

CARACTERIZACIÓN ECOFISIOLÓGICA DE LAS RESPUESTAS DE DISTINTAS ESPECIES REPRESENTATIVAS DEL PISO SUBALPINO AL CAMBIO CLIMÁTICO

ISABEL FLECK¹, EMILIA GUTIÉRREZ², M. ALBA FRANSI³, Y
JORDI FERNÁNDEZ-MARTÍNEZ¹

RESUMEN

La caracterización de las respuestas fisiológicas frente a circunstancias asociadas al cambio climático como mayor sequía, temperatura y CO₂ atmosférico elevado es esencial para predecir probables variaciones en las comunidades naturales y establecer mecanismos de gestión. El estudio realizado ha determinado los principales limitantes de la fotosíntesis en tres especies vegetales representativas de bosques subalpinos. En condiciones de CO₂ elevado todos los individuos aumentaron su tasa fotosintética y eficiencia en el uso del agua, hecho que puede ayudar a superar el estrés hídrico estival. Los resultados de intercambio de gases, discriminación isotópica del ¹³C ($\Delta^{13}\text{C}$), fotoquímica, fotoprotección, contenido mineral (C, N, P, K, Fe, Mg) y características estructurales mostraron grandes diferencias entre especies observándose un gran efecto de la sequía estival en *B. pendula* (abedul), mientras que *R. ferrugineum* (rododendro) fue notablemente afectada por situaciones de irradiancia elevada y *P. uncinata* (pino negro) lo fue principalmente por la disponibilidad de nitrógeno.

El estudio de los anillos de crecimiento de los árboles de pino negro permitió poner de manifiesto que su crecimiento en área basal ha aumentado significativamente en las últimas décadas. Por el contrario el crecimiento en grosor se ha mantenido al mismo nivel. Las relaciones crecimiento-clima indican que la falta de agua en junio tiene un efecto limitante en los árboles jóvenes a una altitud de 2050 m snm. Los árboles más viejos, 300 años, no muestran esta limitación. Las temperaturas demasiado frías del mes de mayo limita el inicio del crecimiento de los árboles (viejos y jóvenes). El final del periodo de crecimiento está limitado por las altas temperaturas pero sólo para los árboles jóvenes. Hemos puesto de manifiesto que hay una relación significativa y positiva entre la longitud del brote, la longitud de las hojas y el grosor del anillo. También hay una relación significativa y positiva entre la eficiencia del uso del agua de las hojas y los anillos. La eficiencia en el uso del agua para los últimos 500 años muestra que desde principios del siglo xx ha habido un aumento exponencial y que se ha traducido en un aumento significativo y lineal del área basal.

Palabras clave: fotosíntesis, fotoprotección, CO₂ elevado, discriminación isotópica del C, dendroecología.

¹ Departament de Biologia Vegetal. Unitat de Fisiologia Vegetal. Facultat de Biologia. Universitat de Barcelona. Diagonal 643, E-08028. Barcelona. Tel: 934033716; Fax: 934112842, ifleck@ub.edu; jordifernandez@ub.edu

² Departament d'Ecologia. Facultat de Biologia. Universitat de Barcelona. Diagonal 643, E-08028. Barcelona. emgutierrez@ub.edu

³ Medi Ambient i Serveis Urbans - Hàbitat Urbà. Ajuntament de Barcelona. afransi@bcn.cat

SUMMARY

The characterization of physiological responses in front of circumstances associated with climate change such as increased drought, temperature and elevated atmospheric CO₂ is essential to predict likely variations in plant communities and to establish mechanisms of management. The conducted study determined the main photosynthetic limitants of three typically species of subalpine forest.

Under elevated CO₂ conditions, all individuals' increased their photosynthetic rates and water use efficiency, which can help to overcome the summer drought. Gas-exchange results, ¹³C isotopic discrimination ($\Delta^{13}\text{C}$), photochemistry, photoprotection, mineral content (C, N, P, K, Fe, Mg) and structural attributes showed notable differences between species; a marked effect of summer drought on *B. pendula* (birch) was observed whereas *R. ferrugineum* (rhododendron) was mainly affected by elevated irradiance and *P. uncinata* (mountain pine) by nitrogen availability.

The mountain pine tree-ring study carried out in this research show that growth in basal area (mm²) has increased significantly in recent decades. By contrast, the growth in thickness has remained at the same level. Growth climate relationships indicate that the lack of water in June has a limiting effect on young trees at an altitude of 2050 m asl. Older trees of about 300 years do not show this restriction. Too cold May temperatures limit the initial growth of the (old and young) trees. The end of the growing period is limited by high temperatures but only for young trees. We have shown that there is a significant and positive relationship between the length of shoot, leaf length and thickness of the ring. There is also a significant and positive relationship between water use efficiency of leaves and rings. A 500 year record of water use efficiency shows that since the early 20th century, there is an exponential increase that has resulted in a significant and linear increase in basal area.

Keywords: photosynthesis, photoprotection, elevated CO₂, C isotopic discrimination, dendroecology.

INTRODUCCIÓN

Los modelos de cambio climático prevén para los ecosistemas forestales europeos un aumento de la concentración ambiental de CO₂ ([CO₂]), una disminución de las precipitaciones, un aumento de la temperatura y una mayor exposición a la alta irradiancia de luz solar (CHRISTENSEN *et al.*, 2007, Intergovernmental Panel on Climate Change IPCC 2007), factores que como resultado podrían originar cambios en la estructura de la vegetación y en la productividad vegetal (CIAIS *et al.*, 2003). La capacidad de respuesta de las diferentes especies vegetales será decisiva, ya que los cambios descritos provocarían su desplazamiento fuera de sus actuales áreas de distribución (GOTTFRIED *et al.*, 2012).

Los efectos de incremento de la [CO₂] sobre la fotosíntesis tienen un papel destacado ya que la vegetación terrestre puede actuar como consumidor neto de CO₂ al fijar de 1 a 3 GT de C anuales (ME-

LILLO *et al.*, 1993). Los bosques cubren aproximadamente un 43% de la superficie terrestre y son responsables de un 70% de la producción primaria terrestre aproximadamente, por tanto, el estudio del impacto del CO₂ elevado en especies forestales es de gran relevancia (CEULEMANS & MOUSSEAU 1994; KÖRNER *et al.*, 2005). El conocimiento de las respuestas de las especies forestales frente al aumento de la [CO₂] es de gran interés ya que en éstas son mucho más marcadas que no en especies herbáceas (AINSWORTH & LONG 2005) y varían enormemente entre especies, genotipos y grupos funcionales (KARNOSKY 2003). El estrés por déficit hídrico afecta notablemente el funcionamiento fotosintético provocando un cierre estomático que minimiza la pérdida de agua, pero que limita la entrada de CO₂ en la planta. También provoca un efecto inhibitorio en muchos enzimas del metabolismo fotosintético del carbono provocando una disminución de la capacidad fotosintética (KAISER 1987), y cuando el estrés es severo puede afectar al aparato fotosintético (CHAVES *et al.*, 2009).

Proyectos de investigación en parques nacionales: 2010-2013

El objetivo del estudio ecofisiológico consistió en la caracterización de las respuestas fotosintéticas y de fotoprotección de individuos de pino negro (*Pinus uncinata* Ram.), abedul (*Betula pendula* Roth) y rododendro (*Rhododendron ferrugineum* L.) del Parque Nacional de Aigüestortes i Estany De Sant Maurici, frente a circunstancias asociadas al cambio climático a fin de detectar su capacidad de adaptación y establecer mecanismos de gestión forestal. Dichas especies son típicas del estrato subalpino, presentando distintas características: el rododendro es una especie arbustiva de sotobosque de hoja perenne, mientras que el abedul y el pino negro son dos especies arbóreas de hoja caduca y perenne, respectivamente. El estudio se realizó durante dos años, concretamente antes y después del período estival a fin de analizar las respuestas y características funcionales y estructurales bajo diferentes situaciones de sequía, temperatura e irradiancia; se incluyó el efecto a corto plazo de [CO₂] elevado.

Otro objetivo consistió en caracterizar la presencia y susceptibilidad a las infecciones por patógenos en dichas especies en su emplazamiento natural bajo situaciones de estrés ambiental a fin de evaluar su capacidad de resistencia y su efecto sobre la fisiología de los individuos afectados.

Los objetivos dendroecológicos fueron: a) determinar las relaciones crecimiento-clima de árboles jóvenes y viejos de pino negro en la zona de estudio, b) reconstruir la eficiencia del uso de agua de los árboles a partir del contenido de carbono 13 de los anillos anuales de crecimiento.

MATERIAL Y MÉTODOS

Localidad de estudio y material vegetal

El estudio se realizó en dos áreas del Parque Nacional de Aigüestortes i Estany de Sant Maurici: la primera (42° 32' 58.51" N 0° 53' 19.29" E) está situada cerca del Estany Llebreta a 1617 m de altitud mientras que la segunda (42° 34' 21.32" N 0° 56' 32.61" E) está cerca del Estany Llong a 2050 m de altitud. Las especies estudiadas fueron el abedul en la primera área y el rododendro y el pino negro en la segunda. La edad media (± 1 -desviación es-

tándar) de los pinos es de 130 \pm 26 años. Los abedules son mucho más jóvenes, su edad promedio de unos 16 años ya que se trata de abedules establecidos en los canales de aludes generados por avalanchas frecuentes. El clima es entre atlántico y continental, caracterizado por inviernos largos y rigurosos con nieve la mayor parte del año y temperaturas bajo cero y veranos cortos con temperaturas suaves y noches frescas. La temperatura media anual es de 5.2 °C y la amplitud térmica media anual es de 16°C. La precipitación media anual es entre 1.200-1.300 mm con una precipitación media mensual superior a 100 mm. El número medio de días con precipitación es de 134, siendo 53 de ellos en forma de nieve.

Diseño experimental y muestreo

Las mediciones y muestreos en el bosque se realizaron durante 3 semanas de dos campañas en Julio y Septiembre de 2011 y 2012, respectivamente.

Estudio de las características fisiológicas foliares

Se utilizaron hojas completamente desarrolladas del año anterior, orientadas al Sur y de individuos con una exposición a la irradiancia solar similar. Durante las campañas se congelaron muestras en Nitrógeno líquido y se conservaron en el laboratorio en congelador a -80°C. Posteriormente las muestras fueron trituradas, liofilizadas (Virtis Lyophiliser, Freezemobile 6EL, Gardiner, N.Y., USA) y conservadas en desecador hasta su análisis.

Obtención de los testigos de madera para el estudio de la discriminación isotópica del C ($\Delta^{13}\text{C}$) en hojas y leño

Siguiendo los métodos estándar en dendrocronología, se realizó un muestreo estratificado de 10 árboles jóvenes y otro de 10 árboles viejos en una zona a mayor altitud. Este muestreo se justifica porque los árboles objeto de los estudios fisiológicos eran jóvenes, de unos 130 años y otro de árboles viejos de más de 300 años. Se sacaron 3 testigos por árbol. Los primeros se sitúan a una alti-

FLECK, I. Y COLS.

tud de 2050 m snm, los segundos a 2200 m snm. Del primer grupo de árboles se extrajo un testigo adicional para llevar a cabo los análisis del ^{13}C .

Los anillos de crecimiento fueron datados visualmente y se midieron. La validación estadística de las dataciones y mediciones se realizó con el programa COFECHA (HOLMES, 1983). Seguidamente, las series de grosor se estandarizaron ajustando una función de crecimiento y obtuvimos las series de índices por división entre el valor predicho por la función de crecimiento y el valor observado. Las series de índices se utilizaron para llevar a cabo el estudio de las relaciones crecimiento – clima mediante análisis de correlación utilizando las técnicas de “bootstrap” y de regresión en componentes principales.

Para el estudio de la dinámica del espesor del anillo en función de las características de los brotes y las hojas se muestrearon ramas en julio y en septiembre los dos años de campañas del proyecto. Las ramas contenían todas las cohortes de hojas vivas y se cortaron a una altura aproximada de la mitad de la copa de los 10 árboles jóvenes utilizados en los estudios fisiológicos. Se utilizó una tijera de podar extensible hasta unos 6 m de altura. Para llevar a cabo el estudio de la eficiencia del uso del agua en las hojas y su relación con el leño, se utilizaron las mismas ramas que en el punto anterior. Asimismo, se muestrearon bloques de madera del tronco (1x1x1 cm) conteniendo los últimos anillos y el anillo en formación del año en curso.

En el laboratorio, las hojas se separaron por cohortes (años), se midieron, se pesaron (peso fresco) y se secaron en la estufa a 60°C. Para cada cohorte de acículas se determinaron: número de acículas, peso específico foliar, longitud de las acículas, peso por acícula, porcentaje de braquiblastos con 3 acículas y longitud de los brotes. De cada cohorte de acículas, se utilizó un número/peso de ellas para llevar a cabo la determinación del contenido de carbono 13 así como del $\delta^{13}\text{C}$. El carbono 13 se determinó también en los anillos del año en curso y del año anterior, así como de los anillos de los testigos muestreados con tal fin. Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ se calculan respecto al estándar PDB (PeeDee Belemnite), que corresponde a un fósil marino del Cretácico (*Belemnitella americana*) de la formación

«Ecofisiología de distintas especies subalpinas»

“PeeDee” en Carolina del Sur (EEUU) y se expresan en tantos por mil.

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

Donde R_{muestra} y $R_{\text{estándar}}$ son las proporciones de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ en la muestra y en el estándar, respectivamente. La determinación de la eficiencia del uso del agua (WUEi) se determinó utilizando las expresiones para la fotosíntesis de FARQUHAR *et al.*, 1982 de la siguiente manera.

$$\Delta = \frac{\delta^{13}\text{C}_{\text{atm}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{arbol}}}{1 + \frac{\delta^{13}\text{C}_{\text{arbol}}}{1000}} \quad (1)$$

$$\Delta = a + (b - a) \frac{C_i}{C_a} - d \quad (2)$$

$$WUEi = \frac{A}{g_{\text{H}_2\text{O}}} = (C_a - C_i) \frac{1}{1.6} \quad (3)$$

Con los datos de $\delta^{13}\text{C}$ resultantes del análisis isotópico, se utilizó la ecuación 1 para calcular la discriminación isotópica de carbono (Δ). Para las plantas C3, Δ puede ser descrita por la ecuación 2 (FARQUHAR *et al.*, 1982), donde a es el fraccionamiento durante la difusión de CO_2 a través de los estomas (4,4 ‰), b es la discriminación de la RuBP carboxilasa contra el $^{13}\text{CO}_2$ (~ 27 ‰), y C_i y C_a son las concentraciones de CO_2 ($\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$) en los espacios intercelulares de la hoja y en la atmósfera, respectivamente, y d se refiere a una variedad de factores que influyen en la discriminación del ^{13}C (por ejemplo, la respiración). El cociente C_i/C_a y C_i se calcularon mediante la combinación de las ecuaciones 1 y 2, utilizando $\delta^{13}\text{C}_{\text{atm}} = -10.3665$ valor tomado in situ en el sitio de muestreo y $C_a = 370$ ppm.

Datos climáticos

Los datos climáticos utilizados durante el estudio ecofisiológico fueron aportados por el Dr.

