

Carla Rodríguez del Valle Doctoral
al libro 238 número 54 del libro
correspondiente a la asignatura de Biología
Sevilla, 10 de Junio de 1992

El Jefe del Departamento de Feats.

Rafael Villar

COSTOS ENERGETICOS EN HOJAS DE ESPECIES LEÑOSAS

Memoria para optar al grado de Doctor
en Biología, presenta y firma D.
Rafael Villar Montero.

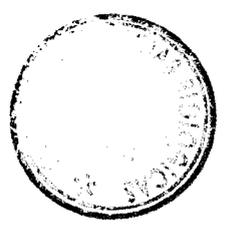
Sevilla, 10 de Junio de 1992.

Rafael Villar

Fdo: Rafael Villar Montero

R. 41699
71 326

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA VEGETAL Y ECOLOGIA
FACULTAD DE BIOLOGIA
UNIVERSIDAD DE SEVILLA



COSTOS ENERGETICOS EN HOJAS DE ESPECIES LEÑOSAS

Memoria para optar al grado de Doctor
en Biología, realizada por el
Licenciado D. Rafael Villar Montero.

Sevilla, 10 de Junio de 1992.

Director:

A handwritten signature in black ink, consisting of a vertical line with a loop at the top and a horizontal stroke across it.

Pr. Dr. José Merino Ortega

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA VEGETAL Y ECOLOGIA
FACULTAD DE BIOLOGIA
UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Agradecimientos

Agradezco al Pr. Dr. José Merino la oportunidad de realizar la tesis bajo su dirección y su apoyo en todo momento, a mis compañeros de equipo Antonio Gallardo, Feliciano Martínez, Francisco Muñoz y Diego García por su ayuda y ánimos en esta dura vida del joven investigador español y a mis padres y hermanos por su apoyo y colaboración cuando más lo necesitaba. También me gustaría agradecer la comprensión y paciencia de Rafa y María, a los cuales les robé muchas horas de juego.

José Merino, Antonio Gallardo y Enrique Alés recogieron muestras de hojas de distintos ecosistemas de América, a los cuales estoy muy agradecido por esta ayuda. Mi agradecimiento también a Ovidio Merino por iniciarme en el manejo del sistema de intercambio de gases, a Carmelo Escot por compartir sus habilidades con el ordenador y solucionar los pequeños, pero para mí grandes problemas con los ordenadores y a todas las personas de este Departamento que de una forma u otra me ayudaron y animaron a lo largo de la realización de este trabajo.

Por último, agradecer el apoyo económico, para la realización de esta Tesis, del Ministerio de Educación y Ciencia (beca predoctoral), de varios proyectos CAYCIT y DGYCIT concedidos a D. José Merino, y en los dos últimos años a cargo de un proyecto concedido a D. José Merino por el M.O.P.U. (Agencia de Medio Ambiente).

A Lui por su ayuda y constantes ánimos, día a día
durante años.

INDICE

1. Introducción.....	1
2. Costo de construcción en las hojas de especies leñosas de distinta longevidad.	
2.1. Introducción.....	8
2.2. Material y método.....	9
2.3. Resultados.....	12
2.4. Discusión.....	20
2.5. Consideraciones finales.....	31
3. Métodos para la estima del costo de mantenimiento en hojas.	
3.1. Introducción.....	34
3.2. Material y método.....	36
3.3. Resultados.....	39
3.4. Discusión.....	46
3.5. Consideraciones finales.....	53
4. Costo de mantenimiento en hojas de especies leñosas.	
4.1. Introducción.....	54
4.2. Material y método.....	55
4.3. Resultados.....	57
4.4. Discusión.....	64
4.5. Consideraciones finales.....	72
5. Métodos para la estimación de la respiración en condiciones luminosas.	
5.1. Introducción.....	74
5.2. Material y método.....	75
5.3. Resultados.....	78
5.4. Discusión.....	82
6. Respiración en condiciones de oscuridad y de luz en hojas de especies leñosas de diferente longevidad. Efecto de algunos factores intrínsecos y ambientales.	
6.1. Introducción.....	87
6.2. Material y método.....	88
6.3. Resultados.....	90

6.4. Discusión.....99
6.5. Consideraciones finales.....106

Resumen de las principales conclusiones108

Bibliografía.....111

Apéndice I

Apéndice II

CAPITULO 1

INTRODUCCION

Durante las dos últimas décadas se ha dedicado una considerable atención a la generación y evaluación de hipótesis en torno a las características adaptativas de las especies caducifolias y perennifolias, y concretamente en las que se derivan de la longevidad de sus hojas.

La constatación de que las especies perennifolias dominan con frecuencia los biotopos pobres en fósforo (Beadle 1954, Loveless 1961) llevaron a la conclusión de que el carácter perennifolio podría ser adaptativo en ambientes pobres en nutrientes, debido, entre otros, a su mayor capacidad para absorberlos y para actuar como reservorios de nutrientes en forma rápidamente utilizable (Mooney y Rundel 1979, Rundel y Parsons 1980, Villar 1987).

Así mismo, el carácter más longevo de las hojas podría hacerlas más eficientes en el uso de los nutrientes, ya que poseen una mayor capacidad de retraslocación interna (Del Arco et al. 1991), una tasa de descomposición relativamente lenta, que permite un mejor ajuste de los procesos de mineralización y reabsorción (Monk 1966, Gallardo y Merino 1992) y un aprovechamiento más prolongado de los nutrientes presentes en la hoja (Small 1972).

