentaje de la conductividad máxima, que es medida luego de eliminar la embolia con agua a presión (aprox. 1 bar). La pérdida de conductividad hidráulica (PLC) muestra la susceptibilidad de los tejidos conductores (xilema) frente a la cavitación (Andreu et al., 2008).

Carignato (2020) elaboró curvas de vulnerabilidad a la cavitación en plantas jóvenes (2 años de edad) de varias especies del género. Los valores de  $PLC_{50}$  fueron  $-0,64 \text{ MPa}$  en *E. globulus*,  $-0,77 \text{ MPa}$  en *E. dunnigrandis* × *globulus*,  $-0,93 \text{ MPa}$  en *E. dunnigrandis* × *globulus* y  $-0,96 \text{ MPa}$  en *E. urograndis*. Los resultados refuerzan la teoría de mayor vulnerabilidad en los híbridos que en *E. globulus*.

### 2.3.6. Crecimiento y variables hídricas

En varios trabajos se estudió el efecto del estrés hídrico en clones híbridos con *E. grandis* × *E. camaldulensis* (GC) y *E. grandis* × *E. urophylla* (GU). Eksteen et al. (2013) analizaron en Sudáfrica cómo el déficit hídrico severo afecta la conductancia estomática ( $g_s$ ), el estado hídrico y el crecimiento. GC presentó mayor  $g_s$  que GU durante todo el período de estudio, inclusive bajo estrés hídrico crónico. El estrés crónico redujo un 70% la conductancia estomática en los clones GU, aunque su recuperación fue más rápida que en GC. Además, GU acumuló mayor biomasa. Los autores reportaron diferentes estrategias de crecimiento entre GC y GU que se asociaron con una mayor sensibilidad estomática al Dpv en GU

(mayor control estomático) y también una mayor tasa de crecimiento cuando el agua no es limitante. Sin embargo, en déficit hídrico, GC mantuvo mayor apertura de estomas y una tasa de crecimiento baja, pero continua.

En Uruguay, Gándara et al. (2020) reportaron diferencias de crecimiento asociadas a transpiración en híbridos de *E. grandis* con eucaliptos colorados (GC y GT), clones puros de *E. grandis* y un híbrido *E. grandis* × *uruphylla* (GU). La tasa de crecimiento relativo de los árboles durante dos años de estudio fue mayor en GC y GT, principalmente durante los períodos con deficiencias hídricas en el suelo. Como se mencionó anteriormente, estos clones presentaron mayor conductancia hidráulica. Es probable que su mayor profundidad de arraigamiento y menor sensibilidad al Dpv, hayan mantenido el suministro de agua durante dicho período. Los resultados fueron consistentes con lo reportado por Nión Perdomo (2022) en clones GC, GT y *E. grandis*.

En Sudáfrica, Drew et al. (2009) reportaron un rápido crecimiento en GU cuando es alta la disponibilidad hídrica del suelo. En clones GC observaron un crecimiento continuo, aún con un déficit importante de agua en el suelo. Estos clones fueron menos eficientes en el uso del agua, en concordancia con los estudios antes mencionados.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. INSTALACIÓN DEL ENSAYO

El experimento se realizó en el invernáculo de Biología Vegetal del CENUR del Noreste en Tacuarembó (-31,73 S; -55,97 W). Se usaron plantines de *Eucalyptus grandis* (GG; un clon) e híbridos interespecíficos con *E. grandis* × *camaldulensis* (GC; un clon), *E. grandis* × *E. tereticornis* (GT; un clon) y *E. grandis* × *E. urophylla* (GU; dos clones, GU1 y GU2). El experimento comenzó en octubre/2019 y finalizó en marzo/2020).

#### 3.2. METODOLOGÍA

##### 3.2.1. Preparación de material vegetal

El ensayo se instaló el 22/10/19 con 60 plantas (12 por clon) que fueron suministradas por la empresa forestal Lumin. Se utilizaron cinco genotipos: G, GC, GT, GU1 y GU2. Se utilizaron estaquillas enraizadas de pies madre (abril/2019) que se trasladaron a vivero clonal en envases de 120 cm<sup>3</sup> con sustrato inerte y una humedad relativa ambiente entre 90 y 95%. Se regó periódicamente con solución de Biorend® (10 cm<sup>3</sup> L<sup>-1</sup>) durante el período mayo-agosto. En setiembre se trasplantaron a macetas de plástico de 3 L con el sustrato Carolina Soils® (58% turba, 40% vermiculita, 1,5% calcáreo dolomítico y 0,5% de trazas minerales). Allí crecieron previamente a la instalación del ensayo.

##### 3.2.2. Diseño experimental

Se aplicó un diseño de parcelas divididas, donde la parcela mayor fue el tratamiento (riego control o riego restringido) y la parcela menor fue el clon. Las plantas se colocaron en macetas de plástico de 18L que se distribuyeron en cuatro hileras de 15 plantas cada una. En cada hilera se utilizó un sistema de automático de riego por goteo con dos tubos por maceta. Cada tubo presentó un caudal promedio de 120 mL c/15 min (medido en cuatro tubos por línea, 16 tubos en total).

##### 3.2.3. Tratamiento de riego

Se implementaron dos ciclos de “estrés-recuperación” desde el 20/11/2019 al 22/03/2020. En cada ciclo se impuso un tratamiento de déficit hídrico a la mitad de las plantas (30) mediante riego restringido (RR) y la otra mitad recibió el riego a demanda (CC). Cada ciclo “estrés-recuperación” duró 45 días y las fases de recuperación duraron de 15 a 20 días, dependiendo del ciclo y de la respuesta de las plantas. En la fase de recuperación todas las plantas se regaron con la dosis del control durante una a dos semanas. La demanda de agua se estimó pesando

semanalmente 15 plantas 15 (tres por clon) de una parcela “testigo” contigua al ensayo principal. A partir de esta información se definió la dosis control durante todo el experimento.

Las plantas control (CC) se regaron con una dosis que repuso las pérdidas por evaporación y transpiración de cada maceta (riego a demanda). Las plantas con riego restringido (RR) recibieron entre 27 y 30% de la dosis del control. Con dicha dosis las plantas de todos los clones redujeron significativamente la gs a media mañana (8:30 a 10h), el CRA a mediodía y el  $\Psi$  foliar en prealba. Para ello se monitoreó estos parámetros cada 15 días y también se midió el contenido de humedad del sustrato ( $\theta$ ,  $\text{cm}^3 \text{cm}^{-3}$ ) con sensores TDR (GS1, Decagon®).

Los parámetros hídricos, hídrico-funcionales y el crecimiento de las plantas se midieron al inicio (momento 1) y final (momento 2) de cada ciclo “estrés-recuperación”. Los parámetros hidráulicos y las variables de asignación de biomasa se midieron al final del segundo ciclo “estrés-recuperación”.

### 3.3. EVALUACIÓN DEL ESTADO HÍDRICO Y VARIABLES FUNCIONALES

#### 3.3.1. Potencial hídrico foliar ( $\Psi$ )

Se midió el potencial hídrico previo al amanecer ( $\Psi_b$ ) entre las 4:30 y 5:30h, y el potencial hídrico mediodía ( $\Psi_{md}$ ) entre las 12:00 y 14:00h. Las mediciones se realizaron en brotes subapicales (uno por planta) que contenían la misma cantidad de hojas (3 hojas), completamente expandidas e iluminadas. Se midió en cuatro plantas por clon y tratamiento elegidas al azar (40 plantas en total). Las mediciones se realizaron con una cámara de presión (modelo 3005 Soil and Moisture®, Santa Barbara, CA). Con la información generada se calculó la fluctuación diurna del potencial hídrico ( $\Delta\Psi$ ) como:  $\Delta\Psi = \Psi_b - \Psi_{md}$  (Franks et al., 2007).

#### 3.3.2. Conductancia estomática (gs)

Se midió en dos hojas subapicales por planta, opuestas, plenamente iluminadas y expandidas. Los registros se tomaron entre las 8:00 y 9:30 h con un porómetro manual (modelo SC-1 Decagon Devices®, Pullman, WA) que se posicionó en la cara abaxial de cada hoja. En total se midieron 30 plantas tomadas al azar (15 control y 15 con riego restringido) en los momentos 1 y 2 de cada ciclo “estrés-recuperación”. Este procedimiento se realizó también durante el monitoreo quincenal de gs para definir la dosis de riego.

### 3.3.3. Contenido relativo de agua foliar (CRA)

En cada fecha de muestreo se midió el CRA de todas las plantas. Se eligieron dos hojas subapicales opuestas en cada planta y se tomaron dos discos foliares de 2,49 cm<sup>2</sup> en cada hoja. Los discos se pesaron recién colectados y se colocaron en tubos Eppendörf (1,5 mL) con agua destilada durante 72h. Diariamente se midió el peso hasta obtener un valor estable. Posteriormente se secaron a 60 °C durante 48h y se midió el peso seco. En todos los casos se pesó con una balanza analítica (modelo T42022, Shimadzu®). El CRA se calculó como:

$$\text{CRA (\%)} = [(\text{peso fresco} - \text{peso seco}) / (\text{peso turgente} - \text{peso seco})] 100$$

Se calculó el peso de disco promedio por planta con muestras compuestas de cuatro discos y se calculó el promedio por clon y tratamiento.

### 3.3.4. Curvas presión-volumen (P-V)

Se realizaron curvas P-V a partir del método de expresión de savia (ES) (Hinckley et al., 1980). La actividad se realizó al final de cada ciclo de “estrés-recuperación”. Se tomaron al azar cuatro plantas por clon y tratamiento (40 plantas en total) y se cortó 1 brote subapical en cada una con la misma cantidad de hojas. Los brotes se colocaron en vasos de bohemia con agua destilada mantenidos a 20 °C y oscuridad durante tres horas. Luego se midió el peso (mg) del agua expulsada de cada brote en intervalos de presión constantes (2 bar) con una cámara de presión (modelo 3005 Soil y Moisture®, Santa Barbara, CA). Se tomaron 10 medidas por brote hasta alcanzar una presión final de 20 bar (2 MPa) y se recogió el agua sobre papel de filtro que se pesó con balanza analítica (modelo T42022, Shimadzu®). A partir de la información obtenida de cada brote se construyó una curva P-V en la que se calculó: módulo de elasticidad de la pared ( $\epsilon$ ), potencial osmótico en plena turgencia ( $\Psi\pi_t$ ) y potencial osmótico en plasmólisis incipiente ( $\Psi\pi_0$ ). También se elaboraron curvas promedio por clon y tratamiento (10 curvas en total).

### 3.3.5. Conductividad hidráulica ( $k_H$ , $k_S$ , $k_L$ )

En el último ciclo de estrés-recuperación se midió la conductividad hidráulica ( $k_H$ ) del tallo en todas las plantas (60). Se regaron todas las plantas la noche previa a las mediciones para disminuir la inducción de cavitación. A la mañana siguiente, se cortaron bajo agua segmentos subapicales de tallos. Se midió el largo (con regla milimétrica) y diámetro (con calibre digital) de cada uno y se colocaron en un conductímetro casero diseñado según “el método de la pipeta”

(Sperry et al., 2002). Se midió el tiempo (s) del pasaje de 0,4 mL de agua destilada entre los extremos de cada segmento. La primera medida ( $k_H$ ) se tomó en muestras sin desembolizar (con embolismo nativo) y la segunda ( $k_{Hmax}$ ) se realizó luego de perfusionar agua destilada a presión (aprox. 1 bar) con una jeringa de 60 mL. Con la información generada se calculó la pérdida porcentual de conductividad hidráulica (PLC) como:  $PLC = [1 - (k_H/k_{Hmax})] 100$ ). La conductividad hidráulica específica ( $k_S$ ) se calculó estandarizando  $k_H$  por el área transversal de cada segmento. La conductividad foliar específica ( $k_L$ ) se calculó normalizando  $k_H$  por el área foliar del segmento. El área foliar de rama se calculó a partir del área foliar específica (AFE) (ver 3.3.6).