Proyectos de investigación en parques nacionales: 2010-2013

<i>B. pendula</i>								
	2011				2012			
	junio	julio	agosto	septiembre	junio	julio	agosto	septiembre
Tª media (°C)	12,9	14,4	16,9	14,42	14,9	15,8	18,1	12,5
Tª media máxima (°C)	17,7	19,3	22,4	20,3	19,8	21,1	21,1	17,8
Tª media mínima (°C)	8,3	9,5	11,4	9,5	9,7	10,3	12,7	8,0
Precipitación media (mm)	75,15	58,7	77,0	40,65	144,4	74,4	106,3	92,6
Precipitación media acum. (mm)	177,6	209,1	238,8	263,3	491,0	566,4	672,7	765,3
Humedad relativa media (%)	70,0	62,0	57,0	61,0	60,7	55,9	48,7	61,8
<i>P. uncinata y R. ferrugineum</i>								
	2011				2012			
	junio	julio	agosto	septiembre	junio	julio	agosto	septiembre
Tª media (°C)	7,1	–	14,1	12,1	11,4	12,8	15,1	10,1
Tª media máxima (°C)	11,6	–	19,8	18,2	16,6	18,0	21,3	15,0
Tª media mínima (°C)	2,6	–	8,2	5,9	6,2	7,6	9,0	5,1
Precipitación media (mm)	71,2	68,7	51,8	43,7	187,5	66,8	66,0	86,3
Precipitación media acum. (mm)	460,6	529,3	581,1	624,8	562,3	629,1	695,1	781,4
Humedad relativa media (%)	70,0	63,0	67,0	–	59,0	54,0	52,0	57,0

Tabla 1. Características climáticas durante el período de estudio.

Table 1. Climatic characteristics during the studied period

Lluís Camarero del Observatorio Limnológico de los Pirineos (LOOP) (CEAB-CSIC) y por la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET) mostrándose en la Tabla 1. Debido a que no existen series largas de observatorios próximos a la zona de estudio y de que los existentes llevan funcionando unos pocos años se utilizaron para el estudio dendroecológico series regionales corregidas por la altitud después de comprobar que existía una buena correlación con los datos de las estaciones locales próximas al sitio de estudio. Las series largas de temperatura y precipitación se obtuvieron del CRU (Climatic Research Unit). Los portales de donde se obtuvieron los datos de clima fueron: *CRU TS gridded: web Center for Environmental Data Archival; Climatic Research Unit (CRU) time-series (TS) datasets in climate with variations in other phenomena*. [clime.xp.knmi.nl/start.cgi?id=someone@somewhere]. Los datos de temperatura y precipitación (estaciones cercanas) se obtuvieron a partir de la *web de la AEMET (Agencia estatal de meteorología)*. [www.aemet.es/es/portada].

Intercambio de gases y fluorescencia de las clorofilas

Se determinaron las tasas de fotosíntesis neta (A), conductancia estomática (g_s), transpiración (E) y eficiencia en el uso del agua (WUE_i) foliares mediante el sistema de intercambio de gases LI-6400 (Li-COR, Lincoln, Nebraska, USA), equipado con una fuente luminosa (LI-COR 6400-02B LED). Dichas mediciones puntuales se realizaron al mediodía (11:30am-16:00pm) y bajo dos $[CO_2]$: 370 y 750 ppm. Las demás condiciones ambientales se establecieron a partir de las que se registraron “in situ” en julio y septiembre, respectivamente. En 2011 se realizaron curvas de respuesta fotosintética de las tres especies a variaciones de $[CO_2]$ (A/C_i) y a la irradiancia ($A/PPFD$). A partir de las curvas A/C_i se calcularon los cambios en la capacidad fotosintética máxima (A_{max}), la velocidad máxima de carboxilación de la RuBisCo ($V_{c,max}$) y en la tasa máxima potencial del transporte de electrones que contribuye a la regenera-

FLECK, I. Y COLS.

«Ecofisiología de distintas especies subalpinas»

ción de RUBP (J_{max}) según MCMURTRIE & WANG, 1993. La limitación estomática (I) a fotosíntesis saturante se calculó según FARQUHAR & SHARKEY, 1982. Las curvas A/PPFD permitieron el cálculo de la tasa fotosintética a luz saturante (A_{sat}) y del rendimiento cuántico del CO_2 (Φ_{CO_2}) equivalente al número de moles de CO_2 fijado por mol de fotones absorbidos, el punto de compensación luminoso (PC_{luz}) y la irradiancia de saturación de la fotosíntesis ($PPFD_{sat}$).

Simultáneamente a la realización de las curvas de respuesta se determinó asimismo la fluorescencia de las clorofilas de las hojas mediante el sistema de intercambio de gases Li-Cor 6400 acoplado a la LFC (Leaf Fluorescence Chamber). De esta forma, se midieron la eficiencia cuántica del PSII (Φ_{PSII}), quenching fotoquímico (qP), la eficiencia de los centros abiertos del PSII ($F'v/F'm$), la tasa de transporte de electrones (ETR) (GENTY *et al.*, 1989) y las curvas de respuesta de dichos parámetros a las variaciones de CO_2 i de PPFD. Tras determinar el tiempo de relajación de los centros de reacción del PSII en las tres especies, se realizó una adaptación de sus hojas a la oscuridad por un periodo de 30 minutos en el abedul, de 40 minutos en rododendro y de 45 minutos en pino negro, y se obtuvo el F_v/F_m (rendimiento cuántico máximo del PSII) mediante fluorímetro modulado Mini-Pam (Walz) (Walz, Effeltricht, Alemania).

Contenido en clorofilas y reflectancia foliar

El contenido en clorofilas totales se determinó mediante el analizador portátil SPAD-502 (Minolta, Osaka, Japan) y la reflectancia foliar mediante el espectroradiómetro Oceanoptics USB4000. Se obtuvieron los índices radiométricos PRI (Photochemical Reflectance Index) (PEÑUELAS *et al.*, 1995) y SIPI (Structure-Independent Pigment Index) (PEÑUELAS & FILELLA, 1998).

Características morfológicas e hídricas foliares

Se determinó el área foliar (LA) de los distintos individuos mediante el equipo portátil CI-2003

Laser Leaf Area Meter (CID, Inc) en el caso de abedul, y mediante escaneo y el programa informático de procesamiento de imagen digital Image J v.1.45S en el caso de rododendro y pino negro. Se calcularon el porcentaje en Peso Seco (%PS) la hidratación foliar (H) como ((Peso Fresco-Peso Seco)/Peso Seco), el peso específico foliar (LMA) equivalente a Peso Seco/LA y sus componentes Peso fresco/LA y [(Peso seco/Peso fresco) \times 100]) como indicadores, respectivamente del grosor (T) y la densidad foliar (D). El contenido hídrico relativo foliar (RWC) de muestras tomadas al mediodía se calculó como [(Peso Fresco-Peso Seco)/(Peso fresco a saturación-Peso Seco) \times 100], siendo el Peso Fresco a saturación el obtenido tras rehidratar las muestras durante 24h en oscuridad a 4°C.

Discriminación isotópica del C y contenido mineral foliar

Las muestras liofilizadas se utilizaron para la determinación de la composición isotópica del C ($\delta^{13}C$) y el contenido total en C y N mediante analizador elemental (EA1108, Series 1, Carlo Erba Instrumentazione, Milan, Italy) acoplado a un espectrómetro de masas (Delta C, Finnigan MAT, Bremen, Germany) en els Serveis Científico-Tècnics (UB). La $\delta^{13}C$ de extractos solubles se determinó según NOGUÉS *et al.* (2004.) La discriminación isotópica del C ($\Delta^{13}C$) se estimó como: $\Delta^{13}C = 1000 \cdot (\delta_a - \delta_p) / (1 + \delta_p)$, donde δ_a y δ_p son los valores del aire ($\delta^{13}C = -10,37$ determinado en el PN) y en la planta, respectivamente (FARQUHAR *et al.*, 1989). El contenido mineral en P, K, Mg y Fe se determinó según MUNTER *et al.*, 1984 a partir de hojas liofilizadas mediante espectrómetro de masas (ICP-MS PerkinElmer, modelo Elan-6000) en los Serveis Científico-Tècnics de la UB.

Determinación del contenido en ascorbato

Se llevó a cabo mediante el método de FOYER *et al.*, 1983 con ácido metafosfórico (6% (w/v)) como medio de extracción, centrifugación a 13.000 rpm

Proyectos de investigación en parques nacionales: 2010-2013

a 4°C y lectura del cambio en A_{265} mediante espectrofotómetro (modelo Cecil Aquarius CE7400).

Estudio y seguimiento de agentes patógenos

Durante las campañas de 2011 se realizó el seguimiento de diversas infecciones que se detectaron previamente durante el diseño experimental. Se llevó a cabo un estudio de la incidencia y de la severidad de las infecciones más destacadas en cada especie vegetal. La incidencia se determinó a nivel de población como proporción de individuos afectados por la enfermedad y a nivel de individuo como número de hojas infectadas. La severidad hace referencia al grado de infección del patógeno, y se estudió estableciendo un criterio previo de diferentes grados de severidad según el % de área foliar afectada: (Grado 0: Ausencia de infección; Grado 1: Infección menor al 10%, Grado 2: Infección entre el 10% y el 25%, Grado 3: Infección entre el 25% y el 50%, Grado 4: Infección entre el 50% y el 75%, Grado 5: Infección superior al 75%). El efecto de las infecciones sobre el proceso fotoquímico de la fotosíntesis se determinó mediante el IMAGING-PAM-Walz Chlorophyll Fluorometer y el fluorímetro MINI-PAM-Walz Photosynthesis Yield Analyzer, en hojas con distintos grados de severidad. Asimismo se determinó el contenido en clorofilas totales de hojas con distintos grados de infección mediante el analizador portátil SPAD-502 (Minolta, Osaka, Japan).

Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados en hojas se realizó mediante Statgraphics Plus 5.1 (Statgraphics v. 15.2.14, Statpoint Inc., Virginia, USA). Se utilizó el análisis de la variancia (ANOVA) para determinar el efecto de la especie, campaña (julio, septiembre), año y $[CO_2]$ sobre los parámetros. El test Duncan post-hoc se utilizó para comparaciones múltiples entre medias. La significación estadística se estableció en $p \leq 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Respuestas ecofisiológicas de abedul, rododendro y pino negro

Intercambio de gases y respuestas de la fotosíntesis a variaciones de $[CO_2]$ y PPFD

Los resultados de medidas puntuales de intercambio de gases foliares obtenidos (Fig. 1), mostraron tanto en 2011 como en 2012 tasas fotosintéticas (A) mayores en condiciones de CO_2 elevado (750 ppm), en las tres especies, especialmente en abedul y pino negro que duplicaron su fotosíntesis. Este efecto a corto plazo del aumento de $[CO_2]$ se atribuye al aumento de disponibilidad de CO_2 en los cloroplastos y a la reducción del proceso fotorespiratorio. Bajo condiciones actuales de $[CO_2]$, a finales del verano, en septiembre del 2011 se observó una disminución de la fotosíntesis en abedul mientras que el pino negro mostró las tasas fotosintéticas más altas y sin disminución. En 2012 las tasas fotosintéticas de las tres especies no se vieron alteradas debido a una mayor disponibilidad hídrica durante el verano (Tabla 1). En efecto, en verano de 2011 las precipitaciones fueron escasas en comparación con el verano de 2012. Sin embargo, a pesar de que la precipitación total estival fue mayor en 2012, hubo un episodio de lluvias durante los días de medición en Julio 2011, hecho que explicaría que los resultados de intercambio de gases en este mes fueran similares en ambos años. Por otro lado, durante los 20 días previos a las mediciones de julio del 2012 las precipitaciones fueron casi inexistentes (0,5 mm), hecho que puede explicar la menor asimilación observada en rododendro en comparación con la obtenida en septiembre. En esta especie se observaron siempre las menores tasas fotosintéticas.

Respecto a la conductancia estomática (g_s), no se observaron alteraciones debidas al aumento de $[CO_2]$ en ningún año (Fig. 1 y Fig. 2). A finales de verano en 2011, tanto a bajas como altas $[CO_2]$, se observó una disminución de la g_s en abedul en septiembre en respuesta al mayor déficit hídrico para así disminuir la pérdida de agua por transpiración. No obstante, en verano de 2012, no se

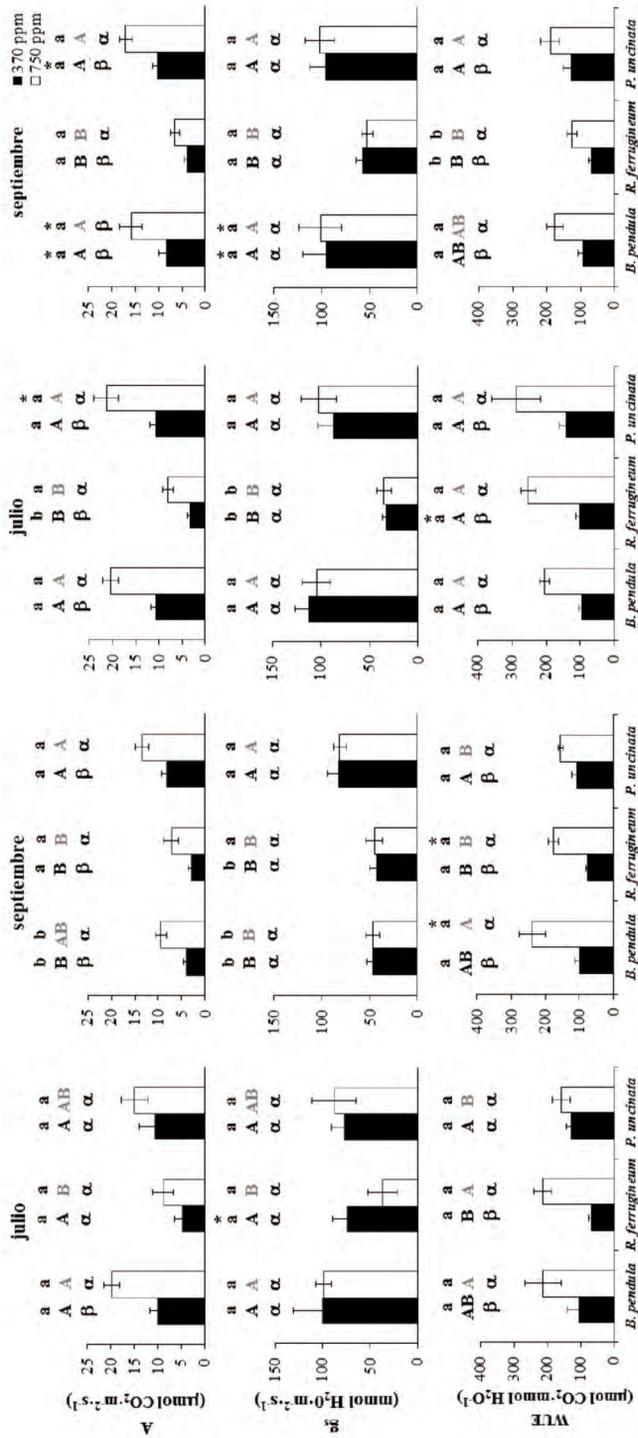


Figura 1. Fotosíntesis neta (A), conductancia estomática (g_s) y eficiencia en el uso del agua (WUE), en hojas de abedul, rododendro y pino negro. Las diferencias significativas ($p \leq 0.05$) se han expresado como a,b,c (diferencias entre julio y septiembre); A,B,C (entre especies); α,β (entre $[\text{CO}_2]$) o con asterisco (*) o con asterisco (entre años).
 Figure 1. Net Photosynthesis (A), stomatal conductance (g_s) and water use efficiency (WUE) of Birch, Rhododendron and Mountain pine leaves. Significant differences ($p \leq 0.05$) are expressed as a,b,c (differences between species), α,β (between July and September), or with an asterisk (between years).

