



UNIVERSIDAD CENTRAL DE
VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA

Ecofisiología de *Cercidium praecox* (R. & P.): papel del tallo fotosintético en la economía del carbono

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

Presentado ante la Ilustre Universidad Central de Venezuela por la Bachiller Eleinis Alexandra Ávila Lovera como requisito parcial para optar al título de Licenciado en Biología

Tutor: Dr. Wilmer Tezara Fernández

CARACAS, VENEZUELA
OCTUBRE - 2011

A mis padres

Agradecimientos

A mis padres, por apoyarme siempre, por ayudarme en cada etapa de mi carrera y de toda mi vida. A mis hermanos, por ser quienes son, aunque a veces nos odiamos un poco la mayor parte del tiempo los quiero. Y a mis sobrinas hermosas, por ser parte importante de mi vida, por alegrarme con sus ocurrencias en momentos de desesperación. Los amo a todos.

A mi tutor, el Dr. Wilmer Tezara, por confiar en mí durante el desarrollo de este trabajo y ser de gran ayuda y apoyo durante la escritura y corrección del manuscrito. Gracias por permitirme trabajar contigo y aprender de ti, todo lo que sé de Ecofisiología Vegetal te lo debo en gran parte.

A las Profas. Rosa Urich e Ilsa Coronel, por ser de invaluable ayuda y apoyo, tanto en el campo como en el laboratorio, por sus conocimientos que siempre fueron tan oportunos. Parte de este trabajo se lo debo a ustedes.

A la Profa. Ana Herrera, por su interés en este trabajo y por sus críticas y correcciones que me fueron de gran ayuda. Gracias por todo.

A Oranys Marín y Carolina Kalinhoff, por ser parte importante del trabajo de campo durante la temporada de lluvia, que aunque era “lluvia” el calor y el sol nos agotó durante el curso diario. Muchas Gracias.

A la Arenera “La Chica” por permitirme realizar esta investigación dentro de sus límites. Al personal encargado del vivero, especialmente a Ronmel por su ayuda en los días de muestreo.

A Miquel Gonzalez-Meller, por su ayuda a distancia con una parte importante de los datos de este trabajo. Gracias.

A Jenny De Almeida y Alejandro Ángel, mis compañeritos de laboratorio y mis muy buenos amigos. Jenny gracias por ayudarme cada vez que lo necesitaba, con los equipos, los programas, etc. Ale gracias por tus ocurrencias en el laboratorio y en el vivero, me hicieron reír mucho. Los quiero.

A mis amigos bellos que me acompañaron durante más de tres años, la mayor parte del transcurso de nuestra hermosa carrera: Alicia, Alejandro, Raibel, Erick, Kimberlyn, Roberto, Yaremis, Robert, Jennifer, Carolina y Migdelys. Los voy a extrañar cuando ya no pasemos la mayor parte del día juntos, y en nuestras estudiadas de noche anterior que nos tomaban hasta la madrugada. Los quiero muchísimo.

A mi familia, la presente y la lejana, que siempre ha confiado en mí, y que siempre supo que iba a alcanzar este logro. Gracias por su apoyo incondicional, ustedes también fueron parte importante de mi formación.

Resumen

La especie *Cercidium praecox* se encuentra distribuida en las regiones áridas y semi-áridas del norte de Venezuela y presenta diferentes adaptaciones o estrategias que le permiten sobrevivir en condiciones ambientales extremas; una de ellas es la presencia de tallo fotosintético. El principal objetivo de este trabajo fue evaluar características ecofisiológicas y el papel del tallo en la ganancia de carbono de *C. praecox*, en un bosque seco tropical en Nueva Esparta. Se determinó el intercambio gaseoso, la actividad fotoquímica, parámetros bioquímicos y morfoanatómicos de hojas y tallos en condiciones naturales. En lluvia la tasa de fotosíntesis foliar (A) fue de $15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para una conductancia estomática de $290 \text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, A se saturó a una DFF de $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y presentó un óptimo de temperatura de 30°C . Se encontró una tasa de fotosíntesis del tipo cortical en el tallo (A_C) de $2,6 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y un porcentaje de re-asimilación de 41%. La Φ_{PSII} y el q_P fueron mayores en las hojas que en el tallo. La sequía tuvo un efecto negativo significativo sobre Ψ , A foliar, eficiencia de carboxilación, $A_{\text{CO}_2\text{sat}}$ y la actividad fotoquímica de la hoja y el tallo. La sequía causó una disminución de g_s y un aumento marginal de C_i , mientras que L_s se mantuvo constante y L_m aumentó en un 51%; sugiriendo que la limitación no estomática es más importante en sequía. La Φ_{PSII} y el q_P de hojas fueron mayores en lluvia que en sequía, mientras que q_N fue mayor en sequía, indicando que hubo regulación descendente del aparato fotoquímico. F_v/F_m del tallo disminuyó en sequía, indicando que éste órgano es más susceptible a la fotoinhibición. La hoja tuvo una mayor concentración de clorofilas, PST y N que el tallo. Estos resultados indican que el tallo podría contribuir positivamente en el balance de carbono de la especie a través de A_C , ya que se disminuye la cantidad de CO_2 que es liberado a la atmósfera producto de la respiración de los tejidos no fotosintéticos. Esta

contribución podría ser incluso mayor durante la época de déficit hídrico cuando los individuos se encuentran parcialmente desprovistos de hojas.

Índice

	Pág.
Lista de abreviaturas.....	iv
Lista de figuras.....	vi
Lista de tablas.....	viii
Introducción.....	1
Antecedentes.....	11
Objetivos.....	18
Materiales y métodos.....	20
Área de estudio y material vegetal.....	20
Condiciones microclimáticas.....	21
Estado hídrico.....	21
Intercambio de gases.....	22
Actividad fotoquímica del PSII.....	23
Determinaciones bioquímicas.....	24
Composición isotópica de carbono.....	25
Caracteres morfoanatómicos y morfométricos.....	25
Análisis estadístico.....	26
Resultados.....	27
1. Microclima.....	27
2. Estado hídrico.....	28
3. Intercambio de gases.....	28
3.1 Fotosíntesis foliar.....	28
3.1.1 Curso diario de fotosíntesis.....	28

3.1.2 Curva de respuesta de A a C_i	31
3.1.3 Curva de respuesta de A a DFF.....	32
3.1.4 Curva de respuesta de A a la temperatura.....	33
3.2 Fotosíntesis cortical.....	34
4. Actividad fotoquímica del PSII.....	36
4.1 Curso diario de fluorescencia.....	37
4.2 Curva de J vs DF.....	37
5. Determinaciones bioquímicas.....	40
6. Composición isotópica de carbono.....	40
7. Caracteres morfoanatómicos y morfométricos.....	41
Discusión.....	44
Conclusiones.....	57
Bibliografía.....	58

Lista de abreviaturas

A: Tasa de fotosíntesis.	F: fluorescencia estable de órganos adaptados a luz.
A _C : tasa de fotosíntesis cortical.	F _m : fluorescencia máxima de órganos adaptados a oscuridad.
A _{CO₂ sat} : A a CO ₂ saturante.	F' _m : fluorescencia máxima de órganos adaptados a luz.
A _{DFFsat} : A a densidad de flujo fotónico saturante.	F _o : fluorescencia mínima de órganos adaptados a oscuridad.
A _{máx} : tasa máxima de fotosíntesis.	F' _o : fluorescencia mínima de órganos adaptados a luz.
A _T : fotosíntesis del tallo.	F _v : fluorescencia variable.
AFE: área foliar específica.	Φ _{CO₂} : eficiencia cuántica aparente de la fotosíntesis.
ATP: adenosin trifosfato.	Φ _{PSII} : eficiencia cuántica relativa del PSII.
C: contenido de carbono.	GF: grosor foliar.
C _a : concentración atmosférica de CO ₂ .	GCLT: grosor del clorénquima del tallo.
CAM: metabolismo ácido de crasuláceas.	GCT: grosor de la corteza del tallo.
C _i : concentración intercelular de CO ₂ .	GPE: grosos del parénquima en empalizada de la hoja.
Cl _a : concentración de clorofila <i>a</i> .	g _s : conductancia estomática a la difusión de CO ₂ .
Cl _b : concentración de clorofila <i>b</i> .	Γ: punto de compensación de CO ₂ .
Cl _{a+b} : Concentración de clorofilas totales.	HR: humedad relativa del aire.
Cl _{a/b} : relación de clorofilas <i>a</i> y <i>b</i> .	J: tasa de transporte de electrones.
DFF: densidad de flujo fotónico	L _m : limitación mesofilar relativa.
DH: déficit hídrico.	L _s : limitación estomática relativa.
δ ¹³ C: composición isotópica de carbono.	
Δ: discriminación isotópica de carbono.	
E: tasa de transpiración.	
EC: eficiencia de carboxilación.	
EUA: eficiencia de uso de agua.	

N: contenido de nitrógeno.

NADPH: nicotinamida adenina dinucleótido fosfato.

PCL: punto de compensación de luz.

PSII: fotosistema II.

PST: concentración de proteínas solubles totales.

Ψ : potencial hídrico.

Ψ_p : potencial de turgencia.

Ψ_s : potencial osmótico.

q_N : coeficiente de extinción no fotoquímica.

q_p : coeficiente de extinción fotoquímica.

R_D : tasa de respiración en oscuridad.

R_l : tasa de respiración en luz del tallo.

R_d : tasa de respiración diurna en luz de la hoja.

RuBP: ribulosa-1,5-bisfosfato.

ρ_a : presión de saturación de vapor de agua a la T_a .

ρ_h : presión de saturación de vapor de agua a la T_f .

ρ_T : presión de saturación de vapor de agua a la T_T .

T_a : temperatura del aire.

T_f : temperatura foliar.

T_T : temperatura del tallo.

VPD: gradiente de presión de vapor hoja-aire.

Lista de figuras

Figura 1. Distribución mundial de <i>C. praecox</i>	5
Figura 2. Distribución de <i>C. praecox</i> en el país.....	5
Figura 3. Climadiagrama de Gausson para la estación meteorológica San Francisco de Macanao (0795) (11°01'30'' N 64°17'26'' O, 88 m.s.n.m.), Estado Nueva Esparta. Los valores corresponden a la media de los datos de precipitación (PP) y temperatura registrados durante 20 años (1986-2006).....	27
Figura 4. Curso diario de: a) densidad de flujo fotónico, b) temperatura del aire (●), foliar (○) y del tallo (▼), c) humedad relativa, y d) déficit de presión de vapor hoja-aire (●) y tallo-aire (○).....	26
Figura 5. Curso diario de parámetros de intercambio gaseoso: a) tasa de fotosíntesis, b) tasa de transpiración, c) conductancia estomática, d) concentración intercelular de CO ₂ y e) eficiencia de uso de agua instantánea (n=4).....	29
Figura 6. Parámetros de intercambio gaseoso de hojas: a) tasa de fotosíntesis (A), b), conductancia estomática (g _s) c) tasa de transpiración (E), d) concentración intercelular de CO ₂ (C _i) y e) eficiencia de uso de agua instantánea (EUA) de hojas durante las temporadas de sequía y lluvia.....	30
Figura 7. Relación entre la fotosíntesis y la conductancia estomática de hojas de <i>C. praecox</i> (n= 35).....	31
Figura 8. Curva de respuesta de la fotosíntesis foliar a la concentración intercelular de CO ₂ (A/C _i).....	32
Figura 9. Curva de respuesta de la fotosíntesis foliar a la densidad de flujo fotónico (A/DFP) (n=4).....	33

Figura 10. Curva de respuesta de la fotosíntesis a la temperatura foliar (A/T_f). Símbolos diferentes indican curvas de individuos diferentes (n=4).....	34
Figura 11. Intercambio de CO_2 de hojas y tallos (n=8) de <i>C. praecox</i> medidos en luz ($1200 \mu mol m^{-2} s^{-1}$) y en oscuridad. Tasa de respiración en oscuridad de tallos (R_{DT}), tasa de respiración en luz de tallos (R_l), tasa de fotosíntesis cortical (A_C), tasa de respiración en oscuridad de hojas (R_{DH}) y tasa de fotosíntesis foliar (A_f).....	35
Figura 12. Parámetros de intercambio gaseoso: a) tasa de fotosíntesis (A), b), conductancia estomática (g_s) c) tasa de transpiración (E) y d) eficiencia de uso de agua instantánea (EUA) de hojas y tallos (n=8).....	38
Figura 13. Curso diario de parámetros de fluorescencia: a) tasa de transporte de electrones, b) eficiencia cuántica relativa del PSII, c) coeficiente de extinción fotoquímica y d) coeficiente de extinción no-fotoquímica de hojas (●) y tallos (o) (n=4).....	38
Figura 14. Curvas de respuesta de los parámetros de fluorescencia a DFF: a) tasa de transporte de electrones, b) eficiencia cuántica relativa del PSII, c) coeficiente de extinción fotoquímica y d) coeficiente de extinción no fotoquímica de hojas (●) (n=3) y tallos (o) (n=5) en las temporadas de sequía (izquierda) y lluvia (derecha).....	39
Figura 15. Cortes anatómicos de tallos y hojas de <i>C. praecox</i> : a) y b) corte transversal de tallo con crecimiento secundario poco desarrollado, c) corte paradérmico de tallo, d) corte transversal de un foliolo central y e) aclarado de foliolo.....	43

Lista de tablas

Tabla 1. Fotosíntesis y contenido de clorofilas de diferentes especies con tallo fotosintético del mundo.....	13
Tabla 2. Tasas de respiración en luz (R_l) y oscuridad (R_D), tasa de re-asimilación de CO_2 (A_C) y % de re-asimilación de diferentes especies.....	14
Tabla 3. Potencial hídrico (Ψ), osmótico (Ψ_s) y de turgencia (Ψ_p) matutino y al mediodía de hojas (n=6) en la temporada de lluvia, y Ψ matutino en sequía.....	28
Tabla 4. La A a C_i saturante, eficiencia de carboxilación, tasa de respiración diurna y punto de compensación de CO_2 de hojas de <i>C. praecox</i> (n=4).....	32
Tabla 5. La A a DFF saturante, eficiencia cuántica aparente, tasa de respiración en oscuridad y punto de compensación de luz de hojas de <i>C. praecox</i> (n=4).....	33
Tabla 6. Valores de F_v/F_m de hojas y tallos en las temporadas de lluvia y sequía.....	37
Tabla 7. Contenido de clorofilas a (Cl _a), b (Cl _b), totales (Cl _{a+b}), relación Cl _a /b, contenido de proteínas solubles totales (PST), nitrógeno (N) y carbono (C) de hojas y tallos de <i>C. praecox</i>	40
Tabla 8. Valores de $\delta^{13}C$ (‰) de muestras de hojas y tallos de <i>C. praecox</i>	41
Tabla 9. Densidad estomática (DE) de hojas y tallos, grosor foliar total (GF), grosor del parénquima en empalizada (GPE) y relación GPE/GF de hojas, grosor de la corteza (GCT), grosor del clorénquima (GCLT), relación GCT/GCLT de tallos, AFE y relación área/peso seco de la corteza del tallo.....	42

Introducción

Las plantas que crecen en ambientes áridos o semiáridos se han adaptado en una variedad de formas a las condiciones ambientales extremas existentes en esos hábitats. A fin de sobrevivir en estas condiciones, las plantas deben resistir o evadir sequías periódicas (Weier y col., 1974), por lo que deben presentar respuestas fisiológicas a estas condiciones. Las adaptaciones incluyen: (1) minimizar la pérdida de agua a través del cierre estomático, poseer paredes celulares poco elásticas, disminución del área foliar, baja relación área/volumen de las hojas, aumento de la reflectancia foliar debido a una alta densidad de tricomas (Larcher, 2002; Valladares y col., 2004; Tezara y col., 2010a, 2010b), movimientos foliares con los que se reduce parcialmente la radiación incidente (Ehleringer y Cooper, 1992) y mecanismos de fotoprotección asociados a ajustes fisiológicos, bioquímicos y morfoanatómicos foliares (Tezara y col., 2010a, 2010b); (2) maximizar la absorción de agua a través de cambios en la asignación de biomasa, por ejemplo, el incremento en la superficie de absorción radical (Jackson y col., 2000), el desarrollo de un sistema radical profundo (Valladares y col., 2004) y/o (3) optimizar la ganancia de carbono en períodos desfavorables a través de la *presencia de tallos fotosintéticos*, succulencia, alta eficiencia de uso de agua (EUA), bajos potenciales osmóticos (Ψ_s), metabolismo ácido de crasuláceas (CAM) , etc. (Tezara y col., 2010a).

El déficit hídrico (DH), la temperatura, la radiación y la condición nutricional del suelo son los factores ecológicos más importantes a los que deben adaptarse las plantas (Strasburger y col., 1974), siendo el primero el principal factor limitante de la fotosíntesis (A) en la mayoría de los ecosistemas terrestres (Schulze y col., 1987). La sequía disminuye la apertura estomática limitando A y la pérdida de agua por transpiración (E), contribuye así con un aumento en EUA y el mantenimiento del estado hídrico, limitando además el

crecimiento (Chaves y Pereira, 1992; Tezara y col., 2010a). Sin embargo, otros autores señalan que el DH afecta la A debido a cambios metabólicos (no estomáticos) (Lawlor, 1995, Lawlor y Tezara 2009; Tezara y col., 2010a, 2010b).

La curva de respuesta de A a C_i ha sido una de las herramientas más útiles en el estudio de la A en una variedad de especies (von Caemmerer, 2000). Por muchos años se han utilizado las curvas A/ C_i como una herramienta importante en la determinación del efecto que tiene la sequía sobre varios aspectos metabólicos de la fotosíntesis. A partir de estas curvas se puede determinar el peso que tienen las limitaciones relativas estomáticas (L_s) y mesofilares (L_m) a medida que avanza el DH (Farquhar y Sharkey, 1982; Jacob y Lawlor, 1991).

La hoja es el órgano fotosintético predominante en la mayoría de las plantas C_3 y C_4 ; sin embargo, en muchas especies de desierto que permanecen la mayor parte del año sin hojas, el tallo fotosintético tiene una contribución importante en el mantenimiento de las actividades fisiológicas de la planta. La contribución de la fotosíntesis del tallo (A_T) a la ganancia total de carbono de especies xerófitas ha sido investigada en *Cercidium floridum* (Adams y col., 1967), *Eriogonum inflatum* (Osmond y col., 1987; Smith y Osmond, 1987), *Hymenoclea salsola* (Comstock y Ehleringer, 1988), *Psoralea argemone* (Nilsen y col., 1989), *Glycine max* y *Spartium junceum* (Nilsen y Bao, 1990), *Cytisus scoparius* (Bossard y Rejmanek, 1992), *Caesalpinia virgata* y *Senna armata* (Nilsen y Sharifi, 1994; 1997) y *Justicia californica* (Tinoco-Ojanguren, 2008).

La amplia distribución de plantas con tallos fotosintéticos en diversos desiertos y ecosistemas con clima mediterráneo en el mundo es una evidencia de la importancia de estos órganos para las plantas (Nilsen y Sharifi, 1997). Estos tipos de hábitats están caracterizados por períodos prolongados de DH, altas temperaturas y elevada densidad de flujo fotónico

(DFF), por lo que se ha sugerido que las especies que poseen tallos fotosintéticos tienen varias ventajas:

1.- En especies C_3 que permanecen parte del año sin hojas o con hojas no funcionales, A_T puede ser de gran importancia en la ganancia de carbono durante el DH (Osmond y col., 1987; Nilsen y col., 1989; Nilsen y Bao, 1990).

2.- La posible existencia de un balance de los costos respiratorios durante los períodos de DH cuando las ramas están sin hojas, es decir, una re-asimilación del CO_2 (*fotosíntesis cortical*) liberado por tejidos no fotosintéticos, que puede compensar un alto porcentaje de la pérdida de carbono por respiración (Smith y Nobel, 1986; Pfanz y col., 2002).