La conductividad hidráulica ( $k_H$ ) se calculó como:

$$k_H = Q L / \Delta P \text{ (kg s}^{-1} \text{ m MPa}^{-1}\text{)}$$

donde,

Q: caudal de agua por unidad de tiempo (0,0004 kg s<sup>-1</sup>)

L: longitud del segmento distal (m)

$\Delta P$ : 0,01 MPa

La conductividad hidráulica específica ( $k_S$ ) se calculó como:

$$k_S = Q L / A_S \Delta P \text{ (kg s}^{-1} \text{ m}^{-1} \text{ MPa}^{-1}\text{)}$$

donde,

Q: caudal de agua por unidad de tiempo (0,0004 kg s<sup>-1</sup>)

L: longitud del segmento distal (m)

$\Delta P$ : 0,01 MPa

$A_S$ : área de sección transversal media de cada segmento (m)

La conductividad hidráulica foliar específica ( $k_L$ ) se calculó como:

$$k_L = Q L / A_F \Delta P \text{ (kg s}^{-1} \text{ m}^{-1} \text{ MPa}^{-1}\text{)}$$

donde,

Q: caudal de agua por unidad de tiempo (0,0004 kg s<sup>-1</sup>)

L: longitud del segmento distal (m)

$\Delta P$ : 0,01 MPa

$A_F$ : área foliar (m<sup>2</sup>) de la rama que contiene los segmentos

### 3.3.6. Área foliar de planta (AF) y área foliar específica (AFE)

Al finalizar la medición de las variables hidráulicas, se extrajeron 20 discos foliares (de 1,71 cm<sup>2</sup>) tomados al azar en diferentes zonas de cada planta, se secaron a 60 °C durante 72h y se midió el peso seco de cada disco. Luego se ralearon todas las hojas de cada planta, se secaron a 60 °C durante 72h y se pesaron. Así se obtuvo el peso seco total. El área foliar específica (AFE) se calculó como:

$$\text{AFE (cm}^2\text{g}^{-1}) = 1,71/\text{peso seco de disco}$$

Con esta información se calculó el área foliar de cada planta (AF) como:

$$\text{AF (cm}^2\text{)} = \text{AFE} \times \text{peso seco total}$$

### 3.3.7. Contenido de clorofila

Se estimó el contenido de clorofila en hojas subapicales (4 por planta) en tres plantas por clon y tratamiento (30 plantas en total). Se utilizó la metodología SPAD (SPAD-502®) para la medición del índice de absorción de luz en el rojo cercano e infrarrojo.

### 3.3.8. Altura y diámetro de planta

Se midió la altura total de planta (cm) con cinta métrica y diámetro de cuello (mm) con calibre digital al inicio y al final de cada ciclo de “estrés-recuperación”.

### 3.3.9. Temperatura y humedad ambiente

Se midió la temperatura (T, °C) y humedad ambiente (HR, %) con un sensor RHT10 (EXTECH® Instruments) colocado a 1 m de altura en el centro del ensayo. Los registros se tomaron automáticamente cada 15 min y con la información generada se calculó el déficit de presión de vapor del aire (Dpv) según Allen et al. (1998). El Dpv durante las mediciones de gs de media mañana (8 a 10 h) promedió entre 1,2 y 2 kPa, mientras que al mediodía (11.30 a 14.30 h) promedió entre 2,6 y 4,0 kPa.

## 3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se aplicó un diseño de parcelas divididas, tomando al riego como parcela mayor (riego a demanda, CC; riego restringido, RR) y al clon como parcela menor (aleatorizado dentro de cada hilera de riego: C1, C2, R1, R2, donde CC es el control y RR es riego restringido). La información se analizó mediante ANAVA (a una y dos vías) considerando los ciclos como fechas independientes, sin autocorrelación. Los efectos fijos fueron: clon, tratamiento y número de ciclo de

“estrés-recuperación” y se analizó la interacción entre los efectos. Se verificó normalidad y homocedasticidad de las variables y la información se analizó con el software InfoStat® (UNC, Córdoba, Argentina). La comparación de medias se realizó con test de Tukey ( $p < 0,05$ ). En algunas variables se tomó una medición por planta (por ej., las variables relativas al tamaño o la asignación de biomasa), pero en otras variables se trabajó con submuestras (ej. potencial hídrico, gs, CRA) y el valor incluido en el modelo fue el promedio por planta. El modelo analizado fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\alpha\beta\gamma)_{ijk} + \varepsilon_{ijk},$$

donde:

$Y_{ijk}$  es la variable de respuesta (conductividad hidráulica, potencial hídrico, contenido relativo de agua foliar, altura y diámetro de planta, pérdida porcentual de conductividad hidráulica, área foliar específica, índice SPAD)

$\mu$  es la media general del modelo

$\alpha_i$  es el efecto del  $i$ -ésimo genotipo (GG, GC, GT, GU1, GU2)

$\beta_j$  es el efecto del  $j$ -ésimo tratamiento (CC y RR)

$\gamma_k$  es el efecto del  $k$ -ésimo bloque (hilera de riego; C1, C2, R1, R2)

$(\alpha\beta)_{ij}$  es la interacción entre el  $i$ -ésimo nivel de  $\alpha$  y el  $j$ -ésimo nivel de  $\beta$

$(\alpha\gamma)_{ik}$  es la interacción entre el  $i$ -ésimo nivel de  $\alpha$  y el  $k$ -ésimo nivel de  $\gamma$

$(\beta\gamma)_{jk}$  es la interacción entre el  $j$ -ésimo nivel de  $\beta$  y el  $k$ -ésimo nivel de  $\gamma$

$(\alpha\beta\gamma)_{ijk}$  es la interacción entre el  $i$ -ésimo nivel de  $\alpha$ , el  $j$ -ésimo nivel de  $\beta$  y el

$k$ -ésimo nivel de  $\gamma$   $\varepsilon_{ijk}$  es el error experimental con  $\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2\varepsilon)$ .

## 4. RESULTADOS

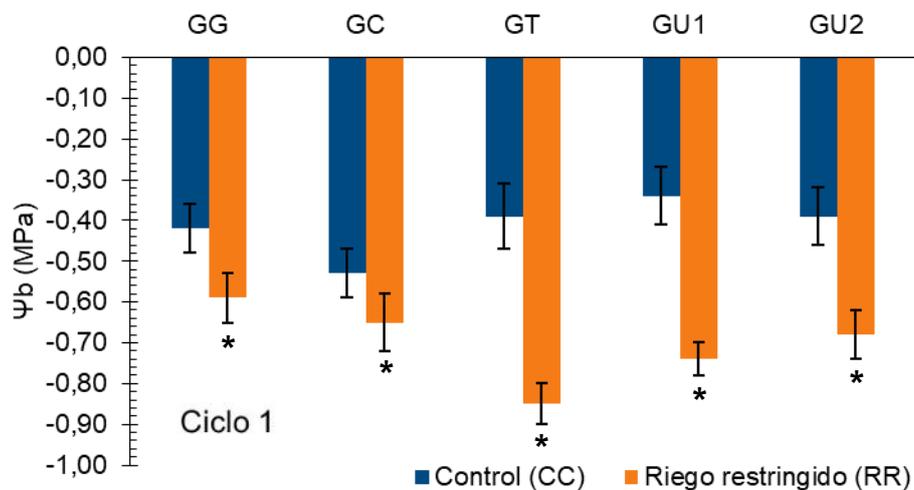
### 4.1. POTENCIAL HÍDRICO FOLIAR

#### 4.1.1. Potencial hídrico base ( $\Psi_b$ )

El  $\Psi_b$  varió con el tratamiento ( $p < 0,0001$ ), ciclo estrés-recuperación ( $p < 0,0001$ ), momento de medición ( $p = 0,0005$ ) y existió interacción tratamiento\*clon (0,0094). Durante el ciclo 1 los valores fueron menores ( $-0,58 \pm 0,03$  MPa) que durante el ciclo 2 ( $-0,37 \pm 0,03$  MPa). El tratamiento con RR redujo 35% el  $\Psi_b$  ( $-0,58 \pm 0,03$  MPa) respecto al control ( $-0,36 \pm 0,03$  MPa). El descenso fue más importante en el clon GT (Fig. 1).

#### Figura 1

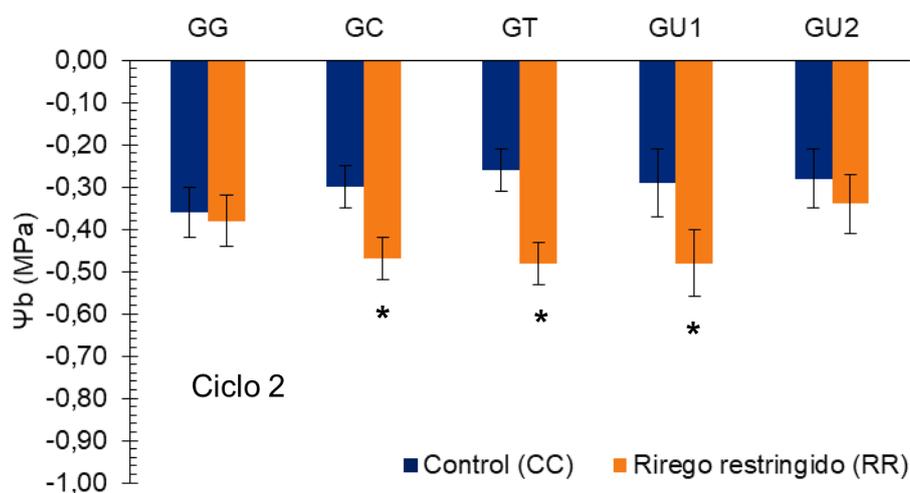
Potencial hídrico base ( $\Psi_b$ , MPa  $\pm$  E.E.) por clon y tratamiento en el ciclo 1 de estrés-recuperación



*Nota.* Con asteriscos se indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

**Figura 2**

Potencial hídrico base ( $\Psi_b$ , MPa  $\pm$  E.E.) por clon y tratamiento en el ciclo 2 de estrés-recuperación



*Nota.* Con asteriscos se indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

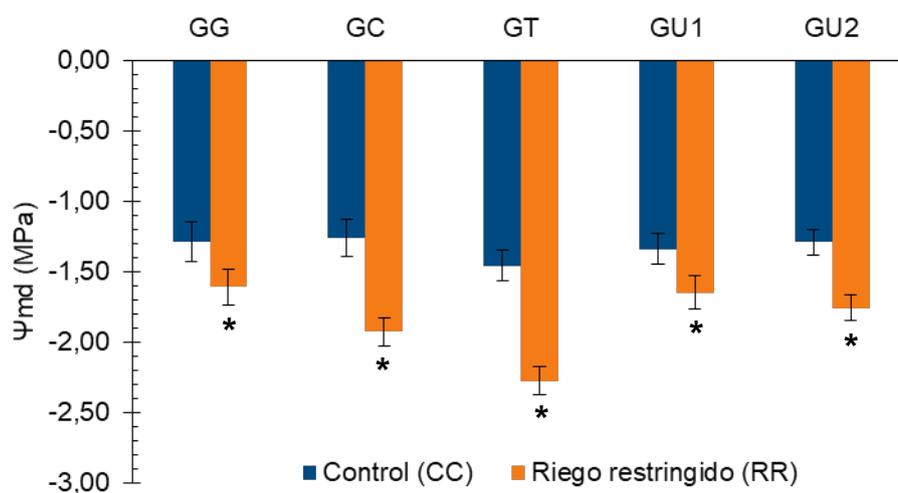
#### 4.1.2. Potencial hídrico mediodía ( $\Psi_{md}$ )

El  $\Psi_{md}$  varió entre clones ( $p < 0,0001$ ), tratamientos ( $p < 0,0001$ ), ciclos ( $p < 0,0001$ ) y momento de medición dentro de cada ciclo ( $p < 0,0001$ ). El promedio fue menor en el ciclo 2 ( $-1,83 \pm 0,06$ ) que en el ciclo 1 ( $-1,60 \pm 0,05$  MPa). El riego restringido provocó un descenso del 23% en el  $\Psi_{md}$  ( $-1,73 \pm 0,04$  MPa) respecto al control ( $-1,35 \pm 0,05$  MPa), lo cual fue más evidente en el ciclo 1 (Fig. 2 y 3). El clon GT presentó el  $\Psi_{md}$  más bajo ( $-1,91 \pm 0,08$  MPa) y GG presentó el más alto ( $-1,53 \pm 0,09$  MPa). Los híbridos GC, GU1 y GU2 mostraron un comportamiento intermedio.