La larga duración tendría "per se" otras ventajas desde el punto de vista de su balance de carbono, ya que, evidentemente, la menor tasa de reposición de hojas supone un ahorro de energía, lo que debe ser ventajoso en ambientes donde la productividad está fuertemente limitada.

No debería olvidarse que las hojas de las especies angiospermas eran originariamente de larga duración (Axerold 1966). El origen adaptativo de las hojas de corta duración parece ser múltiple y resultado de la respuesta a un fuerte estrés hídrico estacional (Axerold 1966), al estrés mecánico, a la presión de herbivoría (Coley 1980) o a bajas temperaturas estacionales (Schulze et al. 1977).

Es evidente que resulta difícil conocer los parámetros sobre los que ha operado la selección y que han llevado a la evolución a la aparición de tipos foliares con distinta longevidad; máxime si se tiene

en cuenta que la evolución no suele proceder de forma aislada, sino optimizando los beneficios que supone la posesión de un conjunto de características, no exclusivamente foliares (por ejemplo, la duración de la hoja y el diámetro de los vasos leñosos, Chabot y Hicks 1982), a la matriz ambiental. A esto hay que añadir que, en muchos casos, ese ajuste no tiene porqué darse en la actualidad.

Por otra parte, resulta también difícil estimar cuantitativamente el beneficio que se deriva de la posesión de un determinado carácter (por ejemplo, una hoja de corta duración) en unas condiciones concretas, ya que ello requiere de la cuantificación de los costos que supone la posesión del carácter en cuestión y de los beneficios que se derivan de éste (Chapin 1989).

En cualquier caso, la longevidad de la hoja debería ser congruente con un balance de carbono positivo de la hoja, que podría ser expresado de forma muy simplificada como:

$$\text{Balance de carbono} = F - R - B \quad (1)$$

donde F es la ganancia de carbono de la hoja durante su tiempo de vida, R es la respiración total de la hoja durante su tiempo de vida y B es la cantidad de esqueletos carbonados utilizados en su construcción.

Desde hace 30 años, la respiración de las plantas ha sido considerada como la suma de la respiración de crecimiento (R_c) y la respiración de mantenimiento (R_m) (Hiroi y Monsi 1964). La respiración de crecimiento es la respiración requerida para la síntesis de nueva fitomasa, en tanto que la respiración de mantenimiento suministra la energía necesaria para mantener la fitomasa existente en un estado funcional. Esta última se emplea fundamentalmente en la renovación de moléculas lábiles (proteínas enzimáticas, ácidos ribonucleicos y lípidos de membrana), en el mantenimiento del gradiente de iones, y en los procesos de adaptación fisiológica a un medio cambiante que no implican crecimiento (Penning de Vries 1975).

Por ello, la expresión (1) podría quedar como sigue:

$$\text{Balance de carbono} = F - (R_c + R_m) - B \quad (2)$$

Normalmente, la energía y el sustrato (esqueletos carbonados) utilizados en la construcción del tejido foliar (o en la de cualquier otro órgano) se engloba bajo el término "costo de construcción" (C_c), de forma que puede escribirse:

$$C_c = R_c + B \quad (3)$$

Combinando las fórmulas (2) y (3) se tiene que:

$$\text{Balance de carbono} = F - C_c - R_m$$

De acuerdo con esto, las hojas con un alto costo de construcción deberían presentar alternativamente unas tasas de fotosíntesis altas o unas altas longevidades para amortizar así estos costos. Las tasas de fotosíntesis de las hojas perennifolias suelen ser inferiores a las de las especies caducifolias (Larcher 1976, Field y Mooney 1986), por lo que la primera hipótesis puede considerarse rechazada. La segunda hipótesis puede ser, a su vez, formulada a la inversa, en el sentido de que, las hojas de larga duración deberían ser necesariamente más costosas, al requerir de sistemas defensivos contra la herbivoría, o de estructuras resistentes a las situaciones de estrés (por ejemplo sequía) que periódicamente tienen lugar en los ambientes estacionales y que forzosamente incrementarían su costo de construcción por encima del de las hojas de corta duración, al requerir estas últimas de elementos defensivos en menor proporción.

Por todo ello, en los estudios sobre el balance de carbono se suele asumir que las hojas de larga duración son necesariamente más costosas de construir que las hojas de corta duración (Orians y Solbrig 1977, Mooney y Gulmon 1982, Chabot y Hicks 1982).

Por el contrario, las hojas de las especies caducifolias deben completar su ciclo en un periodo de tiempo relativamente corto, por lo que suelen presentar tasas fotosintéticas más elevadas que las hojas de larga duración, lo que parece ir acompañado de unas actividades

metabólicas altas y, como consecuencia, de unos costos de mantenimiento más elevados (Amthor 1989).

La dominancia de un tipo u otro de especies en un biotopo concreto debería depender entonces de las características de cada biotopo en cuestión. Así, cuando los costos para mantener la hoja durante los periodos no favorables fuesen superiores a los beneficios en ese periodo, deberían dominar las especies caducifolias. De hecho, si se excluyen las especies gimnospermas, a medida que aumenta la amplitud de la estación desfavorable por efecto de la sequía o de las bajas temperaturas, aumenta la dominancia de las especies caducifolias (Bunce 1979, Schulze et al. 1977).

Por otra parte, cuando las ganancias acumuladas durante la estación de crecimiento no alcanzasen para sufragar el costo de construcción de las hojas, las hojas deberían presentar carácter perennifolio; como de hecho parece suceder en las latitudes altas.