3.- Una mejora en la EUA de la planta principalmente a través de dos procesos: (a) los cloroplastos del tallo pueden reutilizar el CO_2 proveniente de la respiración de tejidos no fotosintéticos (del tallo y la raíz), reduciendo por lo tanto el requerimiento de CO_2 externo y a su vez la concomitante pérdida de agua (mejorando la EUA instantánea); y (b) si los tallos tienen mayor EUA que las hojas y éstos son el único órgano presente al menos durante un período del año, entonces existe una mejora de la EUA de la planta cuando el CO_2 proviene de la atmósfera (Nilsen y Sharifi, 1997).

Las especies con tallo fotosintético (no cladodios ni filocladios) generalmente corresponden a leguminosas sucesionales tempranas (Allen y Allen, 1981). Este grupo funcional junto con las especies pioneras presenta ventajas fisiológicas frente a las sucesionales tardías. Estas ventajas son: mayor contenido de nitrógeno foliar, alta actividad de la nitrato-reductasa, máximas tasas de fotosíntesis ($A_{máx}$) y altas tasas relativas de crecimiento (Aidar y col., 2003), de allí la importancia que podría tener la presencia de estos tallos puesto que representa una ganancia de carbono adicional que es indispensable durante el proceso de nodulación y para el mantenimiento de los nódulos.

Las plantas que poseen tallo fotosintético presentan un clorénquima que generalmente forma parte de la corteza (Francino y col., 2006; Yiotis y col., 2006). Los cloroplastos también han sido encontrados en los tallos en el xilema secundario, específicamente en los radios medulares y en el parénquima interfascicular, e incluso en la médula de los mismos (Berveiller y col., 2007; Rentzou y Psaras, 2008). Estos tejidos que contienen clorofila pueden actuar como lo hace el mesófilo de una hoja, es decir, pueden fotosintetizar (Pfanzen y col., 2002).

Se han definido dos tipos de asimilación de CO₂ en los tallos: (1) *fotosíntesis del tallo* propiamente dicha (A_T), en la cual estos órganos tienen abundantes estomas y existe una asimilación neta de CO₂, y (2) *fotosíntesis cortical*, característica de tallos con una baja densidad estomática y en los cuales no hay una asimilación neta de CO₂, sino una re-asimilación interna del CO₂ liberado por la respiración de los tejidos no fotosintéticos (Nilsen y Sharifi, 1994; Aschan y Pfanzen, 2003).

El género *Cercidium* (Leguminosae: Caesalpinioideae) abarca de 10 a 12 especies propias de América subtropical y está representado en Venezuela por la especie *Cercidium praecox* (R. & P.) (Aristeguieta, 1973). *C. praecox* es nativo de Sonora Central, México y Baja California (AzArboretum, 2008), aunque puede encontrarse en América del Sur, generalmente en áreas perturbadas, dadas sus características de especie pionera (Alesso y col., 2003) (Fig. 1).



Figura 1. Los países con verde indican la distribución de *C. praecox* (Tomado y modificado de <http://www.tropicos.org>).

En Venezuela es común encontrarla en las regiones áridas y semi-áridas del norte del país (Fig. 2). Es un arbusto o árbol pequeño caducifolio, con tallo verde muy ramificado desde la base, espinas caulinares y hojas compuestas de segundo orden (Aristeguieta, 1973). Es frecuente en zonas cálidas y en muchas partes forma parte del bosque xerofítico (Hoyos, 1985).

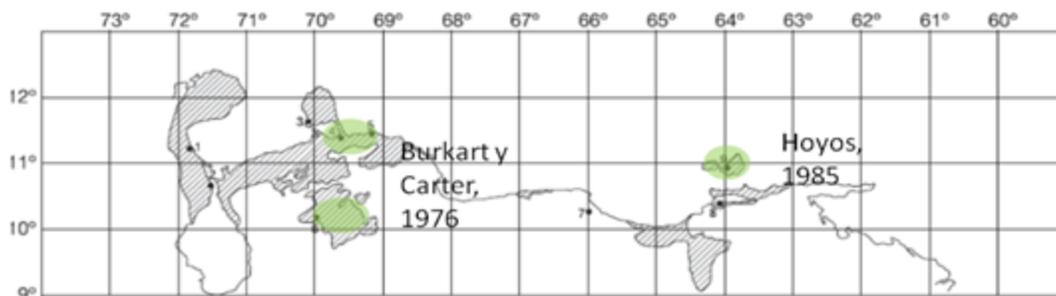


Figura 2. Distribución de *C. praecox* en el país (Tomado y modificado de Medina y col., 1985).

Los arbustos caducifolios tienden a ser comunes en desiertos y han sido señalados junto a las hierbas perennes como plantas que evaden la sequía (Smith y Nobel, 1986); este

tipo de estrategia ayuda a evadir el DH en plantas con o sin limitación de crecimiento (Valladares y col., 2004). El hecho de que *C. praecox* pierda parcial o totalmente sus hojas durante el DH (minimiza la pérdida de agua) la caracteriza como una especie evasora.

La A está relacionada con diferentes características funcionales y estructurales de la hoja, por ejemplo, concentración de clorofilas (Cl a y b), contenido de nitrógeno (N), área foliar específica (AFE) y disposición del parénquima en empalizada (Fleischer, 1935; Pachepsky y Acock, 1998; Mediavilla y col., 2001). Estas correlaciones también se han encontrado en tallos de diferentes especies, por lo que se ha sugerido que la selección de las características fotosintéticas en ambos órganos ha operado bajo fuerzas evolutivas similares (Berveiller y col., 2007).

Las técnicas que han sido utilizadas para determinar la A_T van desde la acumulación de ^{14}C en tejidos fotosintéticos (Adams y col., 1967; Osmond y Smith, 1987), hasta el uso de electrodos de O_2 (Osmond y Smith, 1987) y de sistemas abiertos de intercambio gaseoso, lo que ha permitido que las medidas de A puedan ser tomadas en campo sin dañar el órgano; más recientemente la determinación de la eficiencia cuántica del PSII (Damesin, 2003; Alessio y col., 2005; Aschan y col., 2005; Yiotis y col., 2008).

Para caracterizar ecofisiológicamente una especie es necesario conocer la respuesta de A a diferentes variables: DFF, C_i y temperatura, así como también la actividad fotoquímica del PSII. La DFF saturante y la temperatura óptima ($T_{\text{ópt}}$) son características importantes en la determinación de la capacidad fotosintética de una especie. Además, se deben realizar medidas del potencial hídrico (Ψ) en la mañana y al mediodía. El Ψ matutino es una medida de la disponibilidad hídrica que tiene la planta, mientras que el Ψ al mediodía expresa la capacidad de resistencia de la planta a la cavitación (Ψ mínimo) (Sperry, 1995).

El uso de técnicas de intercambio de gases permite estimar los cambios en la capacidad fotosintética producidos por algún estrés ambiental (Farquhar y von Caemmerer, 1982; Wang y Kellomäki, 1997); sin embargo, Wang y Kellomäki (1997) señalan que estas medidas no definen completamente los efectos impuestos por el estrés sobre los procesos no estomáticos, como lo son los procesos bioquímicos y fotoquímicos de A. Existe un método alternativo para estimar A *in vivo* mediante la medida de la actividad fotoquímica: la fluorescencia de la Cl a, con la cual se puede estimar A a través del transporte de electrones (Genty y col., 1989; Cornic y Briantais, 1991).

La energía lumínica absorbida por las moléculas de clorofila puede seguir cuatro rutas diferentes: (1) ser utilizada para trabajo fotoquímico, (2) ser transferida como energía de excitación a otros pigmentos, (3) ser disipada como calor y/o (4) ser re-emitida a una longitud de onda mayor, proceso conocido como fluorescencia. La fluorescencia se origina principalmente de la Cl a asociada al fotosistema II (PSII) y disminuye como resultado de la competencia entre reacciones fotoquímicas y no fotoquímicas (Krause y Weis, 1991).

Las medidas de la fluorescencia de la Cl a del PSII están relacionadas con la actividad fotoquímica, la cual incluye la reducción-oxidación de las proteínas de la membrana del tilacoide que forman parte de las reacciones fotoquímicas. El NADPH y ATP que son producidos al final de las reacciones fotoquímicas son utilizados en la reducción del CO₂ y en la regeneración de la ribulosa-1,5-bisfosfato (RuBP) en el ciclo de Calvin, por lo que los parámetros derivados de la fluorescencia pueden expresar la capacidad potencial que tiene una planta de fotosintetizar. La eficiencia cuántica máxima del PSII (F_v/F_m , eficiencia fotoquímica de los centros abiertos del PSII) está correlacionada positivamente con la eficiencia cuántica de la A (Φ_{CO_2}) medida como la cantidad de CO₂ fijado o de O₂ producido a bajas DFF en *G. max* (Kao y Forseth, 1992).

Derivado de las medidas de fluorescencia se pueden obtener varios parámetros que describen la relación entre la captura de luz y la disipación del exceso de energía: la F_v/F_m y la eficiencia cuántica relativa del transporte lineal de los electrones a través del PSII (Φ_{PSII}), los coeficientes de extinción fotoquímica (q_p) y no fotoquímica (q_N) de la fluorescencia y el transporte de electrones a través del PSII (J) (Genty y col., 1989).

La Φ_{PSII} expresa el número de electrones transportados a través del PSII relativo al número de fotones absorbido por PSII, representando una medida relativa del rendimiento fotoquímico del PSII (Genty y col., 1989).

Los coeficientes de extinción (q) denotan todos los procesos que disminuyen la fluorescencia por debajo de su máximo (Krause y Weis, 1991) y toman valores entre 0 y 1. El q_p está relacionado con el estado redox de la quinona primaria (el aceptor de electrones del PSII, Q_A), este coeficiente denota la proporción de Q_A oxidadas que se encuentran en el centro de reacción del PSII (Krause y Weis, 1991). La extinción no fotoquímica puede ser causada *in vivo* bajo condiciones fisiológicas por tres mecanismos principalmente: 1) extinción dependiente de energía (q_E) causada por la acidificación intratilacoide durante las reacciones lumínicas; 2) extinción relacionada con la transición estado 1-estado 2 (q_T) regulado por la fosforilación del complejo antena del PSII; y 3) extinción fotoinhibitoria (q_I) relacionada con la fotoinhibición de A (Krause y Weis, 1991).

El uso de la fluorescencia en hojas intactas ha incrementado como un método no invasivo de monitoreo de los eventos fotosintéticos para determinar el estado fisiológico de la planta (Krause y Weis, 1991).

Los isótopos estables en la actualidad proveen herramientas útiles en estudios ecológicos y fisiológicos (Squeo y Ehleringer, 2004). El análisis por medio de isótopos estables permite obtener información ecofisiológica en intervalos de escalas espaciales y

temporales (Dawson y col., 2002). La composición isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$), medida mediante espectrometría de masa, se expresa en relación a un estándar secundario que provee el National Institute of Standards and Technology (NIST), una agencia gubernamental que crea estándares siguiendo las directrices de la International Atomic Energy Agency (IAEA), según la siguiente ecuación:

$$\delta^{13}\text{C} = \left(\frac{R_{\text{muestra}}}{R_{\text{estándar}}} - 1 \right) \times 1000 (\text{‰})$$

donde, R_{muestra} y $R_{\text{estándar}}$ son las relaciones molares $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ presentes en la muestra y el estándar, respectivamente.

La EUA instantánea está relacionada principalmente con la concentración intercelular de CO_2 (C_i) y el gradiente de vapor de agua hoja-aire (VPD) mediante la siguiente ecuación:

$$\text{EUA} = A/E = (C_a/1,6 \times \text{VPD}) \times (1 - (C_i/C_a)) \quad (\text{Farquhar y col., 1989})$$

ya que bajo condiciones naturales la concentración atmosférica de CO_2 (C_a) tiende a ser constante (Squeo y Ehleringer, 1994). La EUA en plantas C_3 también se puede estimar a largo plazo utilizando la discriminación isotópica de carbono (Δ), ya que está relacionada con el intercambio gaseoso:

$$\Delta = (4,4 + 22,6 (C_i/C_a)) \times 10^{-3} (\text{‰})$$

siendo 4,4‰ el fraccionamiento que ocurre debido a la difusión en el aire y 22,6‰ la diferencia entre el fraccionamiento que ocurre durante la carboxilación (principalmente por Rubisco, ~27‰) y el correspondiente a la difusión (Farquhar y col., 1982; 1989). La discriminación está relacionada con $\delta^{13}\text{C}$ de la siguiente manera:

$$\Delta = (\delta^{13}\text{C}_a - \delta^{13}\text{C}_p) / (1 + \delta^{13}\text{C}_p) (\text{‰})$$

donde los subíndices a y p se refieren al aire y la planta, respectivamente (Squeo y Ehleringer, 2004).

Debido a la relación entre $\delta^{13}\text{C}$ y Δ , el $\delta^{13}\text{C}$ ha sido utilizado en plantas C_3 como un estimador de la EUA integrada (Farquhar y col., 1989; Ehleringer y col., 1992; Squeo y Ehleringer, 2004); por lo tanto, si los tallos tienen una EUA diferente a la de las hojas, se debería reflejar en sus valores de $\delta^{13}\text{C}$ (Nilsen y Sharifi, 1997).

Antecedentes

En 1900 fueron publicadas las primeras observaciones de la presencia de un tejido con cloroplastos en tallos. Cannon (1908) describió la ubicación de estos organelos en los tallos de 19 especies perennes (caducifolias y siempreverdes), incluidas tres especies de *Parkinsonia* (*Cercidium*): *P. aculeata*, *P. microphylla* y *P. torreyana*, todas pertenecientes a la región de Tucson (Arizona, EUA). Los cloroplastos estaban presentes principalmente en tallos jóvenes (menos de 1 cm de diámetro) y estaban distribuidos desde la epidermis hasta la médula, siendo la corteza el tejido que contenía la mayor cantidad de cloroplastos. Cannon relacionó la presencia de clorofila con una posible capacidad del tallo de hacer fotosíntesis.

La A_T en *Cercidium floridum* (determinada como la incorporación de ^{14}C) fue comparable a la A foliar cuando las medidas eran expresadas por unidad de área (Adams y col., 1967). Además, el contenido de clorofila por unidad de área fue mayor para el tallo que para las hojas (4,1 vs 3,4 mg dm $^{-1}$) (Adams y col., 1967).

Se ha propuesto que los arbustos caducifolios de desiertos pueden tener mayores $A_{\text{máx}}$ que otras plantas leñosas (Smith y Nobel, 1986); sin embargo, se ha encontrado para especies de *Cercidium* una A menor de 10 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Adams y Strain, 1968), cuando generalmente las tasas de estos tipos de arbustos varían entre 15 y 45 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Smith y Nobel, 1986). En arbustos caducifolios de zonas semi-áridas de Venezuela se han reportado valores de $A_{\text{máx}}$ entre 10 y 20 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Tezara y col., 2010a).

Se ha encontrado que varias especies de plantas presentan fotosíntesis en el tallo (Tabla 1), mientras que en otras especies la reducción de la pérdida de carbono liberado durante la respiración es la hipótesis más aceptada (Tabla 2). Generalmente estas especies corresponden a hábitats de desierto o de bosque templado, ambos tipos de ecosistemas relacionados con períodos de estrés, ya sea hídrico o térmico. La A_T es menor que la de las

hojas debido principalmente al menor contenido de clorofilas (Tabla 1) y de N que tienen los tallos en comparación con las hojas.

Además de la contribución del tallo al balance de carbono de la planta, la aclimatación estacional de A y la influencia del DH en la misma es importante para conocer la ecofisiología completa de la especie. En estas condiciones la A_T puede contribuir con la ganancia de carbono durante el período de estrés ambiental (Nilsen y col., 1989; Tinoco-Ojanguren, 2008).

Además del tallo, se ha encontrado actividad fotosintética en raíces, flores y frutos verdes, y aunque en algunas especies estos órganos no manifiestan una A neta, la re-asimilación interna de CO_2 es considerada como una estrategia importante en la economía del carbono para la planta (Aschan y Pfanz, 2003; Aschan y col., 2005).

La fotosíntesis del tallo presenta varias propiedades similares a la fotosíntesis foliar como: la presencia del metabolismo C_3 , abundantes estomas en la epidermis y curvas similares de respuesta de A a factores ambientales (DFF, C_i , VPD) (Osmond y col., 1987; Nilsen y col., 1989; Nilsen y Sharifi, 1994; Aschan y Pfanz, 2003). Sin embargo, se ha encontrado en tallos y pecíolos de tabaco (Hibberd y Quick, 2002) y en tallos de nueve especies arbóreas de un bosque templado (Berveiller y Damesin, 2008) una alta actividad de enzimas características del metabolismo C_4 , que permiten la descarboxilación de compuestos de cuatro carbonos presentes en el xilema y floema y la consecuente liberación del CO_2 que luego es re-asimilado internamente.

La A_C , también llamada tasa de re-asimilación interna, ha sido calculada como la diferencia entre la tasa de respiración en luz (R_l) y la misma en oscuridad (R_D), y esta puede o no estar expresada como un porcentaje de la R_D ($A_C/R_D = \% \text{ de re-asimilación}$; Tabla 2)

Tabla 1. Fotosíntesis y contenido de clorofilas de diferentes especies con tallo fotosintético del mundo.

Especie	Localización	$A_{\text{máx}}$ ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		Contenido de clorofilas (g m^{-2})		Autor
		Tallo	Hoja	Tallo	Hoja	
<i>Eriogonum inflatum</i>	Desierto de Mojave, EUA	10*	20	0,33	0,54	Osmond y col., 1987
<i>Hymenoclea salsola</i>	Arizona, EUA	18	30			Comstock y Ehleringer, 1988
<i>Psoralea argemone</i>	Desierto de Sonora, EUA	7,8 ± 0,5				Nilsen y col., 1989
<i>Spartium junceum</i>	Regiones mediterráneas	6,5	17	0,196	0,450	Nilsen y Bao, 1990
<i>Cytisus scoparius</i>	California, EUA	1,7-11,6		1,3 ± 0,02		Bossard y Rejmanek, 1992
<i>Caesalpinia virgata</i>	Desierto, California, EUA	7,8				Nilsen y Sharifi, 1994
<i>Senna armata</i>		5,8				
<i>Prunus persica</i>	Bosque templado, Italia	0,40-0,83				Alessio y col., 2005
<i>Justicia californica</i>	Desierto de Sonora	12,3 ± 3,2 20,9 ± 2,8†	12,3 ± 0,2 16,2 ± 1,2	0,1-0,3	0,3	Tinoco-Ojanguren, 2008

La fotosíntesis máxima ($A_{\text{máx}}$) medida a DFF saturante y C_a

* Tallo cortado: sección aplanada de un lado del tallo

† Medidas realizadas en dos años diferentes

Tabla 2. Tasas de respiración en luz (R_l) y oscuridad (R_D), tasa de fotosíntesis cortical o de re-asimilación de CO_2 (A_C) y % de re-asimilación de diferentes especies.

Especie	R_l ($\mu\text{mol } CO_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	R_D ($\mu\text{mol } CO_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	A_C ($\mu\text{mol } CO_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	% re-asimilación	Autor
<i>Populus tremuloides</i>		3,8	3,3	87	Foote y Sheadle, 1976
<i>Pinus monticola</i>		0 - 3,5	0 - 1,5	76 ± 3	Cernusak y Marshall, 2000
<i>Populus tremula</i>	1 - 2	2 - 11	1 - 9	50 - 80	Aschan y col., 2001
<i>Fagus sylvatica</i>	0,2 - 1,2	1,9 - 2,1	0,7 - 1,9	40 - 90	Wittmann y col., 2001
<i>Fagus sylvatica</i>			1 - 5	50 - 110	Damesin, 2003
<i>Alnus glutinosa</i>	0,89 ± 0,05 *	4,62 ± 0,26	3,73	81	Berveiller y col., 2007
	-0,35 ± 0,11 †	1,57 ± 0,44	1,92	122	
<i>Betula pendula</i>	0,69 ± 0,11	3,04 ± 0,53	2,35	77	
	-0,47 ± 0,03	2,06 ± 0,15	2,53	123	
<i>Fraxinus excelsior</i>	0,38 ± 0,13	1,44 ± 0,34	1,06	74	
	-0,22 ± 0,01	0,86 ± 0,24	1,08	126	
<i>Ginkgo biloba</i>	0,54 ± 0,10	1,65 ± 0,16	0,53	32	
	0,53 ± 0,43	1,24 ± 0,40	0,71	57	
<i>Picea abies</i>	1,12 ± 0,10	3,44 ± 0,34	2,32	67	
	1,09 ± 0,55	2,18 ± 0,46	1,09	50	
<i>Pinus sylvestris</i>	1,16 ± 0,12	4,04 ± 0,53	2,88	71	
	1,91 ± 0,33	4,22 ± 0,15	2,31	55	
<i>Quercus robur</i>	1,18 ± 0,37	3,75 ± 0,64	2,57	69	
	0,81 ± 0,33	2,87 ± 0,34	2,06	72	
<i>Tilia cordata</i>	0,68 ± 0,10	2,10 ± 0,19	1,42	68	
	0,51 ± 0,05	2,06 ± 0,20	1,55	75	
<i>Fagus sylvatica</i>		1 - 4	0,5 - 3,5	50 - 88	Berveiller y Damesin, 2008
<i>Eucalyptus globulus</i>		0,5 - 4,7		7	Cerasoli y col., 2009

* Mediciones realizadas en verano. † Mediciones realizadas en invierno. Valores de R_l negativos implican asimilación neta de CO_2 .