La interacción tratamiento\*clon ( $p = 0,0168$ ) reveló un descenso más importante (27% mayor) en los híbridos con eucaliptos colorados (GC y GT). Las plantas con RR presentaron mayor  $\Psi_{md}$  en *E. grandis* (GG), seguido de GU1 y GU2. El promedio más bajo ( $-2,28 \pm 0,13$  MPa) lo alcanzó GT durante el ciclo 1. En las plantas control no hubo diferencias entre clones en ningún ciclo ( $p > 0,05$  en todos los casos). A su vez, se observó efecto del momento de medición ( $p < 0,0001$ ) durante el ciclo 2, ya que el  $\Psi_{md}$  se redujo 40% al final del ciclo (momento 2).

**Figura 3**

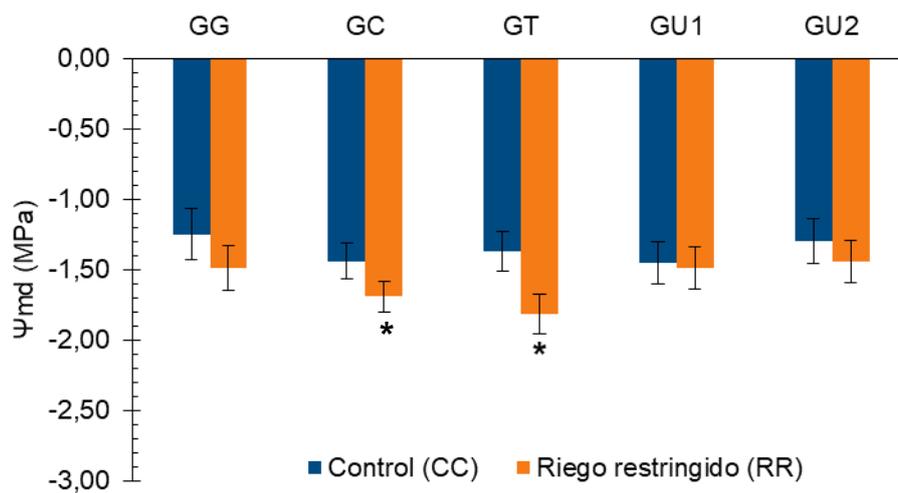
Potencial hídrico mediodía ( $\Psi_{md}$ , MPa  $\pm$  E.E.) por clon y tratamiento en el ciclo 1 de estrés-recuperación



Nota. Con asteriscos se indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

**Figura 4**

Potencial hídrico mediodía ( $\Psi_{md}$ , MPa  $\pm$  E.E.) por clon y tratamiento en el ciclo 2 de estrés-recuperación



Nota. Con asteriscos se indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

#### 4.1.3. Gradiente de potencial hídrico ( $\Delta\Psi$ )

El  $\Delta\Psi$  varió entre clones ( $p < 0,0024$ ), ciclo ( $p = 0,0067$ ), tratamiento ( $p < 0,0077$ ), momento ( $p = 0,0002$ ) y también hubo interacción tratamiento\*clon ( $p = 0,0064$ ). El híbrido GT registró el mayor promedio ( $\Delta\Psi = 1,26 \pm 0,07$  MPa) y el clon de *E. grandis* (GG) presentó el menor ( $\Delta\Psi = 0,98 \pm 0,07$  MPa). Las plantas con RR de GC y GT aumentaron 35% el  $\Delta\Psi$ , superando al resto de los clones (Tabla 1). Este efecto se observó en ambos ciclos estrés-recuperación (Fig. 5 y 6). Las plantas con RR de GU1 y GU2 disminuyeron su  $\Delta\Psi$  durante el ciclo 1, mientras que en el ciclo 2 no se diferenciaron del control. El clon de *E. grandis* no mostró efectos del tratamiento en ningún ciclo.

**Tabla 1**

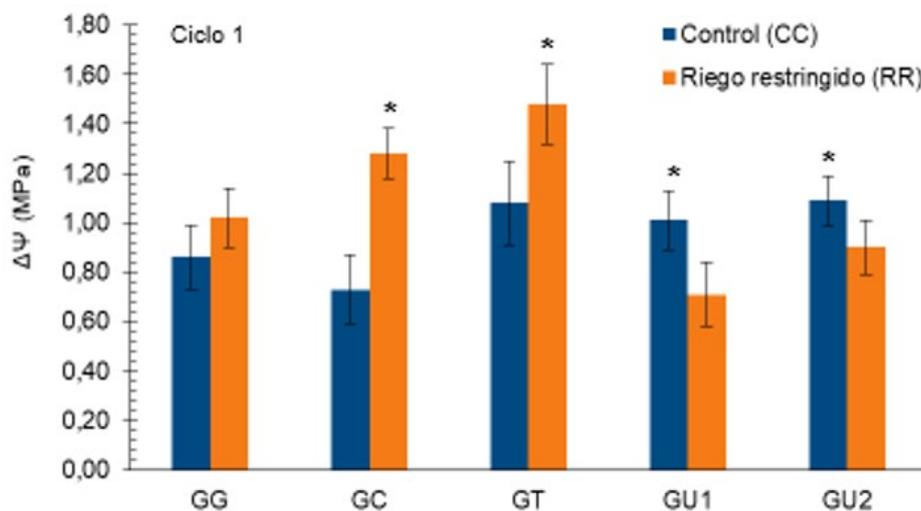
*Gradiente de potencial hídrico ( $\Delta\Psi$ , MPa  $\pm$  E.E.) promedio por clon y tratamiento*

Clon	Gradiente de potencial hídrico ( $\Delta\Psi$ )	
	Control (CC)	Riego restringido (RR)
GG	0,87 $\pm$ 0,10 a	1,07 $\pm$ 0,09 a
GC	0,92 $\pm$ 0,10 b	1,25 $\pm$ 0,10 a
GT	1,09 $\pm$ 0,10 b	1,41 $\pm$ 0,10 a
GU1	1,08 $\pm$ 0,10 a	0,87 $\pm$ 0,10 a
GU2	0,96 $\pm$ 0,08 a	1,09 $\pm$ 0,08 a

*Nota.* Letras distintas en la fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

**Figura 5**

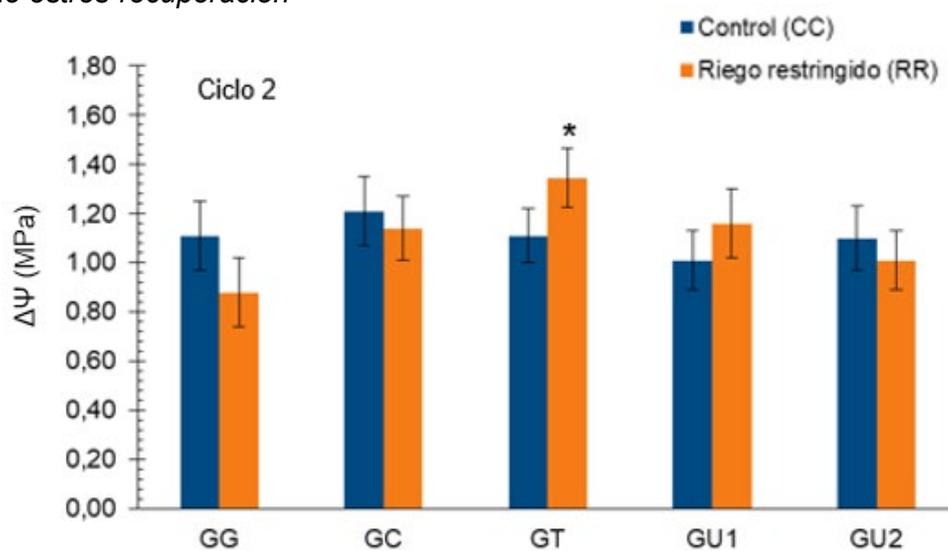
Gradiente de potencial hídrico ( $\Delta\Psi$ , MPa  $\pm$  E.E.) por clon y tratamiento en ciclo 1 de estrés-recuperación



Nota. Con asteriscos se indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

**Figura 6**

Gradiente de potencial hídrico ( $\Delta\Psi$ , MPa  $\pm$  E.E.) por clon y tratamiento en ciclo 2 de estrés-recuperación



Nota. Con asteriscos se indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

#### 4.2. CONTENIDO RELATIVO DE AGUA EN HOJA (CRA)

El riego restringido redujo ( $p = 0,0295$ ) el CRA un 12%. Las plantas control promediaron  $81 \pm 1\%$  y las plantas con RR  $69 \pm 1\%$ . El efecto del tratamiento se mantuvo durante todo el ensayo, según el monitoreo quincenal con muestras aleatorias. El CRA fue estadísticamente ( $p = 0,023$ ) menor durante el ciclo 2 ( $71 \pm 1\%$ ), aunque la diferencia con el ciclo 1 fue muy baja ( $75 \pm 1\%$ ). Todos los clones mostraron un CRA similar ( $p = 0,08$ ). Tampoco hubo efecto del momento de medición ( $p = 0,52$ ).

#### 4.3. CONDUCTANCIA ESTOMÁTICA

La gs varió con el tratamiento ( $p < 0,0001$ ), el clon ( $p < 0,0001$ ) y también existió interacción tratamiento\*clon ( $p < 0,0296$ ). No se observaron efectos del ciclo ( $p = 0,9479$ ). Promediamente, el clon GC presentó mayor gs ( $607 \pm 30 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), seguido de GT ( $477 \pm 27 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). El análisis de la interacción tratamiento\*clon mostró que estos híbridos presentaron mayor gs en ambos tratamientos. Además, GC fue el clon con mayor gs en RR ( $432,52 \pm 32,58 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). Los clones GG ( $380 \pm 28 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) y GU2 ( $389 \pm 29 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), mientras que GU1 presentó la gs más baja ( $286 \pm 28 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). La reducción de gs con RR fue promediamente del 60% ( $242 \pm 14$  vs.  $592 \pm 13 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , RR y CC respectivamente), mientras que en GG y GU1 fue aún mayor (65 a 70%) (Tabla 2).