Por supuesto, la posible relación entre la longevidad foliar, balance de carbono y características del biotopo, dista mucho de ser sencilla. Así, por ejemplo, en condiciones de alta disponibilidad de nutrientes y agua, la competencia por la luz puede seleccionar especies con hojas con tasas de renovación más altas (Williams et al. 1989, F. Rodá comunicación personal).

Desgraciadamente, no existen en la práctica estudios suficientemente completos como para discutir las diferencias observadas en la distribución de las especies vegetales en base a las posibles diferencias en el balance de carbono de los individuos, y mucho menos en base al balance de carbono de sus órganos.

Las razones de este desconocimiento se deben a las grandes dificultades metodológicas que encierra este tipo de análisis, pero también, y no en pequeña parte, a la fascinación que tiene para los fisiólogos, y sobre todo para los ecólogos, el proceso de fijación de energía, que ha polarizado los esfuerzos hacia el estudio del proceso fotosintético y, consecuentemente, ha relegado a un segundo plano el análisis del componente respiratorio.

Sin embargo, en la mayoría de los casos, la tasa fotosintética por sí sola es incapaz de explicar las preferencias por el tipo de habitats

de las especies en cuestión. Además, la tasa fotosintética representa sólo un componente del balance de carbono, por lo que, en la gran mayoría de los casos conocidos, tampoco puede explicar por sí sola las diferencias de producción observadas entre especies. Por otra parte, la respiración es uno de los componentes cruciales del balance de carbono. En plantas completas de girasol (incluyendo las raíces), la respiración consume más del 35 % de la producción bruta (Szaniasky 1983). El componente de respiración de mantenimiento consume aproximadamente el 38 % de la producción bruta en algunas herbáceas perennes y puede suponer 4 veces el costo de construcción durante el primer año de vida de una hoja (Merino et al. 1984).

La escasa información disponible sobre el valor de los componentes del proceso respiratorio está, como ya se ha comentado, relacionada también con aspectos metodológicos.

El primer método para el análisis de la respiración y del costo de construcción de estructuras fue desarrollado por Penning de Vries et al. (1974), y está basado en la cuantificación del CO_2 generado en las distintas rutas metabólicas de síntesis y degradación que llevan a la composición final de un tejido (la cual es conocida vía el análisis en sus componentes químicos). Este método es sólo aproximativo e impide la estimación fina de los costos respiratorios de crecimiento y mantenimiento, lo que relega los resultados así obtenidos a estudios en los que sólo se desea una estimación aproximada de los valores de estos componentes.

Más recientemente se han desarrollado aproximaciones basadas en el análisis conjunto de crecimiento y respiración (Kimura et al. 1978); lo que encierra muchas dificultades de tipo técnico cuando se trata de hojas de pequeño tamaño. El análisis elemental (McDermitt y Loomis 1981) o la estimación basada en el análisis calorimétrico y en la eficiencia de construcción de tejidos (Williams et al. 1987) representan también dos metodologías de gran interés.

Estas últimas aproximaciones son adecuadas para la cuantificación del costo de síntesis del órgano, pero no informan sobre su costo de mantenimiento, que, como se ha indicado, puede ser el componente de la respiración cuantitativamente más importante. Aproximaciones recientes

permiten estimar el valor aproximado de este componente de la respiración; aunque no existe aún una metodología con suficiente fiabilidad.

Por último, debería subrayarse que la cuantificación de la tasa de respiración de un órgano encierra también dificultades metodológicas relacionadas con la eficiencia del proceso respiratorio (Collier et al. 1992). Así, por ejemplo, en los estudios de respiración suele asumirse que el proceso continúa en la luz a la misma tasa que en la oscuridad (condiciones en las que suelen realizarse los estudios para su cuantificación). Sin embargo, las tasas respiratorias parecen diferir significativamente en condiciones de luz y oscuridad (KoK 1949, Brooks y Farquhar 1985). Aparentemente, la respiración de órganos fotosintéticos puede ser inhibida en la luz hasta un 50 % de la respiración total observada en condiciones de oscuridad (Brooks y Farquhar 1985), debido a que existe la posibilidad de utilizar ATP y poder reductor procedentes directamente del cloroplasto. De ser así, las tasas de respiración estimadas en otros estudios (siempre en condiciones de oscuridad) deben suponer una sobreestimación de la tasa real de respiración en condiciones luminosas.

Actualmente se desconoce si este efecto de inhibición tiene lugar también en especies leñosas, como es el caso de las consideradas en este estudio, y, en caso afirmativo, se desconoce también su intensidad y las posibles diferencias existentes entre los distintos tipos de especies.

La reciente puesta a punto de métodos idóneos para la cuantificación del efecto inhibitor de la luz (Sharp et al. 1984, Laisk 1977) supone una excelente oportunidad para testar el papel de este efecto en hojas de especies leñosas silvestres y para estimar los valores reales de sus costos respiratorios.

El objetivo principal del presente estudio es la estimación de los costos de construcción y mantenimiento de las hojas de corta y larga duración.

Los objetivos parciales son los siguientes:

- a) Cuantificar la energía invertida en la construcción de los órganos foliares (costo de construcción) de un conjunto de

especies leñosas silvestres y comprobar si existen diferencias asociadas a la longevidad de la hoja y a su habitat.

- b) Cuantificar el costo de mantenimiento de las hojas de distintas especies leñosas silvestres y comprobar si existen diferencias asociadas a la longevidad de la hoja.
- c) Estimar la tasa de respiración en condiciones luminosas en las hojas de dos especies de matorral mediterráneo que presentan diferente longevidad foliar.