(Cernusak y Marshall, 2000; Aschan y col., 2001; Damesin, 2003). La re-asimilación en ramas jóvenes de diferentes especies puede compensar entre 60 y 90% la pérdida de carbono respiratorio (Pfanzen y col., 2002), e incluso superar el 100% (Damesin, 2003; Berveiller y col., 2007).

Se ha reportado una correlación positiva entre A_C y R_D del tallo en *P. monticola* (Cernusak y Marshall, 2000), *P. tremula* (Aschan y col., 2001) y otras especies de árboles de bosque templado (Berveiller y col., 2007; Wittmann y Pfanz, 2008). Con base en esto se ha sugerido que, al menos para ramas jóvenes, la R_D puede ser un indicador de fotosíntesis potencial.

Para que A ocurra en el tallo se requiere que una adecuada DFF llegue a las células que contienen los cloroplastos, y mientras más interno en el tallo se encuentren, menor es la cantidad de luz que puede ser utilizada en A . Se ha encontrado en ramas jóvenes de *P. tremula* que la transmitancia a la DFF en una misma planta disminuye desde 17% en el internudo más joven hasta 8% en el más viejo, asociado al desarrollo de la peridermis (Aschan y col., 2001). Asimismo, para *F. sylvatica* se ha reportado que la transmitancia disminuye con la edad de la rama (Wittmann y col., 2001), lo que sugiere que la A_C depende de la edad, y por lo tanto la diferencia en la contribución de carbono que pueda tener una rama joven en comparación con una adulta es un factor importante para la planta.

El hecho de que un bajo porcentaje de la DFF incida sobre el tallo y alcance el tejido fotosintético explica las características de adaptación a la sombra que han sido encontradas en tallos fotosintéticos de varias especies. Dentro de ellas, se ha encontrado una baja relación $Cl\ a/b$ de tallos en comparación con la de hojas en *P. monticola* (Cernusak y Marshall, 2000), *P. tremula* (Aschan y col., 2001), *F. sylvatica* (Wittmann y col., 2001; Damesin, 2003) y *Calicotome villosa* (Yiotis y col., 2008).

Varios estudios han evaluado parámetros de fluorescencia en tallos fotosintéticos. Damesin (2003) encontró en *F. sylvatica* que los tallos y las hojas tenían patrones estacionales similares de F_v/F_m cuando las hojas estaban presentes. Los tallos muestran valores de F_v/F_m cercanos al máximo correspondiente al de hojas en buen estado (0,71-0,81 comparado con 0,83) en *P. persica* (Alessio y col., 2005), *Helleborus viridis* (Aschan y col., 2005) y *C. villosa* (Yiotis y col., 2008). En general, los tallos de especies de bosque templado tienen valores de F_v/F_m entre 0,7 y 0,8 durante el verano, y se observan disminuciones durante el invierno hasta valores menores a 0,5, lo cual sugiere fotoinhibición del PSII por bajas temperaturas (Damesin, 2003; Berveiller y col., 2007; Levizou y Manetas, 2008).

Smith y Osmond (1987) y posteriormente Nilsen y Sharifi (1997) han determinado la EUA integrada de tallos y hojas utilizando el $\delta^{13}C$. Ambos estudios revelaron que los tallos de las especies estudiadas tienen una mayor EUA que las hojas y esto se atribuyó principalmente a la orientación vertical de los mismos.

A pesar de que el flujo de CO_2 del tallo es fundamental para el balance de carbono y energía de los ecosistemas y su interacción con los cambios climáticos futuros, hay poca información disponible acerca del intercambio de CO_2 que ocurre en tallo (Yang y col., 2011). Se ha estudiado el papel del tallo fotosintético en especies de desierto y de clima mediterráneo durante el déficit hídrico; sin embargo, no se han realizados hasta el momento estudios acerca de la ecofisiología de especies con tallo fotosintético de zonas áridas y semi-áridas de Venezuela.. Conocer el comportamiento de caracteres ecofisiológicos del tallo y la hoja de *C. praecox* durante las temporadas de lluvia y de sequía puede ayudar a la comprensión del papel que tiene el tallo en el mantenimiento de las actividades fisiológicas de la planta durante el DH, cuando ésta se encuentra parcial o totalmente desprovista de hojas, y por lo tanto, el aporte del tallo a la planta podría ser importante.

Con base en el conocimiento que se tiene acerca de aspectos ecofisiológicos de especies con tallo fotosintético de ecosistemas áridos se espera que el tallo de *C. praecox* presente una asimilación de CO₂ y que la capacidad fotosintética de este órgano sea menor que la de las hojas; la asimilación de CO₂ por el tallo significaría una contribución positiva en la economía de carbono de la planta.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar las características ecofisiológicas de *Cercidium praecox* y el papel del tallo fotosintético en la ganancia de carbono de individuos de un bosque seco tropical del Estado Nueva Esparta.

Objetivos específicos: Durante la temporada de lluvia:

1. Evaluar el estado hídrico de individuos mediante la determinación del potencial hídrico (Ψ), el potencial osmótico (Ψ_s) y el potencial de turgencia (Ψ_p) de hojas.
2. Determinar parámetros de intercambio gaseoso: tasa de fotosíntesis (A), tasa de transpiración (E), conductancia estomática (g_s), concentración intercelular de CO_2 (C_i) y eficiencia de uso de agua (EUA) en hojas y tallos. Determinar si la fotosíntesis del tallo (A_T) contribuye en la ganancia de carbono total de la planta.
3. Evaluar la actividad fotoquímica del PSII, para conocer la capacidad potencial de asimilación de CO_2 . Determinar parámetros de fluorescencia de Cl *a*: eficiencia cuántica relativa (Φ_{PSII}), eficiencia cuántica máxima (F_v/F_m), coeficiente de extinción fotoquímica (q_p), coeficiente de extinción no fotoquímica (q_N) y tasa de transporte de electrones (J) en hojas y tallos. Realizar cursos diarios y curvas de luz de los parámetros mencionados excepto F_v/F_m .
4. Comparar parámetros bioquímicos: contenido de Cl *a* y *b*, proteínas solubles totales (PST), nitrógeno (N) y carbono (C) de hojas y tallos.
5. Estimar la EUA integrada de hojas y tallos mediante determinaciones de la composición isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$).
6. Evaluar caracteres morfoanatómicos y morfométricos de la hoja y el tallo: densidad estomática (DE), grosor foliar (GF), grosor del parénquima en empalizada (GPE),

relación GPE/GFT, grosor de la corteza del tallo (GCT), grosor del clorénquima del tallo (GCLT), relación GCLT/GCT, área foliar específica (AFE) y la relación área/peso seco del tallo.

7. Comparar algunos parámetros ecofisiológicos de hojas y tallos durante las temporadas de lluvia y sequía.

Materiales y métodos

Área de estudio y material vegetal

Los muestreos se realizaron en una arenera activa “La Chica”, en la Península de Macanao, Estado Nueva Esparta. De acuerdo a Hoyos (1985), el clima de la zona incluye dos períodos lluviosos alternados con dos períodos secos: el período seco principal está entre los meses de febrero y abril, y el seco secundario depende de los períodos lluviosos; sin embargo, datos de precipitación de los años 1986-2006 no muestran la presencia de un período seco secundario (Fig. 3). Se realizó una salida durante el mes de julio de 2010 (sequía) y dos muestreos en el mes de enero y abril de 2011 (lluvia). Estos años no se corresponden con la información del climadiagrama.

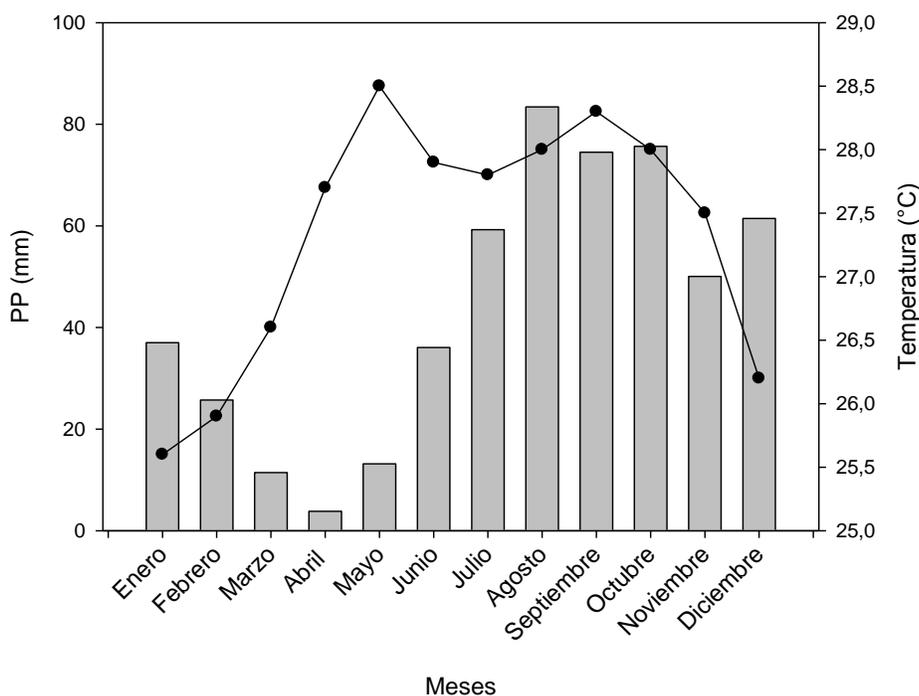


Figura 3. Climadiagrama para la estación meteorológica San Francisco de Macanao (0795) (11°01'30" N 64°17'26" O, 88 m.s.n.m.), Estado Nueva Esparta. Los valores corresponden a la media de los datos de precipitación (PP) y temperatura registrados durante 20 años (1986-2006).

El material vegetal corresponde a individuos adultos de *Cercidium praecox* de 10 a 15 años de edad y altura promedio de 5 m, que crecen en condiciones naturales en la arenera. Se utilizaron hojas completamente expandidas y tallos jóvenes (menos de 1 cm de diámetro).

Condiciones microclimáticas

Se realizaron cursos diarios de la DFF, la humedad relativa del aire (HR), la temperatura del aire (T_a), la temperatura foliar (T_f) y la temperatura del tallo (T_T), utilizando un sensor cuántico (LI-COR, Modelo 250A), un higrómetro (Abbeon, Modelo AB167B) y un teletermómetro (Yellow Springs Instruments Co), respectivamente. Las mediciones se realizaron a cada hora.

Con los datos de temperatura y HR se calculó el VPD hoja-aire y tallo-aire de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$VPD = \rho_x - \rho_a \times (HR/100) \text{ (Rundel y Jarrel, 1989)}$$

donde ρ_x es la presión de saturación de vapor de agua a la T_f para la hoja y a T_T para el tallo, y ρ_a es la presión de saturación de agua a la T_a .

Estado hídrico

El Ψ de las plantas (n=6) fue determinado a las 0700 y 1200 h en ramas de 8-10 cm de longitud con el uso de una cámara de presión (PMS Instruments Corvallis, Oregon USA) según Scholander y col. (1965). El Ψ_s de las hojas fue determinado previa congelación del tejido en inyectoras, extrayendo el contenido de agua y realizando mediciones de la presión osmótica con un osmómetro de presión de vapor (Wescor 5500, Wescor Inc., UTAH, EUA). El Ψ_p se determinó utilizando la siguiente ecuación:

$$\Psi = \Psi_s + \Psi_p$$

Intercambio de gases

Las medidas instantáneas de A , E , g_s y C_i fueron realizadas en hojas intactas de plantas ($n=6$) utilizando un sistema de intercambio de gases portátil (CIRAS 2, PPSystems, Hitchin, R.U.). Se realizaron medidas de respiración en oscuridad (R_D) y en luz (R_l) a las 0900 h en secciones de tallos de 1,8 cm de diámetro, los cuales fueron tapados con un fieltro negro y se esperó hasta que la medida se estabilizara. Se colocaron 3 secciones de un mismo individuo en la cámara para realizar las mediciones. Las medidas se realizaron a $380 \mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO_2 , 21% de O_2 , 28°C y DFF de $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. La EUA instantánea se determinó como la relación A/E .

Para la hoja se realizaron cursos diarios de A , curvas A/C_i , A/DFF y A/T_f ($n=4$). Las mediciones para los cursos diarios se realizaron cada dos horas. Las curvas A/C_i se realizaron incrementando progresivamente la C_a desde 0 hasta $1500 \mu\text{mol mol}^{-1}$ y en cada etapa de incremento de C_a se esperó que la A se estabilizara antes de registrarla. Las curvas A/DFF se realizaron variando la DFF desde 0 hasta $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en doce pasos sucesivos y se esperó a que la A se estabilizara antes de registrar el valor. Las curvas A/T_f se realizaron variando la T_f desde 20 hasta 45°C con incrementos de 5°C y a cada T_f se esperó que A se estabilizara antes de registrarla.

Se estimó la ganancia diaria de carbono (A_D) y la pérdida de agua por transpiración (E_D) en la hoja integrando el área bajo la curva del curso diario de A y E en lluvia. Se calculó la EUA integrada como A_D/E_D .

Las curvas A/C_i fueron ajustadas utilizando el programa SigmaPlot 11.0 de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$A = b + d * e^{(k \times C_i)}$$

donde b es la A a C_i saturante ($A_{CO_2 \text{ sat}}$), $k \cdot d$ es la eficiencia de carboxilación ($EC = dA/dC_i$) y $b+d$ es una estimación de la respiración diurna en luz (R_d : respiración mitocondrial + fotorrespiración). El punto de compensación de CO_2 (Γ) se calculó como: $\Gamma = \ln(-b/d)/k$.

La limitación estomática relativa (L_s) define el porcentaje de limitación sobre A que representa el control estomático, y se calcula según la siguiente ecuación:

$$L_s = (A_o - A)/A_o \times 100 \text{ (Farquhar y Sharkey, 1982)}$$

donde A_o es la tasa de fotosíntesis si la resistencia a la difusión de CO_2 fuese cero ($C_i = C_a$) y A es la tasa de fotosíntesis a C_a . La limitación mesofilar relativa (L_m) expresa el porcentaje de limitación impuesta por el déficit hídrico sin considerar el impuesto por los estomas, y se calcula como:

$$L_m = (A_c - A_s)/A_c \times 100 \text{ (Jacob y Lawlor, 1991)}$$

donde A_c y A_s son las tasas de fotosíntesis a C_i saturante en la temporada de lluvia y sequía, respectivamente.

Similarmente las curvas A/DFP fueron ajustadas con:

$$A = b + d * e^{(k \times DFP)}$$

donde b es la A a DFP saturante ($A_{DFP \text{ sat}}$), $k \cdot d$ es la eficiencia cuántica aparente (Φ_{CO_2}) y $b+d$ es la respiración en oscuridad (R_D). El punto de compensación de luz (PCL) se calculó como: $PCL = \ln(-b/d)/k$.

Actividad fotoquímica del PSII

Las medidas de fluorescencia de la clorofila a del PSII se realizaron en tallos y hojas ($n=6$) utilizando un fluorímetro portátil (PAM 2100, WALZ, Alemania). Se determinaron la fluorescencia mínima (F_o) y la fluorescencia máxima (F_m) de hojas y tallos en oscuridad (previo al amanecer), y la fluorescencia mínima (F'_o), fluorescencia máxima (F'_m) y

fluorescencia estable (F) de hojas y tallos adaptados a una determinada DFF. Con estas medidas se calcularon los siguientes parámetros (Genty y col., 1989):

- Eficiencia cuántica máxima del PSII

$$F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$$

- Eficiencia cuántica relativa del PSII

$$\Phi_{PSII} = (F'_m - F)/F'_m$$

- Coeficiente de extinción fotoquímica

$$q_P = (F'_m - F)/F'_m - F'_o$$

- Coeficiente de extinción no fotoquímica

$$q_N = 1 - (F'_m - F'_o)/F_m - F_o$$

El transporte total de electrones (J) se estimó de la siguiente manera:

$$J = \Phi_{PSII} \times DFF \times a \times f \quad (\text{Krall y Edwards, 1992})$$

donde *a* es la fracción de DFF absorbida por la hoja o el tallo (considerada como 0,84) y *f* es la proporción de e⁻ que es absorbida por el PSII (0,5 ya que ambos fotosistemas están involucrados de igual manera en el transporte lineal de e⁻).

Además se realizaron curvas de luz (J vs. DFF) en hojas y tallos adaptados a oscuridad por un período de al menos 1 hora (n=4).

Determinaciones bioquímicas

La extracción de clorofilas se realizó en muestras de hojas y corteza de tallos (n=4) de área conocida, utilizando acetona al 80% en frío (Bruinsma, 1963). El contenido de Cl *a* y Cl *b* se determinó según:

$$Cl_a = 12,7A_{663} - 2,7A_{645} \quad (\mu\text{g/mL})$$

$$Cl_b = 22,9A_{645} - 4,7A_{663} \quad (\mu\text{g/mL})$$

$$Cl_{a+b} = 27,8A_{652} \quad (\mu\text{g/mL})$$

El contenido de PST se determinó en hojas y corteza de tallos (n=8) utilizando el método de Bradford (1976). Se maceró la corteza y los folíolos en 1mL de buffer (Bicina 50mM- MgCl₂ 20mM pH 8.0) en presencia de mercaptoetanol y 0,15mL de fluoruro de fenilmetilsulfonil (40mM); el extracto se centrifugó en tubos eppendorf a 10.000g durante 3 minutos y el sobrenadante se mantuvo en hielo hasta el momento del ensayo. Se realizó una curva estándar con soluciones de BSA (albúmina de suero bovino) de concentraciones conocidas. Las concentraciones de PST fueron expresadas en g m⁻².

El contenido N y C fueron estimados en muestras de tejido pulverizadas utilizando un espectrómetro de masa en el Laboratorio de Ecología y Evolución del Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de Illinois, Chicago, EUA.

Composición isotópica de carbono

El $\delta^{13}\text{C}$ se determinó en muestras pulverizadas de tallos y hojas (n=4) con un espectrómetro de masas en el Laboratorio de Ecología y Evolución del Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de Illinois, Chicago, EUA.

Caracteres morfoanatómicos y morfométricos

Se colectaron muestras de tallos y hojas y fueron preservadas en etanol al 70% v/v. Se realizaron cortes transversales de folíolos centrales completamente expandidos (n=3), aclarados de folíolos con cloro comercial (hipoclorito de sodio) (n=6) y cortes transversales (n=3) y paradérmicos de tallos jóvenes (menos de 1 cm de grosor) (n=4). Los aclarados y los cortes paradérmicos de tallo fueron teñidos con azul de toluidina 50% v/v en alcohol, y se realizaron montajes semi-permanentes en glicerina al 30% v/v.

Los parámetros: GF, GPE, GCT, GCLT y DE fueron medidos en fotos tomadas en observaciones realizadas con un microscopio óptico binocular (Leica DMLS, Suecia), utilizando el programa Image Tool 2.0 (UTHSCSA, 1995-96).