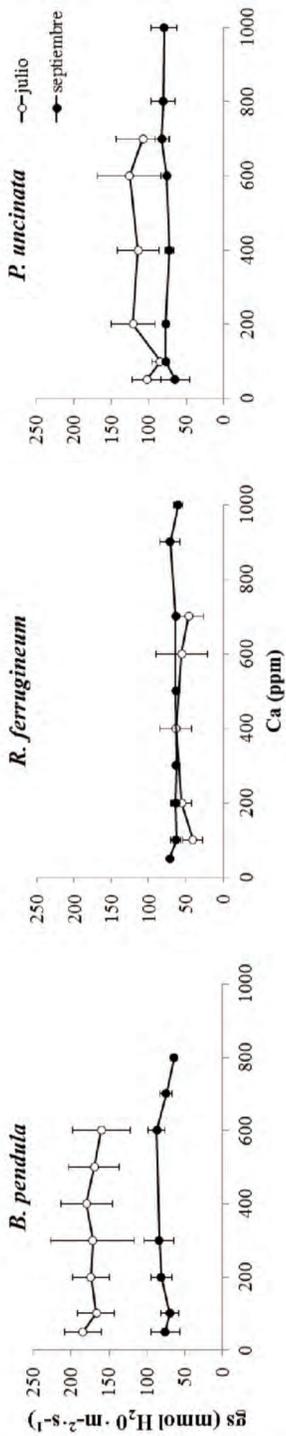


Figura 2. Respuestas de la conductancia estomática (g_s) al incremento de los niveles de CO_2 ambiental (Ca) en hojas de abedul, rododendro y pino negro.
 Figure 2. Stomatal conductance (g_s) responses to increased ambient CO_2 of Birch, Rhododendron and Mountain pine leaves.

observaron diferencias en la g_s entre estaciones debido a la mayor disponibilidad hídrica. En las demás especies estudiadas no hubo variaciones en g_s a lo largo del verano, mostrando el rododendro en general tasas menores.

Los valores de g_s pueden ser utilizados como indicadores del grado de estrés hídrico (FLEXAS *et al.*, 2002). Los resultados indicaron en 2011 un estrés moderado a inicios de verano mientras que en septiembre el estrés fue moderado en pino negro y severo en abedul y rododendro. A inicios de verano 2012 el estrés fue severo en rododendro y moderado para las demás especies, mientras que en septiembre las tres especies experimentaron estrés hídrico moderado.

El aumento de la fotosíntesis y el mantenimiento de la g_s a 750 ppm [CO_2] provocaron en ambos años un aumento de la eficiencia en el uso del agua (WUE) en las tres especies. La probable disminución de la precipitación estival prevista en los modelos climáticos podría ser compensada por el aumento fotosintético por unidad de agua transpirada. Las menores WUE fueron observadas en rododendro.

Los resultados de las curvas A/Ci (Fig. 3) mostraron en 2011, una mayor capacidad fotosintética máxima (A_{max}) en abedul y pino negro respecto a rododendro especialmente a inicios de verano cuando la limitación estomática (l) fue menor debido a una mayor disponibilidad hídrica. No se observaron diferencias en la velocidad máxima de carboxilación de la Rubisco ($V_{c_{max}}$) entre pino negro y abedul pero disminuyeron en el primero en septiembre. El declive en $V_{c_{max}}$ se puede atribuir a una reducción de la Rubisco activa y por tanto del contenido en N. Respecto a la tasa máxima de transporte de electrones (J_{max}), no varió en ninguna especie a lo largo del verano. El rododendro fue la especie que presentó los valores más bajos de A_{max} , $V_{c_{max}}$ y J_{max} debido a su adaptación a ambientes con poca irradiación solar.

Los resultados de las curvas A/PPFD (Fig.4) muestran en el abedul una disminución del rendimiento cuántico del CO_2 (Φ_{CO_2}) a lo largo del

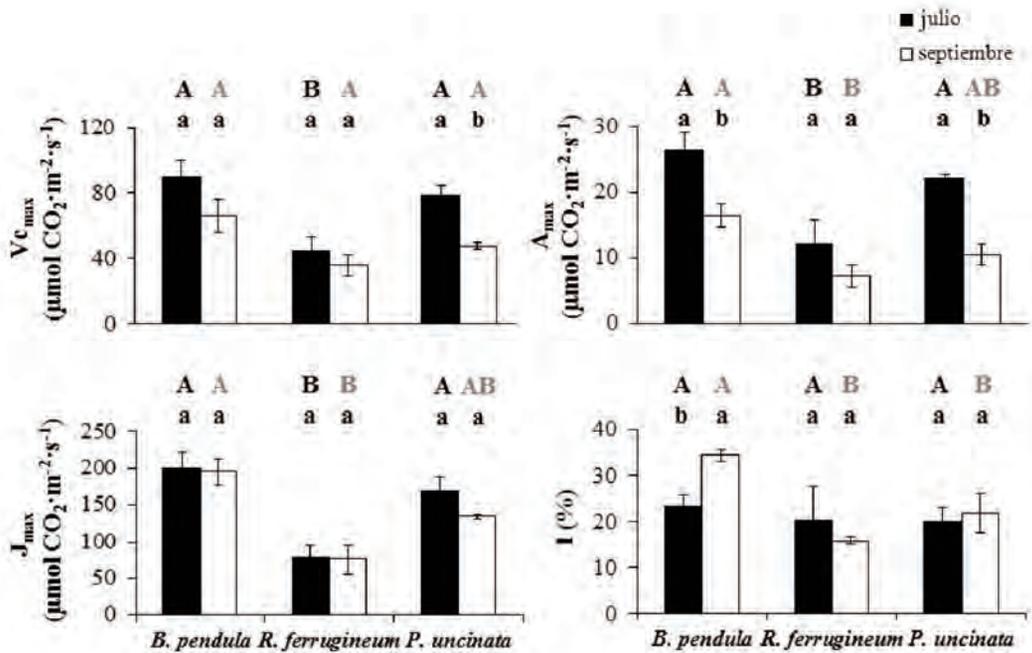


Figura 3. Velocidad máxima de carboxilación de la Rubisco ($V_{c_{max}}$), capacidad fotosintética máxima (A_{max}), tasa máxima de transporte de electrones asociado a la regeneración de la RuBP (J_{max}) y limitación estomática (I), en hojas de abedul, rododendro y pino negro. Las diferencias significativas ($p \leq 0,05$) se han expresado como a,b,c (diferencias entre julio y septiembre); A, B, C (entre especies) y α, β (entre $[\text{CO}_2]$).

Figure 3. Maximum velocity of RuBP carboxylation by Rubisco ($V_{c_{max}}$), photosynthetic capacity (A_{max}), maximum electron transport rate associated to RuBP regeneration (J_{max}) and stomatal limitation (I) of Birch, Rhododendron and Mountain pine leaves. Significant differences ($p \leq 0.05$) are expressed as a,b,c (differences between CO_2 concentration); A,B,C (between species); α, β (between July and September).

verano de 2011. Este hecho explicaría también la menor tasa fotosintética de saturación (A_{sat}) obtenida y estaría en concordancia con la disminución fotosintética (A) ya comentada. No se detectó ningún efecto de la $[\text{CO}_2]$ sobre dicho parámetro.

Respecto al punto de compensación luminoso (PC luz) a 370 ppm $[\text{CO}_2]$ el pino negro presentó los valores más altos seguido del abedul, indicando la necesidad de una mayor intensidad lumínica para compensar la fotosíntesis con los procesos respiratorios y fotorespiratorios, mientras que el rododendro precisó una menor cantidad de luz para llevarlo a cabo. El abedul presentó una disminución de la A_{sat} en septiembre tanto a 370 ppm como a 750 ppm $[\text{CO}_2]$, re-

sultados acordes con los obtenidos en A_{max} y A. El PPFD de saturación de la fotosíntesis fue mayor en abedul y pino negro. En rododendro, el PC luz, la A_{sat} y el PPFD_{sat} fueron menores que en las dos especies arbóreas, resultado previsible teniendo en cuenta su característica de especie adaptada a sombra, hecho también relacionado con el mayor contenido en clorofilas totales encontrado (Fig.5) (LICHTENTHALER *et al.*, 2007).

Fotoquímica y fotoprotección

El proceso fotoquímico de la fotosíntesis estudiado mediante la fluorescencia de las clorofilas (Tabla 2) mostró en 2011, en condiciones ambientales de CO_2 , un rendimiento cuántico máximo (F_v/F_m) pa-

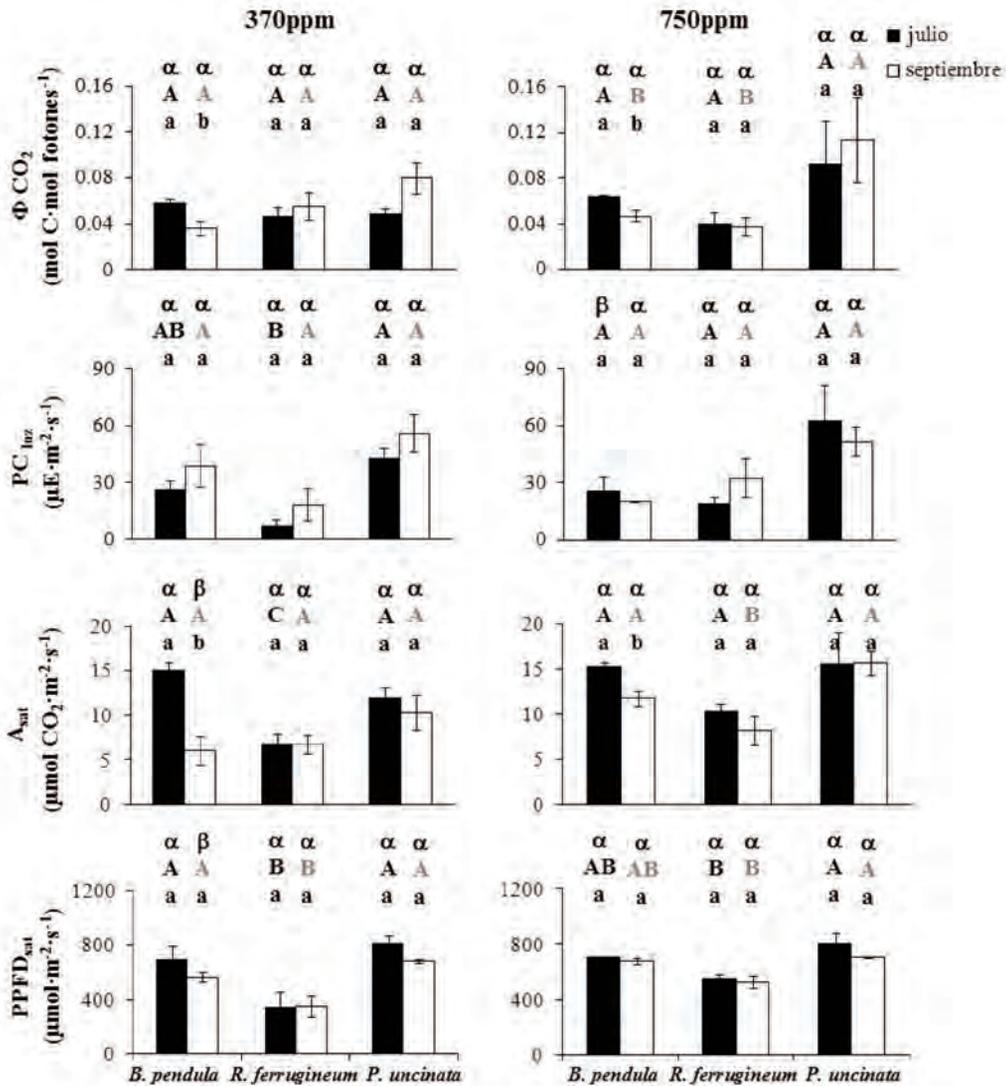


Figura 4. Rendimiento cuántico del CO₂ (Φ_{CO_2}), punto de compensación luminoso (PC Luz), tasa fotosintética de saturación (A_{sat}) e irradiancia de saturación (PPFD_{sat}) en hojas de abedul, rododendro y pino negro. Las diferencias significativas ($p \leq 0,05$) se han expresado como a,b,c (diferencias entre julio y septiembre) y A,B,C (entre especies).

Figure 4. Quantum yield of CO₂ (Φ_{CO_2}), Light compensation point (PC luz), photosynthetic rate at light saturation (A_{sat}) and saturating photosynthetic photon flux density (PPFD_{sat}) of Birch, Rhododendron and Mountain pine leaves. Significant differences ($p \leq 0.05$) are expressed as a,b,c (differences between July and September) and A,B,C (between species).

recido entre especies a inicios del verano mientras que disminuyó en abedul en septiembre. En 2012, el rododendro fue la especie que mostró una mayor inactivación del PSII (fotoinhibición, LONG

et al., 1994) a lo largo del verano, siendo severa en septiembre ($F_v/F_m < 0.75$) (BJÖRKMAN & DEMMIG, 1987). En condiciones no estresantes los valores de F_v/F_m son cercanos a 0,83 y se correlacionan

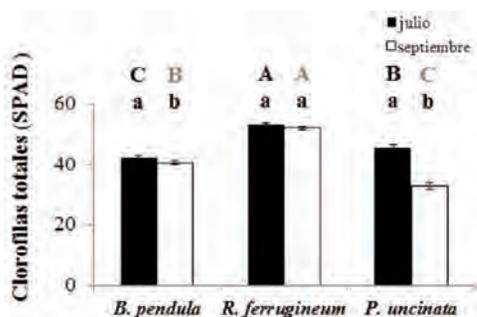


Figura 5. Contenido en Clorofilas totales en hojas de abedul, rododendro y pino negro. Las diferencias significativas ($p \leq 0,05$) se han expresado como a,b,c (diferencias entre julio y septiembre) y A,B,C (entre especies).

Figure 5. Total chlorophyll content of Birch, Rhododendron and Mountain pine leaves. Significant differences ($p \leq 0.05$) are expressed as a,b,c (differences between July and September) and A,B,C (between species).

con el rendimiento cuántico de la fotosíntesis (DEMMIG & BJÖRKMAN, 1987).

También se observaron en las tres especies valores de qP (quenching fotoquímico) menores que 0.6, valor crítico indicativo de una aceleración de la fotoinhibición (ÖQUIST *et al.*, 1992). El qP indica la proporción de centros abiertos del PSII y se ve alterado cuando hay un exceso de luz, saturación de la fotosíntesis y posterior cierre de los centros de reacción (MAXWELL & JOHNSON, 2000). Las disminuciones en el F'_v/F'_m indican una mayor participación de los procesos de disipación térmica del exceso de energía radiante, expresado como $1 - F'_v/F'_m$, protegiendo así el aparato fotosintético. Este hecho se observó en rododendro en el año más seco (2011) y es atribuible a su menor fotosíntesis y, por tanto, a un menor sumidero electrónico en esta especie.