**Tabla 2**

*Conductancia estomática promedio del experimento ( $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \pm E. E.$ ) por tratamiento para cada clon*

Clon	Conductancia estomática (gs)	
	Control (CC)	Riego restringido (RR)
GG	$564,52 \pm 29,26 \text{ b}$	$197,10 \pm 25,99 \text{ bc}$
GC	$709,45 \pm 28,01 \text{ a}$	$432,52 \pm 32,58 \text{ a}$
GT	$698,54 \pm 29,26 \text{ a}$	$289,69 \pm 23,91 \text{ b}$
GU1	$489,66 \pm 32,35 \text{ b}$	$145,08 \pm 23,91 \text{ c}$
GU2	$503,11 \pm 24,52 \text{ b}$	$227,25 \pm 23,91 \text{ bc}$

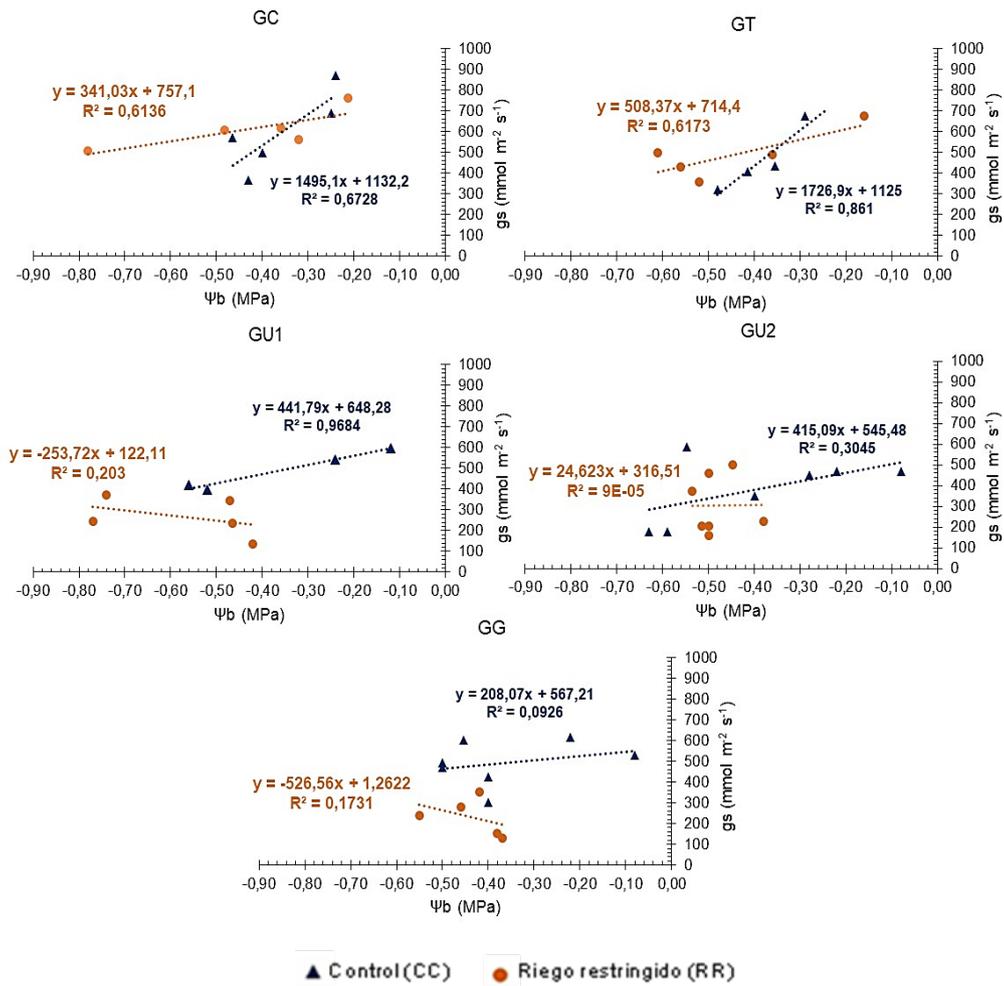
*Nota.* Letras distintas en sentido de las columnas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre clones para un mismo tratamiento.

#### 4.4. RELACIÓN ENTRE $\Psi$ Y CONDUCTANCIA ESTOMÁTICA

Se estudió la correlación entre los potenciales hídricos base ( $\Psi_b$ ) y mediodía ( $\Psi_{md}$ ) con la conductancia estomática ( $g_s$ ). También se analizó la relación de  $g_s$  con el gradiente diario de potencial hídrico ( $\Delta\Psi = \Psi_b - \Psi_{md}$ ). Los resultados mostraron una mayor relación de  $g_s$  ( $R$ ) con  $\Psi_b$  que varió entre clones y tratamiento. El clon GT presentó mayor grado de asociación ( $R = 0,74$ ) entre estas variables, seguido de GC ( $R = 0,56$ ). La relación más baja la presentó GU1 ( $R = 0,30$ ) y GG ( $R = 0,23$ ). Existió un grado alto de asociación ( $R = 0,88$ ) en plantas con RR de GT. Asimismo, en GC y GT hubo mayor grado de ajuste ( $R^2$ ) de los modelos de regresión, especialmente en las plantas control (Fig. 7).

Figura 7

Relación entre conductancia estomática ( $gs$ ,  $mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$ ) y  $\Psi_b$  (MPa) por clon y tratamiento



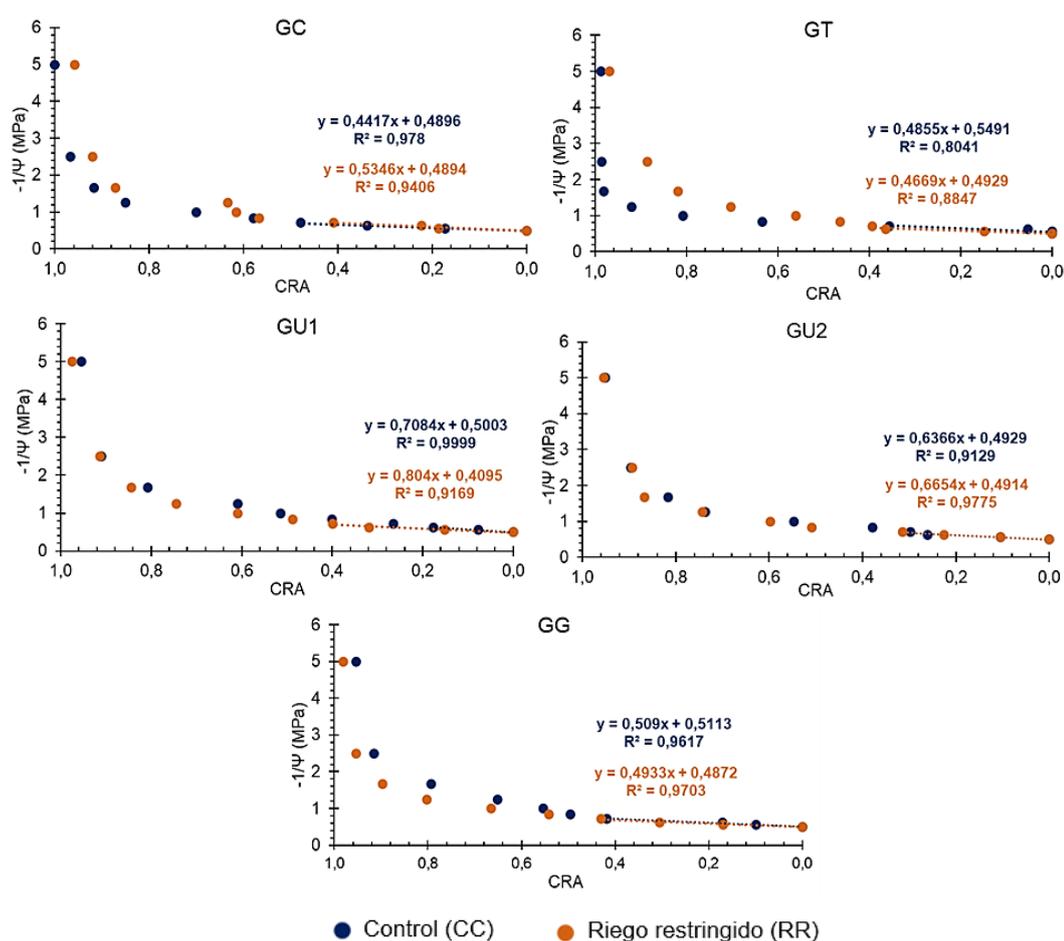
Nota. Cada punto corresponde al promedio de cuatro datos individuales del momento 2 del ciclo 2 de estrés-recuperación, se indican modelos y grado de ajuste ( $R^2$ ).

#### 4.5. CURVAS PRESIÓN-VOLUMEN (P-V)

A continuación (Fig. 8 y 9) se muestran las curvas de presión-volumen (P-V) elaboradas para cada combinación clon\*tratamiento en cada ciclo de estrés-recuperación. A partir de las mismas se calcularon: módulo de elasticidad de pared ( $\epsilon$ ), potencial osmótico en turgencia máxima ( $\Psi_{\pi}$ ) y potencial osmótico en plasmólisis ( $\Psi_{\pi 0}$ ).

**Figura 8**

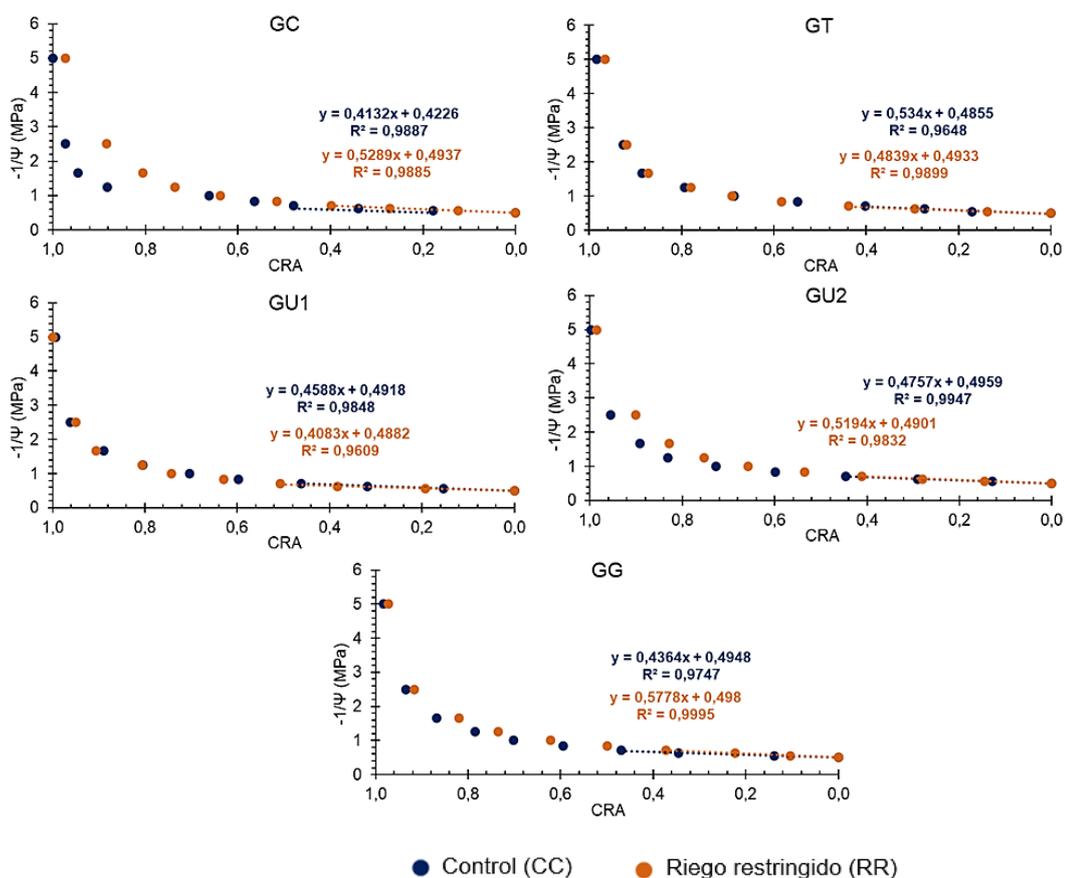
*Curvas presión-volumen ( $-1/\Psi$  vs. CRA) por clon y tratamiento para el ciclo 1 de estrés-recuperación*



*Nota.* Cada punto corresponde al promedio de cuatro datos individuales; se indica la función lineal desde plasmólisis incipiente hasta turgencia cero (línea punteada) y grado de ajuste ( $R^2$ ).

Figura 9

Curvas presión-volumen ( $-1/\Psi$  vs. CRA) por clon y tratamiento para el ciclo 2 de estrés-recuperación



*Nota.* Cada punto corresponde al promedio de cuatro datos individuales; se indica la función lineal desde plasmólisis incipiente hasta turgencia cero (línea punteada) y grado de ajuste ( $R^2$ ).

#### 4.5.1. Módulo de elasticidad de pared ( $\mathcal{E}$ )

El módulo de elasticidad ( $\mathcal{E}$ ) fue mayor ( $p = 0,0005$ ) en el ciclo 1 con una reducción del 45% entre ciclos. El  $\mathcal{E}$  fue  $8,59 \pm 0,69$  MPa en el ciclo 1 y  $4,81 \pm 0,76$  MPa en el ciclo 2. En el ciclo 1 se observó mayor  $\mathcal{E}$  ( $p = 0,0157$ ) en el clon GT valor ( $\mathcal{E} = 14,07 \pm 1,77$  MPa), duplicando a GC ( $\mathcal{E} = 6,30 \pm 1,77$  MPa) y GU2 ( $\mathcal{E} = 6,04 \pm 1,77$  MPa). El análisis de la interacción tratamiento\*clon ( $p = 0,0187$ ) mostró una reducción a la mitad (45%) en plantas con RR del clon GT. En el ciclo 2 se observó un descenso aún mayor (75%) en GC (Tabla 3).