Estos objetivos se han desarrollado a lo largo de cinco capítulos.

En el Capítulo 2 se estudia el costo de construcción de las hojas de un conjunto de especies leñosas silvestres típicas de ecosistemas distintos.

En el Capítulo 3 se hace un análisis de los métodos disponibles para la estima del costo de mantenimiento en plantas cultivadas en condiciones controladas con objeto de seleccionar el más idóneo.

En el Capítulo 4 se hace una estima del costo de mantenimiento en hojas de diferente longevidad siguiendo el método seleccionado en el capítulo 3.

En el Capítulo 5 se hace un análisis de los dos métodos más usuales para la estima del efecto inhibitor de la luz sobre la tasa de respiración.

Por último, en el Capítulo 6 se hace una estimación del efecto inhibitor de la luz sobre la tasa de respiración de las hojas en dos especies que difieren en su longevidad foliar.

CAPITULO 2

COSTO DE CONSTRUCCION EN LAS HOJAS DE ESPECIES LEÑOSAS DE DISTINTA LONGEVIDAD

2.1. INTRODUCCION

Las hojas de distinta longevidad difieren en características relacionadas con el balance de carbono, como es su capacidad fotosintética y su tasa de respiración (Larcher 1977, Mooney y Gulmon 1982, Field y Mooney 1986). Estas diferencias pueden ser importantes a la hora de explicar las ventajas relativas de las especies caracterizadas por la posesión de hojas de corta o larga duración y su distribución en determinados tipos de habitats.

Para elucidar las ventajas e inconvenientes de la longitud de vida de una hoja en base a su balance de carbono en un habitat concreto, es necesario conocer el costo de construcción de la hoja en ese habitat.

En general, suele aceptarse que las hojas de larga duración deben ser más costosas de construir, ya que el riesgo de herbivoría está asociado, entre otros, a la longevidad (Mooney y Gulmon 1982). La inversión en estructura y en compuestos con carácter defensivo (que con mucha frecuencia son relativamente costosos de sintetizar) explicaría el costo más elevado de las hojas longevas.

Sin embargo, a pesar de su interés, la información disponible sobre valores del costo de construcción de las hojas de especies leñosas (y en general, de las especies silvestres) es muy escasa, debido, entre otros a lo inapropiado de los métodos de análisis disponibles.

La escasez de métodos adecuados de análisis han dificultado el chequeo de hipótesis y reduce el conjunto de datos disponibles sobre el costo de construcción de las hojas de especies leñosas a algunas especies tropicales (Williams et al. 1987, Sobrado 1991), de la tundra (Chapin 1989) y a los publicados para el área mediterránea (Merino et al. 1982, Merino 1987). Los resultados obtenidos resultan contradictorios en lo referente a la hipótesis de que el costo de construcción está relacionado con la longevidad. Sin embargo, los métodos seguidos por estos autores han sido muy distintos, por lo que las comparaciones son difíciles. Esta

escasez de datos y la escasa representación de ambientes suponen un panorama muy estrecho sobre el que resulta difícil hacer generalizaciones.

La publicación por Mooney y colaboradores (Williams et al. 1987) de un nuevo método para la estimación del costo de construcción basado en el análisis calorimétrico, representa una gran oportunidad, ya que permite analizar de forma rápida y precisa un número de muestras elevado.

En el presente capítulo se discute el costo de construcción en las hojas recolectadas en un conjunto de 10 localidades geográficas que engloban al menos un número semejante de habitats distintos. Se pretende así tener una idea de la amplitud de los valores de costo de construcción y además de información suficiente para discutir la hipótesis enunciada más arriba.

2.2. MATERIAL Y METODO

El estudio se realizó en un conjunto de especies leñosas con hojas de diferente longevidad: caducas (4-8 meses), semiperennes (5-12 meses) y perennes (más de 12 meses); todas ellas representativas de distintos tipos de ecosistemas. Los ecosistemas considerados fueron: chaparral (California, EE.UU.), bosque xerofítico (Canarias, España), bosque mediterráneo húmedo (California, EE.UU.), bosque templado cálido (Carolina del Norte, EE.UU.), bosque templado (Ontario, Canadá), laurisilva (Canarias, España), bosque austral (Tierra de Fuego, Argentina), desierto (Mohave y Chihuahua, EE.UU.) y tundra (Isla Devon, Canadá). Se incluye también la información disponible sobre las especies del sur de España (Merino 1987).

Para la determinación de las distintas especies se siguió la clasificación de las floras disponibles en cada región (Benson y Darrow 1981, Bramwell 1974, Moore 1983, Petrides 1988, Porsild y Cody 1980, Thomas 1961). La información sobre la longevidad de la hoja de las distintas especies se obtuvo a partir de la bibliografía disponible, de las floras editadas para cada región y de observaciones de campo.

El muestreo se realizó en poblaciones localizadas en ambientes característicos en cuanto al clima de cada área seleccionada. En al menos seis individuos de cada una de las especies consideradas se recolectaron

ramas localizadas en distintas posiciones y alturas de la planta. Inmediatamente después de su recolección, las ramas se guardaron en bolsas de plástico, se dispusieron en neveras portátiles y se trasladaron al laboratorio rápidamente para evitar un consumo elevado de carbohidratos. De cada rama se recolectaron todas las hojas presentes, excluyendo las que presentaban síntomas de degeneración o injurias. En una submuestra de hojas se determinó la superficie foliar. Posteriormente las hojas se secaron a 80 °C y se determinó su peso específico como la relación: peso seco/superficie foliar. Una vez secas las hojas, se molieron con un micromolino Culatti con una malla de 1 mm de diámetro.