2011				
		<i>B. pendula</i>	<i>R. ferrugineum</i>	<i>P. uncinata</i>
Fr/Fm	Julio	0.83±0.01 Aa	0.80±0.01 Aa	0.83±0.01 Aa
	septiembre	0.77±0.03 Ab	0.78±0.04 Aa	0.82±0.002 Aa
ΦPSII	Julio	0.10±0.01 Ba	0.09±0.01 Ba	0.20±0.06 Aa
	septiembre	0.06±0.009 Bb	0.07±0.01 Ba	0.12±0.012 Aa
qP	Julio	0.20±0.03 Ba	0.16±0.01 Bb	0.65±0.08 Aa*
	septiembre	0.17±0.002 Ba	0.25±0.03 Ba*	0.50±0.04 Aa*
F' _v /F' _m	Julio	0.47±0.03 Ba	0.58±0.02 Aa*	0.28±0.05 Ca
	septiembre	0.40±0.03 Aa	0.32±0.02 Bb	0.27±0.03 Ba
2012				
F _v /F _M	Julio	0.82±0.01 Aa	0.78±0.01 Ba	0.81±0.01 Aa
	septiembre	0.80±0.01 ABa	0.74±0.03 Ba	0.82±0.01 Aa
ΦPSII	Julio	0.13±0.02 Aa	0.12±0.02 Aa	0.14±0.01 Aa
	septiembre	0.09±0.02 Ab	0.06±0.01 Ab	0.11±0.01 Ab
qP	Julio	0.29 ± 0.04 Aa*	0.31±0.04 Aa*	0.31±0.02 Aa
	septiembre	0.18±0.04 Bb	0.15±0.02 Cb	0.23±0.02 Aa*
F' _v /F' _m	Julio	0.47±0.01 Aa	0.40±0.01 Ba	0.46±0.03 Aa*
	septiembre	0.49±0.02 Aa*	0.43±0.02 Ba*	0.47±0.002 Aa*

Tabla 2. Parámetros de fluorescencia de las clorofilas a 370 ppm [CO₂]: rendimiento cuántico máximo (F_v/F_M), rendimiento cuántico del PSII (ΦPSII), quenching fotoquímico (qP) y eficiencia de los centros de reacción abiertos del PSII (F'_v/F'_m) en hojas de abedul, rododendro y pino negro. Diferencias significativas ($p \leq 0,05$) se han expresado como A,B,C (entre especies); a,b (entre julio y septiembre); o con asterisco (entre años).

Table 2. Chlorophyll fluorescence parameters at 370 ppm [CO₂]: maximum quantum yield (F_v/F_M), PSII quantum yield (ΦPSII), photochemical quenching (qP) and efficiency of the PSII open reaction centres (F'_v/F'_m). Significant differences ($p \leq 0.05$) are expressed as A,B,C (between species); a,b (between July and September) or with an asterisk (between years).

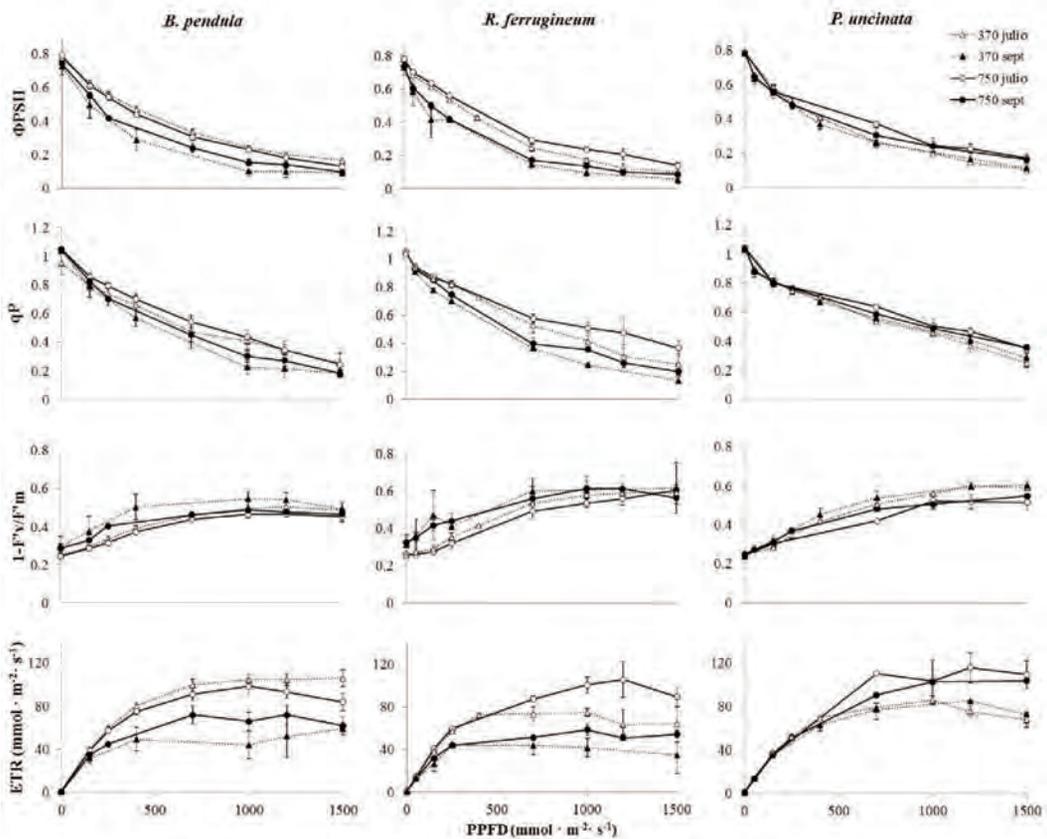


Figura 6. Respuestas del rendimiento cuántico del PSII (Φ_{PSII}), quenching fotoquímico (qP), inversa de la eficiencia de los centros de reacción del PSII relacionada con la disipación térmica ($1-F'v/F'm$), y transporte de electrones (ETR) al aumento en irradiancia (PPFD) en hojas de abedul, rododendro y pino negro.

Figure 6. Responses of PSII quantum yield (Φ_{PSII}), photochemical quenching (qP), inverse of the efficiency of PSII reaction centers related to thermal dissipation ($1-F'v/F'm$) and electron transport rate (ETR) to the the increase of irradiance (PPFD) in Birch, Rhododendron and Mountain pine leaves.

Las respuestas de los parámetros de fluorescencia a distintas intensidades lumínicas realizadas en 2011 (Fig. 6) indican a partir de qué intensidad de luz las distintas especies presentan limitaciones en los procesos fotoquímicos de la fotosíntesis. El rendimiento cuántico del PSII (Φ_{PSII}) informa sobre la proporción de luz absorbida que se está utilizando en la fotoquímica del PSII (GENTY *et al.*, 1992) y se puede utilizar para estimar la tasa de transporte electrónico a través del PSII. En pino negro no se observaron alteraciones del Φ_{PSII} ni de la tasa de transporte de electrones (ETR) a lo largo del verano. A finales

del verano, en abedul se dio una marcada disminución del Φ_{PSII} , a partir de una PPFD de $1.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en comparación con julio. La ETR se saturó a partir de $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ mientras que a inicios de verano se saturó a partir de $700 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. En rododendro se dio una marcada disminución del Φ_{PSII} en septiembre a partir de $100-150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. La ETR se saturó a partir de $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a inicios de verano y a $250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a finales de éste.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos de $PPFD_{\text{sat}}$ (Fig.4) y corroboran las mayores limita-

FLECK, I. Y COLS.

ciones por exceso de luz en rododendro. También el abedul presentó problemas en la fotoquímica derivados del estrés por déficit hídrico.

Bajo condiciones de $[CO_2]$ elevado (750 ppm) no se observaron diferencias entre julio y septiembre en los parámetros de fluorescencia de abedul (Fig. 6), mientras que en pino negro se dio un incremento del $\Phi PSII$ y del ETR en julio a altas intensidades de luz, indicando que en ambas especies la mayor disponibilidad de CO_2 facilita el transporte de electrones. En rododendro, a elevado $[CO_2]$ no se observó un incremento del transporte electrónico.

Bajo condiciones de estrés, la alteración del flujo fotosintético de electrones provoca un desequilibrio entre la generación y la utilización de electrones conduciendo a la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) que pueden dañar el aparato fotosintético (ASADA, 1996). A fin de minimizar la formación de ROS y prevenir la fotoinhibición, los tejidos fotosintéticos están protegidos por mecanismos de fotoprotección, entre ellos el del ciclo de las xantofilas (DEMMIG-ADAMS & ADAMS, 1996) que aumentan la tasa de disipación del exceso de energía de excitación. También los ROS pueden ser detoxificados directamente mediante diversas vías enzimáticas y por moléculas antioxidantes como el ascorbato, α -Tocopherol y los carotenoides (FOYER AND SHIGEOKA, 2011).

Las tres especies estudiadas mostraron diferencias en fotoprotección de acuerdo con sus tasas de asimilación de CO_2 . El rododendro, con baja fotosíntesis, mostró valores menores del índice radiométrico PRI, especialmente al finales de verano (Fig. 7) que indican una baja eficiencia en la utilización de la radiación absorbida y una alta participación del ciclo de las xantofilas disipando el exceso de energía no utilizada en fotosíntesis (PEÑUELAS & FILELLA, 1998). Nuestros resultados de PRI en rododendro concuerdan con los ya discutidos de F'_v/F'_m . Los valores de SIPI reflejan el contenido en carotenos y xantofilas respecto a las clorofilas en los tejidos. El pino negro presentó valores mayores, indicando una mayor capacidad fotoprotectora mientras que el rododendro, adaptado a la sombra, presentó valores menores.

«Ecofisiología de distintas especies subalpinas»

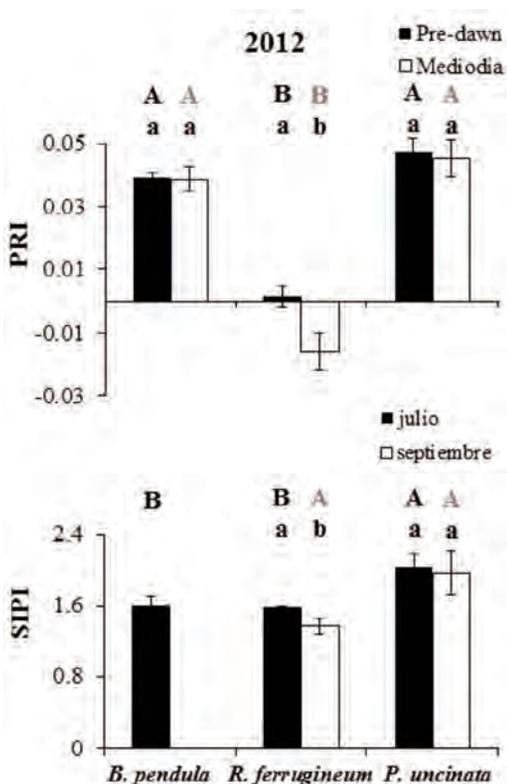


Figura 7. Valores de los índices radiométricos PRI y SIPI en hojas de abedul, rododendro y pino negro. Las diferencias significativas ($p \leq 0.05$) se han expresado como A,B,C (entre especies); a,b (momentos del día para PRI; entre julio y septiembre para SIPI).

Figure 7. Values of PRI and SIPI index in Birch, Rhododendron and Mountain pine leaves. Significant differences ($p \leq 0.05$) are expressed as A,B,C (between species) and a,b (time of the day for PRI; between July and September for SIPI).

El contenido total de ascorbato (AscA) (antioxidante hidrófilo más abundante) se mostró íntegramente en estado reducido a lo largo del estudio, y presentó en ambos años valores menores en abedul, mientras que el pino negro presentó el mayor contenido (Fig. 8). La disminución observada en rododendro en septiembre de 2011 refleja condiciones de estrés oxidativo. La mayor concentración en pino negro junto con los valores bajos de F'_v/F'_m y de PRI contribuyeron al mantenimiento de F'_v/F'_m durante el estrés estival. Mayores tasas fotosintéticas en esta especie aportaron una mayor utilización de la energía de ex-

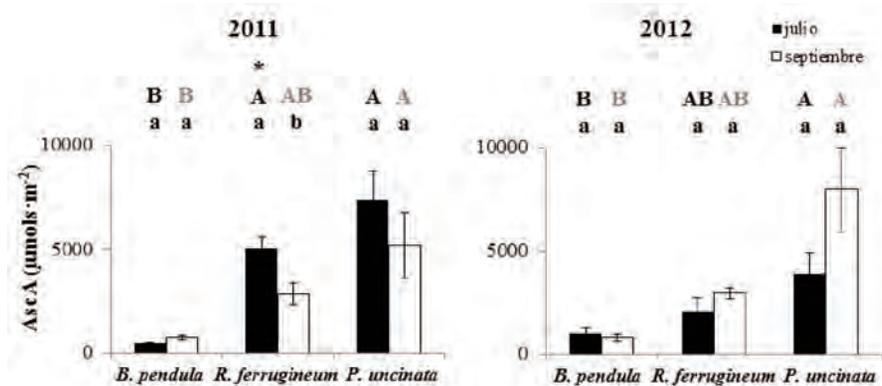


Figura 8. Contenido en ascorbato reducido (AscA) en hojas de abedul, rododendro y pino negro. Las diferencias significativas ($p \leq 0,05$) se han expresado como A,B,C (entre especies); α, β (entre julio y septiembre); o con asterisco (entre años).

Figure 8. Reduced ascorbate (AscA) of Birch, Rhododendron and Mountain pine leaves. Significant differences ($p \leq 0.05$) are expressed as A,B,C (differences between species), α, β (between July and September) or with an asterisk (between years).

citación y un menor consumo antioxidante. En abedul, los valores menores de AscA y SIPI se relacionan con su fisiología caducifolia invirtiendo menos recursos en fotoprotección en estructuras no permanentes, y más en fotosíntesis. Esta especie no presentó diferencias en el contenido de AscA entre julio y septiembre de 2011 y 2012, mostrando que el sistema antioxidante no se vio afectado por situaciones de estrés oxidativo.

Relaciones hídricas y parámetros estructurales

Además de las diferencias comentadas en g_s , se observaron diferencias en otros parámetros asociados con las relaciones hídricas entre las tres especies como consecuencia del incremento de la sequía estival, especialmente en 2011. El cierre estomático, a fin de evitar la desecación de las plantas limita la asimilación de CO_2 pero mantiene los niveles del contenido hídrico relativo (RWC) e hidratación (H) operacionales. En nuestro estudio se observó que la H en abedul disminuyó de manera importante en septiembre de 2011 (Fig. 9). En verano del 2012, no obstante, esta especie presentó un RWC elevado (entre el 80 y el 90%) (Fig 10). Los bajos valores de g_s observados en rododendro no permitieron mantener unos niveles adecuados de RWC en 2012. Los cambios en pa-

rámetros estructurales también reflejaron las diferencias en relaciones hídricas entre las tres especies (PEÑA-ROJAS *et al.*, 2005) (Fig. 9). Especialmente en la campaña de 2011, más seca, el abedul mostró una marcada reducción en el área foliar (LA) (menor superficie transpirativa) durante el verano. También el inicio del proceso de senescencia pudo ser responsable de la pérdida foliar y del declive en g_s y A. Las hojas coriáceas de rododendro y las acículas de pino son morfologías que aportan resistencia a la sequía (GRATANI & BOMBELLI, 2000) y pueden ser responsables del mantenimiento de LA en ambos años. El LMA, indicativo del grado de esclerofilia foliar (SALLEO *et al.*, 1997) fue máximo en pino negro seguido por rododendro y abedul en ambos años. A lo largo del verano, el LMA aumentó en abedul en los dos años indicando que las hojas incrementaron su peso seco a fin de mantener el contenido hídrico. No se observaron variaciones del LMA ni de sus componentes D y T en pino negro y en rododendro a lo largo del verano. El estrés hídrico puede incrementar la densidad foliar (D) mediante el aumento del grosor de las paredes celulares y presentando células de tamaño menor y más empaquetadas (NIINEMETS, 2001). Se observó un aumento de D en abedul durante el verano del 2011. El aumento en grosor foliar (T) está asociado a un aumento de proteína fotosintética por área