El AFE se determinó en muestras de hojas (n=8) dibujando los folíolos en papel y determinando el área con el programa Image Tool. Los folíolos fueron secados en una estufa a 60°C durante 72 horas y luego fueron pesados con una balanza (Citizen scale, USA; sensibilidad 0,0001 g). El AFE se determinó como la relación entre el área foliar y el peso seco foliar, según la ecuación:

$$AFE = A_f/P_s \text{ (cm}^2 \text{ g}^{-1}\text{)}$$

Además se determinó la relación área/peso seco en las secciones de tallos utilizadas para las medidas de intercambio gaseoso (n=8). La corteza fue removida de los tallos, se calculó su área midiendo el largo y ancho de las secciones y se determinó el peso seco como en el caso de la hoja.

Análisis estadístico

Se realizaron análisis de varianza (ANOVA) para evaluar si los parámetros de intercambio gaseoso, fotoquímicos, bioquímicos y morfoanatómicos medidos en tallos y hojas difieren entre sí durante las dos temporadas estudiadas. Se utilizó un nivel de significancia $\alpha = 0,05$. Las pruebas se realizaron utilizando el paquete estadístico PAST (PAleontological STatistics) y STATISTICA v8.

Resultados

1. Microclima

La figura 4 muestra los valores de DFF, T_a , T_f , T_T , HR y VPD registrados durante el día de muestreo en el mes de enero (lluvia). Se observó que la mayor DFF fue alcanzada durante la hora del mediodía ($> 2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), correspondiéndose también con las mayores temperaturas ($30\text{-}32^\circ\text{C}$). La T_a , T_f y T_T tuvieron un comportamiento similar a lo largo del día. La HR disminuyó desde 87% en la mañana hasta 60% a las 2 pm a partir del cual comenzó a aumentar debido a la disminución de DFF. El VPD tuvo un comportamiento similar en ambos órganos de la planta, mostrando valores máximos al mediodía (1,8 KPa).

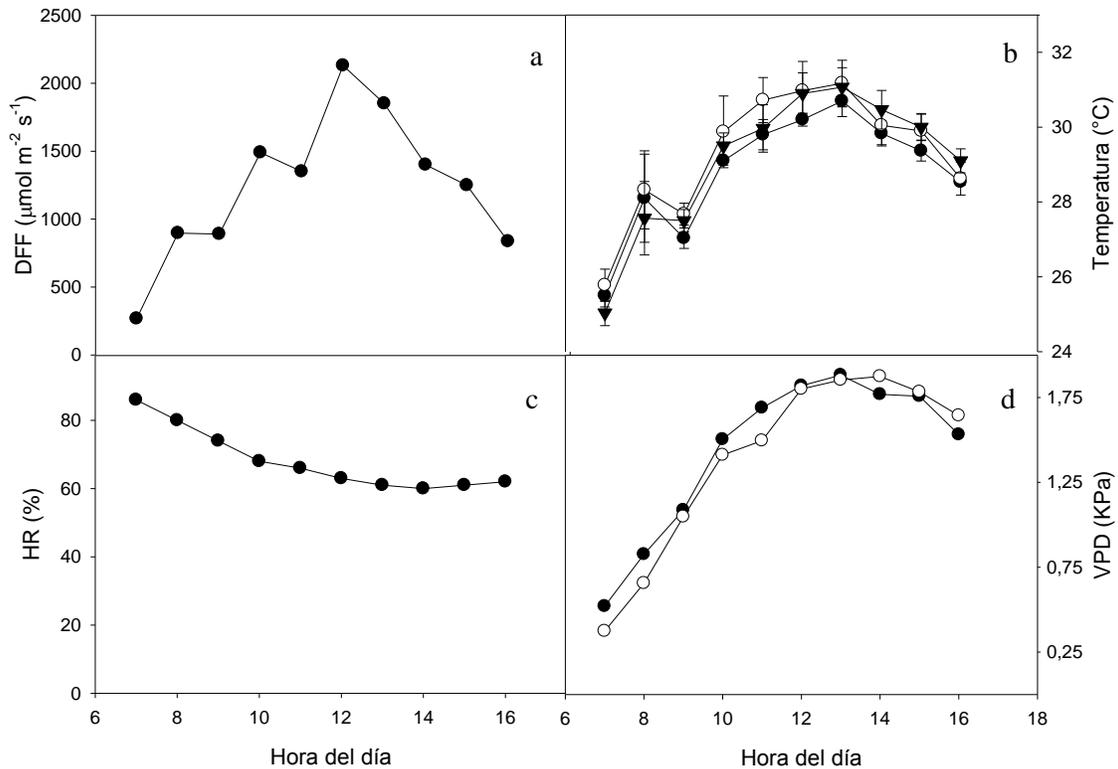


Figura 4. Curso diario de: a) densidad de flujo fotónico, b) temperatura del aire (●), foliar (○) y del tallo (▼), c) humedad relativa, y d) déficit de presión de vapor hoja-aire (●) y tallo-aire (○).

2. Estado hídrico

El Ψ disminuyó en un 50% al mediodía (Tabla 3) durante la temporada de lluvia, sin observarse cambios significativos en Ψ_S y Ψ_P . La sequía causó una disminución significativa en el Ψ matutino de hojas de 68%.

Tabla 3. Potencial hídrico (Ψ), osmótico (Ψ_S) y de turgencia (Ψ_P) matutino y al mediodía de hojas (n=6) en la temporada de lluvia, y Ψ matutino en sequía.

Temporada	Hora	Ψ (MPa)	Ψ_S (MPa)	Ψ_P (MPa)
Lluvia	0700	$-0,66 \pm 0,03$ a	$-2,29 \pm 0,16$ a	$1,63 \pm 0,15$ a
	1200	$-1,26 \pm 0,12$ b	$-2,75 \pm 0,11$ a	$1,50 \pm 0,20$ a
Sequía	0700	$-2,06 \pm 0,53$ c	-	-

Letras diferentes entre filas indican diferencias significativas ($\alpha = 0,05$).

3. Intercambio de gases

3.1 Fotosíntesis foliar

3.1.1 Curso diario de fotosíntesis

Durante la temporada de lluvia en horas de la mañana (8 y 9 am) se observaron las máximas A y g_s ($15,3 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y $303,7 \text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente). La A disminuyó al mediodía en un 60% con una disminución en g_s de 45% (Fig. 5a, 5c). La A , E y EUA siguieron un patrón similar a g_s con los mayores valores en la mañana y en la tarde, y los menores valores al mediodía (Fig. 5a, 5b, 5c, 5e). La C_i fue relativamente constante a lo largo del día ($\sim 280 \mu\text{mol mol}^{-1}$) (Fig. 5d).

La A_D fue de $289,7 \text{mmol m}^{-2} \text{d}^{-1}$, mientras que la pérdida de agua por transpiración fue de $102,5 \text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$. La EUA diaria integrada fue $2,82 (\text{mmol mol}^{-1})$.

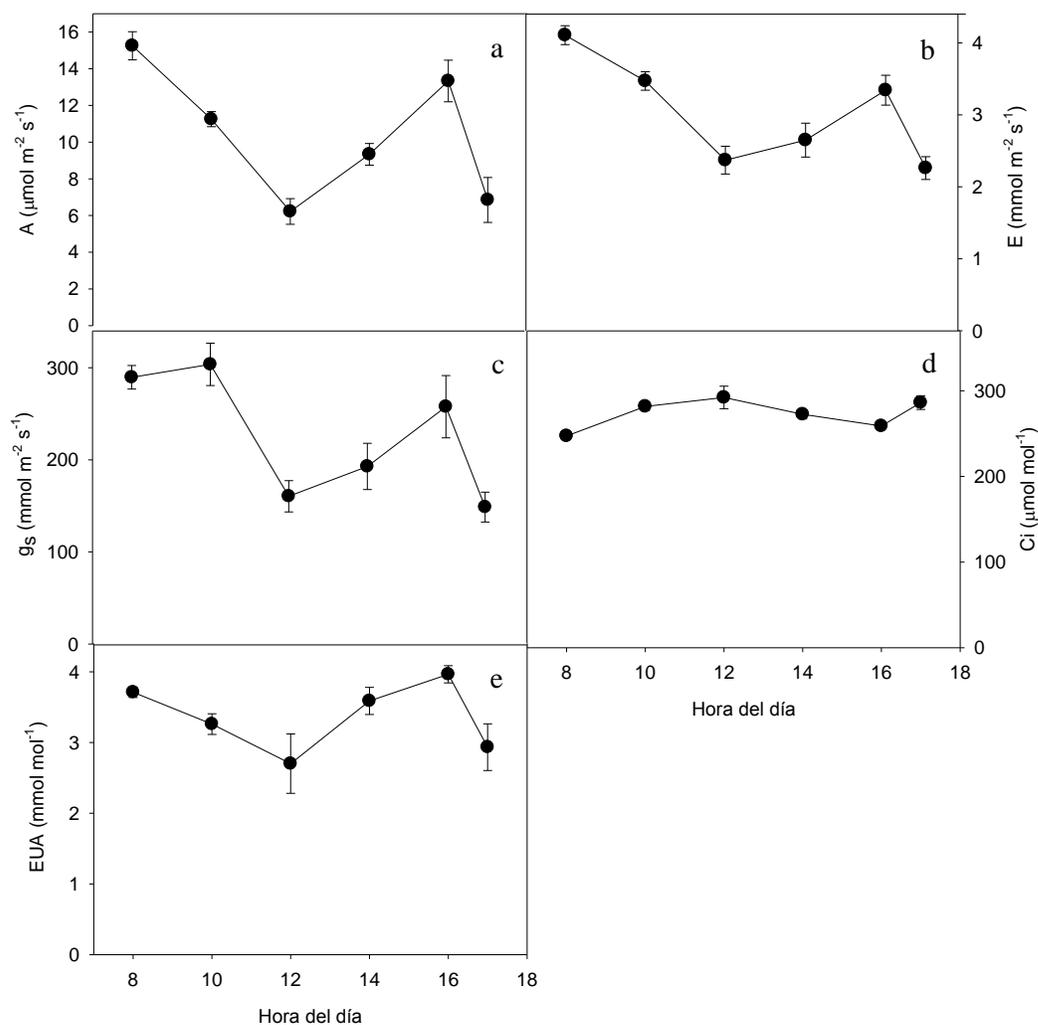


Figura 5. Curso diario de parámetros de intercambio gaseoso de hoja: a) tasa de fotosíntesis, b) tasa de transpiración, c) conductancia estomática, d) concentración intercelular de CO_2 y e) eficiencia de uso de agua instantánea ($n=4$).

Se encontró una disminución en A máxima foliar de 36% durante la sequía (Fig. 6a) sin diferencias significativas en g_s y E (Fig. 6b, 6c). Por otra parte, el C_i aumentó en un 15% durante la sequía (Fig. 6d), mientras que la EUA no varió (Fig. 6e).

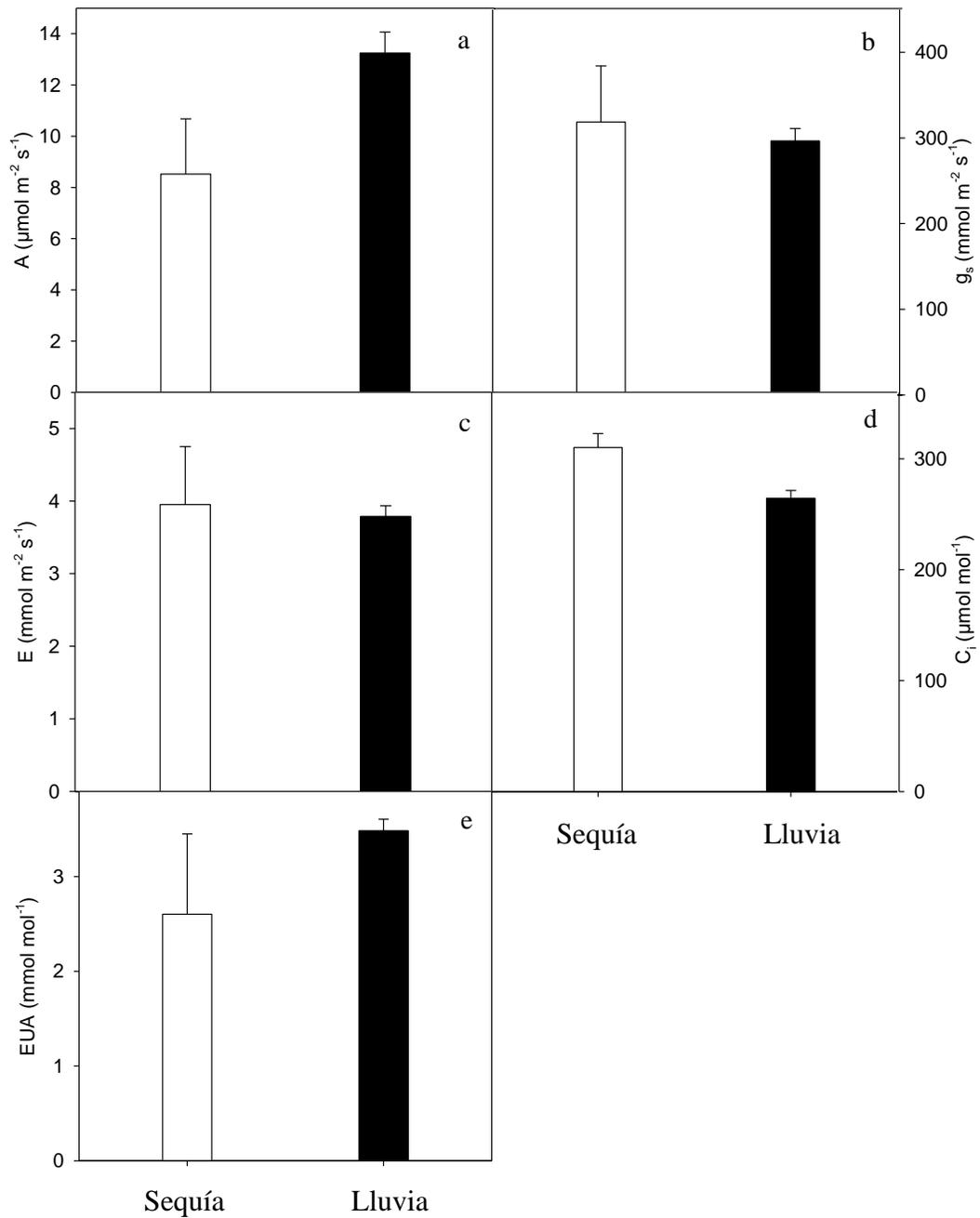


Figura 6. Parámetros de intercambio gaseoso de hojas: a) tasa de fotosíntesis (A), b), conductancia estomática (g_s) c) tasa de transpiración (E), d) concentración intercelular de CO_2 (C_i) y e) eficiencia de uso de agua instantánea (EUA) de hojas durante las temporadas de sequía y lluvia.

Se encontró una relación lineal positiva entre A y g_s (Fig. 7) indicando que los cambios en g_s explican en un 71% los cambios en A .

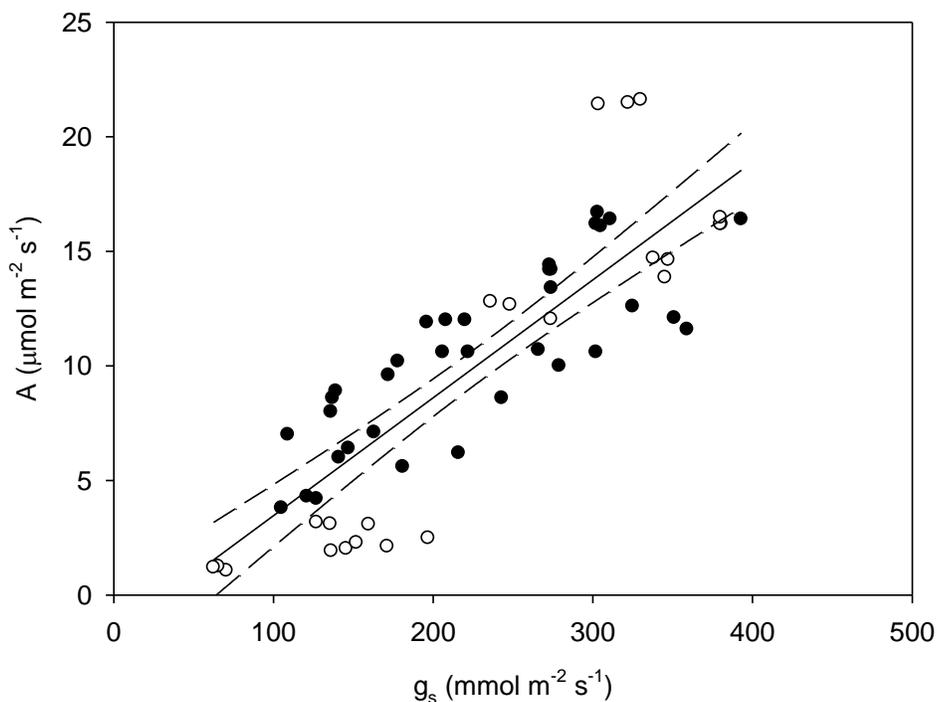


Figura 7. Relación entre la fotosíntesis y la conductancia estomática de hojas de *C. praecox* en lluvia (●) y sequía (○) (n=56). La línea continua representa la regresión lineal ($A = 0,05g_s - 1,68$; $r^2 = 0,71$) mientras que la líneas punteadas representa el intervalo del 95% de confianza de la regresión.

3.1.2 Curva de respuesta de A a C_i

La A se saturó a 700 y 600 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO_2 en lluvia y sequía, respectivamente (Fig. 8). La $A_{\text{CO}_2 \text{ sat}}$ disminuyó en sequía en un 50% mientras que EC lo hizo en un 40% (Fig. 8, Tabla 4). La L_s se mantuvo alrededor de 30% en ambas temporadas del año, mientras que L_m fue de 51% en sequía.

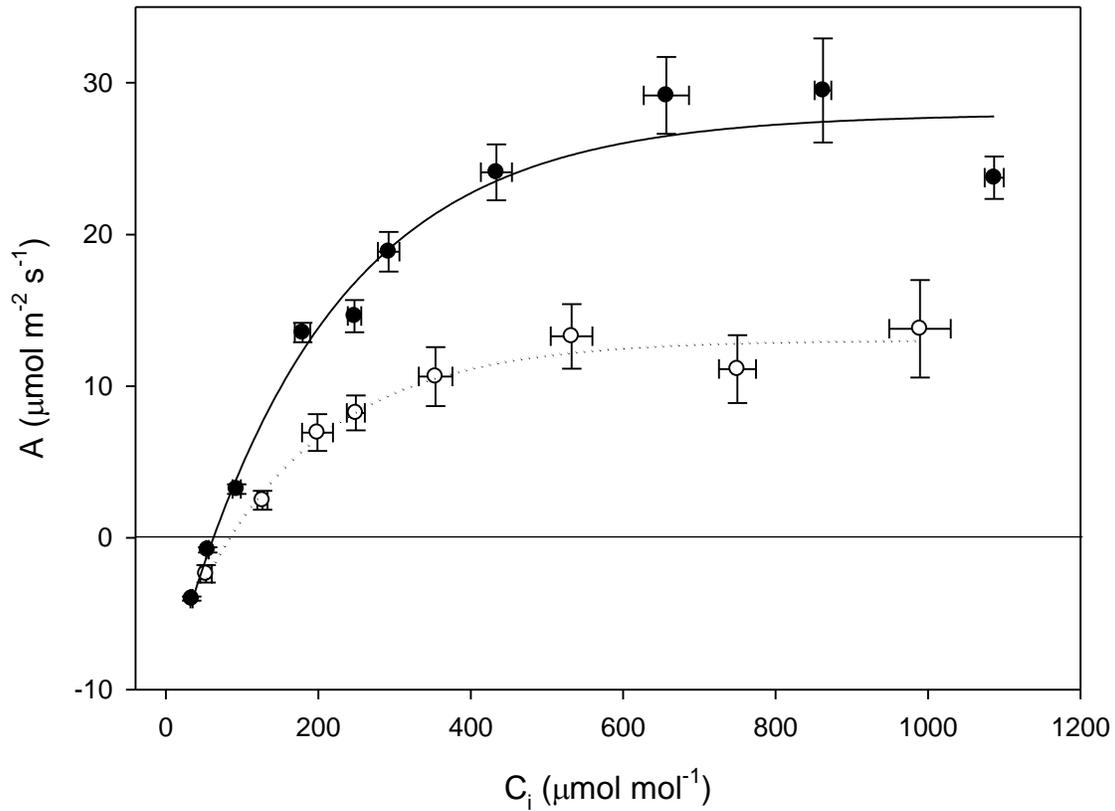


Figura 8. Curva de respuesta de la fotosíntesis foliar a la concentración intercelular de CO₂ (A/C_i) durante las temporadas de lluvia (●) y sequía (○).