**Tabla 3**

Módulo de elasticidad de pared celular ( $\mathcal{E}$ , MPa  $\pm$  E. E.) por clon y tratamiento en cada ciclo estrés-recuperación

	Módulo de elasticidad de pared ( $\mathcal{E}$ , MPa)			
	Ciclo 1		Ciclo 2	
Clon	CC	RR	CC	RR
GG	7,46 $\pm$ 2,42 a	10,73 $\pm$ 2,10 a	3,22 $\pm$ 0,56 a	3,30 $\pm$ 0,56 a
GC	5,85 $\pm$ 1,19 a	6,74 $\pm$ 1,19 a	9,94 $\pm$ 1,31 a	2,54 $\pm$ 1,31 b
GT	16,74 $\pm$ 1,97 a	8,39 $\pm$ 1,97 b	7,35 $\pm$ 2,76 a	5,05 $\pm$ 1,95 a
GU1	6,63 $\pm$ 1,80 a	6,92 $\pm$ 1,47 a	8,32 $\pm$ 1,83 a	2,84 $\pm$ 1,83 a
GU2	5,79 $\pm$ 2,65 a	6,28 $\pm$ 2,65 a	4,24 $\pm$ 1,04 a	2,87 $\pm$ 1,04 a

*Nota.* Letras distintas en sentido de la fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

#### 4.5.2. Potencial osmótico en turgencia máxima ( $\Psi\pi_t$ )

El  $\Psi\pi_t$  presentó interacción ciclo\*clon ( $p = 0,0212$ ) y no hubo efectos fijos significativos en el ciclo 1. En el ciclo 2 se observó efecto clon ( $p = 0,02173$ ) y tratamiento ( $p = 0,0218$ ). En este ciclo, GC disminuyó significativamente el  $\Psi\pi_t$  (-1,52  $\pm$  0,05 MPa) respecto al ciclo 1 (-1,07  $\pm$  0,05 MPa), pero sin mostrar efecto del tratamiento ( $p = 0,7214$ ). GC fue el clon con menor promedio (-1,52  $\pm$  0,07 MPa). Por otra parte, el híbrido GU1 presentó mayor  $\Psi\pi_t$  (-1,24  $\pm$  0,07 MPa). El efecto del tratamiento se observó únicamente en el clon de *E. grandis* ( $p = 0,040$ ) en el ciclo 2, con un descenso del 22% en RR (Tabla 4).

**Tabla 4**

*Potencial osmótico en turgencia máxima ( $\Psi\pi_t$ , MPa  $\pm$  E. E.) por clon y tratamiento en cada ciclo estrés-recuperación*

	Potencial osmótico en turgencia máxima ( $\Psi\pi_t$ , MPa)			
	Ciclo 1		Ciclo 2	
Clon	CC	RR	CC	RR
GG	-1,64 $\pm$ 0,15 a	-1,22 $\pm$ 0,18 a	-1,24 $\pm$ 0,10 a	-1,47 $\pm$ 0,07 b
GC	-0,96 $\pm$ 0,15 a	-1,19 $\pm$ 0,21 a	-1,51 $\pm$ 0,10 a	-1,54 $\pm$ 0,07 a
GT	-0,98 $\pm$ 0,15 a	-1,13 $\pm$ 0,21 a	-1,27 $\pm$ 0,10 a	-1,40 $\pm$ 0,07 a
GU1	-1,31 $\pm$ 0,19 a	-1,23 $\pm$ 0,21 a	-1,13 $\pm$ 0,10 a	-1,36 $\pm$ 0,07 a
GU2	-1,32 $\pm$ 0,15 a	-1,19 $\pm$ 0,21 a	-1,18 $\pm$ 0,10 a	-1,26 $\pm$ 0,07 a

*Nota.* Letras distintas en sentido de la fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

#### 4.5.3. Potencial osmótico en plasmólisis ( $\Psi\pi_0$ )

A diferencia de los otros parámetros, el  $\Psi\pi_0$  no fue afectado por clon ( $p = 0,8524$ ) ni tratamiento ( $p = 0,1501$ ). Sin embargo, varió entre ciclos ( $p = 0,0012$ ) con menor promedio durante el ciclo 2 ( $-1,20 \pm 0,03$  MPa vs.  $-1,00 \pm 0,03$  MPa del ciclo 1). En la Tabla 5 se muestran los valores por clon y tratamiento para cada ciclo, pero en ningún caso hubo diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 5**

*Potencial osmótico en plasmólisis ( $\Psi\pi_0$ , MPa  $\pm$  E. E.) por clon y tratamiento en cada ciclo estrés-recuperación*

	Potencial osmótico en plasmólisis incipiente ( $\Psi\pi_0$ , MPa)			
	Ciclo 1		Ciclo 2	
Clon	CC	RR	CC	RR
GG	-1,03 $\pm$ 0,09	-1,09 $\pm$ 0,15	-1,06 $\pm$ 0,08	-1,22 $\pm$ 0,31
GC	-0,84 $\pm$ 0,09	-0,94 $\pm$ 0,17	-1,29 $\pm$ 0,08	-0,64 $\pm$ 0,31
GT	-0,86 $\pm$ 0,09	-1,05 $\pm$ 0,17	-1,14 $\pm$ 0,08	-1,20 $\pm$ 0,37
GU1	-0,96 $\pm$ 0,11	-0,99 $\pm$ 0,17	-1,02 $\pm$ 0,08	-1,13 $\pm$ 0,37
GU2	-1,11 $\pm$ 0,09	-1,08 $\pm$ 0,17	-1,08 $\pm$ 0,08	-1,06 $\pm$ 1,37

*Nota.* No existieron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) para ninguna combinación tratamiento\*clon.

#### 4.6. CONDUCTIVIDAD HIDRÁULICA

El riego restringido redujo ( $p < 0,0085$ ) la conductividad hidráulica específica ( $k_s$ ) un 32%, con promedios de  $4,12 \pm 0,32 \text{ kg m}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$  en CC y  $2,87 \pm 0,34 \text{ kg m}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$  en RR. También existió interacción tratamiento\*clon ( $p = 0,0003$ ). En los híbridos con eucalipto colorado (GC y GT) la  $k_s$  en RR disminuyó en mayor medida (80%) que en los otros clones. En los híbridos con *E. urophylla* (GU1 y GU2) no hubo diferencias entre tratamientos, mientras que en *E. grandis* (GG) las plantas con RR tuvieron mayor  $k_s$ .

La cavitación (inferida por el PLC) fue mayor en GC y GT. Estos clones presentaron un PLC promedio de 85% en RR que implicó su  $k_s$  un 42%. En GU1 y GU2 no hubo efecto del tratamiento sobre PLC y en el clon de *E. grandis* la cavitación fue mayor en CC (Tabla 6).

**Tabla 6**

*Conductividad hidráulica específica ( $k_s$ ,  $\text{kg s}^{-1} \text{ m}^{-1} \text{ MPa}^{-1} \pm E. E.$ ) y pérdida porcentual de conductividad hidráulica (PLC, %) por clon y tratamiento*

Clon	$k_s$		PLC	
	CC	RR	CC	RR
GG	$3,23 \pm 0,74 \text{ b}$	$5,27 \pm 0,55 \text{ a}$	$52,21 \pm 6,91 \text{ a}$	$29,88 \pm 7,18 \text{ b}$
GC	$5,61 \pm 0,80 \text{ a}$	$1,02 \pm 0,55 \text{ b}$	$48,72 \pm 7,46 \text{ b}$	$84,18 \pm 7,18 \text{ a}$
GT	$4,68 \pm 0,80 \text{ a}$	$0,98 \pm 0,50 \text{ b}$	$50,95 \pm 7,46 \text{ b}$	$87,54 \pm 6,56 \text{ a}$
GU1	$3,45 \pm 0,80 \text{ a}$	$4,00 \pm 0,55 \text{ a}$	$49,29 \pm 7,46 \text{ a}$	$62,59 \pm 7,18 \text{ a}$
GU2	$3,80 \pm 0,80 \text{ a}$	$3,24 \pm 0,50 \text{ a}$	$47,10 \pm 7,46 \text{ a}$	$55,94 \pm 6,56 \text{ a}$

*Nota.* (control, CC; riego restringido, RR), letras distintas en sentido de la fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

La conductividad foliar específica ( $k_L$ ) fue 35% menor ( $p = 0,0125$ ) en las plantas con RR. La interacción tratamiento\*clon ( $P = 0,001$ ) reveló una disminución importante (73%) en las plantas con RR de los clones GC y GT. En los demás clones no se observó efecto del riego sobre  $k_L$  (Tabla 7).

**Tabla 7**

Conductividad hidráulica foliar específica ( $k_L$ ,  $k_{Lmax}$ ;  $kg\ s^{-1}\ m^{-1}\ MPa^{-1} \pm E. E.$ ) por clon y tratamiento

Clon	$k_L$		$k_{Lmax}$	
	CC	RR	CC	RR
GG	1,83 ± 0,39 a	1,70 ± 0,19 a	3,59 ± 1,09 a	2,50 ± 1,47 a
GC	2,09 ± 0,42 a	0,59 ± 0,19 b	5,83 ± 1,18 a	6,13 ± 1,47 a
GT	1,47 ± 0,42 a	0,40 ± 0,17 b	2,85 ± 1,18 a	3,41 ± 1,34 a
GU1	0,91 ± 0,42 a	1,14 ± 0,19 a	2,16 ± 1,18 a	3,67 ± 1,37 a
GU2	1,38 ± 0,42 a	1,22 ± 0,17 a	2,72 ± 1,18 a	2,88 ± 1,34 a

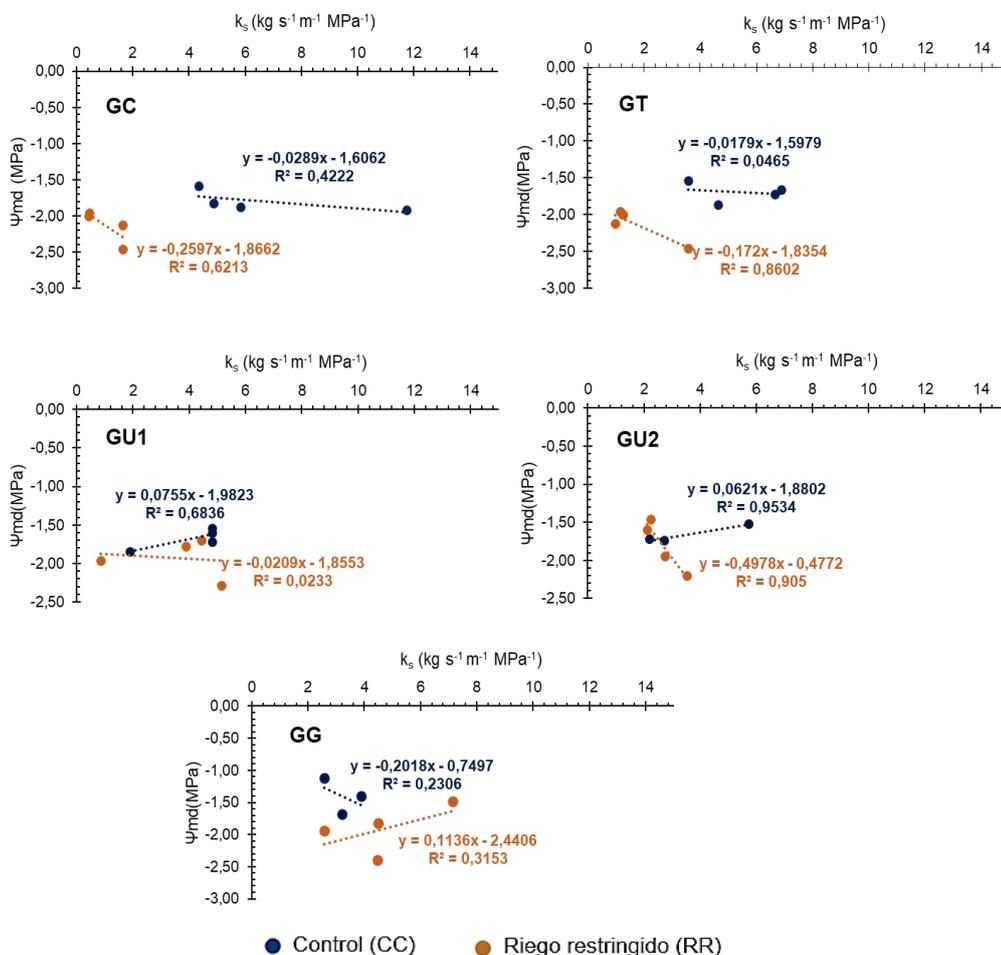
Nota. (control, CC; riego restringido, RR). letras distintas en sentido de la fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