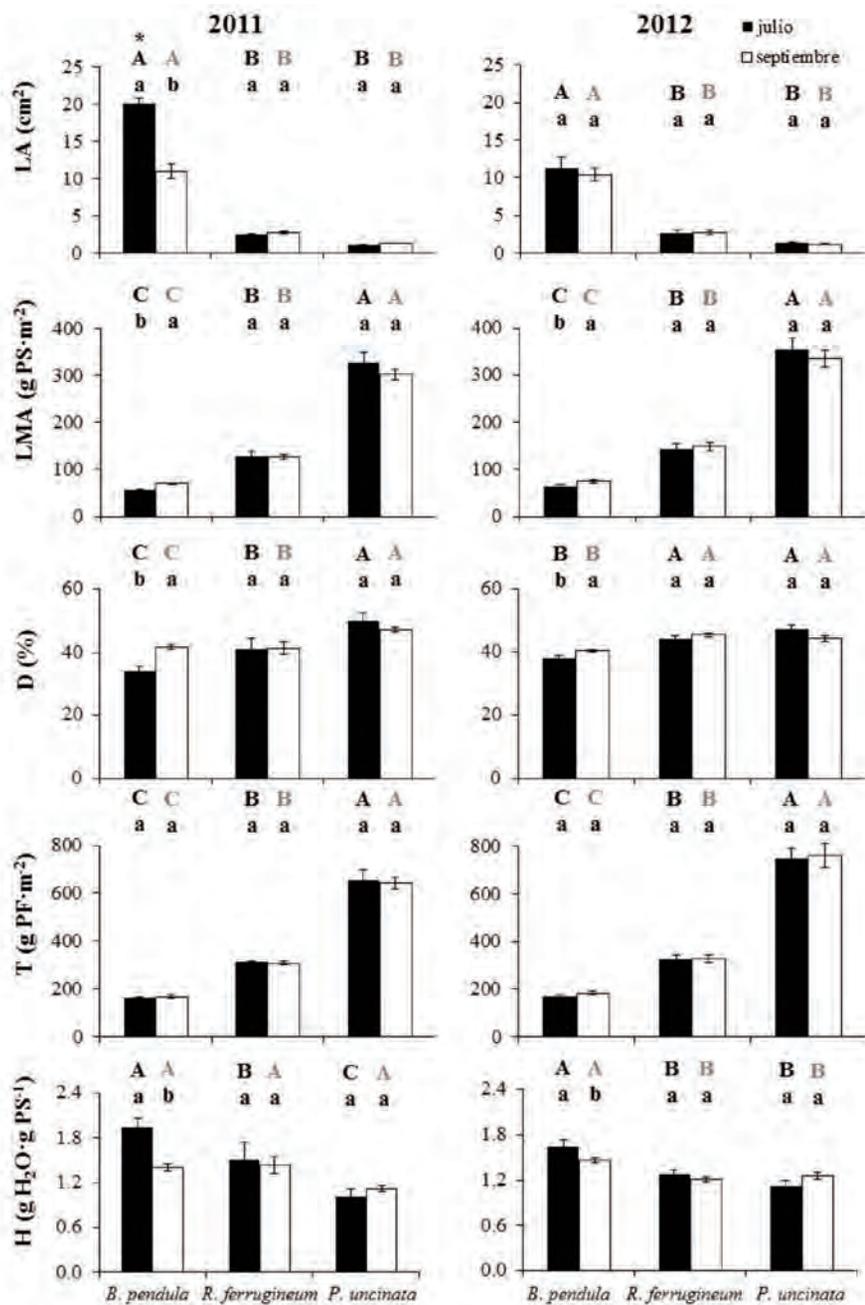


Figura 9. Valores de área foliar (LA), peso específico foliar (LMA), densidad foliar (D), grosor foliar (T) e hidratación foliar (H) en hojas de abedul, rododendro y pino negro. Las diferencias significativas ($p \leq 0,05$) se han expresado como A,B,C (entre especies); a,b (entre julio y septiembre); o con asterisco (entre años).

Figure 9. Relative water content (RWC) of Birch, Rhododendron and Mountain pine leaves. Significant differences ($p \leq 0.05$) are expressed as A,B,C (differences between species), α, β (between July and September) or with an asterisk (between years).

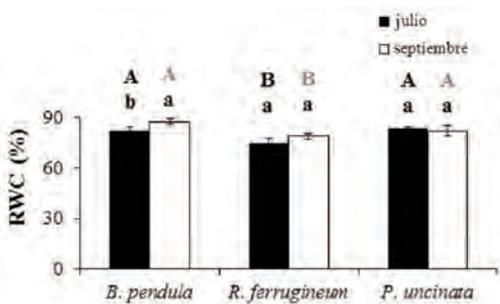


Figura 10. Contenido Relativo Hídrico foliar (RWC) en hojas de abedul, rododendro y pino negro. Las diferencias significativas ($p \leq 0,05$) se han expresado como A,B,C (entre especies); a,b (entre julio y septiembre).

Figure 10. Leaf area (LA), leaf mass per area (LMA), leaf density (D), leaf thickness (T) and leaf hydration (H) of Birch, Rhododendron and Mountain pine. Significant differences ($p \leq 0.05$) are expressed as A,B,C (differences between species), a,b, (between July and September) or with an asterisk (between years).

(HANBA *et al.*, 2002). El mayor T en pino negro en comparación con las otras dos especies estuvo relacionado con las mayores tasas fotosintéticas y V_{cmax} obtenidas. El rododendro no mostró alteraciones en la estructura foliar a lo largo del estudio. Las especies adaptadas a la sombra son menos plásticas frente a los cambios en la irradiación en cuanto a la morfología y a la capacidad fotosintética se refiere (PORTSMUTH & NIINEMETS, 2007).

Discriminación isotópica del ^{13}C y contenido mineral en hojas

La $\Delta^{13}C$ en materia orgánica aporta información sobre las características fotosintéticas durante el desarrollo foliar y está inversamente relacionada con la WUE (que se define como la relación entre acumulación de biomasa y transpiración) en plantas C3. En 2011, los valores de $\Delta^{13}C$ a lo largo del verano confirmaron valores mayores de WUE en pino negro, mientras que los valores menores se dieron en abedul. En 2012 no hubo diferencias ni entre especies ni campañas (Fig. 11).

Los bajos valores de $\Delta^{13}C$ y el elevado LMA en pino negro sugiere una estructura densa del mesófilo con fuertes limitaciones a la difusión (FLEXAS, *et al.*, 2007) relacionadas con una baja

conductancia interna del CO_2 y como consecuencia menor $\Delta^{13}C$. La conductancia del mesófilo (g_{mes}) introduce una fuente de variación adicional al comparar $\Delta^{13}C$ entre especies. La $\Delta^{13}C$ de la fracción soluble indica las características fotosintéticas a corto plazo (días, horas) y fue en 2011 máxima en abedul en julio y máximas en rododendro y pino negro en septiembre (Fig. 11). En 2012 no hubo diferencias ni entre especies ni campañas.

La disponibilidad nutricional edáfica puede ejercer un papel preponderante sobre las respuestas de las plantas al aumento de $[CO_2]$, ya que una limitación en nutrientes alteraría la capacidad fotosintética y el crecimiento de las plantas (SIGURDSSON *et al.*, 2013). El N es el nutriente requerido en mayores cantidades, constituye más del 50% del aparato fotosintético y se puede considerar un indicador de productividad.

Nuestros resultados mostraron que el contenido en N tanto en materia orgánica como en la fracción soluble a partir del área foliar fue, como mínimo, el doble en pino negro que en las otras dos especies (Fig. 11). En abedul, el contenido en N soluble correspondió en ambos años aproximadamente a un 10% del N total mientras que en rododendro correspondió a un 15% y en pino negro correspondió a un 20%. Este hecho se relaciona con los resultados obtenidos en *P. uncinata* de mayor actividad RubisCo (V_{cmax}), A_{max} y T. La relación C/N fue mayor en pino negro de acuerdo con CHENG, 2012, que describe que especies con alto LMA como el pino negro o el rododendro tienen un mayor contenido en C pero menor contenido en N en base a peso seco. También en base a área foliar el pino negro mostró valores mayores de contenido en P, Mg, Fe y Mg (Fig. 13), nutrientes relacionados con el proceso fotosintético y que corroboran las mayores tasas de asimilación obtenidas en dicha especie.

Infección por patógenos y su efecto en la fotoquímica

En pino negro se observaron ramas con fascículos secos, con los hongos *Cytospora pinastri* Fr., *Lophodermella sulcigena* (Link) Tubeuf y *Hendersonia acicola* Munch. et Tub., especialmente en septiembre. Las infecciones más notables fue-

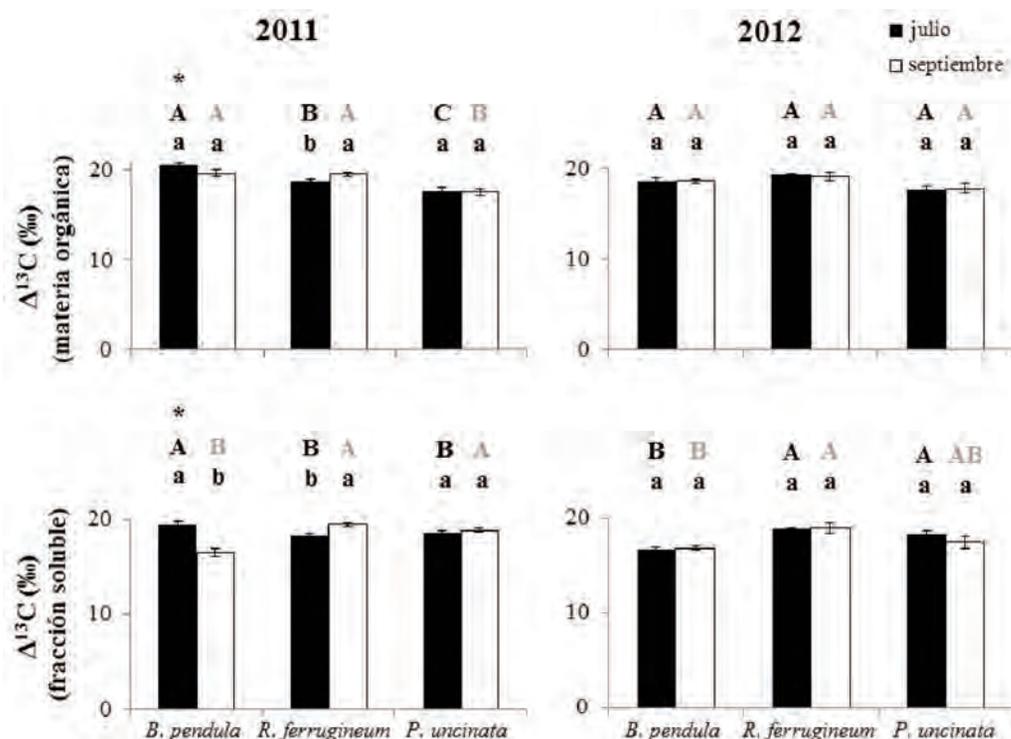


Figura 11. Discriminación isotópica del ^{13}C ($\Delta^{13}\text{C}$) en materia orgánica y en fracción soluble y concentración intercelular de CO_2 (Ci) en hojas de abedul, rododendro y pino negro. Las diferencias significativas ($p \leq 0,05$) se han expresado como A,B,C (entre especies); a,b (entre julio y septiembre); o con asterisco (entre años).

Figure 11. ^{13}C isotope discrimination ($\Delta^{13}\text{C}$) of the dry mass and of the soluble fraction of Birch, Rhododendron and Mountain pine leaves. Significant differences ($p \leq 0.05$) are expressed as A,B,C (differences between species), a,b, (between July and September) or with an asterisk (between years).

ron debidas a royas (Basidiomycota, Uredinales): *Melanpsoridium betulinum* en abedul y *Chrysomyxa rhododendri* en rododendro. Asimismo en rododendro se observaron las fumaginas *Aureobasidium pullulans*, *Fumago vagans* and *Cladosporium* sp. así como ácaros eriófidios. El efecto de patógenos foliares como royas sobre las relaciones hídricas (GRIMMER *et al.*, 2012) incluyen reducciones de la asimilación de CO_2 (HAJJI *et al.*, 2009) al afectar negativamente la conductancia estomática y el aparato fotosintético (FERNÁNDEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2013; ELENA *et al.*, 2014).

El abedul fue la especie que mostró más individuos infectados por roya. En septiembre, la incidencia de la infección aumentó tanto en abedul como en rododendro, hecho asociado al ciclo del

hongo y a la sequía estival, afectando negativamente a la fotoquímica (declive del F_v/F_m). A pesar de una severidad de la infección menor en los rododendros, los valores de F_v/F_m indicaron una mayor fotoinhibición, observándose en julio valores de $F_v/F_m < 0,75$ a partir de un grado de severidad 1,5, y en septiembre un declive todavía más marcado de este parámetro (Fig. 14). El abedul experimentó fotoinhibición severa en septiembre a partir de un grado de severidad 3. Respecto al nivel de clorofilas totales observado a finales de verano, disminuyó con el mayor grado de infección por roya, y lo hizo de una forma más marcada en rododendro (Fig. 15). Las imágenes de fluorescencia de las clorofilas mostraron el efecto del patógeno en la superficie foliar, observándose que las regiones con pústulas presenta-

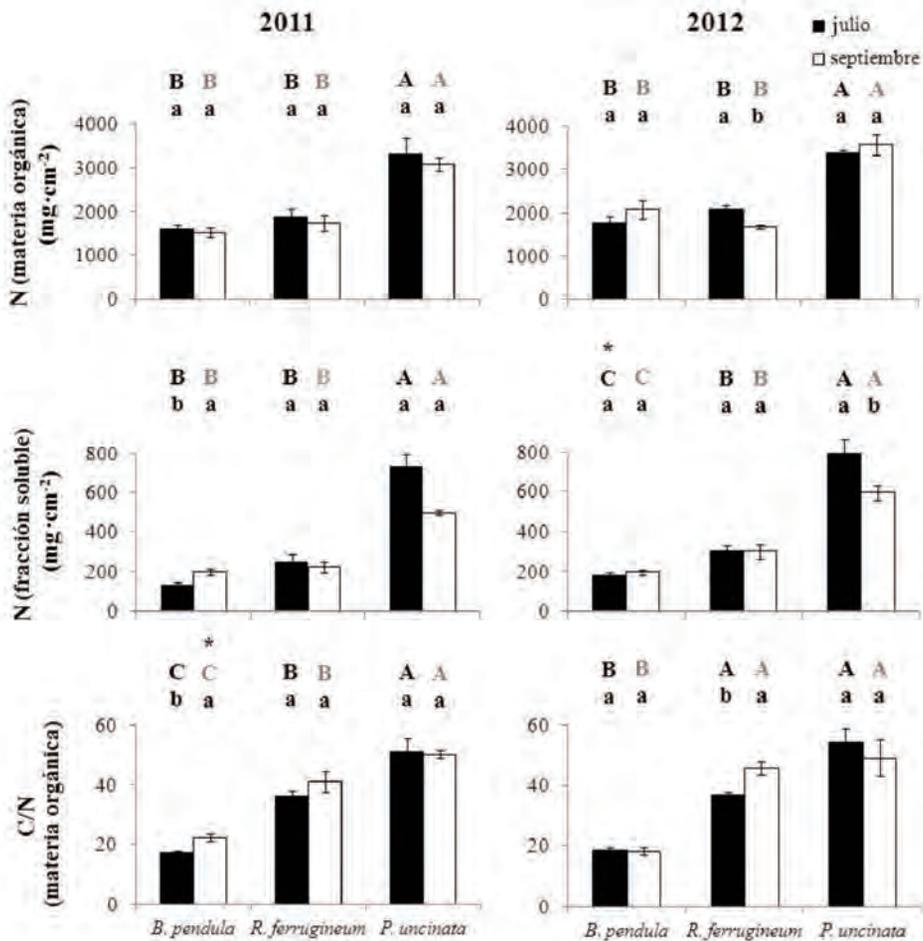


Figura 12 Contenido en N en materia orgánica y en fracción soluble y relación C/N en hojas de abedul, rododendro y pino negro. Diferencias significativas ($p \leq 0.05$) se han expresado como A,B,C (entre especies); a,b (entre julio y septiembre); o con asterisco (entre años).