Tabla 4. La A a C_i saturante, eficiencia de carboxilación, tasa de respiración diurna y punto de compensación de CO₂ de hojas de *C. praecox* (n=4) durante las temporadas de lluvia y sequía.

Temporada	A_{CO_2sat} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	EC ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	R_d ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Γ ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)
Lluvia	30,1 ± 3,8 a	0,179 ± 0,013 a	9,4 ± 0,6 a	60,7 ± 1,9 a
Sequía	14,7 ± 3,2 b	0,109 ± 0,012 b	7,0 ± 0,6 a	84,1 ± 10,7 a

Letras diferentes entre filas indican diferencias significativas ($\alpha=0,05$).

3.1.3 Curva de respuesta de A a DFF

La A se saturó a una DFF de 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Fig. 9). Los valores de a , A_{DFFsat} , Φ_{CO_2} , R_D y PCL se muestran en la Tabla 5.

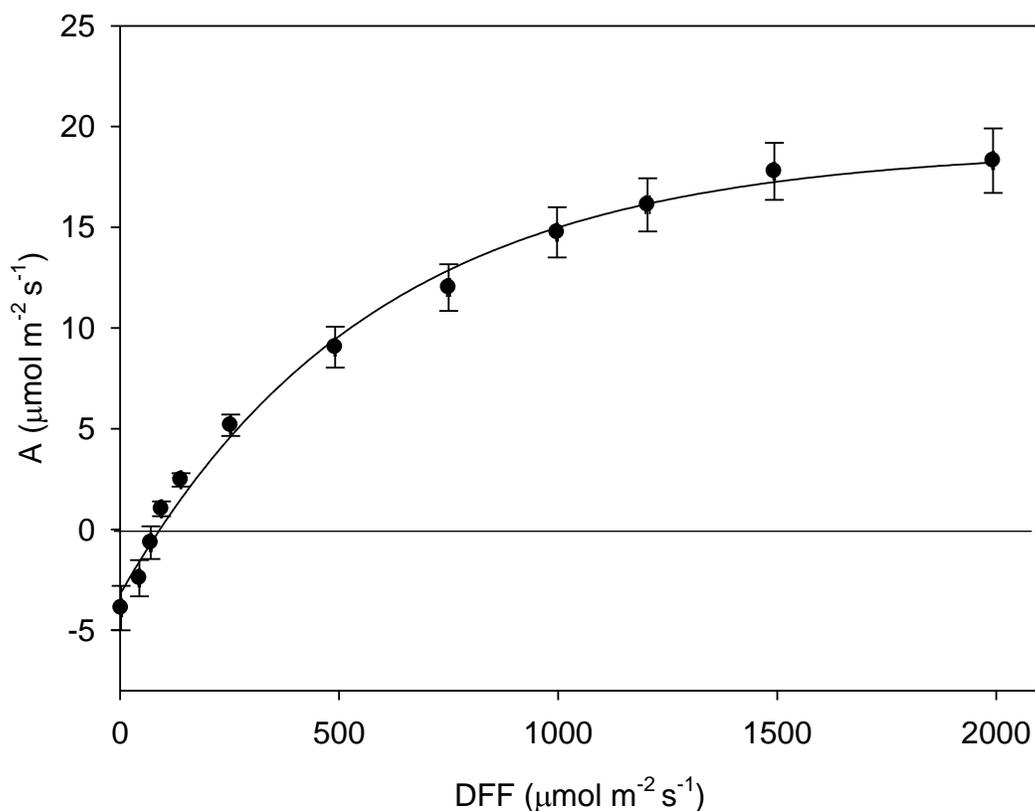


Figura 9. Curva de respuesta de la fotosíntesis foliar a la densidad de flujo fotónico (A/DFF) (n=4).

Tabla 5. La A a DFF saturante, eficiencia cuántica aparente, tasa de respiración en oscuridad y punto de compensación de luz de hojas de *C. praecox* (n=4).

$A_{DFF_{sat}}$ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Φ_{CO_2} ($\mu\text{mol } \mu\text{mol}^{-1}$)	R_D ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	PCL ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
$19,2 \pm 1,7$	$0,039 \pm 0,005$	$3,2 \pm 0,8$	$87,5 \pm 17,1$

3.1.4 Curva de respuesta de A a la temperatura

La máxima A se alcanzó a una temperatura de 30°C y fue $17,5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, sin embargo, ésta se mantuvo como un 90% del máximo en el intervalo de temperatura 25-32°C (Fig. 10).

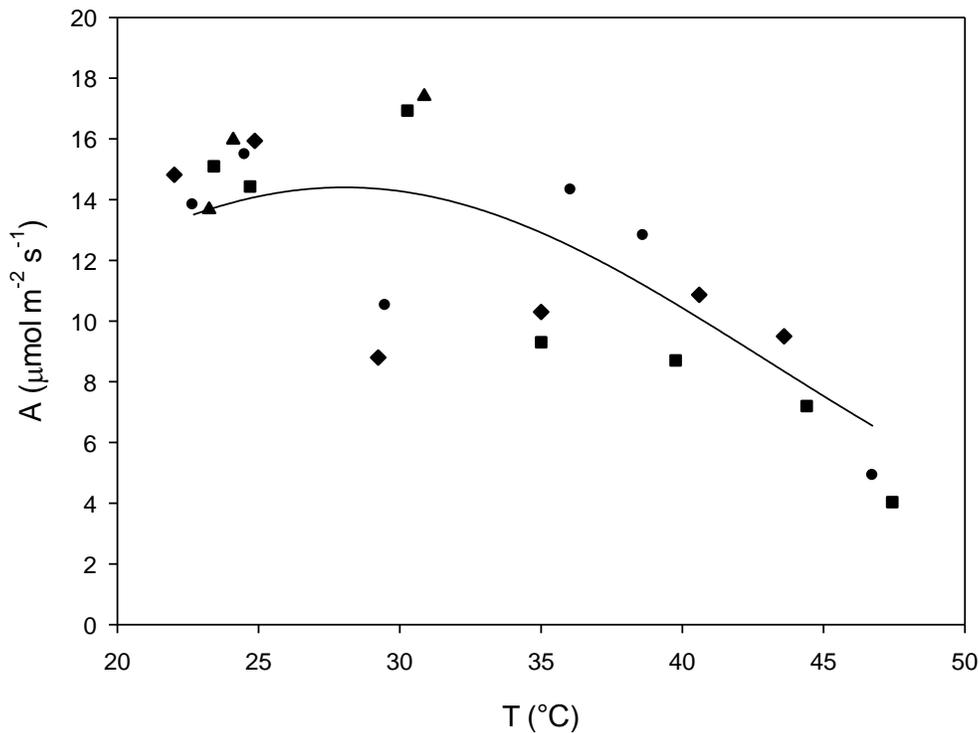


Figura 10. Curva de respuesta de la fotosíntesis a la temperatura foliar (A/T_f). Símbolos diferentes indican curvas de individuos diferentes ($n=4$). La ecuación de regresión fue $A = 15,24 \times e^{-0,5 \times (T-25,17/13,98)^2}$, $r^2 = 0,88$.

3.2 Fotosíntesis cortical

Se encontró una A_C en el tallo de *C. praecox* de $2,55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. La respiración determinada en luz (R_l) fue menor que la correspondiente en oscuridad (R_D), indicando que existe una asimilación de CO_2 en presencia de luz (fotosíntesis) (Fig. 11). Se encontró que esta fotosíntesis compensa en un 41% la pérdida de carbono por respiración.

Comparando los parámetros de intercambio de CO_2 de la hoja y el tallo de *C. praecox* se tiene que A_C es un 23% de A foliar. (Fig. 11). Si suponemos que A_C se mantiene constante durante el día, entonces se podría estimar que la contribución del tallo a la ganancia de

carbono diaria total de *C. praecox* está alrededor de $66,6 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ en la temporada de lluvia. El balance neto diario de la hoja y el tallo sería entonces de $356,3 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$.

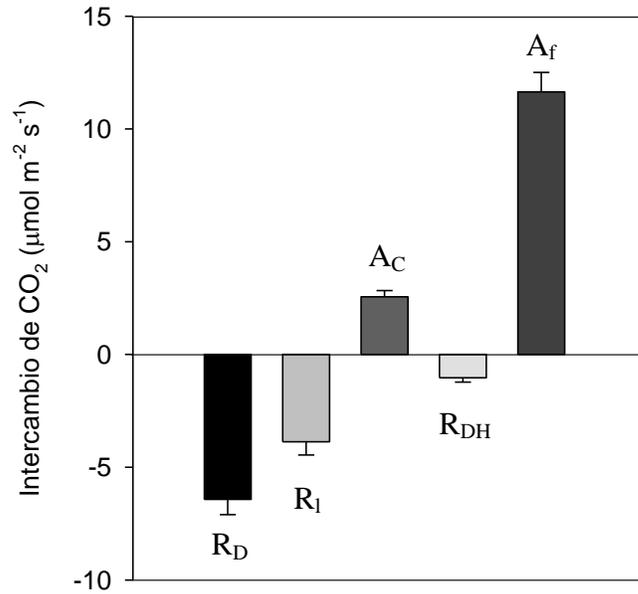


Figura 11. Intercambio de CO_2 de hojas y tallos ($n=8$) de *C. praecox* medidos en luz ($1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y en oscuridad. Tasa de respiración en oscuridad de tallos (R_{DT}), tasa de respiración en luz de tallos (R_I), tasa de fotosíntesis cortical (A_C), tasa de respiración en oscuridad de hojas (R_{DH}) y tasa de fotosíntesis foliar (A_f).

Los valores de E , g_s y EUA instantánea fueron mayores en la hoja que en el tallo (Fig. 12); sin embargo, hay que considerar que las mediciones se realizaron en secciones de tallos cortados, lo que podría afectar los valores medidos de g_s y E .

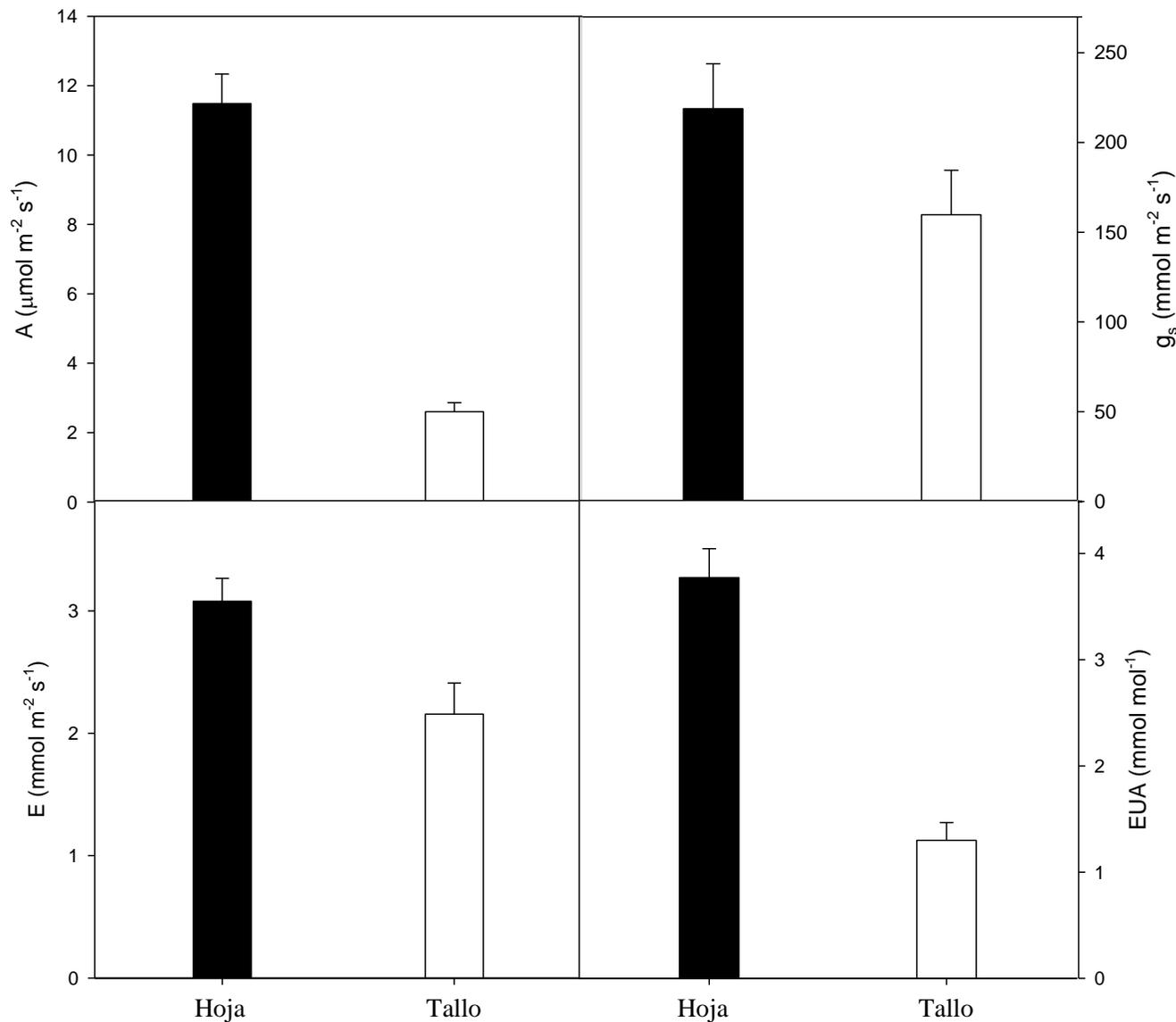


Figura 12. Parámetros de intercambio gaseoso medidos en la mañana: a) tasa de fotosíntesis foliar y cortical (A), b), conductancia estomática (g_s) c) tasa de transpiración (E) y d) eficiencia de uso de agua instantánea (EUA) de hojas y tallos (n=8).

4. Actividad fotoquímica del PSII

No se encontraron diferencias significativas entre la F_v/F_m de hojas y tallos en lluvia, y ambos valores fueron muy cercanos a 0,83, similares a los reportados en la literatura en

hojas en buenas condiciones. En sequía F_v/F_m disminuyó a 0,73 en el tallo en sequía (Tabla 6).

Tabla 6. Valores de F_v/F_m de hojas y tallos en las temporadas de lluvia y sequía.

	Hoja	Tallo
Lluvia	0,830 ± 0,015 a	0,818 ± 0,029 a
Sequía	0,815 ± 0,006 a	0,725 ± 0,018 b

Letras diferentes entre filas o columnas indican diferencia significativas ($\alpha= 0,05$).

4.1 Curso diario de fluorescencia

La J de ambos órganos en general siguió el patrón de la DFF aumentando desde la mañana hasta el mediodía y luego disminuyendo en horas de la tarde (Fig. 2, Fig. 13a).

La Φ_{PSII} y el q_P siguieron la misma tendencia e inversa a la de J, con los mayores valores obtenidos en horas de la mañana y en la tarde (Fig. 13b, 13c). Los valores de ambos parámetros fueron mayores en las hojas en la mañana y el patrón se invirtió al mediodía, alcanzando valores similares en hojas y tallos al final de la tarde (Fig. 13b, 13c). El q_N siempre fue mayor en el tallo que en la hoja (Fig. 13d).

4.2 Curvas de J vs DFF

Se observó una respuesta similar de J a la DFF en hojas y tallos y ninguno de los órganos mostró saturación a la DFF en lluvia (Fig. 14a); sin embargo, se observó saturación en sequía. El Φ_{PSII} fue siempre mayor en la hoja que en el tallo a valores de DFF menores a 1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Fig. 14b). El q_P fue mayor en hojas que en tallos durante todo el intervalo de DFF evaluado en la temporada de lluvia, mientras que en sequía tuvieron valores similares (Fig. 14c). Por otra parte, q_N fue mayor en el tallo en que en la hoja a bajas DFF en ambas

temporadas (Fig. 14d). Se observó regulación descendente del PSII en hojas, puesto que hubo una disminución de Φ_{PSII} y q_P con un aumento en q_N en sequía.

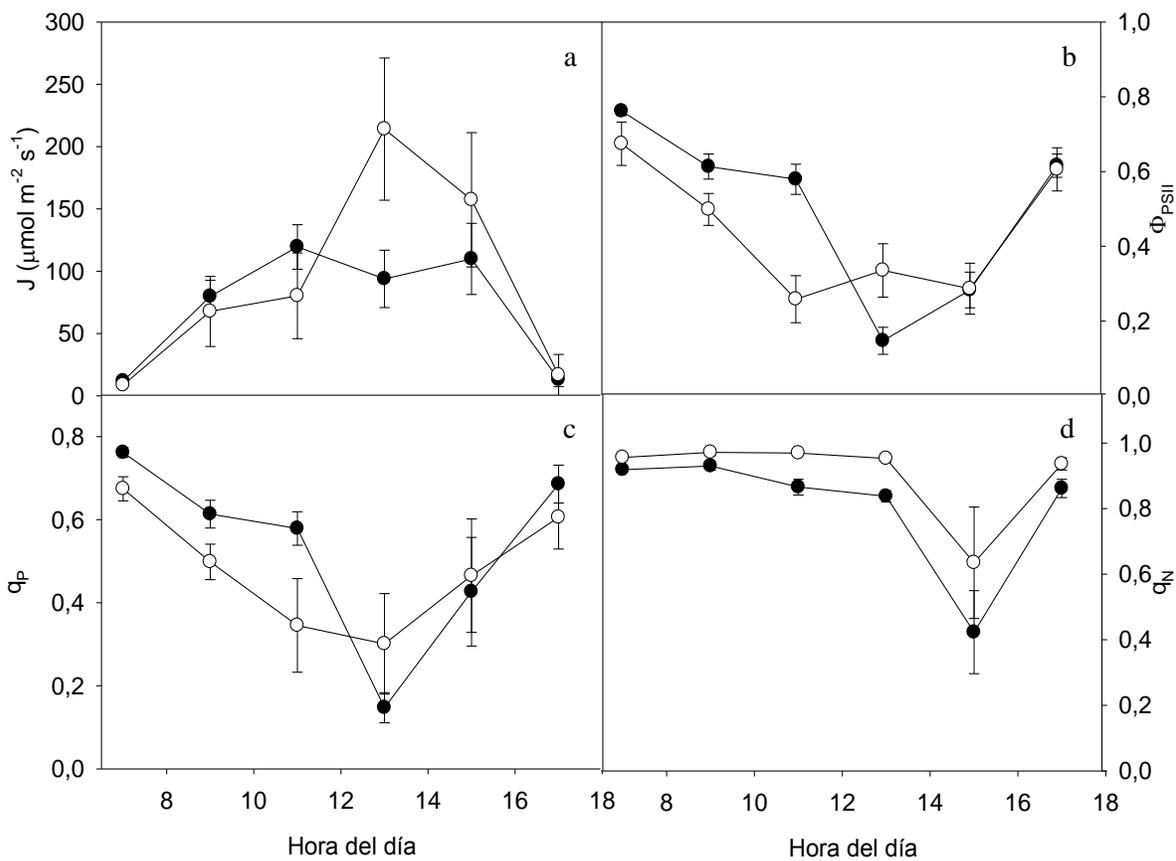


Figura 13. Curso diario de parámetros de fluorescencia: a) tasa de transporte de electrones, b) eficiencia cuántica relativa del PSII, c) coeficiente de extinción fotoquímica y d) coeficiente de extinción no fotoquímica de hojas (●) y tallos (○) (n=4).