La concentración de ceniza de las muestras se determinó gravimétricamente después de su combustión en horno de mufla a 500 °C durante 4 horas. La concentración de nitrógeno orgánico total se determinó por el método de Kjeldhal y el contenido calórico por combustión en una bomba calorimétrica adiabática (Phillipson Gentry Instruments Inc., EE.UU.) calibrada con ácido benzoico a una presión de oxígeno de 35 atmósferas. En todos los casos se hicieron dos medidas por muestra y una tercera cuando la diferencia entre las dos estimaciones era superior al 5%.

El costo de construcción de la hoja (C , g glucosa g^{-1} peso seco) se determinó por el método de Williams et al. (1987) según la ecuación:

$$C = ((0.06968 * H_c - 0.065) (1 - A) + 2.6795 * N) / e$$

donde H_c es el contenido calórico libre de ceniza ($Kj g^{-1}$), N es la concentración de nitrógeno ($g g^{-1}$), A es la concentración de ceniza ($g g^{-1}$) y e es la eficiencia de crecimiento. Este parámetro representa la fracción de carbohidrato que queda formando parte de los componentes de la hoja con respecto al total de carbohidratos empleados en su síntesis. Este coeficiente ha sido estimado por Williams et al. (1987) para las hojas de diversas especies leñosas silvestres con características muy distintas en 0.89, siendo su rango de variación relativamente pequeña (0.85 - 0.91).

El costo de construcción por unidad de superficie se obtuvo en cada especie multiplicando el valor del costo expresado en términos de peso por el peso específico foliar.

Con objeto de identificar los parámetros de la ecuación predictora que tienen más importancia en la determinación de las diferencias en el costo de construcción entre especies y en los conjuntos de hojas clasificadas en base a su longevidad, se estimó la sensibilidad del valor predicho del costo de construcción a la variación de los valores de los parámetros predictores.

La presencia de un producto de variables en la ecuación predictora impide la aproximación estandar al análisis de sensibilidad, el cual está basado en el análisis de regresión paso a paso y en la posterior comparación de la varianza total absorbida por cada variable respecto de la varianza total. Por esta razón se procedió a la realización de un análisis más sencillo que se describe a continuación.

Una vez seleccionado un conjunto de muestras, se mantenían fijos los valores de dos de las tres variables que integran la ecuación de predicción; asignándoles sus valores medios respectivos, en tanto que a la tercera variable se le asignaban sucesivamente su valor medio en la muestra, su valor medio más una desviación estandar y su valor medio menos una desviación estandar; calculándose en cada caso el valor del costo de construcción y, finalmente, la media y la desviación estandar de los tres valores calculados.

Esta operación se repitió para cada una de las tres variables de la ecuación, obteniéndose al final tres coeficientes de variación correspondientes a los efectos respectivos de la concentración de nitrógeno, de la concentración de ceniza y del contenido calórico libre de ceniza, sobre la variación del costo de construcción. Las diferencias entre los tres valores del coeficiente de variación informan sobre la sensibilidad relativa del costo de construcción a la variación de cada una de las variables de la ecuación de predicción.

Esta forma de proceder se repitió en el conjunto total de muestras y en los conjuntos de hojas formados por las de las especies perennifolias, caducifolias y semiperennes.

2.3. RESULTADOS

En el Apéndice I se presentan los resultados medios de peso específico, contenido calórico y concentraciones de ceniza y nitrógeno; así como el costo de construcción referido al peso y a la superficie en las hojas de las especies estudiadas.

En la Tabla 2.1 se presentan los resultados del análisis de la sensibilidad del costo de construcción foliar a la variación de los parámetros de la ecuación utilizada para la predicción de aquel. La tabla presenta los resultados del análisis para a) el conjunto total de las muestras, b) las hojas de las especies caducifolias, c) las hojas de las especies perennifolias y d) las hojas de las especies semiperennes.

Como puede comprobarse, la sensibilidad del costo de construcción al contenido energético es muy alta en todos los casos; en tanto que la sensibilidad a la concentración de ceniza y, notablemente, a la concentración de nitrógeno, es mucho más baja. Este patrón es general para los cuatro grupos de muestras considerados; aunque en el caso de las hojas de las especies caducas, la importancia de la concentración de nitrógeno es nítidamente mayor que en los restantes grupos de muestras.

En la Tabla 2.2 se presentan los valores medios de las variables foliares analizadas en cada uno de los ecosistemas considerados. Se incluyen también los resultados de Merino (1987) relativos a un conjunto de especies típicas de ecosistemas del sur de la Península Ibérica.

Los valores medios del costo de construcción oscilan entre 1.45 ± 0.08 g glucosa g^{-1} en el caso de las hojas de los bosques australes y 1.72 ± 0.12 g glucosa g^{-1} en el caso de las hojas de la tundra. Un análisis de la varianza (ANOVA) mostró que los ecosistemas estudiados difieren significativamente en base a la totalidad de las variables consideradas en el presente estudio. Llamen la atención las fuertes diferencias existentes en lo que se refiere al peso específico (Tabla 2.2 y 2.3), que, en los casos extremos, son del orden de cinco veces superiores (chaparral y bosque templado EE.UU.).