Figure 12 Total Nitrogen, soluble Nitrogen content and C/N ratio of Birch, Rhododendron and Mountain pine leaves. Different letters express significant differences ($p \leq 0.05$). A,B,C (differences between species), a,b (differences between July and September) and asterisk (differences between years).

ron menores F_v/F_m que las regiones libres de ellas, indicando que el efecto que tienen sobre la maquinaria fotosintética es localizado (Fig. 16).

Respuesta del pino negro al clima

Análisis climático y evolución del crecimiento

Para el periodo 1901-2005 se observó un aumento significativo de las temperaturas ($1,48^\circ\text{C}$) (ver

Fig. 17) y un ligero aumento (no significativo) de la precipitación ($4,64\text{ mm}$) debido al aumento de las precipitaciones de otoño, en cambio las de primera muestran una disminución. El 17,5% de los años se producen eventos de déficit hídrico, y el 2,5% de los años llegan a ser áridos (Precip. $3:1 < \text{Temp.}$), como los años 1998 y 2003 que fueron más calurosos. En la Fig.9 se muestra la evolución del crecimiento en grosor y en área basal de los pinos objeto de estudio en este proyecto.

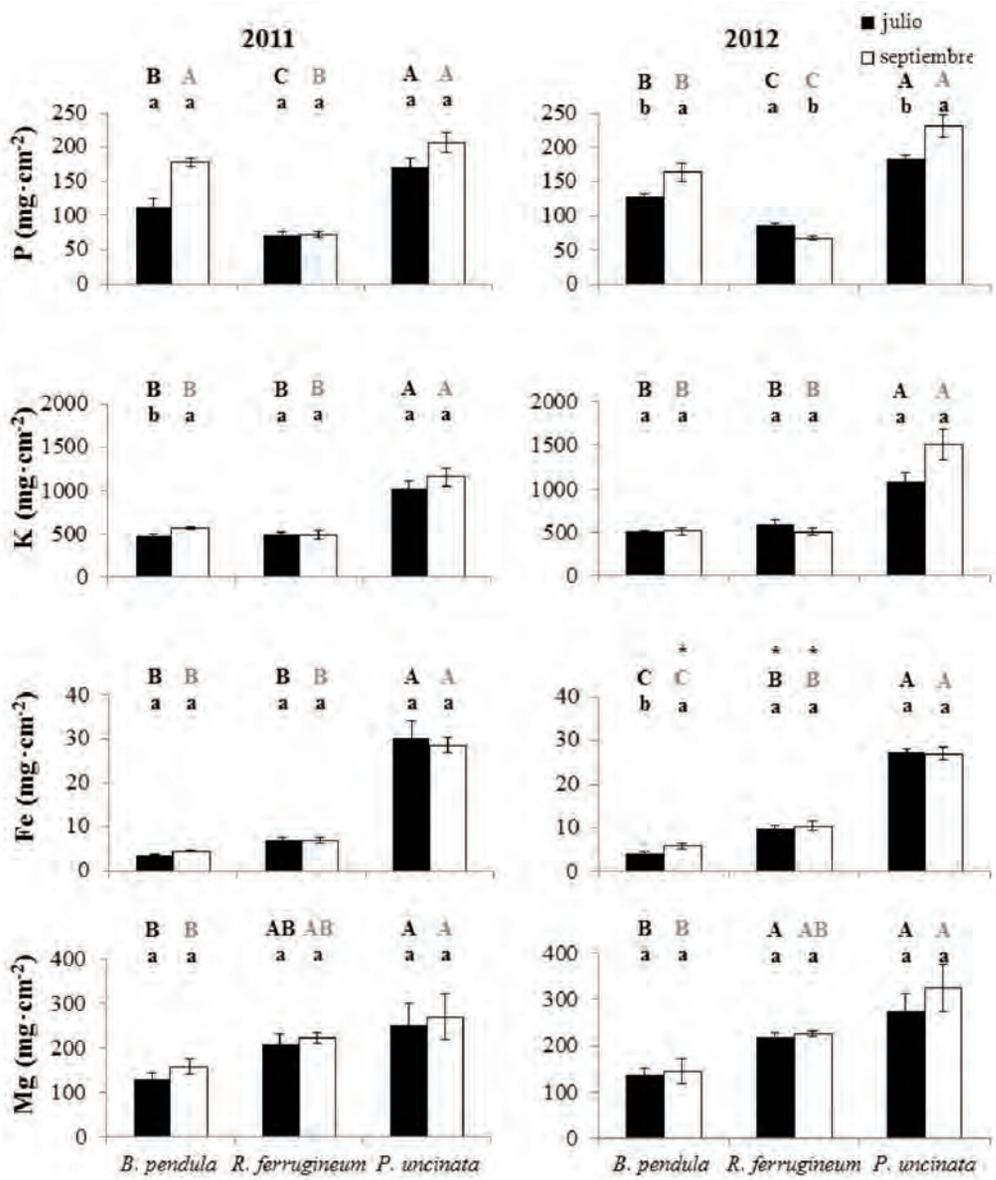


Figura 13. Contenido en P, K, Fe y Mg en hojas de abedul, rododendro y pino negro. Las diferencias significativas ($p \leq 0,05$) se han expresado como A,B,C (entre especies); a,b (entre julio y septiembre); o con asterisco (entre años).

Figure 13. Phosphorus (P), Potassium (K), Iron (Fe) and Magnesium (Mg) content of Birch, Rhododendron and Mountain pine leaves. Different letters express significant differences ($p \leq 0.05$). A,B,C (differences between species), a,b (differences between July and September) and asterisk (differences between years).

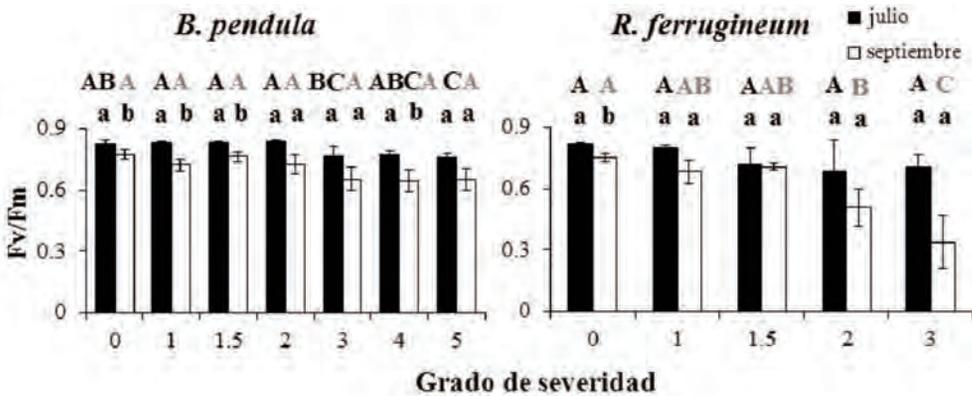


Figura 14. Rendimiento cuántico máximo del PSII (Fv/Fm) según el grado de severidad de la infección por roya en hojas de abedul y rododendro. Las diferencias significativas ($p \leq 0,05$) se han expresado como A,B,C (entre grados de severidad), y como a,b (entre julio y septiembre).

Figure 14. Maximum PSII quantum yield (Fv/Fm) at different degrees of severity of rust infection in birch and rhododendron leaves a,b (differences between severities), α,β (differences between July and September). Different letters express significant differences ($p \leq 0.05$). A,B,C (differences between degree of severity), and a,b (between July and September).

Relaciones crecimiento-clima

Sólo comentaremos las relaciones del clima con las series de crecimiento en área puesto que son más sensibles al clima que las de grosor. Las temperaturas, durante el año de crecimiento en curso, son limitantes para el crecimiento de los árboles jóvenes al inicio (mayo) y al final del crecimiento (octubre). En el mes de mayo por ser de-

masiado bajas (correlación positiva) y en octubre por ser demasiado altas (correlación negativa) ($p < 0,05$). Para los árboles viejos sólo son limitantes en mayo y en el mismo sentido que los árboles jóvenes. Los árboles son sensibles a las temperaturas del otoño anterior por ser demasiado altas. Es decir, la correlación positiva entre el clima y el crecimiento indica que si las temperaturas fueran más altas mayor sería el crecimiento. Las altas temperaturas en esta época del año favorecen la respiración y el consumo de las reservas de carbohidratos, causando una disminución de los mismos para el inicio del crecimiento del año siguiente (ver Fig. 19). Durante el periodo de crecimiento, las precipitaciones son limitantes para los árboles jóvenes. Su efecto es positivo durante el mes de junio indicando que si lloviera más el área del anillo sería mayor. Los árboles viejos no muestran relaciones significativas con la precipitación durante los meses de crecimiento pero si son sensibles a las precipitaciones del mes de diciembre, al igual que los jóvenes. Los individuos viejos dependen más de las condiciones del año anterior de la formación del anillo, pues, unas condiciones idóneas les permiten acumular un mayor número de sustancias de reserva. Las series de incremento de área basal se han mostrado más sensibles al clima que las series del grosor anual de los anillos (Fig. 20).

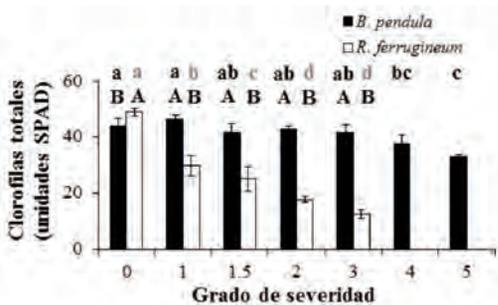


Figura 15. Contenido en clorofilas totales según el grado de severidad de la infección por roya en hojas de abedul y rododendro. Resultados obtenidos en septiembre de 2011. Las diferencias significativas ($p \leq 0,05$) se han expresado como A, B, C (entre especies), y como a, b, c, d (entre grados de severidad).

Figure 15. Total chlorophyll content with different severity degree of rust infection in birch and rhododendron leaves measured in September 2011. Different letters express significant differences ($p \leq 0.05$). A,B,C (differences between species) and a, b, c, d (between severity degree).

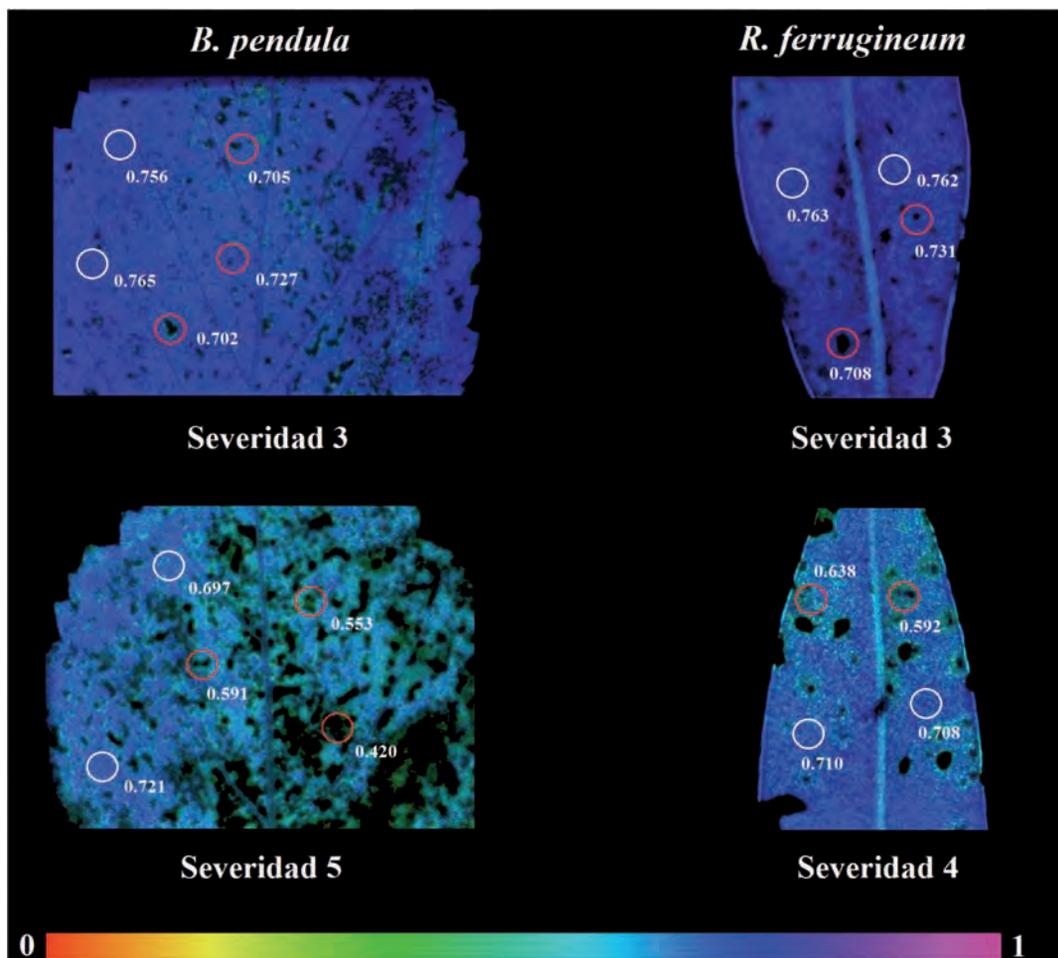


Figura 16. Imágenes de fluorescencia de las clorofilas del rendimiento cuántico máximo (F_v/F_m) en oscuridad medido en pústulas (círculos rojos) y en áreas no afectadas (círculos blancos) de hojas de abedul y rododendro con diferentes grados de severidad de infección por roya. El código falso de color bajo las imágenes tiene un rango entre 0 (negro) y 1 (rosa).

Figure 16. Chlorophyll fluorescence images of maximum quantum yield (F_v/F_m) in a dark-adapted state measured in pustules (red circles) or not-affected areas (white circles) of birch and rhododendron leaves with different degrees of rust infection. The false colour code depicted at the bottom of the images ranges from 0 (black) to 1 (pink).