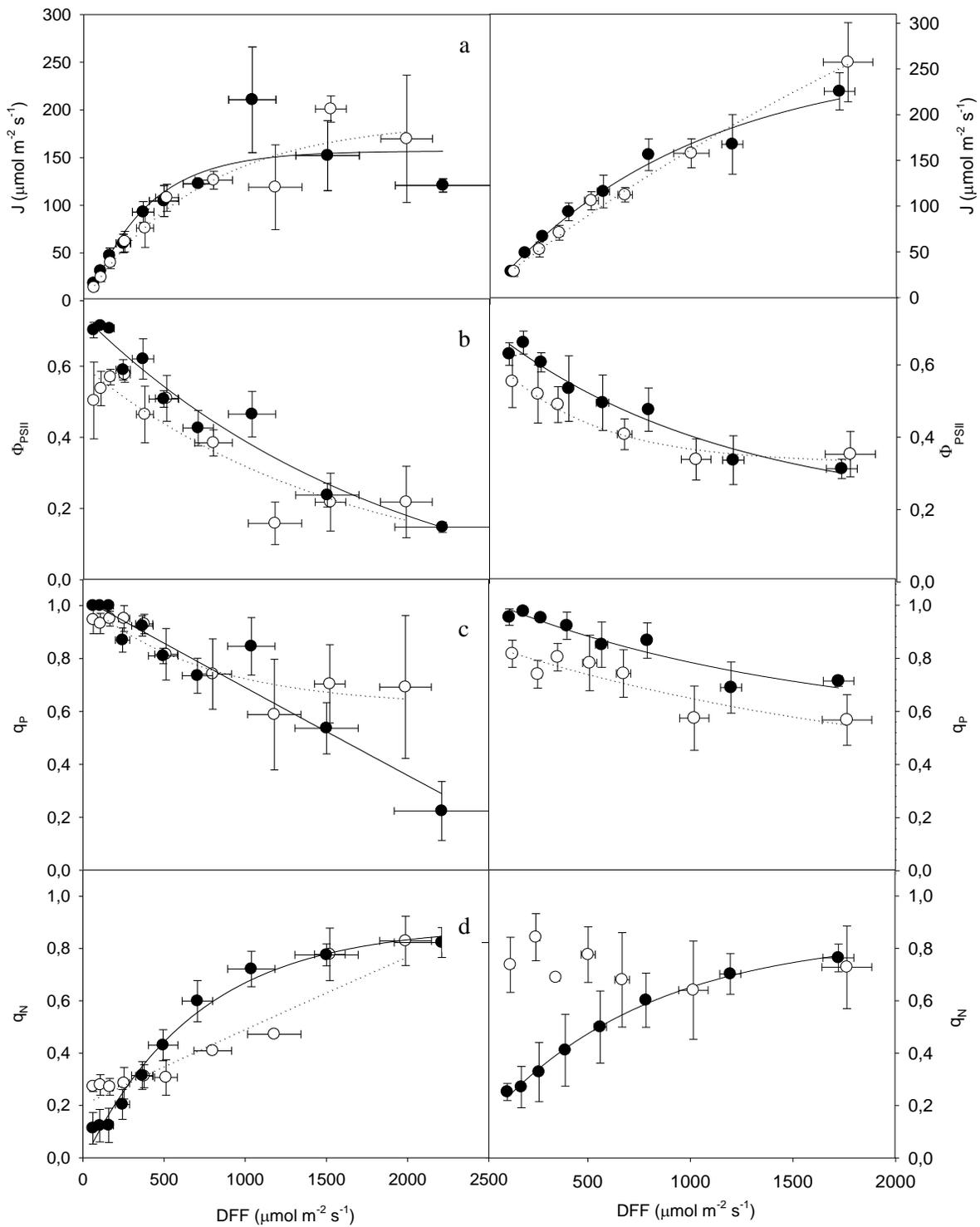


Figura 14. Curvas de respuesta de los parámetros de fluorescencia a DFF: a) tasa de transporte de electrones, b) eficiencia cuántica relativa del PSII, c) coeficiente de extinción fotoquímica y d) coeficiente de extinción no fotoquímica de hojas (●) (n=3) y tallos (○) (n=5) en las temporadas de sequía (izquierda) y lluvia (derecha).

5. Determinaciones bioquímicas

Se encontraron diferencias significativas en el contenido de Cl por unidad de área (a, b, a + b y a/b), PST y N entre la hoja y el tallo, siendo todos estos parámetros mayores en la hoja que en el tallo. El contenido de Cla+b del tallo fue un 26% del correspondiente a las hojas, mientras que el contenido de PST fue alrededor de un 36%. El contenido de N de tallos fue un 58% el correspondiente a las hojas, mientras que el de C fue similar en ambos órganos (Tabla 7).

Tabla 7. Contenido de clorofilas (Cla), b (Clb), totales (Cla+b), relación Cla/b, proteínas solubles totales (PST), y contenido de nitrógeno (N) y carbono (C) de hojas y tallos de *C. praecox*.

	Hoja	Tallo
Cla ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	30,31 \pm 1,83 a	7,34 \pm 0,44 b
Clb ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	9,75 \pm 0,42 a	2,91 \pm 0,25 b
Cla+b ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	40,06 \pm 2,25 a	10,26 \pm 0,68 b
Cla/b	3,10 \pm 0,06 a	2,54 \pm 0,08 b
PST (g/m^2)	1,13 \pm 0,17 a	0,41 \pm 0,09 b
N (mg g^{-1})	29,61 \pm 2,48 a	17,33 \pm 0,23 b
C (mg g^{-1})	430,06 \pm 8,56 a	427,8 \pm 1,66 a

Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas ($\alpha = 0,05$).

6. Composición isotópica de carbono

El $\delta^{13}\text{C}$ de hojas y tallos de *C. praecox* se correspondió con los valores típicos que presentan las plantas C_3 : $-27,05 \pm 0,28$ y $-27,78 \pm 0,25$ ‰, respectivamente. No se encontraron diferencias significativas entre los valores promedio de $\delta^{13}\text{C}$ de hojas y tallos. El $\delta^{13}\text{C}$ de hojas en sequía fue mayor que en lluvia (Tabla 8).

Tabla 8. Valores de $\delta^{13}\text{C}$ (‰) de muestras de hojas y tallos de *C. praecox*.

	Hoja	Tallo
Sequía 2010	-25,5	-
	-27,4	-27,2
Lluvia 2010	-27,3	-27,1
	-27,3	-27,5
	-27,4	-27,9
Lluvia 2011	-27,3	-28,6
	-27,1	-28,4

7. Caracteres morfoanatómicos y morfométricos

La densidad estomática fue mayor en las hojas en ambas superficies (adaxial y abaxial) que en el tallo (Tabla 9). El grosor de la corteza del tallo fue mayor que el grosor foliar total y el grosor del clorénquima del tallo fue mayor que el del parénquima en empalizada de la hoja, mientras que no se encontraron diferencias significativas entre las relaciones GPE/GF y GCT/GCLT.

En la figura 15 se muestra la anatomía del tallo y la hoja de *C. praecox*. Se observó la presencia de un clorénquima en la corteza del tallo (Fig. 15b) y de estomas en la epidermis del mismo (Fig. 15c). El CT de la hoja muestra la simetría dorsiventral de la misma, con una menor proporción de parénquima en empalizada que de parénquima esponjoso y ambas cutículas gruesas (Fig. 15d). Se observó cómo los tejidos de ambos órganos se muestran bastante compactos.

Tabla 9. Densidad estomática (DE) de hojas y tallos, grosor foliar total (GF), grosor del parénquima en empalizada (GPE) y relación GPE/GF de hojas, grosor de la corteza (GCT), grosor del clorénquima (GCLT), relación GCT/GCLT de tallos, AFE y relación área/peso seco de la corteza del tallo.

		Hoja	Tallo
DE (n° estomas mm⁻²)	adaxial	287,51 ± 18,95 a	20,34 ± 7,25 b
	abaxial	57,26 ± 2,48 a	
GF (µm)		175,67 ± 8,23 b	-
GCT (µm)		-	220,89 ± 12,19 a
GPE (µm)		72,08 ± 8,14 b	-
GCLT (µm)		-	86,82 ± 4,97 a
GPE/GF		0,41 ± 0,05 a	-
GCLT/GCT		-	0,39 ± 0,02 a
AFE (cm² g⁻¹)		241,14 ± 12,63 a	-
Área/peso seco corteza (cm² g⁻¹)		-	81,28 ± 9,52 b

Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas ($\alpha = 0,05$).

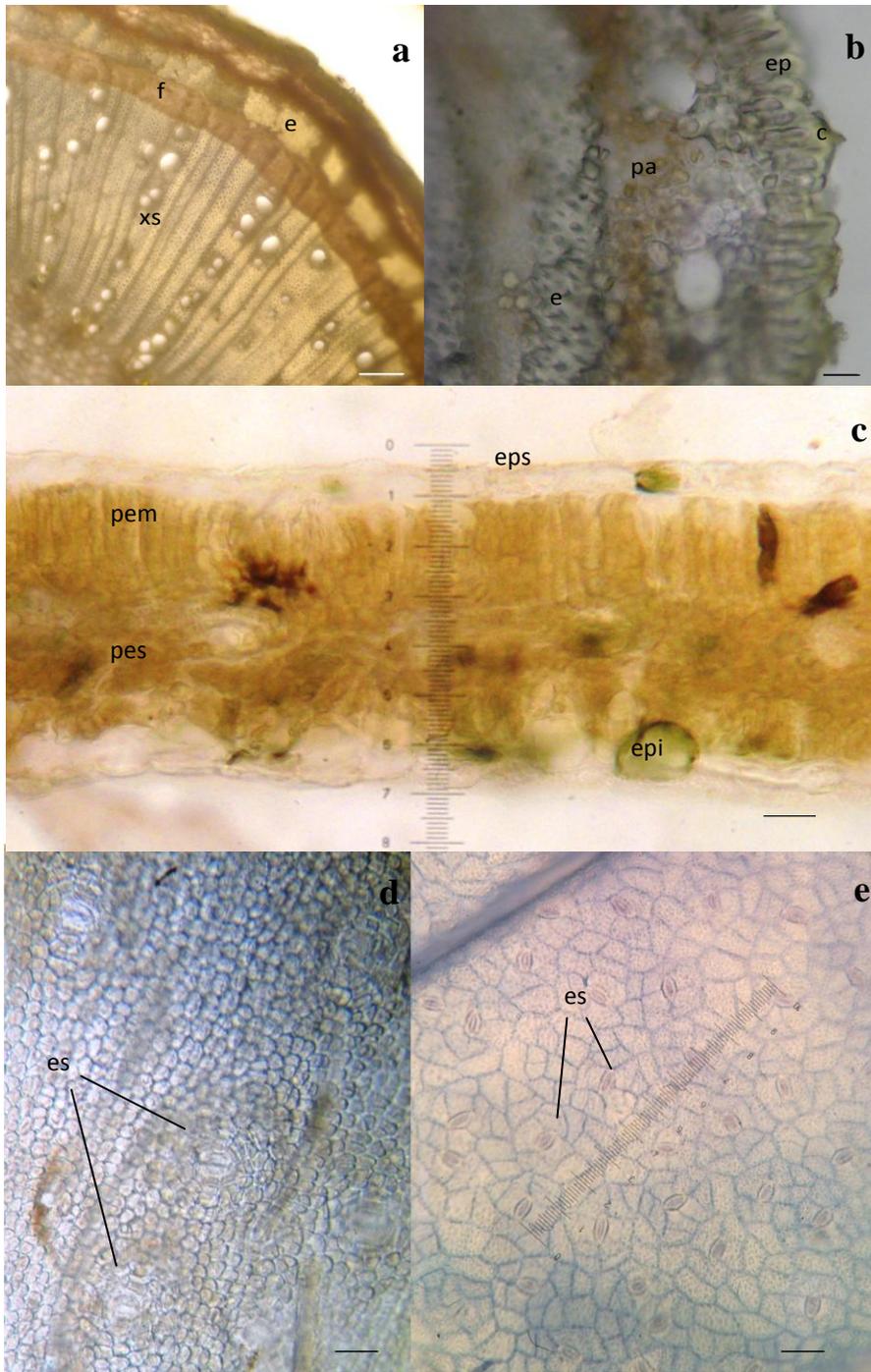


Figura 15. Cortes anatómicos de tallos y hojas de *C. praecox*: a) y b) corte transversal de tallo con crecimiento secundario poco desarrollado, c) corte transversal de un foliolo central mostrando la simetría dorsiventral de la hoja, d) corte paradérmico de tallo mostrando los estomas, y e) aclarado de foliolo mostrando los estomas. Letras: f: floema, e: esclerénquima, xs: xilema secundario, pa: parénquima asimilador (clorénquima), ep: epidermis, c: cutícula, es: estoma, eps: epidermis superiores, pem: parénquima en empalizada, pes: parénquima esponjoso y epi: epidermis inferior. Barras: a) 400, b), c), d) y e) 50 μm .

Discusión

Las plantas presentan respuestas fisiológicas a cambios en las condiciones ambientales de los hábitats en las que se desarrollan. Durante la temporada de lluvia el Ψ de ramas de *C. praecox* al mediodía fue 50% menor que el matutino, debido a un aumento en la pérdida de agua por transpiración, causado por el aumento en la DFF. A pesar de haber encontrado un cambio significativo en Ψ , Ψ_S y Ψ_P no mostraron cambios significativos entre la mañana y el mediodía, lo que indica que a pesar de la pérdida de agua la elasticidad de las paredes celulares mantuvieron la turgencia de las células.

La disminución de Ψ foliar durante la sequía está relacionada con una menor adquisición de agua por parte de las raíces de la planta, lo que podría estar relacionado con un sistema radical poco profundo (Tezara y col., 2010a, 2010b), además de la baja disponibilidad de agua en el suelo. El DH afecta el desarrollo de las plantas a través de efectos en la apertura estomática, la fotosíntesis mesofilar y el crecimiento (Chaves y Pereira, 1992). El DH disminuye la g_s y además puede afectar el metabolismo, el cual en la etapa de déficit fuerte incrementa en importancia en la regulación de A (Lawlor, 1995, Tezara y col., 2003, 2005, Lawlor y Tezara 2009; Tezara y col., 2010a, 2010b).

Las máximas A y g_s se corresponden con el mayor Ψ encontrado a tempranas horas de la mañana en lluvia. El igual comportamiento de A y g_s durante el día podría indicar que A es regulada por g_s . En general, la disminución en A con una disminución en Ψ está correlacionada con una disminución en g_s (Farquhar y Sharkey, 1982; Cornic, 1994), la cual reduce la difusión del CO_2 desde la atmósfera hacia los espacios intercelulares de la hoja, y por lo tanto disminuye C_i .

Se encontró que durante la sequía g_s de hojas disminuyó, mientras que C_i aumentó, lo cual podría deberse a que factores como los bioquímicos y fotoquímicos están regulando A durante el DH. La C_i disminuye con la imposición de un DH medio y a medida que este se intensifica, C_i aumenta hasta valores superiores que los observados en plantas no estresadas, debido al desprendimiento de CO_2 por la fotorrespiración (Lawlor, 1995). La reducción de g_s con el incremento del DH puede limitar A debido a que el transporte de CO_2 hacia el cloroplasto disminuye (Chaves, 1992; Cornic, 1994), sin embargo, el cierre estomático no fue el principal factor en la reducción de A en plantas de *Amaranthus palmeri* (Ehleringer, 1983), *Encelia farinosa* (Ehleringer y Cook, 1984), *Helianthus annuus* (Tezara, 1996), *Lycium nodosum* (Tezara y col., 2003), *Ipomoea carnea*, *Jatropha gossypifolia* (Tezara y col., 2005) y *Calotropis* sp. (Tezara y col., 2010b) durante la sequía, donde los factores mesofilares impusieron una gran limitación.

La A_D foliar de *C. praecox* en lluvia se encuentra en el intervalo de valores que ha sido encontrado previamente para otras especies C_3 xerófitas del norte del país: 200-400 $mmol\ m^{-2}\ d^{-1}$ (Tezara y col., 2010a). Se han encontrado valores mayores de A_D en otras especies, por ejemplo *Alternanthera crucis*, una especie C_4 , o especies que presentan el metabolismo CAM-inducible (Tezara y col., 2010a), especies en las cuales se conoce que presentan altas EUA y $A_{m\acute{a}x}$. Sin embargo, esta A_D no representa la ganancia neta diaria de CO_2 de *C. praecox* puesto que no considera el balance de carbono que existe entre el tallo y la atmósfera, y tampoco la R_D .

La alta correlación lineal que existe entre A y g_s sugiere que la A podría estar colimitada por factores estomáticos y no estomáticos, es decir, que los estomas y aspectos mesofilares (bioquímicos y fotoquímicos) regulan coordinadamente A , de manera que se

permita una utilización efectiva de todos los componentes de la fotoquímica y del ciclo de Calvin (Lambers y col., 2008), maximizándose así la eficiencia de uso de recursos.

La respuesta de A a la concentración de CO₂ es la principal herramienta para analizar la demanda de CO₂ y las limitaciones que actúan sobre A (Lambers y col., 2008). La A_{CO₂sat} se obtiene cuando se ha superado la limitación a la difusión de CO₂ impuesta por los estomas (L_s) y la maquinaria fotosintética se encuentra saturada (región de la curva A/C_i limitada por la regeneración de RuBP). La A_{CO₂sat} de *C. praecox* fue relativamente baja (30 μmol m⁻² s⁻¹) cuando se compara con otras especies xerófitas: 38-44 μmol m⁻² s⁻¹ en *E. farinosa* (Cunningham y Strain, 1969), 32 y 38 μmol m⁻² s⁻¹ en *I. carnea* y *J. gossypifolia*, respectivamente (Tezara y col., 2005), 35-40 μmol m⁻² s⁻¹ en *L. nodosum* (Tezara y col., 2003), y con una especie con tallo fotosintético: *H. salsola* con 37 μmol m⁻² s⁻¹ (Comstock y Ehleringer, 1988). Sin embargo, se ha encontrado para otra especie de *Cercidium* (*C. floridum*) una capacidad fotosintética menor a 10 μmol m⁻² s⁻¹ (Adams y Strain, 1968).

La L_s obtenida en *C. praecox* durante la temporada de lluvia (32%) es similar a la encontrada en otras especies de arbustos caducifolios del norte del país: 35% en *L. nodosum* (Península de Paraguaná, Tezara y col., 2003), *I. carnea*, *J. gossypifolia* (Coro, Tezara y col., 2005) y en dos especies del género *Calotropis* (Tezara y col., 2010b).

Uno de los principales criterios para determinar si la respuesta estomática afecta en mayor proporción A frente a algún tipo de estrés es el hecho de que C_i siga la misma tendencia que A y g_s durante la sequía, en caso contrario el factor más importante es mesofilar (Farquhar y Sharkey, 1982; Schulze y Hall, 1982). En *C. praecox*, se encontró que no hubo cambio en L_s durante la sequía (~ 30%), mientras que L_m incrementó en un 50%, indicando así que los factores mesofilares impone una mayor limitación que el que impone el control estomático. Se ha encontrado en *L. nodosum* que la L_s permanece más o menos

constante bajo estrés hídrico y salino, mientras que la L_m aumenta en un 80 y 40%, respectivamente, indicando de nuevo que la regulación metabólica de la fotosíntesis se convierte más importante que el cierre estomático a medida que aumenta el estrés (Tezara y col., 2003). Incluso, se ha encontrado en *J. gossypifolia* una reducción significativa en L_s debido a la sequía (Tezara y col., 2005).

Se ha encontrado que el DH puede afectar la A debido a que se afecta negativamente la captura de luz, el transporte de electrones o los procesos metabólicos (ciclo de Calvin), con una consecuente disminución de la fijación de CO_2 (Tezara, 1996; Lawlor y Tezara, 2009). Las curvas A/C_i de *C. praecox* muestran reducciones en EC y A_{CO_2sat} , la cual podría estar relacionado con una disminución de RuBP y de la actividad de Rubisco (Farquhar y von Caemmerer, 1982; Lawlor, 1995; von Caemmerer, 2000). En *L. nodosum* sometida a estrés hídrico y salino, en *I. carnea*, *J. gossypifolia* y dos especies del género *Calotropis* durante la sequía, se encontró una disminución en A_{CO_2sat} y EC, y esto fue atribuido a la pérdida de actividad y/o cantidad de Rubisco debido a la disminución del contenido relativo de agua y de Ψ (Tezara y col., 2003, 2005, 2010b).