#### 4.7. CORRELACIÓN ENTRE PARÁMETROS HÍDRICOS E HIDRÁULICOS

La relación entre  $k_s$  y el  $\Psi_{md}$  indica cómo varía el potencial hídrico en función de la conductividad hidráulica específica durante el momento de activa transpiración. Los resultados muestran una mayor correlación entre estas variables en GC y GT ( $R = 0,50$ ). En los otros clones la relación fue menor (GU1,  $R = 0,20$ ) o no existió (GG,  $R = 0,06$ ; GU2,  $R = 0,03$ ). Por otro lado, la relación entre PLC y el  $\Psi_{md}$  fue moderada a elevada ( $R = 0,60$ ), excepto en el clon de *E. grandis* ( $R = 0,21$ ). También fue elevado el grado de asociación entre  $k_s$  y  $\Psi_{md}$  en plantas con RR de GC y GG, así como también el grado de ajuste del modelo lineal ( $R^2$ ) (Fig. 10).

**Figura 10**

Relación entre conductividad hidráulica específica ( $k_s$ ,  $\text{kg s}^{-1} \text{m}^{-1} \text{MPa}^{-1}$ ) y potencial hídrico mediodía ( $\Psi_{md}$ , MPa)



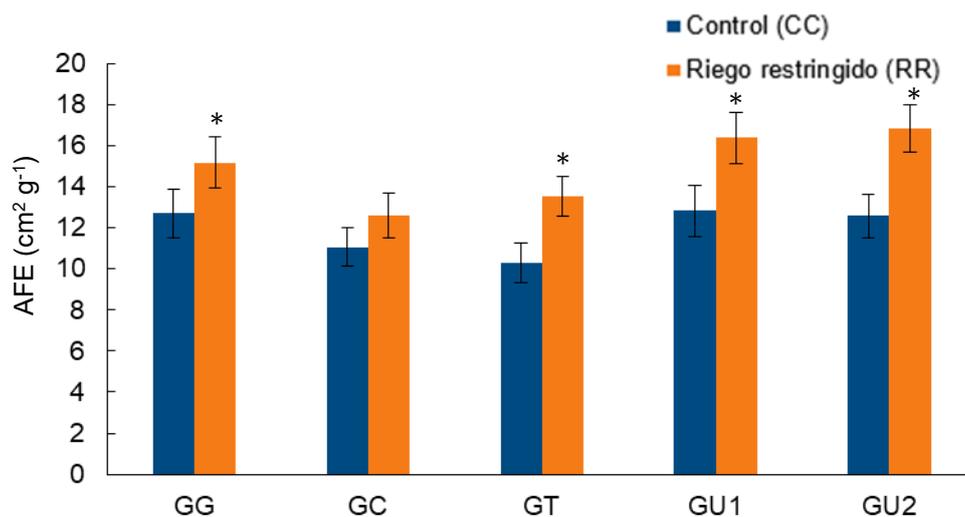
*Nota.* En plantas control (CC) y con riego restringido (RR), cada punto es el promedio de 3 a 4 datos.

#### 4.8. ÁREA FOLIAR DE PLANTA Y ÁREA FOLIAR ESPECÍFICA (AFE)

El área foliar de planta se redujo ( $p < 0,0001$ ) un 75% con el RR y promedió  $0,3 \pm 0,01 \text{ m}^2$ . No hubo efecto clon sobre esta variable ( $p = 0,2248$ ). El AFE varió en función del clon ( $p = 0,0025$ ), tratamiento ( $p < 0,0001$ ) y también existió interacción tratamiento\*clon ( $p = 0,040$ ). El clon con mayor AFE fue GU1 ( $16,88 \pm 2,37 \text{ cm}^2 \text{ gr}^{-1}$ ) y los promedios más bajos se observaron en GC y GT ( $11,29 \pm 0,73$  y  $11,92 \pm 0,68 \text{ cm}^2 \text{ gr}^{-1}$ , GC y GT, respectivamente). La interacción tratamiento\*clon ( $p = 0,040$ ) indica que el clon GC fue el único que no modificó su AFE con RR. Sin embargo, en GT y GU2 aumentó 25%, mientras que en GU1 y GG el incremento fue de 16% (Fig. 11).

**Figura 11**

Área foliar específica ( $\text{cm}^2 \text{g}^{-1} \pm \text{E. E.}$ ) por clon y tratamiento al final del ciclo 2 de estrés-recuperación



*Nota.* con asterisco se indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

#### 4.9. CONTENIDO DE CLOROFILA

El contenido de clorofila en hoja (inferido por el índice SPAD) fue mayor ( $p < 0,0001$ ) en GC ( $40,42 \pm 1,12$ ) y GT ( $39,48 \pm 1,22$ ). Dichos valores superaron en 25% al índice de los híbridos con *E. urophylla* y en 15 % al índice del clon de *E. grandis*. La interacción tratamiento\*clon ( $p = 0,0010$ ) mostró un descenso del contenido de clorofila en plantas con RR de los clones GU1, GU2 y GG. Sin embargo, en GC y GT no hubo efecto del tratamiento (Tabla 8).

**Tabla 8***Índice SPAD ( $\pm$  E. E.) por clon y tratamiento*

Clon	Índice SPAD	
	Control (CC)	Riego restringido (RR)
GG	37,07 $\pm$ 1,73 a	32,43 $\pm$ 1,41 b
GC	42,12 $\pm$ 2,42 a	39,57 $\pm$ 1,71 a
GT	40,19 $\pm$ 0,73 a	37,34 $\pm$ 1,27 a
GU1	38,26 $\pm$ 1,08 a	27,73 $\pm$ 0,61 b
GU2	34,67 $\pm$ 1,73 a	23,95 $\pm$ 0,82 b

*Nota.* Letras distintas en sentido de las columnas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

#### 4.10. CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS

La altura varió con el tratamiento ( $p = 0,0001$ ), clon ( $p = 0,0055$ ), ciclo ( $p < 0,0001$ ) y existió interacción tratamiento clon ( $p < 0,0001$ ). El tratamiento RR redujo la altura promedio un 24%. La altura media fue  $92 \pm 3,11$  cm en CC y  $71 \pm 3,11$  cm en RR. En el ciclo 1 no hubo diferencias entre clones ( $p = 0,1830$ ). En plantas con RR la mayor altura se observó en GC y GT ( $51 \pm 2,57$  cm), mientras que la menor la presentaron GU1 y GG (Tabla 9). El efecto del clon se observó en el ciclo 2 ( $p = 0,0025$ ). Los clones GC y GT alcanzaron mayor altura en RR ( $112 \pm 6,19$  cm) y en CC ( $161 \pm 9,80$  cm). Por otro lado, la menor altura la presentó el clon GG (Tabla 10).

**Tabla 9***Altura de planta (cm  $\pm$  E. E.) por clon en cada tratamiento durante el ciclo 1 de estrés-recuperación*

Clon	Control (CC)	Riego restringido (RR)
GG	47,24 $\pm$ 4,20 a	40,87 $\pm$ 2,58 ab
GC	60,08 $\pm$ 4,29 a	52,27 $\pm$ 2,62 ab
GT	54,23 $\pm$ 4,13 a	53,38 $\pm$ 2,53 a
GU1	53,27 $\pm$ 3,94 a	40,87 $\pm$ 2,67 b
GU2	60,08 $\pm$ 4,28 a	42,65 $\pm$ 2,62 ab

*Nota.* Letras distintas en sentido de las columnas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 10**

*Altura de planta (cm  $\pm$  E. E.) por clon en cada tratamiento durante el ciclo 2 de estrés-recuperación*

Clon	Control (CC)	Riego restringido (RR)
GG	111,46 $\pm$ 9,80 b	75,32 $\pm$ 6,17 c
GC	164,66 $\pm$ 9,80 a	121,40 $\pm$ 6,19 a
GT	144,14 $\pm$ 10,08 ab	102,98 $\pm$ 6,19 b
GU1	115,37 $\pm$ 10,78 a	97,61 $\pm$ 6,17 bc
GU2	158,21 $\pm$ 10,08 a	92,64 $\pm$ 6,19 bc

*Nota.* Letras distintas en sentido de las filas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

El diámetro de planta también varió con el tratamiento ( $p = 0,0001$ ), el clon ( $p = 0,0189$ ) y el ciclo estrés-recuperación ( $p < 0,0001$ ). En RR el promedio (6,47  $\pm$  0,27 mm) se redujo 25% respecto al control (8,48  $\pm$  0,27). En el ciclo 1 no hubo diferencias de diámetro entre clones dentro de cada tratamiento (Tabla 11). Sin embargo, en el ciclo 2 GC presentó menor diámetro ( $p = 0,0076$ ) que GU1 y GU2. Los otros clones (GG y GT) presentaron un comportamiento intermedio (Tabla 12).

**Tabla 11**

*Diámetro de planta (mm  $\pm$  E. E.) por clon en cada tratamiento durante el ciclo 1 de estrés-recuperación*

Clon	Control (CC)	Riego restringido (RR)
GG	5,39 $\pm$ 0,44 a	4,67 $\pm$ 0,29 a
GC	5,33 $\pm$ 0,44 a	4,16 $\pm$ 0,29 a
GT	5,45 $\pm$ 0,43 a	4,45 $\pm$ 0,29 a
GU1	5,81 $\pm$ 0,48 a	4,54 $\pm$ 0,29 a
GU2	5,31 $\pm$ 0,41 a	4,80 $\pm$ 0,29 a

*Nota.* Letras distintas en sentido de las columnas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 12**

*Diámetro de planta (mm ± E. E.) por clon en cada tratamiento durante el ciclo 2 de estrés-recuperación*

Clon	Control (CC)	Riego restringido (RR)
GG	12,56 ± 0,88 ab	8,14 ± 0,50 a
GC	11,12 ± 0,98 b	7,73 ± 0,50 a
GT	11,32 ± 0,90 ab	8,14 ± 0,50 a
GU1	14,76 ± 0,96 a	8,80 ± 0,50 a
GU2	14,70 ± 0,90 a	8,43 ± 0,50 a

*Nota.* Letras distintas en sentido de las columnas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

## 5. DISCUSIÓN

### 5.1. ESTADO HÍDRICO Y ACTIVIDAD TRANSPIRATORIA

El estado hídrico de las plantas se estudió a través del potencial hídrico en hoja (base, mediodía, y su gradiente diario). La información se relacionó con el contenido relativo de agua en los tejidos y con la conductancia estomática, parámetro fundamental para comprender el intercambio de gases y la regulación del estado hídrico durante ambos ciclos estrés-recuperación. En el trabajo se estudiaron los efectos de dos ciclos de riego restringido, separados por un período de riego con la dosis del control (recuperación).

Durante el ciclo 1 hubo menor cantidad (37% menor) de agua en las macetas, inferida por valores más bajos del  $\Psi_b$  (Fig. 1). La transpiración (inferida por el  $\Delta\Psi$ ) fue mayor en los híbridos con eucaliptos colorados (GC y GT), especialmente, bajo el tratamiento de riego restringido (Tabla 1). Este efecto fue aún más notable en el híbrido GT durante ambos ciclos. Durante el ciclo 2 se observó una mayor reducción del  $\Psi_{md}$  y mayor gradiente de potencial ( $\Delta\Psi$ ) (Fig. 2 y 3), lo cual sugiere mayor actividad transpiratoria para un mismo nivel de conductividad hidráulica (Franks et al., 2007).