Dinámica de la anchura del anillo en función de las características de los brotes o las hojas

Los árboles de pino negro retienen hojas vivas durante 10 años. En el estudio realizado desde el año 2003 al 2012, si bien es cierto que el peso de las hojas de las cohortes va disminuyendo con la edad. La longitud del brote se correlaciona positivamente con el número de hojas que encon-

tramos, mientras que lo hace negativamente con la longitud y el peso específico de estas hojas. Esto explica que cuanto más largo es el brote de un año, mayor es el número de hojas, pero éstas serán más cortas y ligeras. Estas relaciones nos proporcionan información sobre la mecánica de la formación de las hojas. En julio, el brote ya está casi formado, y las hojas ya están, pero todavía son cortas y pesan poco ya que se están for-

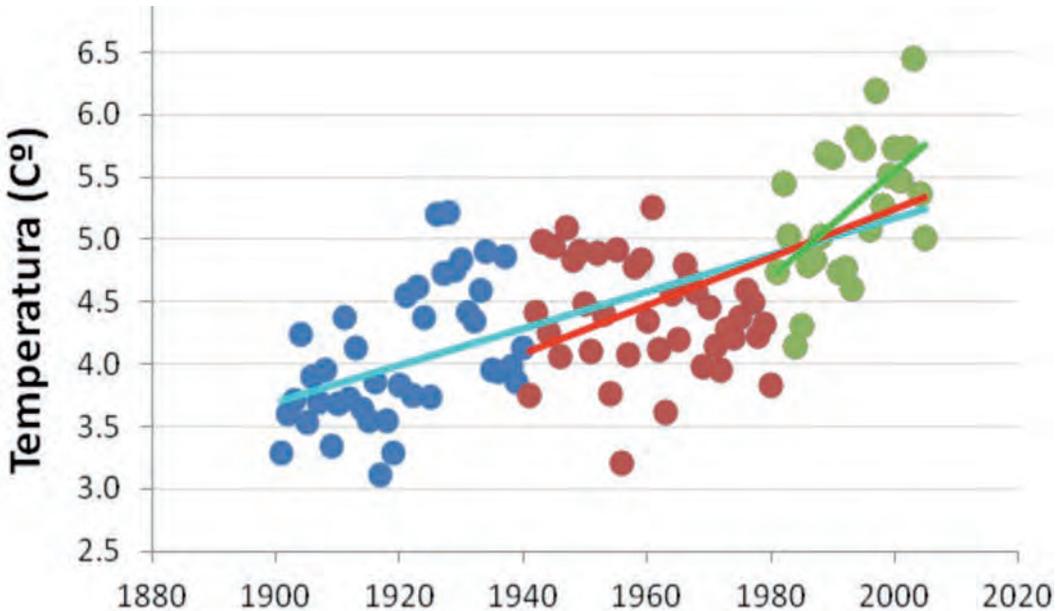


Figura 17. Evolución de la temperatura desde 1900 a 2011. La línea azul, roja y verde representan las tendencias del aumento de temperatura desde 1901, 1941 y 1981 hasta el año 2011. Las funciones ajustadas son lineales ($Y = a + bX$) y todas son significativas ($p < 0.01$), la tasa de aumento anual viene dada por la pendiente, b , cuyo valor es $b = 0.0148$; $b = 0.0194$ y $b = 0.0426$ ($^{\circ}\text{C} \cdot \text{año}^{-1}$) respectivamente para los 3 periodos especificados antes.

Figure 17. Evolution of mean annual temperature from 1900 to 2011. Blue, red and green lines represent the trends of temperature increase from 1901, 1941 and 1981 until 2011. Fitted functions are linear ($Y = a + bX$) and all are significant ($p < 0.01$), the annual rate of increase is given by the slope, b , whose value is $b = 0.0148$; $b = 0.0194$ and $b = 0.0426$ ($^{\circ}\text{C} \cdot \text{year}^{-1}$) respectively for the 3 periods specified above.

mando. En septiembre, las hojas ya están completamente formadas, y su contribución a la formación de madera se vuelve positiva (Fig. 21).

En cuanto a la acción de la longitud del brote y de las hojas sobre la anchura del anillo, encontramos una correlación positiva entre la longitud del brote, el número de hojas y la proporción de braquiblastos con tres acículas, tanto al julio como en septiembre. Esto nos indica que cuanto más largo es el brote y más hojas encontramos, el anillo del año correspondiente será más ancho. En cuanto a la longitud de las hojas y el peso de cada hoja, vemos un cambio entre julio y septiembre. La correlación pasa de ser negativa a ser positiva a lo largo del período de crecimiento, lo que indica que una vez se han formado las hojas (septiembre) contribuyen positivamente a la formación de madera. La correlación entre el peso específico foliar y la anchura del anillo es nega-

tiva, lo que puede deberse a que si el árbol dedica el material a reforzar las hojas, no lo transmite a la madera. En general, las funciones que se ajustan mejor entre pares de variables son lineales excepto en algunos casos en que el ajuste es mejor con una exponencial o logarítmica, pero los valores de las correlaciones no son muy similares a los ajustes lineales.

Relación entre la eficiencia del uso del agua (WUE) registrada en las hojas y en la madera

Se estudiaron las relaciones entre la WUE_i ($\text{mmol CO}_2 / \text{mol H}_2\text{O}$) del anillo en formación vs la WUE_i de las hojas para evaluar la correspondencia entre la señal registrada en las hojas y el anillo en formación. Las relaciones son todas significativas menos para la cohorte de 2003, las hojas más viejas no contribuyen significativa-

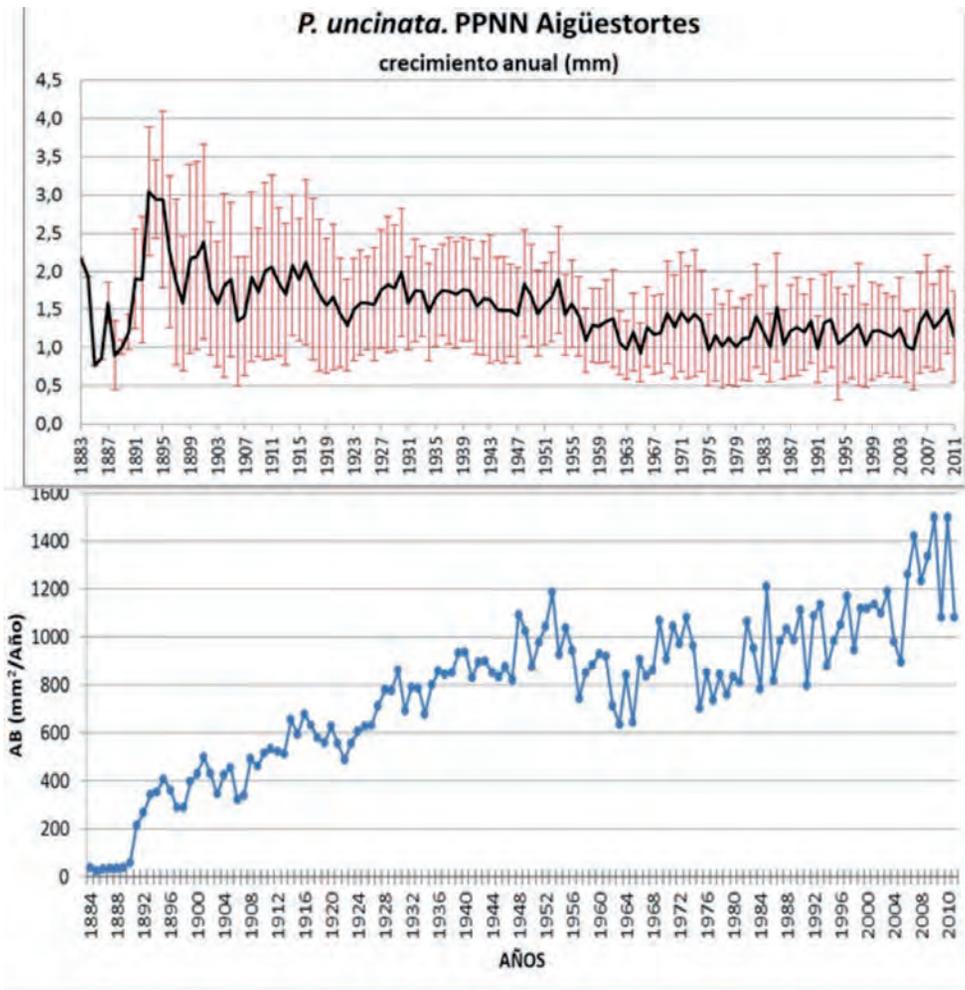


Figura 18. Evolución del crecimiento anual bruto de los árboles de *Pinus uncinata* (N=10) muestreados. Gráfico superior, promedio del grosor anual (mm) y desviación estándar. Gráfico inferior, incremento del área basal (mm²·año⁻¹). El periodo común cubierto por los 10 árboles es de 1914-2011.

Figure 18. Raw data series of *Pinus uncinata* (N=10) growth. UP: Evolution of the average growth in thickness of the trees (mm) and standard deviation. DOWN: average growth in basal area (mm²·year⁻¹). The common period of the 10 trees is between 1914 and 2011.

mente al registro que queda en el anillo de WUEi. El resultado también nos indica que las medidas de la WUEi que se puedan hacer en los anillos dependen de la contribución de las hojas de las diferentes cohortes (años) hasta un cierto límite que viene dado por envejecimiento de las hojas. Las hojas viejas tienen funciones de reserva de nutrientes e hidratos de carbono principalmente (Fig. 22).

La eficiencia del uso del agua (WUE) a lo largo del tiempo

Los resultados (Fig. 23) muestran que hasta la revolución industrial la WUEi se ha mantenido con una media constante. Sin embargo, desde principios del siglo XX, la WUEi muestra una tendencia exponencial en relación directa con el aumento de temperatura.

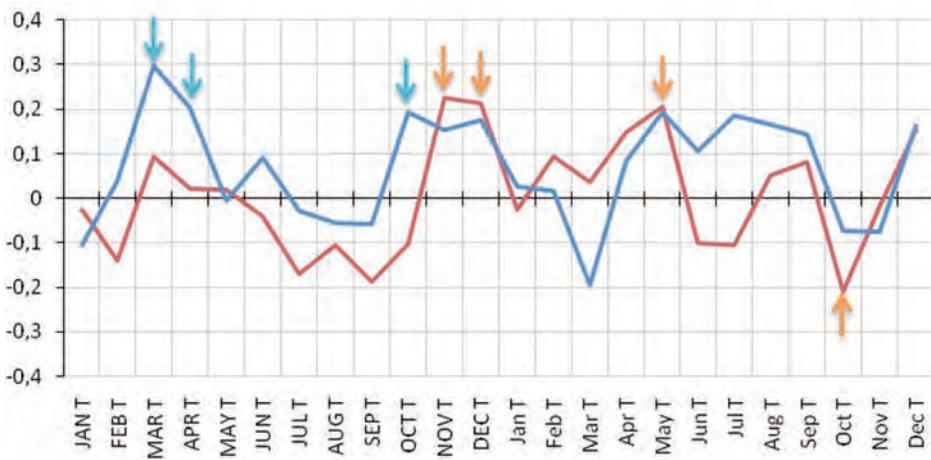


Figura 19. Correlación entre el incremento anual de área basal (BAI) y las temperaturas medias mensuales para el año en curso (meses en letras minúsculas) y el año anterior (letras mayúsculas) para los árboles jóvenes (línea roja) de la zona de estudio a una altitud de 2050 m snm y los viejos (línea azul) a mayor altitud. Las flechas indican los coeficientes significativos ($p < 0.05$).

Figure 19. Correlation between basal area increment (BAI) and monthly mean temperatures (months in lower case) and the previous year (capital letter) for young trees (red line) of the studied area at 2050 m snm, and the old ones (blue line) at higher altitude. Significant values are marked with an arrow ($p < 0.05$).

Este aumento en la WUEi es debido al aumento del CO_2 y, posiblemente, a las temperaturas. A diferencia de lo que ocurre en zonas con menos lluvia, en nuestro estudio hay un aumento del crecimiento en área basal desde los años 1970 del

siglo XX (Fig. 18). Una tendencia similar se observa también en los árboles viejos (figura no mostrada). El aumento del área basal es significativo ($p < 0.01$; $R^2 = 0.530$) pero no así el crecimiento lineal del grosor de los anillos.

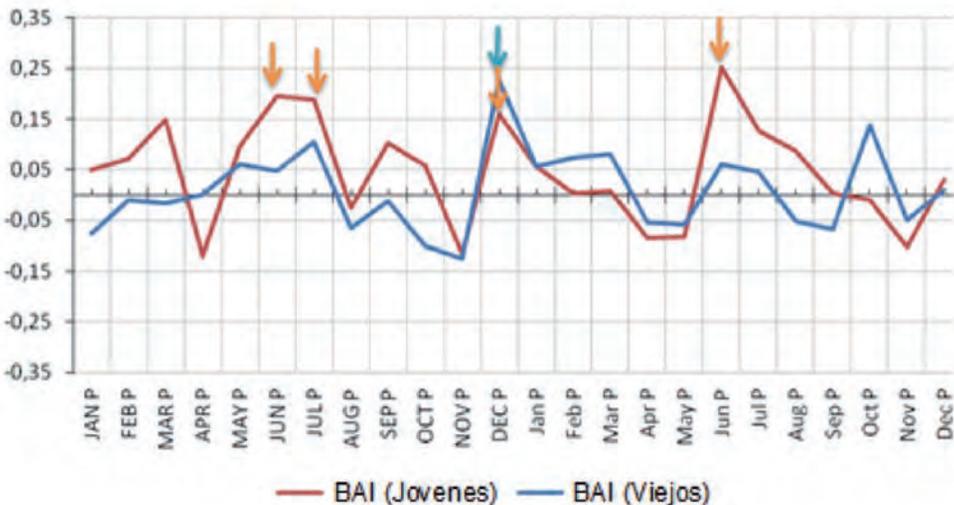


Figura 20. Correlación entre las series de incremento de área basal y las precipitaciones mensuales. Los valores significativos están señalados con una flecha. Azul: árboles viejos; Rojo: jóvenes.

Figure 20. Correlation between basal area increment and monthly rainfall. Significant values are marked with an arrow ($p < 0.05$). Blue: old trees; Red: young trees.

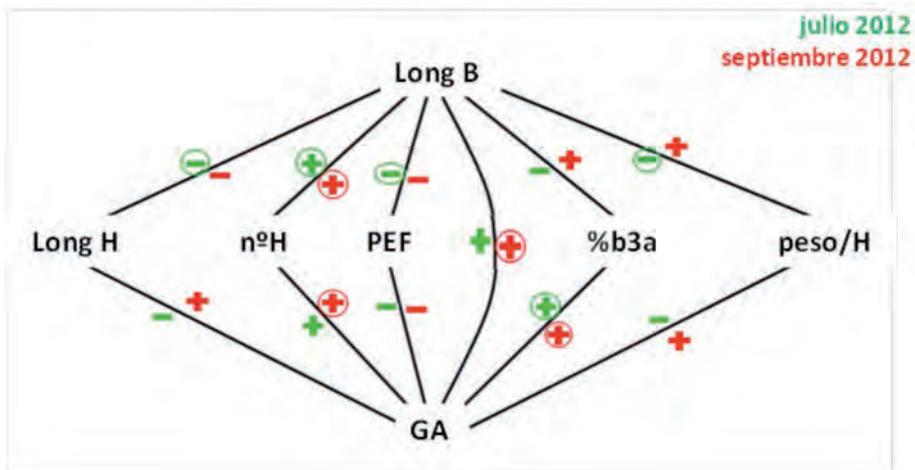


Figura 21. Correlaciones entre la longitud del brote, las variables foliares (longitud de las hojas, número de hojas, peso específico foliar, porcentaje de braquiblastos con tres acículas y peso medio de una hoja) y la anchura del anillo. En color verde las correlaciones correspondientes a los datos de julio de 2012 y en rojo de septiembre de 2012. Los círculos indican las relaciones significativas (p-valor <0,05).

Figure 21. Correlations between shoot length, leaf variables (leaf length, number of leaves, leaf specific weight, percentage of short shoots with three needles and average weight of a leaf) and the width of the ring. Green: data correlations for July 2012, and red for September 2012. Circles indicate significant relationships (p-value <0.05).