La plasticidad foliar de muchas especies de arbustos caducifolios causan que sus características de respuesta de A a DFF varíen (Smith y Nobel, 1986). Esta plasticidad incluye la presencia de hojas de sol y sombra, hojas con diferente AFE, grosor de mesófilo, contenido de clorofilas y cantidad de pelos (pubescencia) en una misma especie en diferentes temporadas del año. Estas diferencias pueden modificar la A_{DFFsat} y Φ_{CO_2} mientras que la forma de la curva de respuesta A/DFF no se modifica (Smith y Nobel, 1986). La A_{DFFsat} de *C. praecox* ($19 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en lluvia fue ligeramente superior a la encontrada en hojas de otras especies con tallo fotosintético: 12 y $17 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en *G. max* y *S. junceum*, respectivamente (Nilsen y Bao, 1990), y 12-16 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en *J. californica* (Tinoco-

Ojanguren, 2008). Sin embargo, se ha encontrado en otras especies valores mayores de A_{DFFsat} : *E. inflatum* con $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Osmond y col., 1987) y *H. salsola* con $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Comstock y Ehleringer, 1988).

Los arbustos caducifolios generalmente exhiben $A_{m\acute{a}x}$ a temperaturas foliares moderadas (Smith y Nobel, 1986). *C. praecox* tiene un intervalo de $T_{\acute{o}pt}$ de 25-32°C, ligeramente mayor a lo encontrado en *Gutierrezia sarothrae* con 17-18°C (DePuit y Caldwell, 1975). En *C. floridum* y *E. farinosa* la $T_{\acute{o}pt}$ es de 25°C (Adams y Strain, 1968; Ehleringer y Björkman, 1978), mientras que en *E. inflatum* esta se encuentra entre 20 y 30°C (Osmond y col., 1987). La A disminuyó en *C. praecox* abruptamente por encima de 35°C, similar a lo reportado previamente para *Artemisia tridentata* y *G. sarothrae* (DePuit y Caldwell, 1975) y *E. farinosa* (Ehleringer y Mooney, 1978).

La mayoría de las especies de desierto con tallo fotosintético presentan una asimilación neta de CO_2 (ver Tabla 1); sin embargo, se encontró en *C. praecox* una fotosíntesis del tipo cortical. Esta fotosíntesis cortical también ha sido encontrada en *G. max* (Nilsen y Bao, 1990), donde la asimilación de CO_2 que ocurre en el tallo es suficiente para compensar la pérdida de carbono por la respiración diurna. La fotosíntesis cortical ha sido referida mayormente para especies de árboles de bosques templados del hemisferio norte (ver Tabla 2), donde las temperaturas bajas del invierno provoca que las plantas pierdan sus hojas y sea el tallo el responsable de mantener las actividades fisiológicas durante ese período. El % re-asimilación encontrado en *C. praecox* (41%) está dentro del intervalo de porcentajes encontrado para otras especies (ver Tabla 2).

La menor A encontrada en los tallos que en las hojas de varias especies ha sido relacionada con la menor cantidad de DFF que llega al clorénquima del tallo en comparación a la que llega al mesófilo de la hoja. Se ha encontrado que la transmitancia a la DFF de la

peridermis de ramas jóvenes de *P. tremula* y *F. sylvatica* es baja y que ésta disminuye con la edad de la rama (Aschan y col., 2001; Wittmann y col., 2001).

A pesar de que A_C en *C. praecox* fue un 27% de A foliar, la asimilación cortical puede tener un papel importante en la reducción de la pérdida de carbono por respiración de la planta, especialmente durante la temporada del año en que ésta se encuentra total o parcialmente desprovista de hojas y el tallo sería el único órgano verde capaz de fotosintetizar. Si se toma en cuenta la mayor área que presentan los tallos en comparación con las hojas, la cantidad de CO_2 asimilada por estos puede ser significativa, e incluso aumentar en la temporada de DH (Yiotis y col., 2008).

La menor g_s encontrada en el tallo puede ser debido a una mayor dificultad de la apertura estomática dada las características de la epidermis del tallo, y a una menor densidad de estomas en esta última. Esta menor g_s se corresponde con una menor A y E .

Las plantas con tallo fotosintético y hojas efímeras son comunes en desiertos y en regiones con clima Mediterráneo (Nilsen, 1995). Los tallos fotosintéticos también se encuentran en muchas especies leguminosas sucesionales tempranas (Allen y Allen, 1981), lo cual puede ser debido a la necesidad de un suministro constante de carbono para el mantenimiento de los nódulos en plantas de ambientes con condiciones estresantes (Bossard y Rejmanek, 1992). La fotosíntesis cortical encontrada en el tallo de *C. praecox* sumada al tipo de hoja, los movimientos foliares, el sistema radical profundo, etc., podría explicar parcialmente el éxito que tiene esta planta en los ambientes áridos y semi-áridos en los que se desarrolla. Cabe destacar que la competencia intra e interespecífica, la herbivoría y los cambios estacionales de las variables ambientales también definen el éxito de una especie en un determinado hábitat.

Tanto la hoja como el tallo tienen la misma eficiencia fotoquímica de conversión de energía (F_v/F_m) durante la temporada de lluvia, igual o muy cercana al valor máximo que presentan hojas en buen estado. Altos valores de F_v/F_m se han encontrado en otras especies durante la época favorable del año cuando las hojas están presentes: 0,8 para *H. viridis* (Aschan y col., 2005), *A. glutinosa*, *F. excelsior*, *P. silvestris* (Berveiller y col., 2007), *P. pérsica* (Levizou y Manetas, 2008), *Nerium oleander* (Rentzou y Psaras, 2008) y *C. villosa* (Yiotis y col., 2008).

En sequía se encontró una disminución significativa en F_v/F_m en el tallo y esto parece indicar que este órgano es más susceptible a la fotoinhibición que la hoja. Resultados similares se han encontrado en otras especies de árboles (Damesin, 2003; Berveiller y col., 2007; Levizou y Manetas, 2008). Esta disminución en F_v/F_m en tallos ha sido asociada a una disminución en el contenido de Cl, y por lo tanto de la capacidad de absorber DFF y transmitir tal energía lumínica a los centros de reacción. A pesar de que se ha encontrado fotoinhibición por bajas temperaturas en especies de árboles de bosque templado, la A_T puede exceder la tasa de respiración y estas especies pueden tener % de reasimilación incluso mayores que 100% (Foote y Schaedle, 1976; Cernusak y Marshal, 2000).

Se encontró que J de hojas y tallos de *C. praecox* fue similar en un amplio intervalo de DFF en lluvia y sequía, lo cual contradice lo que ha sido encontrado previamente por varios autores: menor J en tallos que en hojas. Sin embargo, es probable que esta similitud en J en ambos órganos se deba a que se está suponiendo el mismo % de luz absorbida (a), lo cual no es necesariamente cierto. Generalmente, J de hojas es superior a la encontrada en tallos, por ejemplo en *C. villosa* (Yiotis y col., 2008), lo cual ha sido atribuido a una menor capacidad del tallo para captar energía debido a una menor cantidad de Cl, y a una alta reflectancia debido a la presencia de pubescencia. Se podría pensar que estas diferencias se

deben a la menor DFF que alcanza el clorénquima del tallo en comparación con la hoja; sin embargo, se ha propuesto que debido a las características de adaptación a la sombra que tiene el tallo, su DFF saturante es baja y por lo tanto presenta menor J (Levizou y Manetas, 2008). Se ha encontrado que J de tallos de *P. persica* y *P. cerasus* es entre 10 y 15% el correspondiente a las hojas (Manetas, 2004a; Levizou y Manetas, 2008). En otras especies J de tallos está entre 60% en *H. viridis* (Aschan y col., 2005) y 80% en *C. villosa* (Yiotis y col., 2008) del correspondiente a las hojas.

La Φ_{PSII} y el q_P fueron mayores en la hoja que en el tallo de *C. praecox*, y esto también ha sido encontrado en otras especies. Esto indica que la hoja tiene una mayor capacidad de transferencia de la energía captada por los centros de reacción abiertos del PSII. Similarmente, *P. cerasus*, *Arbutus unedo*, *P. deltoides*, *Q. coccifera* y *Pistacia lentiscus* presentan una mayor Φ_{PSII} en la hoja que en el tallo en un amplio intervalo de DFF (Manetas, 2004a). En general, Φ_{PSII} de cualquier órgano verde (sépalos, tallo o fruto) es menor que el de la hoja de la misma especie (Aschan y col., 2005), o similar (*C. villosa*: Yiotis y col., 2008). El q_P de sépalos, pedúnculos y frutos de *H. viridis* es significativamente menor que el de las hojas (Yiotis y col., 2008).

El q_N de la hoja de *C. praecox* fue menor que el del tallo indicando que este tiene una mayor capacidad para disipar energía en forma de calor, incluso a bajas DFF. Esto supone una ventaja para la planta principalmente durante los períodos de estrés, en el cual el tallo sería el único órgano encargado de fotosintetizar, y un daño de la maquinaria fotosintética supondría el cese de las actividades fisiológicas y finalmente la muerte del individuo. En *H. viridis*, q_N de tallos y frutos fue estadísticamente igual al de hojas, pero menor al de los sépalos (Aschan y col., 2005).

A pesar que hubo una disminución en Φ_{PSII} del tallo en sequía, esta no se corresponde con un aumento en q_N , como sí ocurre en hojas de especies xerófitas: *I. carnea* y *J. gossypifolia* (Tezara y col., 2005), proceso conocido como regulación descendiente del PSII. Existen mecanismos alternativos de disipación del exceso de energía como el ciclo de las xantofilas, relacionado a la extinción no fotoquímica, el cual incrementa con el DH mientras que q_P no se ve afectado o disminuye (Lawlor, 1995).

En la hoja se encontró que hubo una regulación descendente del aparato fotoquímico, puesto que en sequía se observó una disminución en Φ_{PSII} y q_P con un aumento significativo en q_N . Esto ha sido reportado en hojas de xerófitas del norte del país (Tezara y col., 2010a).

La capacidad que tiene una planta de realizar fotosíntesis está parcialmente determinada por el contenido de clorofilas, se espera que mientras mayor sea el contenido de Cl mayor sea A. Se encontró que la hoja de *C. praecox* contiene mayores cantidades de Cl a y b por unidad de área que la corteza del tallo, indicando que la capacidad fotosintética de la hoja podría ser mayor. Mayores contenidos de Cl en hojas que en tallos se ha encontrado en otras especies: *E. inflatum* (Osmond y col., 1987) *G. max*, *S. junceum* (Nilsen y Bao, 1990), *F. sylvatica*, *P. tremula* (Wittman y col., 2001), *Olea europaea* (Filippou y col., 2007), *J. californica* (Tinoco-Ojanguren, 2008) y *C. villosa* (Yiotis y col., 2008). Además, se ha encontrado que el contenido de clorofila de ramas jóvenes puede ser un 50-70% del contenido de hojas adyacentes (Pfanzen y col., 2002); sin embargo, en *C. praecox* la proporción fue mucho menor (26%). Contrario a lo reportado en *C. floridum* en el que se ha encontrado que los tallos presentan un mayor contenido de clorofilas por unidad de área que las hojas (Adams y col., 1967).

Una regla general cuando se habla de los pigmentos fotosintéticos en ambientes limitados por luz predice que los pigmentos encargados en la captura de luz son favorecidos

bajo la sombra, mientras que aquellos encargados de la fotoprotección son regulados negativamente (Levizou y Manetas, 2008). Uno de los parámetros que caracteriza a la hoja de acuerdo a su aclimatación a la luz o a la sombra es la relación de clorofilas a/b. Esta relación es mayor en las hojas que en los tallos en *G. max*, *S. junceum* (Nilsen y Bao, 1990), *F. sylvatica*, *P. tremula* (Wittman y col., 2001), *Olea europaea* (Filippou y col., 2007), *J. californica* durante la época de sequía (Tinoco-Ojanguren, 2008) y *C. villosa* (Yiotis y col., 2008). Esta baja relación en tallos también fue encontrada en *C. praecox*, por lo que se puede decir que el tallo de esta especie está aclimatado a la sombra, y que esto puede ser debido principalmente a la menor cantidad de DFF que alcanza la corteza del mismo en comparación con la hoja.

Por otra parte, se ha encontrado en otras especies una alta relación carotenoides/clorofilas en el tallo, indicando que la sombra no es el único factor que afecta la concentración de pigmentos y sus relaciones (Levizou y Manetas, 2007). Estos autores explican que los distintos microambientes de los tallos pueden imponer necesidades adicionales a la maquinaria fotosintética, necesitando altas relaciones carotenoides/clorofilas.

El bajo contenido de N en el tallo explica su menor contenido de PST, y por ende de la enzima principal del ciclo de Calvin, Rubisco. La A que presente una planta está determinada por la cantidad y/o actividad de Rubisco, por lo menos en plantas con ruta de fijación C₃ (von Cammerer y Farquhar, 1981). La mayor A encontrada en hojas que en tallos de *C. praecox* puede ser atribuida en parte a su mayor contenido en N, PST y clorofilas.

El hecho de que el $\delta^{13}\text{C}$ de hojas y tallos de *C. praecox* sea igual implica que tienen la misma EUA integrada, a pesar que se ha encontrado en otras especies que el tallo presenta una mayor EUA integrada que la hoja. En *E. inflatum* se encontró que el $\delta^{13}\text{C}$ del tallo era mayor al de la hoja, indicando que los tallos fotosintetizan a una mayor EUA que las hojas, al

menos en el período del año en que ambos órganos están presentes (Smith y Osmond, 1987). Esta mayor EUA en tallos ha sido atribuida a un patrón más conservador de uso de agua y a su orientación vertical, lo que le permite a los tallos permanecer activos fotosintéticamente durante la época de sequía luego de la abscisión de las hojas (Smith y Osmond, 1987). Por otra parte, Nilsen y Sharifi (1997) encontraron que en varias especies el $\delta^{13}\text{C}$ fue mayor en el tallo que en la hoja, indicando que la fotosíntesis de los tallos mejora la EUA de toda la planta a largo plazo. La composición isotópica de carbono en *C. praecox* aumentó en sequía en la hoja, indicando que ésta mejoró su EUA integrada.

Existen varias características en la hoja de *C. praecox* que podrían explicar por qué el tallo no presenta una EUA integrada mayor que la hoja: 1) folíolos pequeños que permiten que se pierda calor más fácilmente que en una hoja grande, 2) pubescencia que permite que se refleje una alta proporción de la DFF que incide sobre las hojas y 3) presencia de movimientos foliares que permite que poca DFF incida sobre la hoja durante las horas de máxima DFF. Además, los tallos que fueron utilizados para la determinación del $\delta^{13}\text{C}$ tenían una orientación similar a la de las hojas, es decir, horizontal, lo que puede afectar el patrón conservador de agua que sí ha sido encontrado en otras especies (Smith y Osmond, 1987; Nilsen y Sharifi, 1997).

Tanto el tallo como la hoja de *C. praecox* presentan tricomas, cutículas gruesas, desarrollo notable de tejidos mecánicos (esclerenquima y colénquima) y tejidos fotosintéticos compactos, características destinadas a minimizar la pérdida de agua en especies de plantas que se desarrollan en hábitats con períodos prolongados de sequía (Lindorf y col., 2006). Se conoce que los caracteres morfoanatómicos de las hojas ejercen un papel muy importante sobre las características de la fotosíntesis. Así, se tienen hojas con caracteres xeromorfos, mesomorfos o higromorfos dependiendo principalmente de la disponibilidad de agua del

microambiente en el que se desarrollan las plantas. Incluso especies de un mismo género que tienen el mismo hábitat pueden tener hojas con diferentes características, lo cual influye sobre su capacidad fotosintética, tal es el caso de *Calotropis procera* y *C. gigantea* del Litoral Central de Venezuela (Colombo y col., 2007, Tezara y col., 2010b) que presentan diferencias en GF, AFE, pubescencia y orientación de la hoja.

Una mayor densidad estomática encontrada en las hojas que en el tallo de *C. praecox* está relacionada con una mayor capacidad de intercambio de gases que presenta la hoja en comparación con el tallo, lo que afecta su A. La apertura estomática también limita el intercambio gaseoso, así existen epidermis que son más o menos flexibles que otras, lo cual depende de la cantidad y de los compuestos que presentan las paredes de sus células.

La mayor DE en la cara adaxial que en la abaxial encontrada en *C. praecox* también ha sido encontrada en otras xerófitas en Venezuela: *I. carnea* y *A. crucis* (Herrera y Cuberos, 1990). Esta es una característica poco usual en las plantas, sin embargo, es una estrategia que permite una rápida pérdida de agua por transpiración y la disminución de T_f cuando la T_a incrementa calentando excesivamente la hoja, fenómeno que afectaría la A.

Suponiendo que la difusión de CO_2 y el balance de energía son similares en la hoja y en el tallo, se puede estimar cuál sería la A_T para un contenido de Cl, PST y N determinado. La concentración de Cl del tallo fue un 74% menor que el de la hoja, así mismo la concentración de PST y N fueron 64 y 41% menores en el tallo que en la hoja. Se espera entonces que el tallo presente una A_T entre 4 y 9 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ suponiendo una $A_{\text{máx}}$ foliar de 15 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Estos valores de A_T son los que deberían ser medidos en tallos intactos. Además, una menor g_s debido a una menor DE (menor capacidad de difusión de CO_2) podría disminuir aún más los valores arriba estimados. Esta menor A en el tallo es consistente con una menor actividad fotoquímica que tiene éste en comparación con la hoja.

A pesar que el tallo presenta un mayor grosor de clorénquima que la hoja, su relación con respecto al grosor de la corteza es menor que en la hoja, lo cual indica que en proporción presenta una menor cantidad de tejido fotosintético aunque presente mayor contenido de cloroplastos por unidad de área (debido al mayor grosor del clorénquima, Lambers y col., 2008). El AFE y la relación área/peso seco de la corteza del tallo expresan que efectivamente la corteza de éste es más gruesa que la hoja, o en su defecto, que por unidad de área la corteza del tallo tiene una mayor masa (mayor cantidad de tejidos) en comparación con la hoja.

Conclusiones

El tallo de *Cercidium praecox* presenta todos los requerimientos para que ocurra fotosíntesis en su corteza, y a pesar de que la capacidad fotosintética del mismo es menor que la de hoja, la fotosíntesis cortical que ocurre en él tiene una contribución positiva e importante en la economía del carbono de la especie, puesto que se reduce parcialmente la cantidad de CO₂ que es liberado por el tallo debido a la respiración de los tejidos no fotosintéticos. Esta contribución podría ser incluso mayor durante la época de déficit hídrico, lo cual supone una ventaja para la especie en los ambientes áridos y semi-áridos en los que se desarrolla.

La sequía tuvo un efecto negativo sobre el Ψ , la A foliar y la actividad fotoquímica del tallo y la hoja. A pesar de la disminución en F_v/F_m en el tallo, J y q_p se mantuvieron en valores altos, lo que podría favorecer el mantenimiento de la actividad fotosintética de éste órgano a pesar del DH.

La A estuvo colimitada por los factores estomáticos y no estomáticos, de manera tal que la C_i y la EUA se mantuvieron relativamente constantes. La actividad fotoquímica de la hoja fue mayor que la del tallo en ambas temporadas. En sequía hubo regulación descendente del PSII en la hoja sin que ocurriera fotoinhibición, mientras que en el tallo es posible que ocurriera este fenómeno.

La presencia de las siguientes características: tallo fotosintético, movimiento foliar, hojas compuestas, folíolos pequeños, pubescencia, colimitación de A, mantenimiento de EUA y regulación descendente del aparato fotoquímico en sequía, probablemente le permite a esta especie utilizar los recursos eficientemente, lo cual está relacionado con el éxito que tiene en los ambientes áridos y semi-áridos en los que se desarrolla.