Probablemente durante el ciclo 2 hayan operado mecanismos compensatorios que disminuyeron la transpiración (tanto en riego CC como en RR), salvo en GC y especialmente, en GT. Este comportamiento estuvo relacionado con una mayor apertura estomática (mayor  $g_s$ ) en estos híbridos, tanto en RR como en el control (Tabla 2). Por otro lado, el clon de *E. grandis* (GG) y el híbrido GU1 fueron más sensibles al tratamiento de RR, ya que redujeron en mayor grado su apertura estomática (de 65 a 70%) durante ambos ciclos. Los resultados son consistentes con lo reportado por Whitehead y Beadle (2004) y White et al. (2000) para *E. grandis*.

Los resultados sugieren un comportamiento anisohídrico en los híbridos con eucaliptos colorados (GC y GT), si se comparan con los demás clones, ya que la fluctuación diaria del  $\Psi$  fue mayor. Gándara et al. (2020) observaron una tendencia similar en árboles de 2 a 4 años durante temporadas con diferente disponibilidad de agua en el suelo. Bourné et al. (2015) reportaron mayor tolerancia al déficit hídrico en *E. camaldulensis* y *E. tereticornis*, los cuales son capaces de transpirar más activamente que otros eucaliptos en condiciones de alta demanda atmosférica. En el presente trabajo el  $D_{pv}$  durante la medición del potencial hídrico al mediodía osciló entre 2,5 y 4 kPa, es decir, una condición de

estrés moderado a severo (Amitrano et al., 2019). En Sudáfrica, Eksteen et al. (2013) observaron que la recuperación de gs post-estrés es más rápida en híbridos GC que GU. Sería importante contar con curvas de respuesta de gs al Dpv para estudiar específicamente la sensibilidad de estos clones a la demanda atmosférica. En este trabajo no fue posible realizarlas por problemas operativos.

## 5.2. MECANISMOS DE RESPUESTA AL DÉFICIT HÍDRICO

### 5.2.1. Hídrico-funcionales ( $\epsilon$ , $\Psi\pi$ , AFE)

En el trabajo se identificaron diferentes mecanismos de respuesta al estrés. El ajuste elástico fue evidente en los híbridos GC y GT. El módulo de elasticidad de pared ( $\epsilon$ ) fue menor (45%) en el segundo ciclo, lo cual sugiere la ocurrencia de ajuste elástico. Esta capacidad está presente en especies leñosas de rápido crecimiento (Pallardy, 2007). Sin embargo, es una característica altamente especie-dependiente y la información en *Eucalyptus* es fragmentaria.

El clon GT presentó mayor  $\epsilon$  que los demás (Tabla 3) y esto indica una mayor rigidez en sus paredes celulares. Sin embargo, fue el único clon que mostró efecto del tratamiento en el primer ciclo, disminuyendo el  $\epsilon$  a la mitad. Durante el ciclo 2 esta reducción la presentó GC y fue aún más evidente (75%). Este mecanismo permitió que los híbridos con eucalipto colorado perdieran turgencia de forma más gradual, plasmolizando a menores CRA. Así, lograron mantener turgencia y una elevada apertura estomática, aún en estrés severo (muy bajos potenciales hídricos y elevado Dpv).

El potencial osmótico en turgencia plena ( $\Psi\pi_t$ ) disminuyó con el RR en *E. grandis*, es decir, activó el mecanismo de ajuste osmótico. La respuesta se observó al final del ciclo 2 (finales del verano). El clon GC también redujo el  $\Psi\pi_t$ , pero fue independiente del tratamiento (Tabla 4). Lemcoff et al. (2002) reportó una tendencia similar en *E. camaldulensis*, a pesar de tratarse de una capacidad muy variable según el genotipo. Por otra parte, no se observaron efectos del clon ni del tratamiento sobre el potencial osmótico en plasmólisis ( $\Psi\pi_0$ ).

El área foliar específica (AFE) en RR aumentó un 11% en promedio (Fig. 11). El híbrido GC fue el único que no modificó su AFE en RR, sin embargo, en los demás clones el aumento de AFE fue del entorno del 20%, lo cual sugiere que es menos susceptible a la regulación del tamaño de superficie “transpirante” en déficit hídrico. El clon GU1 presentó mayor AFE, mientras que GC y GT fueron los de menor promedio.

### 5.2.2. Conductividad hidráulica ( $k_s$ ), cavitación (PLC) y estado hídrico

El tratamiento de RR disminuyó la conductividad hidráulica específica 30%, excepto en los híbridos con *E. urophylla*, en los cuales no hubo efecto del tratamiento. Los híbridos con eucaliptos colorados mostraron una reducción mayor (80%) de  $k_s$  que estuvo asociada a una mayor proporción de vasos cavitados (PLC). Sin embargo, su elevada  $g_s$  indicaría que fueron más resistentes a la cavitación, ya que lograron mantener el intercambio gaseoso en RR. Por otro lado, el clon de *E. grandis* aumentó su  $k_s$  en déficit hídrico, a diferencia del resto de los clones (Tabla 6).

Las diferencias entre clones se deben a una mayor vulnerabilidad a la cavitación en GG, seguido de GU1 y GU2, lo cual indica menor PLC en condiciones de déficit hídrico. También se observó mayor actividad transpiratoria ( $\Delta\Psi$ ), apertura estomática ( $g_s$ ) y resistencia a la cavitación (mayor PLC) en GC y GT, especialmente en el tratamiento con RR. Los resultados son consistentes con lo reportado por Tesón et al. (2013) para las especies puras, ya que observaron mayor  $P_{50}$  en *E. grandis* respecto a *E. camaldulensis*.

Existen modelos que explican cómo la disminución de  $k_s$  modifica la apertura estomática en leñosas en condiciones de déficit hídrico. Así, la reducción de  $k_s$  induce el cierre estomático en condiciones de elevado PLC. Existen ajustes de  $k_s$  en raíz (Bourbia et al., 2021; Sperry & Saliendra, 1994), tallo (Li et al., 2009) y hoja (Cochard., 2002) que inducen el descenso de  $g_s$ , demostrando así la interdependencia entre  $g_s$  y  $k_s$  en la regulación estomática, y especialmente la  $k_s$  en la raíz (Carminati & Javaux, 2020). Los resultados sugieren que GG y los híbridos con *E. urophylla* presentan mayor sensibilidad de  $g_s$  frente a una disminución de  $k_s$ . Esta tendencia fue más notable en GG, ya que las plantas con RR no disminuyeron su potencial hídrico mediodía con aumentos de  $k_s$  (Fig. 8) y, por lo tanto, perdieron menos agua. Este patrón sugiere un claro efecto de la red de señalización hidráulica sobre  $g_s$ .

Los clones GC y GT fueron menos sensibles a dicha regulación, es decir, logran mantener elevada  $g_s$  con alto PLC. Dicha capacidad les permitiría mantener la fijación de  $CO_2$  con altas tasas transpiratorias y alto  $D_{pv}$ . Este comportamiento también se observó en la capacidad de suministro de agua al follaje ( $k_L$ ), ya que en los híbridos GC y GT se redujo sensiblemente (más del 70%) en riego restringido. Es preciso estudiar cómo opera la  $k_s$  en diferentes órganos sobre este

proceso (hoja, tallo y raíces) y con diferentes niveles de disponibilidad hídrica en el suelo.

### 5.3. CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS Y ESTADO HÍDRICO

La altura de las plantas en RR fue mayor en los clones GC y GT durante el ciclo 1 de estrés-recuperación, mientras que en el ciclo 2, esta tendencia comportamiento también se vio en las plantas control (Tablas 9 y 10). Este comportamiento estuvo asociado a una mayor actividad transpiratoria de estos clones (en ambos ciclos) y también refleja una mayor actividad fotosintética. A su vez, el contenido de clorofila en hoja (medido al final del ciclo 2) fue mayor en GC y GT, superando en un 25% a los híbridos GU y en un 15% al clon de *E. grandis*. Asimismo, el contenido de clorofila se mantuvo en las plantas con RR de GC y GT, mientras que en los otros clones disminuyó significativamente (Tabla 8).

El comportamiento de los híbridos con eucaliptos colorados podría estar explicado por un efecto "hormesis", en el cual se observa un aumento de la concentración del pigmento frente un déficit hídrico moderado. En este trabajo no hubo un incremento de clorofila en estrés, los valores se mantuvieron similares al control y reforzaron la actividad fotosintética y el crecimiento en altura. Esto implicaría una mayor capacidad de resiliencia en RR. El crecimiento diamétrico no varió entre clones en el primer ciclo y en el segundo se observaron diferencias únicamente en plantas control (clones GU con mayor diámetro). Eksteen et al. (2013) observaron tasas de crecimiento continuas en clones GC creciendo en déficit hídrico moderado, a diferencia de los clones GU, y lo asociaron con una menor sensibilidad al Dpv y mayor fijación de carbono en los primeros.

## 6. CONCLUSIONES

En el trabajo se estudió la respuesta al estrés hídrico (moderado a severo) en clones de *E. grandis* (GG) e híbridos interespecíficos con *E. camaldulensis* (EC), *E. tereticornis* (GT) y *E. urophylla* (GU1 y GU2). Durante ambos ciclos de estrés-recuperación se observó mayor intercambio gaseoso en los clones GC y GT, los cuales presentaron mayor apertura estomática ( $g_s$ ) y gradiente diario de potencial hídrico ( $\Delta\Psi$ ) con una mayor actividad transpiratoria y fijación de carbono. Asimismo, fueron menos vulnerables a la cavitación (mayor PLC) y presentaron un descenso mayor de la conductividad hidráulica ( $k_s$ ) en condiciones de déficit hídrico, que varió en mayor grado con el potencial hídrico al mediodía ( $\Psi_{md}$ ). Estos híbridos activaron el ajuste elástico (menor  $\epsilon$ ) en déficit hídrico y aumentaron en mayor medida su área foliar específica (especialmente GT), promoviendo la plasmólisis a menor CRA. Este comportamiento se asoció a un mayor crecimiento en altura en el clon GC.

La correlación entre variables hídricas e hidráulicas sugiere una menor regulación de  $g_s$  en función de  $k_s$  en estos clones (híbridos colorados), como así también una menor sensibilidad a la demanda atmosférica ( $D_{pv}$ ). También presentaron mayor contenido de clorofila, lo cual sugiere una respuesta de tipo "hormesis" que contribuyó a una mayor capacidad de resiliencia, reflejada en un mayor crecimiento al final del estudio. El clon de *E. grandis* fue más sensible al  $D_{pv}$  y a la cavitación, seguido de los híbridos con *E. urophylla*. Estos últimos presentaron un mayor crecimiento en diámetro.

Los resultados muestran un comportamiento diferencial entre clones, aunque es necesario explorar en mayor medida cómo operan estos mecanismos en el tiempo, ya que solo se analizaron en dos ciclos de estrés en primavera y verano. Además, no se conocen las bases morfológicas y anatómicas que explican estos comportamientos, como, por ejemplo, el diámetro y distribución de vasos xilemáticos, la anatomía y distribución de los estomas, entre otros atributos. Estos estudios son importantes para comprender los mecanismos de respuesta al estrés en estos clones.