Cuando se comparan dos a dos los valores medios del costo de construcción (test t-Student) se comprueba que las hojas de la tundra, junto con las de los ecosistemas caracterizados por ambientes más xéricos (vegetación xerofítica de Canarias, chaparral y sur de España), tienden a

Grupo de especies	Fuente variacion	Hc (cal g ⁻¹)	CENIZA (%)	NITROG (%)	C. CONST (g gluc g ⁻¹)	Coefficiente variación (%)
TODAS	Hc	4672	5.8	1.6	1.40	5.43
		5000	5.8	1.6	1.50	
		5328	5.8	1.6	1.60	
	CENIZA	5000	3.2	1.6	1.54	2.18
		5000	5.8	1.6	1.50	
		5000	8.4	1.6	1.46	
	NITROG	5000	5.8	1.0	1.48	0.98
		5000	5.8	1.6	1.50	
		5000	5.8	2.2	1.52	
CADUCAS	Hc	4675	6.6	2.1	1.41	3.45
		4881	6.6	2.1	1.47	
		5087	6.6	2.1	1.53	
	CENIZA	4881	3.7	2.1	1.51	2.42
		4881	6.6	2.1	1.47	
		4881	9.5	2.1	1.42	
	NITROG	4881	6.6	1.4	1.45	1.17
		4881	6.6	2.1	1.47	
		4881	6.6	2.8	1.49	
PERENNES	Hc	4726	5.4	1.4	1.42	5.71
		5075	5.4	1.4	1.53	
		5424	5.4	1.4	1.63	
	CENIZA	5075	2.8	1.4	1.57	2.18
		5075	5.4	1.4	1.53	
		5075	8.0	1.4	1.48	
	NITROG	5075	5.8	1.0	1.51	0.64
		5075	5.8	1.6	1.53	
		5075	5.8	2.2	1.54	
SEMIPERENNES	Hc	4805	5.6	1.5	1.44	5.86
		5171	5.6	1.5	1.55	
		5536	5.6	1.5	1.67	
	CENIZA	5171	3.7	1.5	1.58	1.60
		5171	5.6	1.5	1.55	
		5171	7.5	1.5	1.52	
	NITROG	5171	5.6	1.1	1.54	0.63
		5171	5.6	1.5	1.55	
		5171	5.6	1.9	1.57	

Tabla 2.1. Análisis de la sensibilidad del valor del costo de construcción a la variación de los parámetros predictores (Hc, nitrógeno y ceniza) de la ecuación utilizada para su cálculo.

	n	P. ESPEC (g m ⁻²)	Hc (cal g ⁻¹)	CENIZA (%)	NITROG (%)	C. CONST (g glu g ⁻¹)	C. CONST (g glu m ⁻²)
LAURIS	16	127.3	5004	6.9	1.5	1.51	191.8
XERCAN	16	140.4	5215	6.8	1.9	1.58	215.5
BOSCAL	10	127.5	4792	5.8	1.6	1.46	186.8
CHAPAR	6	246.5	5111	4.0	1.4	1.58	388.6
BOSAUS	7	130.4	4731	5.0	1.5	1.45	189.5
DESIER	6	153.3	5121	8.4	1.9	1.53	232.6
BOSTEA	8	58.6	4859	8.2	1.7	1.45	85.6
BOSTEB	4	73.2	4952	6.5	1.9	1.51	110.5
TUNDRA	3	97.4	5603	6.7	2.6	1.73	167.6
ESPAÑA	41	--	5072	5.0	1.6	1.56	--
MEDIA	117	127.1	5000	6.0	1.7	1.53	194.0
S.D.		± 52.8	± 327	± 2.8	± 0.6	± 0.12	± 83.9

Tabla 2.2. Valores medios de distintas características foliares en diferentes áreas. Hc: contenido calórico (calorías g⁻¹ libre de ceniza); n: número de especies consideradas; LAURIS: Laurilsiva (Canarias); XERCAN: Vegetación xerofítica (Canarias); BOSCAL: Bosque mediterráneo húmedo (California); CHAPAR: Chaparral (California); BOSAUS: Bosque austral (Tierra del Fuego); DESIER: Desierto Mohave y Chihuahua (EE.UU.); BOSTEA: Bosque templado cálido (EE.UU.); BOSTEB: Bosque templado (Canadá); TUNDRA: Tundra (Canadá); ESPAÑA: Vegetación mediterránea (Merino 1987).

	BOSTEB	TUNDRA	LAURIS	BOSCAL	BOSAUS	XERCAN	DESIER	CHAPAR
BOSTEA (58 g m ⁻²)			***	***	**	***	**	***
BOSTEB (73 g m ⁻²)			**	**	*	***	**	**
TUNDRA (97 g m ⁻²)						*	*	**
LAURIS (127 g m ⁻²)								**
BOSCAL (127 g m ⁻²)								**
BOSAUS (130 g m ⁻²)								**
XERCAN (140 g m ⁻²)								***
DESIER (153 g m ⁻²)								*
CHAPAR (246 g m ⁻²)								

Tabla 2.3. Resultado de la comparación de los valores medios (test t-Student) del peso específico foliar (números entre paréntesis) en los distintos ecosistemas considerados. *: p<0.05; **: p<0.01; ***: p<0.001; ****: p<0.0001. Abreviaturas como en la Tabla 2.2.

presentar valores más altos ($p < 0.05$) que los ecosistemas más mésicos (Tabla 2.4). Los resultados muestran también que, ni el grupo integrado por los ecosistemas más xéricos, ni el integrado por los más mésicos, presentan diferencias significativas internas.