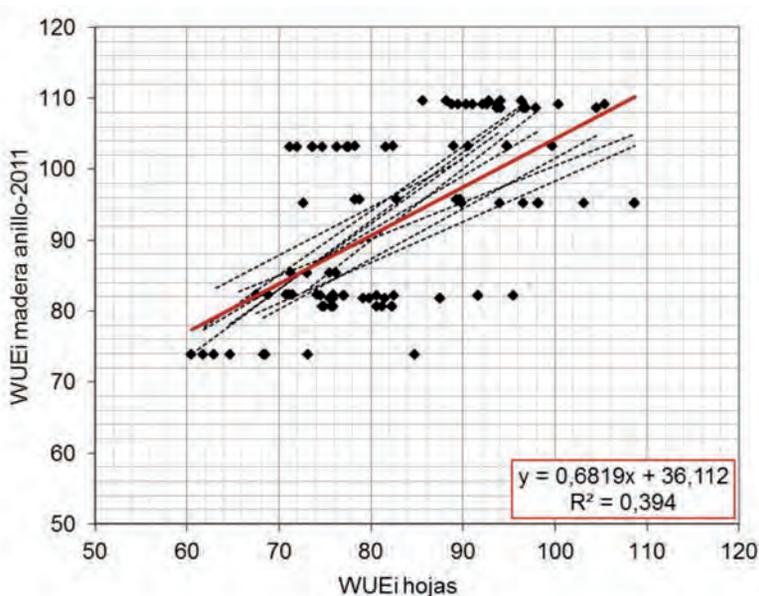


Figura 22. Relaciones entre la eficiencia en el uso del agua instantánea (WUEi en inglés) ($\text{mmol CO}_2/\text{mol H}_2\text{O}$) registrada en la madera del anillo (10 árboles) del año 2011 y la WUEi registrada en las 9 cohortes de hojas. Las líneas discontinuas representan el ajuste de la función (lineal) para cada cohorte de hojas, la línea continua (roja) para el conjunto. La WUEi se determinó utilizando toda la biomasa de las hijas y los anillos.

Figure 22. Relationships between instantaneous water use efficiency (WUEi) ($\text{mmol CO}_2/\text{mol H}_2\text{O}$) recorded in the wooden ring (10 trees) in 2011 and WUEi from 9 cohorts of living needles. The dotted lines represent the adjustment of (linear) function for each cohort of sheets, the (red) solid line to the set. The WUEi was determined using the total biomass of the needles and wood of the rings.

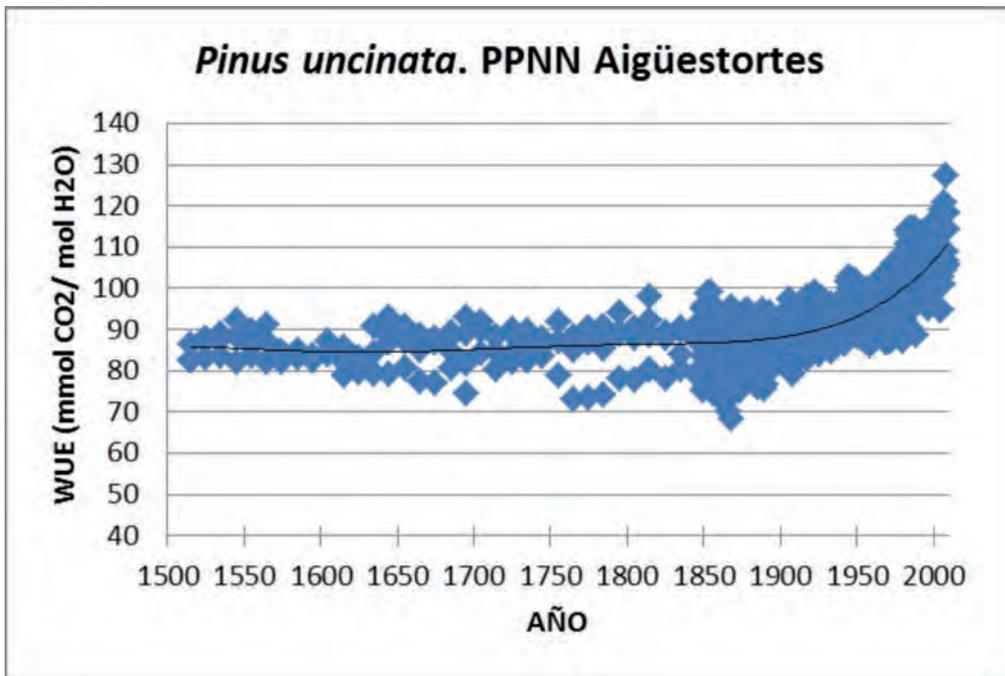


Figura 23. Evolución de la eficiencia en el uso del agua instantánea (WUEi en inglés) ($\text{mmol CO}_2/\text{mol H}_2\text{O}$) registrada en los anillos de crecimiento para los últimos 500 años.

Figure 23. Evolution of instantaneous water use efficiency (WUEi) ($\text{mmol CO}_2/\text{mol H}_2\text{O}$) recorded in the annual growth rings for the last 500 years.

CONCLUSIONES

Los resultados de las características fisiológicas de las tres especies estudiadas mostraron distintos factores limitantes de su proceso fotosintético bajo condiciones ambientales relacionadas con el cambio climático. El abedul fue especialmente afectado por la sequía mostrando una menor protección estructural foliar (menor LMA) y un descenso en la conductancia estomática que afectó el proceso fotoquímico. Esta especie fue la más susceptible a la infección por roya pero el efecto sobre el aparato fotosintético fue más notable en rododendro. El rododendro estuvo limitado por la alta irradiancia tal y como demostraron su saturación fotosintética a bajo PPFD, los resultados fotoquímicos y las respuestas de fotoprotección. El pino negro mostró las mayores tasas y capacidad fotosintéticas. El contenido en N foliar y los valores de V_{cmax} sugieren

que su principal limitante fotosintético es la disponibilidad de RuBisCo.

Los árboles de pino negro estudiados mostraron un aumento significativo de su crecimiento en área basal y no están limitados por la falta de agua durante la estación de crecimiento. Sólo los árboles jóvenes de 130 años, ven limitado su crecimiento por la falta de agua en verano (junio). Las condiciones climáticas del otoño del año anterior tienen un efecto limitante sobre el crecimiento del año en curso. Las relaciones entre las variables estudiadas (grosor y eficiencia en el uso del agua) de los brotes y los anillos de crecimiento muestran una clara transferencia de la señal climática desde los brotes y las hojas hasta los anillos. La eficiencia en el uso del agua ha aumentado significativamente desde principios del siglo XX como consecuencia del aumento del CO_2 . Este aumento se ha traducido en un mayor crecimiento en área basal.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Organismo Autónomo Parques Nacionales del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (proyecto 066/20109). Quisiéramos agradecer a L.S. Ferro, C. Ribó, C. Canadell, X. Pié y X. Castells su asistencia en las mediciones de campo y de labo-

ratorio. Asimismo, la contribución de la Dra. M.A. Moret en el asesoramiento del apartado fitopatológico, al Dr. I. Casals (Serveis Científic-tècnics, Universitat de Barcelona), al personal del Serveis de Camps Experimentals UB, a Mercè Aniz, directora del PN Aigüestortes i Estany de Sant Maurici así como al personal del parque por su asistencia y facilidades para la realización del proyecto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AINSWORTH, E. & LONG, S.P. 2005. What have we learned from 15 years of free-air CO₂ enrichment (FACE)? A meta-analytic review of the responses of photosynthesis, canopy properties and plant production to rising CO₂. *New Phytologist* 165: 351-372.
- ASADA, K. 1996. Radical production and scavenging in the chloroplasts. En: N.R. Baker (ed). *Photosynthesis and the environment*. Pp.124-150. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
- BJÖRKMAN, O. & DEMMIG, B. 1987. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170: 489-504.
- CIAIS, P., REICHSTEIN, M., VIOVY, N., GRANIER, A., OGEE, J., ALLARD, V., AUBINET, M., BUCHMANN, N., BERNHOFER, C., CARRARA, A., CHEVALLIER, F., DE NOBLET, N., FRIEND, A.D., FRIEDLINGSTEIN, P., GRÜNWARD, T., HEINESCH, B., KERONEN, P., KNOHL, A., KRINNER, G., LOUSTAU, D., MANCA, G., MATTEUCCI, G., MIGLIETTA, F., OURCIVAL, J.M., PAPAIE, D., PI-LEGAARD, K., RAMBAL, S., SEUFERT, G., SOUSSANA, J.F., SANZ, M.J., SCHULZE, E.D., VESALA, T., VALENTINI, R. 2005. Europe-wide reduction in primary productivity caused by the heat and drought in 2003. *Nature* 437: 529-533.
- CEULEMANS, R. & MOUSSEAU, M. 1994. Effects of elevated atmospheric CO₂ on woody plants. *New Phytologist* 127: 425-446.
- CHAVES, M.M., FLEXAS, J. & PINHEIRO, C. 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany* 103: 551-560.
- CHRISTENSEN, J.H., HEWITSON, B., BUSUIOC, A., CHEN, A., GAO, X., HELD, I., JONES, R., KOLLI, R.K., KWON, W.T., LAPRISE, R., RUEDA, V.M., MEARNES, L., MENÉNDEZ, C.G., RÄISÄNEN, J., RINKE, A., SARR, A. & WHETTON, P. 2007. Regional Climate Projections. En: S. Solomon, D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K.B. Averyt, M. Tignor & H.L. Miller (eds.) *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. pp 847-940. Cambridge University Press: Cambridge, United Kingdom and New York, NY USA.
- DEMMIG-ADAMS, B. & ADAMS III, W.W. 1996. Xanthophyll cycle and light stress in nature: uniform response to excess direct sunlight among higher plant species. *Planta* 198: 460-470.
- ELENA, G., FERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, J., ZACCHINI, M., MORET, A. & FLECK, I. 2014. Susceptibility to *Melampsora* leaf rust of poplar clones from diverse genetic backgrounds: effects on photochemistry and water relations. 2014. *Journal of Plant Studies* Vol. 3, No. 2: 1-12. [www.ccsenet.org/jps, http://dx.doi.org/10.1016/](http://dx.doi.org/10.1016/)
- FARQUHAR, G.D. & SHARKEY, T.D. 1982. Stomatal conductance and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology* 33:317-345.
- FARQUHAR, G.D., EHLERINGER, J.R. & HUBICK, K.T. 1989. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 40: 503-537.
- FERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, ZACCHINI, M., ELENA, G., FERNÁNDEZ-MARÍN, B. & FLECK, I. 2013. Effect of environmental stress factors on ecophysiological traits and susceptibility to pathogens of five *Populus* clones throughout the growing season. *Tree Physiology* 33: 618-627.

Proyectos de investigación en parques nacionales: 2010-2013

- FLEXAS, J., BOTA, J., ESCALONA, J.M., SAMPOL, B. & MEDRANO, H. 2002. Effects of drought on photosynthesis in grapevines under field conditions: an evaluation of stomatal and mesophyll limitations. *Functional Plant Biology* 29: 461-471.
- FOYER, C., ROWELL, J. & WALKER, D. 1983. Measurement of the ascorbate content of spinach leaf protoplasts and chloroplasts during illumination. *Planta* 157: 239-244.
- FOYER, C.H. & SHIGEOKA, S. 2011. Understanding oxidative stress and antioxidant functions to enhance photosynthesis. *Plant Physiology* 155: 93-100.
- GENTY, B., BRIANTAIS, J.M. & BAKER, N.R. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta* 990: 87-92.
- GOTTFRIED, M., PAULI, H. & FUTSCHIK, A., *et al.*, 2012. Continent-wide response of mountain vegetation to climate change. *Nature Climate Change* 2: 111-115.
- GRATANI, L. & BOMBELLI, A. 2000. Correlation between leaf age and other leaf traits in three Mediterranean maquis shrub species: *Quercus ilex*, *Phillyrea latifolia* and *Cistus incanus*. *Environmental and Experimental Botany* 43: 141-153.
- GRIMMER, M. K., FOULKES, M. J. & PAVELEY, N. D. 2012. Foliar pathogenesis and plant water relations: a review. *Journal of Experimental Botany* 12: 4321-4331.
- HANBA, Y.T., KOGAMI, H. & TERASHIMA, I. 2002. The effect of growth irradiance on leaf anatomy and photosynthesis in *Acer* species differing in light demand. *Plant, Cell and Environment* 25: 1021-1030.
- HAJJI, M., DREYER, E. & MARCAIS, B. 2009. Impact of *Erysiphe alphitoides* on transpiration and photosynthesis in *Quercus robur* leaves. *European Journal of Plant Pathology* 125: 63-72.
- HOLMES, R.L. 1983. Computer-assisted quality control in tree-ring dating and measurement. *Tree-Ring Bulletin* 43: 69-78.
- KAISER, W. 1987. Effects of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiologia Plantarum* 71: 142-149.
- KARNOSKY D. F. 2003. Impacts of elevated CO₂ on forest trees and forest ecosystems: Knowledge gaps. *Environment International* 29: 161-169.
- KÖRNER, C., ASSHOFF, R., BIGNUCOLO, O., HÄTTENSCHWILER, S., KEEL, S.G., PELAEZ-RIEDL, S., PEPIN, S., SIEGWOLF, R.T.W. & ZOTZ, G. 2005. Carbon flux and growth in mature deciduous forest trees exposed to elevated CO₂. *SCIENCE* 309: 1360-1362.
- LICHTENTHALER, H.K., AC, A., MAREK, M.V., KAINA, J. & URBAN, O. 2007. Differences in pigment composition, photosynthetic rates and chlorophyll fluorescence images of sun and shade leaves of four tree species. *Plant Physiology and Biochemistry* 45: 577-588.
- MAXWELL, K. & JOHNSON, G.N. 2000. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51: 659-668.
- MCMURTRIE, R.E. & WANG, Y.P. 1993. Mathematical models of the photosynthetic response of tree stands to rising CO₂ concentrations and temperatures. *Plant Cell and Environment* 16: 1-13.
- MELILLO, J.M., MCGUIRE, A.D., KICKLIGHTER, D.W., MOORE, III.B., VOROSMARTY, C.J., SCHLOSS, A.L. 1993. Global climate change and terrestrial net primary production. *Nature* 363: 234-240
- MUNTER, R.C., HALVERSON, T.L. & ANDERSON, R.D. 1984. Quality assurance for plant tissue analysis by ICP-AES. *Communication in Soils Science and Plant Analysis* 15: 1285.
- NOGUÉS, S., TCHERKEZ, G., CORNIC, G. & GHASHGHAIE, J. 2004. Respiratory Carbon Metabolism following Illumination in Intact French Bean Leaves Using 13C/12C Isotope Labeling. *Plant Physiology* 136: 3245-3254.
- NIINEMETS, Ü. 2001. Global-scale climatic controls of leaf dry mass per area, density, and thickness in trees and shrubs. *Ecology* 82: 453-469.
- ÖQUIST, G., ANDERSON, J.M., MCCAFFERY, S. & CHOW, W.S. 1992. Mechanistic differences in photoinhibition of sun and shade plants. *Planta* 188: 422-431.
- PEÑA-ROJAS, K., ARANDA, X., JOFFRE, R. & FLECK, I. 2005. Leaf morphology, photochemistry and water status changes in resprouting *Quercus ilex* during drought. *Functional Plant Biology* 32: 117-130.



FLECK, I. Y COLS.

«Ecofisiología de distintas especies subalpinas»

- PEÑUELAS, J., FILELLA, I. & GAMON, J.A. 1995. Assessment of photosynthetic radiation-use-efficiency with spectral reflectance. *New Phytologist* 131: 291-296.
- PEÑUELAS, J. & FILELLA, I. 1998. Visible and near-infrared reflectance techniques for diagnosing plant physiological status. *Trends in Plant Science* 3: 151-156.
- PORTSMUTH, A. & NIINEMETS, Ü. 2007. Structural and physiological plasticity to light and nutrients in five temperate deciduous woody species of contrasting shade tolerance. *Functional Ecology* 21: 61-77.
- SALLEO, S., NARDINI, A. & LO GULLO, M.A. 1997. Is sclerophylly of Mediterranean evergreens an adaptation to drought? *New Phytologist* 135: 603-612.
- SIGURDSSON, B.D., MEDHURST, J.L., WALLIN, G., EGGERTSSON, O. & LINDER, S. 2013. Growth of mature boreal Norway spruce was not affected by elevated [CO₂] and/or air temperature unless nutrient availability was improved. *Tree Physiology* 33: 1192-1205.