## 7. BIBLIOGRAFIA

- Agathokleous, E., Feng, Z., & Peñuelas, J. (2020). Chlorophyll hormesis: Are chlorophylls major components of stress biology in higher plants? *Science of the Total Environment*, (726), Artículo e138637. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138637>
- Allen, R., Pereira, L., Raes, D., & Smith, M. (1998). *Crop evapotranspiration: Guidelines for computing crop water requirements*. FAO.
- Amitrano, C., Arena, C., Roupheal, Y., De Pascale, S., & De Micco, V. (2019). Vapour pressure deficit: The hidden driver behind plant morphofunctional traits in controlled environments. *Annals of Applied Biology*, 173(3), 313-325. <https://doi.org/10.1111/aab.12544>
- Andreu, P. P., Cañas, I., Ruiz, F., & Pardo, J. (2008) Características hidráulicas y efecto del estrés hídrico en cuatro clones de *Eucalyptus globulus* Labill. *Boletín Informativo CIDEU*, (6), 35-46.
- Argentel, L., Fonseca, I., González, L. M., & López Aguilar, R. (2013). Efectos de la salinidad en las variables hídricas potenciales hídrico y osmótico y ajuste osmótico en cultivares cubanos de trigo (*Triticum aestivum* L. y *T. durum* L.). *Cultivos Tropicales*, 34(4), 43-48.
- Arhús, R. (2019). *Estudio de variables hídricas y funcionales en clones de Eucalyptus grandis e híbridos interespecíficos* [Trabajo final de grado, Universidad de la República]. Colibri. <https://hdl.handle.net/20.500.12008/29007>
- Azcón-Bieto, J., & Talón, M. (2008). *Fundamentos de Fisiología Vegetal* (2ª ed.). McGraw-Hill.
- Barotto, A. J., Fernández, M. E., Gyenge, J., Meyra, A., Martínez-Meier, A., & Monteoliva, S. (2016). First insights into the functional role of vasicentric tracheids and parenchyma in *Eucalyptus* species with solitary vessels: Do they contribute to xylem efficiency or safety. *Tree Physiology*, 36, 1485-1497.
- Belz, R. G. (2018). Herbicide hormesis can act as a driver of resistance evolution in weeds – PSII-target site resistance in *Chenopodium album* L. as a case study. *Pest Management Science*, 74(12), 2874–2883. <https://doi.org/10.1002/ps.5080>
- Bourbia, I., Pritzkow, C., & Brodrigg, T. J. (2021). Herb and conifer roots show similar high sensitivity to water deficit. *Plant Physiology*, 186, 1908-1918.

- Bourné, A. E., Haigh, A. M., & Ellsworth, D. S. (2015). Stomatal sensitivity to vapour pressure deficit relates to climate of origin in *Eucalyptus* species. *Tree Physiology*, 35(3), 266-278.
- Brussa, A. (1994). *Eucalyptus: Especies de cultivo más frecuentes en Uruguay y regiones de clima templado*. Hemisferio Sur.
- Carignato, A. (2020). *Caracterización a edad temprana de clones del género Eucalyptus por su resistencia a estreses abióticos para uso en plantaciones comerciales* [Disertación doctoral, Universidad de Huelva]. Arias Montano. <http://hdl.handle.net/10272/19459>
- Carminati, A., & Javaux, M. (2020). Soil rather than xylem vulnerability controls stomatal response to drought. *Trends in Plant Science*, 25, 868-880.
- Chaves, M. M., Maroco, J., & Pereira, J. S. (2003). Understanding plant responses to drought: From genes to the whole plant. *Functional Plant Biology*, 30, 239-264.
- Cochard, H. (2002). Xylem embolism and drought-induced stomatal closure in maize. *Planta*, 215, 466-471.
- Drew, D. M., Downes, G. M., Grzeskowiak, V., & Naidoo, T. (2009). Differences in daily stem size variation and growth in two-hybrid eucalypt clones. *Trees*, 23, 585-595.
- Eksteen, A. B., Grzeskowiak, V., Jones, N. B., & Pammenter, N. W. (2013). Stomatal characteristics of *Eucalyptus grandis* clonal hybrids in response to water stress. *Southern Forests: A Journal of Forest Science*, 75(3), 105-111.
- Franks, P. J., Drake, P. L., & Froend, R. H. (2007). Anisohydric but isohydrodynamic: Seasonally constant plant water potential gradient explained by a stomatal control mechanism incorporating variable plant hydraulic conductance. *Plant, Cell and Environment*, 30(1), 19-30.
- Gándara, J., Ross, S., Quero, G., Dellacassa, P., Dellepiane, J., Figarola, G., & Viega, L. (2020). Differential water-use efficiency and growth among *Eucalyptus grandis* hybrids under two different rainfall conditions. *Forest Systems*, 29(2), 32-45.
- Guarnaschelli, A., Chiavassa, J., & Garau, A. (2014). Respuestas fisiológicas resistencia al estrés y crecimiento de plantas de *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus grandis* modificados por potasio bajo condiciones de sequía. *Ciencia e Investigación Forestal*, 20(1), 23-37.

- Guarnaschelli, A. B., Lemcoff, J. H., Prystupa, P., & Basci, S. O. (2003). Responses to drought preconditioning in *Eucalyptus globulus* Labill. provenances. *Trees Structure and Function*, 17, 501-509.
- Hacke, U. G., & Sperry, J. S. (2001). Functional and ecological xylem anatomy. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 4(2), 97-115.
- Harayama, H., Ikeda, T., Ishida, A., & Yamamoto, S. I. (2006). Seasonal variations in water relations in current-year leaves of evergreen trees with delayed greening. *Tree Physiology*, 26, 1025-1033.
- Hérault, A., Lin, Y., Bourné, A., Medlyn, B., & Ellsworth, D. (2013). Optimal stomatal conductance in relation to photosynthesis in climatically contrasting *Eucalyptus*. *Plant, Cell & Environment*, 36, 262-274.
- Hinckley, T. M., Duhme, F., Hinckley, A. R., & Richter, H. (1980). Water relations of drought hardy shrubs: Osmotic potential and stomatal reactivity. *Plant, Cell & Environment*, 3, 131-140.
- Hubbard, R. M., Ryan, M. G., Stiller, V., & Sperry, J. S. (2001). Stomatal conductance and photosynthesis vary linearly with plant hydraulic conductance in ponderosa pine. *Plant, Cell and Environment*, 24, 113-121.
- Lambers, H., Chapin, F. S., & Pons, T. L. (2008). *Plant physiological ecology*. Springer.
- Lemcoff, J. H., Guarnaschelli, A. B., Garau, A. M., & Prystupa, P. (2002). Elastic and osmotic adjustments in rooted cuttings of several clones of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. from southeastern Australia after a drought. *Flora*, 197, 134-142.
- Levitt, J. (1980). *Responses of plants to environmental stresses: Water, radiation, salt, and other stresses*. Academic Press.
- Li, Y., Sperry, J. S., & Shao, M. (2009). Hydraulic conductance and vulnerability to cavitation in corn (*Zea mays* L.) hybrids of differing drought resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 66, 341-346.
- Martínez-Vilalta, J., & Garcia-Forner, N. (2017). Water potential regulation, stomatal behaviour and hydraulic transport under drought: Deconstructing the iso/anisohydric concept. *Plant, Cell and Environment*, 40, 962-976.
- Martorell, S. (2014). *Understanding the regulation of leaf and plant gas Exchange under water stress with a process-based model of stomatal conductance* [Disertación doctoral, Universidad de las Islas Baleares]. UIB repositori. <http://hdl.handle.net/11201/149214>

- Mattson, M. P. (2008). Hormesis defined. *Ageing Research Reviews*, 7, 1–7, <https://doi.org/10.1016/j.arr.2007.08.007>
- Meinzer, F. C., & McCulloh, K. A. (2013). Xylem recovery from drought-induced embolism: Where is the hydraulic point of no return? *Tree Physiology*, 33(4), 331-334. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpt022>
- Mejía-de Tafur, M. S., Riaño-Herrera, N. M., Urrego-Mesa, J. B., Ibarra-Espinosa, D. M., & Zapata-Duque, C. M. (2017). Effect of soil water availability on gas exchange in young trees of *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden. *Acta Agronómica*, 66(4), 549-557.
- Merchant, A., Callister, A., Arndt, S., Tausz, M., & Adams, M. (2007). Contrasting physiological responses of six *Eucalyptus* species to water deficit. *Annals of Botany*, 100(7), 1507-1515.
- Nardini, A., Lo Gullo, M. A., & Salleo, S. (2011). Refilling embolized xylem conduits: Is it a matter of phloem unloading. *Plant Science*, 180(4), 604-611.
- Ni3n Perdomo, M. (2022). *Efecto del d3ficit h3drico en la actividad fotosint3tica y el estado h3drico de clones comerciales de Eucalyptus grandis e h3bridos interespec3ficos* [Tesis de maestr3a, Universidad de la Rep3blica]. Colibri. <https://hdl.handle.net/20.500.12008/33202>
- Oficina de Estad3sticas Agropecuarias. (2017). *Anuario estad3stico agropecuario 2017*. MGAP. <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/sites/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/files/documentos/publicaciones/diea-anuario2017web01a.pdf>
- Organizaci3n de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentaci3n. (1981). *El eucalipto en la repoblaci3n forestal*. <http://www.fao.org/3/a-ac459s.pdf>
- Pallardy, S. G. (2007). *Physiology of Woody plants* (14<sup>th</sup> ed.). Elsevier.
- Pammenter, N. W., & Vander Willigen, C. (1998). A mathematical and statistical analysis of the curves illustrating vulnerability of xylem to cavitation. *Tree Physiology*, 18(8), 589-593.
- Pita, P., & Pardos, J. A. (2001). Growth, leaf morphology, water use and tissue water relations of *Eucalyptus globulus* clones in response to water deficit. *Tree Physiology*, 21, 599-607.
- Salleo, S., Nardini, A., Pitt, F., & Lo Gullo, M. A. (2000). Xylem cavitation and hydraulic control of stomatal conductance in Laurel (*Laurus nobilis* L.). *Plant, Cell and Environment*, 23(1), 71-79.

- Sperry, J. S., Hacke, U.G., Oren, R., & Comstock, J. P. (2002). Water deficits and hydraulic limits to leaf water supply. *Plant, Cell and Environment*, 25, 251-263.
- Sperry, J. S., & Saliendra, N. Z. (1994). Intra- and inter-plant variation in xylem cavitation in *Betula occidentalis*. *Plant, Cell and Environment*, 17, 1233-1241.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2010). *Plant Physiology* (5<sup>a</sup> ed.) Sinauer.
- Talbot, A. B., Tyree, M. T., & Dainty, J. (1975). Some notes concerning the measurement of water potentials of leaf tissue with specific reference to *Tsuga canadensis* and *Picea abies*. *Canadian Journal of Botany*, 53(8), 784-788.
- Tardieu, F., & Simonneau, T. (1998). Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: Modelling isohydric and anisohydric behaviours. *Journal of Experimental Botany*, 49, 419-432.
- Tesón, N., Fernández, M. E., & Licata, J. (2014). Resultados preliminares sobre la variación en vulnerabilidad a la cavitación por sequía en clones de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maid. *Ciencia e Investigación Forestal*, 20(2), 7-16.
- Tesón, N., Licata, J., Monteoliva, S., & Fernández, M. E. (2013, octubre). *La Ecofisiología como herramienta para el manejo forestal sustentable* [Contribución]. Conferencia en XXVII Jornadas Forestales de Entre Ríos, Entre Ríos.  
[https://www.jornadasforestales.com.ar/jornadas/2013/570.VI.TESON\\_LICATA.pdf](https://www.jornadasforestales.com.ar/jornadas/2013/570.VI.TESON_LICATA.pdf)
- Tyree, M. T. (2003). Hydraulic limits on tree performance: Transpiration, carbon gain and growth of trees. *Trees*, 17, 95-100.  
<https://doi.org/10.1007/s00468-002-0227-x>
- Tyree, M. T., & Ewers, F. W. (1991). The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytologist*, 119, 345-360.
- Tyree, M. T., & Hammel, H. T. (1972). The measurement of turgor pressure and the water relations of plants with the pressure bomb technique. *Journal of Experimental Botany*, 23, 267-282.
- Tyree, M. T., & Zimmermann, M. H. (2002). *Xylem structure and the ascent of sap* (2<sup>nd</sup> ed.) Springer.

- White, D. A., Turner, N. C., & Galbraith, J. H. (2000). Leaf water relations and stomatal behavior of four allopatric *Eucalyptus* species planted in 44 mediterranean southwestern Australia. *Tree Physiology*, 20(17), 1157-1165.
- Whitehead, D., & Beadle, C. L. (2004). Physiological regulation of productivity and water use in *Eucalyptus*: A review. *Forest Ecology and Management*, 193(1-2), 113-140.