En la Tabla 2.5 se presentan los valores medios del costo de construcción de las hojas según el carácter perennifolio, semiperennifolio o caducifolio de las especies y el ecosistema en que se realizó el muestreo. De la tabla se han excluido algunos grupos debido al bajo número de especies muestreadas (caducas de la laurisilva, semiperennes de la vegetación xerofítica de Canarias, semiperennes del chaparral y perennes del bosque templado de EE. UU.). Se ha mantenido el grupo correspondiente a los perennifolios del desierto, que, aunque de efectivo muy bajo (sólo dos especies), tienen carácter más representativo.

Como puede comprobarse, no se detecta un patrón nítido asociado al carácter caducifolio-perennifolio. No obstante, dentro de cada área climática considerada, se detecta cierta tendencia a que las hojas de las especies perennifolias presenten valores algo más altos que las hojas de las especies caducifolias; aunque esta tendencia sólo es significativa en el caso de las especies del sur de España.

Las especies perennifolias de los habitats xerofíticos canarios, sur de España, chaparral y desierto, junto con las especies caducifolias de la tundra y las semiperennes del sur de España, tienden a presentar los valores más altos ($p < 0.05$). A pesar de lo relativamente elevado del costo medio de las hojas del desierto ($1.59 \text{ g glucosa g}^{-1}$) este grupo no muestra diferencias significativas con ninguno de los restantes ecosistemas; lo que se debe posiblemente al bajo número de especies consideradas.

La Tabla 2.6 muestra los valores medios del costo de construcción de las hojas agrupadas según su longevidad, así como los valores medios del peso específico, concentración de cenizas, nitrógeno y contenido calórico. Como puede comprobarse, el costo de construcción referido a peso de las hojas de las especies caducifolias es significativamente más bajo que el de las hojas de las especies perennes. La diferencia se explica en base al significativamente mayor contenido energético y menor

	XERCAN	CHAPAR	ESPAÑA	DESIER	LAURIS	BOSTEB	BOSCAL	BOSTEA	BOSAUS
TUNDRA (1.73)								*	*
XERCAN (1.58)							*	**	*
CHAPAR (1.58)					*		**	**	**
ESPAÑA (1.56)					*		**	**	*
DESIER (1.53)									
LAURIS (1.51)									
BOSTEB (1.51)									
BOSCAL (1.46)									
BOSTEA (1.45)									
BOSAUS (1.45)									

Tabla 2.4. Resultado de la comparación de los valores medios (test t-Student) del costo de construcción foliar medio (números entre paréntesis) en los distintos ecosistemas considerados. Abreviaturas como en la Tabla 2.2 y 2.3.

TUNDRA (C) XERCAN (F) DESIER (F) ESPAÑA (F) ESPAÑA (SP) CHAPAR (F) ESPAÑA (C) BOSTEB (C) LAURIS (F) BOSCAL (F) BOSCAUS (F) BOSCAL (C) BOSTEA (C) BOSCAUS (C)

	TUNDRA (C)	XERCAN (F)	DESIER (F)	ESPAÑA (F)	ESPAÑA (SP)	CHAPAR (F)	ESPAÑA (C)	BOSTEB (C)	LAURIS (F)	BOSCAL (F)	BOSCAUS (F)	BOSCAL (C)	BOSTEA (C)	BOSCAUS (C)
TUNDRA (C) (1.73)										*	*	*	*	
XERCAN (F) (1.71)			*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
DESIER (F) (1.59)														
ESPAÑA (F) (1.58)							*	*	*	*	*	*	*	*
ESPAÑA (SP) (1.52)												*	*	*
CHAPAR (F) (1.55)														*
ESPAÑA (C) (1.51)														
BOSTEB (C) (1.51)														
LAURIS (F) (1.50)														
BOSCAL (F) (1.48)														
BOSCAUS (F) (1.45)														
BOSCAL (C) (1.45)														
BOSTEA (C) (1.43)														
BOSCAUS (C) (1.43)														

Tabla 2.5. Resultado de la comparación de los valores medios del costo de construcción foliar (valores entre paréntesis, g glucosa m⁻²) de los distintos grupos en relación a la longevidad de la hoja y el ecosistema. Abreviaturas como en la Tabla 2.2 y 2.3.

	P. ESPEC (g m ⁻²)	Hc (cal g ⁻¹)	CENIZA (%)	NITROG (%)	C. CONST (g glu g ⁻¹)	C. CONST (g glu m ⁻²)
CADUCA	74.9 a	4882 a	6.6 a	2.1 a	1.49 a	111.1 a
SEMIPERENE	174.1 b	5171 b	5.6 b	1.5 b	1.58 b	276.6 b
PERENNE	152.1 b	5076 b	5.4 b	1.4 b	1.55 b	233.1 b

Tabla 2.6. Valores medios de las características foliares estudiadas en los grupos de especies caducas, semiperennes y perennes procedentes de distintos ecosistemas. Abreviaturas como en la Tabla 2.2. Números seguidos por letras distintas en la misma columna indican la existencia de diferencias significativas entre los grupos comparados ($p < 0.05$).

concentración de cenizas en estas últimas. Las hojas caducifolias son más ricas en nitrógeno, pero la pequeña diferencia en la concentración media observada (0.7 % N) no es suficiente para compensar su bajo contenido energético y su relativamente alta concentración de ceniza. Las características de las hojas de las especies semiperennes son similares a las hojas perennifolias y distintas ($p < 0.05$) de las hojas de las especies caducifolias, lo que explica que su costo de construcción sea superior ($p < 0.05$) al de las hojas de estas especies y similar al de las hojas de las especies perennifolias.