Bibliografía

1. Adams, M.S., Strain, B.R. 1968. Photosynthesis in stems and leaves of *Cercidium floridum*: spring and summer diurnal field response and relation to temperature. *Oecologia* **3**: 285-297.
2. Adams, M.S., Strain, B.R., Ting, I.P. 1967. Photosynthesis in chlorophyllous stem tissue and leaves of *Cercidium floridum*: Accumulation and distribution of ^{14}C from $^{14}\text{CO}_2$. *Plant Physiol.* **42**: 1797-1799.
3. Aidar, M.P.M., Schmidt, S., Moss, G., Stewart, G.R., Joly, C.A. 2003. Nitrogen use strategies of neotropical rainforest trees in threatened Atlantic Forest. *Plant Cell Environ.* **26**: 389-399.
4. Alessio, G.A., Pietrini, F., Brillì, F., Loreto, F. 2005. Characteristics of CO_2 exchange between peach stems and the atmosphere. *Funct. Plant. Biol.* **32**: 787-795.
5. Alesso, S., Araujo, P., Tapias, R. 2003. Aprovechamiento de la goma de brea (*Cercidium praecox*) en bosques secundarios del Parque Chaqueño Seco. Influencia del tamaño de las heridas sobre la producción. *Quebracho* **10**: 60-70.
6. Allen, O.N., Allen, E.K. 1981. The Leguminosae. University of Wisconsin Press, Madison, USA.
7. Aristiguieta, L. 1973. Familias y géneros de los árboles de Venezuela. Edición especial del Instituto Botánico. Dirección de Recursos Naturales Renovables, Ministerio de Agricultura y Cría. Caracas, Venezuela.
8. Aschan, G., Pfanz, H. 2003. Non-foliar photosynthesis – a strategy of additional carbon acquisition. *Flora* **198**: 81-97.

9. Aschan, G., Pfanz, H., Vodnik, D., Batic, F. 2005. Photosynthetic performance of vegetative and reproductive structures of green hellebore (*Helleborus viridis* L. agg.). *Photosynthetica* **43**: 55-64.
10. Aschan, G., Wittmann, C., Pfanz, H. 2001. Age-dependent bark photosynthesis of aspen twigs. *Trees* **15**: 431-437.
11. Berveiller, D., Damesin, C. 2008. Carbon assimilation by tree stems: potential involvement of phosphoenolpyruvate carboxylase. *Trees* **22**: 149-157.
12. Berveiller, D., Kierzkowski, D., Damesin, C. 2007. Interspecific variability of stem photosynthesis among tree species. *Tree Physiol.* **27**: 53-61.
13. Bossard, C.C., Rejmanek, M. 1992. Why have green stems? *Funct. Ecol.* **6**: 197-205.
14. Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for a quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**: 248-254.
15. Bruinsma, J. 1963. The quantitative analysis of chlorophylls a and b in plant extracts. *Photochem. Photobiol.* **2**: 241-249.
16. Burkart, A., Carter, A. 1976. Notas en el género *Cercidium* (Caesalpinoideae) en Sud América. *Darwiniana* **20**: 305-311.
17. Cannon, W.A. 1908. The topography of the chlorophyll apparatus in desert plants. Carnegie Institute, Washington, Publication 98.
18. Cerasoli, S., McGuire, M.A, Faria, J., Mourato, M., Schmidt, M., Pereira, J.S., Chaves, M.M, Teskey, R.O. 2009. CO₂ efflux, CO₂ concentration and photosynthetic refixation in stems of *Eucalyptus globulus* (Labill.). *J. Exp. Bot.* **60**: 99-105.
19. Cernusak, L.A., Marshall, J.D. 2000. Photosynthetic refixation in branches of Western white pine. *Funct. Ecol.* **14**: 300-311.

20. Chaves, M.M., Pereira, J.S. Water stress, CO₂ and climate change. *J. Exp. Bot.* **43**: 1131-1139.
21. Colombo, R., Marín, O., Irazábal, S., Tezara, W. 2007. Relaciones hídricas, fotosíntesis, y anatomía foliar de dos especies del género *Calotropis*. *Interciencia* **32**: 791-796
22. Comstock, J.P., Ehleringer, J.R. 1988. Contrasting photosynthetic behavior of leaves and stems of *Hymenoclea salsola*, a green-twiggged warm desert shrub. *Am. J. Bot.* **75**: 1360-1370.
23. Cornic, G., Prioul, J.L., Louason, G. 1983. Stomatal and non-stomatal contribution in the decline of leaf net CO₂ uptake during rapid water stress. *Physiol. Plant.* **58**: 295-301.
24. Cornic, G. 1994. Drought stress and high light effects on leaf photosynthesis. Págs. 297-313 en: Baker, N.R y Bowyer, J.R. (eds.) *Photoinhibition of photosynthesis*. Bios Scientific Publishers, Oxford.
25. Cornic, G., Briantais, J.M. 1991. Partitioning of electron flow between CO₂ and O₂ reduction in a C₃ leaf (*Phaseolus vulgaris* L.) at different CO₂ concentrations and during drought stress. *Planta* **183**: 178-184.
26. Cunningham, G.L., Strain, B.R. 1969. An ecological significance of seasonal leaf variability in a desert shrub. *Ecology* **50**: 400-408.
27. Damesin, C. 2003. Respiration and photosynthesis characteristics of current-year stems of *Fagus sylvatica*: From the seasonal patterns to an annual balance. *New Phytol.* **158**: 465-475.
28. Dawson, T., Mambelli, S., Plamboeck, A., Templer, P., Tu, K. 2002. Stable isotopes in plant ecology. *Annu. Rev. Ecol. and Syst.* **33**: 507-59.

29. Depuit, E., Caldwell, M.M. 1975. Stem and leaf gas exchange of two arid land shrubs. *Am. J. Bot.* **62**: 954-961.
30. Ehleringer, J.R. 1983. Ecophysiology of *Amaranthus palmeri*, a Sonora desert summer annual. *Oecologia* **57**: 107-112.
31. Ehleringer, J.R. Mooney, H.A. 1978. Leaf hairs: effects on physiological activity and adaptive value to a desert shrub. *Oecologia* **37**: 183-200.
32. Ehleringer, J.R., Björkman, O. 1978. A comparison of photosynthetic characteristics of *Encelia* species possessing glabrous and pubescent leaves. *Plant Physiol.* **62**: 185-190.
33. Ehleringer, J.R., Cook, C. 1984. Photosynthesis in *Encelia farinosa* Gray in response to decreasing leaf water potential. *Plant Physiol.* **75**: 688-693.
34. Ehleringer, J.R., Cooper, T. 1992. On the role of orientation in reducing photoinhibitory damage in photosynthetic-twig desert shrubs. *Plant Cell Environ.* **15**: 301-306.
35. Ehleringer, J.R., Phillips, S.L., Comstock, J.P. 1992. Seasonal variation of carbon isotopic composition of desert plants. *Funct. Ecol.* **6**: 396-404.
36. Farquhar, G.D., Ehleringer, J.R., Hubick, K.T. 1989. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **40**: 503-538.
37. Farquhar, G.D., O'Leary, M.H. Berry, J.A. 1982. On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Aust. J. Plant Physiol.* **9**: 121-137.
38. Farquhar, G.D., Sharkey T.D. 1982. Stomatal conductance and photosynthesis. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **33**: 317-345.

39. Farquhar, G.D., von Caemmerer, S. 1982. Modeling of photosynthetic responses to environmental conditions. Págs. 550-587 en: Lange, O.L., Nobel, P.S., Osmond, C.B., Zeigler, H. (eds.). *Physiological Plant Ecology II. Encyclopedia of Plant Physiology*, new series, Vol. 12B, Springer-Verlag, Heidelberg.
40. Filippou, M., Fasseas, C., Karabouriotis, G. 2007. Photosynthetic characteristics of olive tree (*Olea europaea*) bark. *Tree Physiol.* **27**: 977-984.
41. Fleischer, W. 1935. The relation between chlorophyll content and rate of photosynthesis. *J. Gen. Physiol.* **18**: 573-597.
42. Foote, K.C., Schaedle, M. 1976a. Diurnal and seasonal patterns of photosynthesis and respiration by stems of *Populus tremuloides* Michx. *Plant Physiol.* **58**: 651-655.
43. Francino, D., Sant'Anna-Santos, B., Silva, K., Thadeo, M., Meira, R., Azevedo, A. 2006. Anatomia foliar e caulinar de *Chamaecrista trichopoda* (Caesalpinoideae) e histoquímica do nectário extrafloral. *Planta Daninha* **24**: 695-705.
44. Genty, B., Briantais J.M., and Baker N.R. 1989. The relationships between the quantum yield of photosynthesis electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta* **990**: 87-92.
45. Herrra, A., Cuberos, M. 1990. Stomatal size, density and conductance in leaves of some xerophytes from a thorn scrub in Venezuela differing in carbon fixation pathway. *Ecotropicos* **3**: 67-76.
46. Hibberd, J.M., Quick, W.P. 2002. Characteristics of C₄ photosynthesis in stems and petioles of flowering plants. *Nature* **415**: 451-454.
47. Hoyos, J. 1985. Flora de la Isla de Margarita. Sociedad y Fundación La Salle de Ciencias Naturales. Caracas, Venezuela.

48. Jackson, R., Sperry, J., Dawson, T. 2000. Root water uptake and transport: using physiological processes in global predictions. *Trends Plant Sci.* **5**: 482-488.
49. Jacob, J., Lawlor, D.W. 1991. Stomatal and mesophyll limitation in phosphate deficient sunflower, maize and wheat plants. *J. Exp. Bot.* **42**:1003-1011.
50. Kao, W.Y., Forseth, I.N. 1992. Diurnal leaf movement, chlorophyll fluorescence and carbon assimilation of soybean grown under different nitrogen and water availabilities. *Plant Cell Environ.* **15**: 703-710.
51. Krall, J.P., Edwards, GE. 1992. Relationship between photosystem II activity and CO₂ fixation in leaves. *Physiol. Plant.* **86**: 180-187.
52. Krause, G.H., Weis, E. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **42**: 313-349.
53. Lambers, H., Chapin III, F.S., Pons, T.L. 2008. Plant Physiological Ecology. Second Edition. Springer Science, New York.
54. Larcher, W. 2000. Temperature stress and survival ability of Mediterranean sclerophyllous plants. *Plant Biosyst.* **134**: 279-295.
55. Lawlor, D.W. 1995. The effects of water deficit on photosynthesis. Págs. 129-161 en: Smirnoff, N. (ed.) Environment and Plant Metabolism. Bios Scientific Publishers.
56. Lawlor, D.W., Tezara, W. 2009. Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: a critical evaluation of mechanisms and integration of processes. *Ann. Bot.* **103**: 561–579.
57. Levizou, E., Manetas, Y. 2008. Maximum and effective PSII yields in the cortex of the main stem of young *Prunus cerasus* trees: effects of seasons and exposure. *Trees* **22**: 159-164.

58. Lindorf, H., De Parisca, L., Rodríguez, P. 2006. Botánica. Clasificación, estructura y reproducción. Segunda edición. Universidad Central de Venezuela, Ediciones de la Biblioteca-UCV. Caracas, Venezuela.
59. Manetas, Y. 2004a. Probing cortical photosynthesis through in vivo chlorophyll fluorescence measurements: evidence that high internal CO₂ levels suppress electron flow and increase the risk of photoinhibition. *Physiol. Plant.* **120**: 509-517.
60. Mediavilla, S., Escudero A., Heilmeyer, H. 2001. Internal leaf anatomy and photosynthetic resource-use efficiency: interspecific and intraspecific comparison. *Tree Physiol.* **21**: 251-259.
61. Medina, E., Olivares, E., Marín, D. 1985. Eco-physiological adaptations in the use of water and nutrients by woody plants of arid and semi-arid tropical regions. *Medio Ambiente* **7**: 91-102.
62. Nilsen, E.T. 1995. Stem photosynthesis: extent, patterns, and role in plant carbon economy. Págs. 223-240 en: Gartner, B. (ed) Stems and trunks in plant form and function. Academic Press, San Diego.
63. Nilsen, E.T., Bao, Y. 1990. The influence of water stress on stem and leaf photosynthesis in *Glycine max* and *Spartium junceum* (Leguminosae). *Am. J. Bot.* **77**: 1007-1015.
64. Nilsen, E.T., Meinzeer, F.C., Rundel, P.W. 1989. Stem photosynthesis in *Psoralea argophylla* (smoke tree) in the Sonoran desert of California. *Oecologia* **79**: 193-197.
65. Nilsen, E.T., Sharifi, M.R. 1994. Seasonal acclimation of stem photosynthesis in woody legume species from the Mojave and Sonoran deserts of California. *Plant Physiol.* **105**: 1385-1391.

66. Nilsen, E.T., Sharifi, M.R. 1997. Carbon isotopic composition of legumes with photosynthetic stems from Mediterranean and desert habitats. *Am. J. Bot.* **84**: 1707-1713.
67. Osmond, C.B., Smith, S.D., Gui-Ying, B., Sharkey T.D. 1987. Stem photosynthesis in a desert ephemeral, *Eriogonum inflatum*. Characterization of leaf and stem CO₂ fixation and H₂O vapor exchange under controlled conditions. *Oecologia* **72**: 542-549.
68. Pachepsky, L.B., Acock, B. 1998. Effect of leaf anatomy on hypostomatous leaf gas exchange: a theoretical study with the 2D leaf model. *Biotronics* **27**: 1-14.
69. Pfanz, H., Aschan, G., Langenfeld-Heysler, R., Wittmann, C., Loose, M. 2002. Ecology and ecophysiology of tree stems: corticular and wood photosynthesis. *Naturwissenschaften* **89**: 147-162.
70. Rentzou, A., Psaras, G.K. 2008. Green plastids, maximal PSII photochemical efficiency and starch content of inner stem tissues of three Mediterranean woody species during the year. *Flora* **203**: 350-357.
71. Rundel, P.W., Jarrel, W.M. 1989. Water in the environment. Págs. 29-56 en: Pearcy, R.W., Ehleringer, J., Mooney, H.A., Rundel, P.W. (eds.) *Plant Physiological Ecology*. Fields, methods and instrumentation. 1st edition. Chapman & Hall, London, UK.
72. Scholander, P.F., Hammel, H.T., Bradstreet, E.D., Hemmingsen, E.A. 1965. Sap pressure in vascular plants. *Science* **148**: 339-346.
73. Schulze, E.D., Hall, A.E. 1982. Stomatal responses, water loss and CO₂ assimilation rates of plants in contrasting environments. Págs. 181-230 en: Lange, O.L., Nobel, P.S., Osmond, C.B., Ziegler, H. (eds.). *Physiological Plant Ecology II*. Water relations and carbon assimilation. Springer-Verlag, Berlin, Germany.

74. Schulze, E.D, Robichaux, R., Grace, J., Rundel, P., Ehleringer, J. 1987. Plant water balance. *BioScience* **37**: 32-36.
75. Smith, S.D., Nobel, P.S. 1986. Deserts. Págs. 13-62 en: Baker, N.R. y Long, S.P. (eds.) *Photosynthesis in Contrasting Environments*. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, The Netherlands.
76. Smith, S.D., Osmond, C.B. 1987. Stem photosynthesis in a desert ephemeral, *Eriogonum inflatum*. Morphology, stomatal conductance and water-use efficiency in field populations. *Oecologia* **72**: 533-541.
77. Sperry, J.S. 1995. Limitations on stem water transport and their consequences. Págs. 105-124 en: Gartner, B.L. (ed.) *Plant stems. Physiology and functional morphology*. Academic Press, San Diego, USA.
78. Strasburger, E., Noll, F., Schenck, H., Schimper, A. 1974. *Tratado de Botánica*. Sexta edición española. Editorial Marin, S.A. Barcelona, España.
79. Tezara, W. 1996. Efectos del déficit hídrico y su interacción con el suministro de CO₂ sobre la bioquímica y fisiología de la fotosíntesis de girasol (*Helianthus annus* L.). Tesis Doctoral. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
80. Tezara, W., Colombo, R., Coronel, I., Marín, O. 2010b. Water relations and photosynthetic capacity of two species of *Calotropis* in a tropical semi-arid ecosystem. *Ann. Bot.* 1-9.
81. Tezara, W., Fernández, M.D., Donoso, C., Herrera, A. 1998. Seasonal changes in photosynthesis and stomatal conductance of five plant species from a semiarid ecosystem. *Photosynthetica* **35**: 399-410.

82. Tezara, W., Marín, O., Rengifo, E., Martínez, D., Herrera, A. 2005. Photosynthesis and photoinhibition in two xerophytic shrubs during drought. *Photosynthetica* **43**: 37-45.
83. Tezara, W., Martínez, D., Rengifo, E., Herrera, A. 2003. Photosynthetic responses of the tropical spiny shrub *Lycium nodosum* (Solanaceae) to drought, soil salinity and saline spray. *Ann. Bot.* **92**:757-765.
84. Tezara, W., Urich, R., Coronel, I., Marín, O., Herrera, A. 2010a. Asimilación de carbono, eficiencia de uso de agua y actividad fotoquímica en xerófitas de ecosistemas semiáridos de Venezuela. *Ecosistemas* **19**: 67-78.
85. Tinoco-Ojanguren, C. 2008. Diurnal and seasonal patterns of gas exchange and carbon gain contribution of leaves and stems of *Justicia californica* in the Sonoran Desert. *J. Arid Environ.* **72**: 127-140.
86. Valladares, F., Vilagrosa, A., Peñuelas, J., Ogaya, R., Camarero, J.J., Corcuera, L., Sisó, S., Gil-Pelegrín, E. 2004. Estrés hídrico: ecofisiología y escalas de la sequía. Págs. 163-190 en: Valladares, F. (ed.) *Ecología del Bosque Mediterráneo en un mundo cambiante*. Ministerio de Medio Ambiente, EGRAF, S.A. Madrid.
87. von Caemmerer, S. 200. Biochemical models of leaf photosynthesis. *Techniques in plant sciences* n° 2. Brown Prior Anderson, Colingwood, Australia.
88. von Caemmerer, S. Farquhar, G.D. 1981. Some relationships between biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* **153**: 376-387.
89. Wang, K., Kellomäki, S. 1997. Effects of elevated CO₂ and soil-nitrogen supply on chlorophyll fluorescence and gas exchange in Scots pine, based on a branch-in-bag experiment. *New Phytol.* **136**: 277-286.

90. Weier, T., Stocking, C., Barbour, M. 1974. Botany. An Introduction to Plant Biology. First edition. Editorial John Wiley & Sons. University of California Davis, California, USA.
91. Wittmann, C., Aschan, G., Pfanz, H. 2001. Leaf and twig photosynthesis of young beech (*Fagus sylvatica*) and aspen (*Populus tremula*) trees grown under different light regimes. *Basic Appl. Ecol.* **2**: 145-154.
92. Wittmann, C., Pfanz, H. 2008. General trait relationships in stems: a study on the performance and interrelationships of several functional and structural parameters involved in corticular photosynthesis. *Physiol. Plant.* **134**: 262-267.
93. Yang, Q., Xu, M., Chi, Y., Zheng, Y., Shen, R., Li, P., Dai, H. 2011. Temporal and spatial variations of stem efflux of three species in subtropical China. *J. Plant Ecol.* 1-9.
94. Yiotis, C., Manetas, Y., Psaras, G.K. 2006. Leaf and green stem anatomy of the drought deciduous Mediterranean shrub *Calicotome villosa* (Poiret) Link. (Leguminosae). *Flora* **201**: 102–107.
95. Yiotis, C., Psaras, G.K., Manetas, Y. 2008. Seasonal photosynthetic changes in the green-stemmed Mediterranean shrub *Calicotome villosa*: a comparison with leaves. *Photosynthetica* **46(2)**: 262-267.

Referencias electrónicas:

1. AzArboretum. 2008. *Cercidium praecox* (*Cercidium plurifoliolatum*). Disponible en: <http://www.azarboretum.org/plantlist/palobrea.htm>. [Consulta: 27 marzo de 2011].
2. Tropicos. 2011. *Cercidium praecox* (Distribution). Disponible en: <http://www.tropicos.org/Name/13008101?tab=distribution>. [Consulta: 27 de marzo de 2011].