En la Tabla 2.7 se presentan los costos de construcción foliar en términos de superficie en cada uno de los ecosistemas estudiados. Como puede comprobarse, existen fuertes diferencias en los valores medios del costo en los distintos ecosistemas. Estas diferencias son muy superiores a las observadas entre los valores del costo relativos al peso, ya que, en tanto que en este caso el rango va de 1 a 1.2 veces, cuando se considera el costo relativo a la superficie el rango es del orden de casi cinco veces; lo que se explica en base a las fuertes diferencias observadas en el peso específico medio en cada ecosistema. Dado que en el conjunto de los ecosistemas estudiados no hay asociación entre el peso específico medio y el costo de construcción en términos de peso, el sentido de las diferencias observadas es distinto; de forma que, aunque las hojas de las especies de chaparral presentan un costo de construcción intermedio en términos de peso, resultan ser las más costosas en términos de superficie; en tanto que las de la tundra, con un peso específico sensiblemente menor, presentan unos valores del costo de construcción intermedios, a pesar de ser las más costosas en términos de peso.

En el caso de la comparación de hojas en base a su longevidad el peso específico está relacionado positivamente con el costo de construcción en términos de peso, por lo que el costo de construcción en términos de superficie acentúa las diferencias observadas previamente (Tabla 2.6).

2.4. DISCUSION

Los valores del costo de construcción estimados en este estudio están en el rango de los publicados para hojas de especies leñosas

	BOSTEB	TUNDRA	BOSCAL	BOSAUS	LAURIS	XERCAN	DESIER	CHAPAR
BOSTEA (85.6)		*	**	**	***	***	**	***
BOSTEB (110.5)			**	*	**	***	**	***
TUNDRA (167.6)								**
BOSCAL (186.8)								**
BOSAUS (189.5)								**
LAURIS (191.8)								**
XERCAN (215.5)								**
DESIER (232)								**
CHAPAR (388.6)								

Tabla 2.7. Diferencias significativas en el costo de construcción medio referido a la superficie foliar (números entre paréntesis, g glucosa m⁻²) en la vegetación de los distintos ecosistemas considerados. Abreviaturas como en la Tabla 2.2 y 2.3.

silvestres originarias de distintos ecosistemas (Miller y Stoner 1979, Chapin 1989, Williams et al. 1989, Sobrado 1991), siendo el valor medio (1.52 ± 0.12 g glucosa g^{-1}) muy similar, aunque ligeramente inferior, al publicado por Merino (1987) para un conjunto de especies leñosas del sur de España siguiendo la misma técnica.

Las diferencias observadas cuando se comparan el conjunto de las especies caducifolias y perennifolias (Tabla 2.6) están de acuerdo con lo esperado, ya que las hojas de larga duración suelen requerir de fracciones con funciones defensivas y/o antideformantes que suelen aumentar su costo de construcción (Chabot e Hicks 1982). En este contexto, resulta difícil explicar el alto costo de síntesis de las especies semiperennes estudiadas, ya que la vida media de sus hojas es similar a la de las hojas de especies caducifolias y, por lo tanto, no deberían requerir de dotaciones defensivas adicionales. De hecho, la consistencia de la relación entre el costo de construcción y la longevidad es muy débil, ya que, cuando se consideran los dos tipos foliares distribuidos según los distintos ecosistemas estudiados, la imagen que emerge es muy distinta (Tabla 2.5).

Efectivamente, si se excluyen las especies de la tundra, las especies caducifolias, integran un conjunto muy homogéneo en el que no se detectan diferencias significativas. Por el contrario, las hojas de las especies perennifolias forman un grupo muy heterogéneo ya que las originarias de algunos ecosistemas (bosques mésicos de California, Laurisilva y Tierra del Fuego) no muestran diferencias significativas con las especies caducifolias, en tanto que las originarias de otros ecosistemas, como es el caso de las hojas de especies perennifolias del sur de España o de la comunidad xerofítica de Canarias, presentan diferencias significativas no sólo con las hojas típicas caducifolias, sino también con las hojas de especies perennifolias de otros ecosistemas (bosques mésicos de California y de la Tierra del Fuego). En general, aunque el número de especies considerado en algunos ecosistemas es demasiado bajo como para que los valores medios del costo de construcción puedan considerarse representativos, se comprueba que no existe un patrón definido de los valores medios del costo de construcción asociado a la longevidad de la hoja. De hecho, el valor medio correspondiente a las

tres especies caducifolias de la tundra junto con el de las cinco especies perennifolias de la vegetación xerofítica canaria representan los valores más elevados obtenidos en este estudio.

Por otra parte, es muy evidente en la Tabla 2.5 que las hojas de las especies perennifolias propias de ambientes en los que el agua puede ser factor limitante, al menos durante un periodo significativo del año (desiertos, habitats mediterráneos y semiáridos), presentan valores medios más elevados que las hojas de especies perennifolias típicas de habitats donde la limitación por agua es menos probable (bosques méxicos californianos, de la Tierra del Fuego y de la laurisilva).

Todo ello indica que la larga duración de las hojas no necesariamente implica un costo de construcción más elevado, como, de hecho, ya había sido sugerido en estudios previos, pero en los que el escaso número de especies estudiado impedía la generalización (Merino et al. 1982, Williams et al. 1989); y sugiere que el alto costo de construcción detectado en estas hojas está determinado más por su carácter esclerófilo que por su longevidad.

Efectivamente, a diferencia de las hojas de especies perennifolias de ambientes más méxicos, las hojas esclerófilas presentan, entre otras, características que les confieren resistencia a la deformación que inducen los elevados grados de estrés hídrico (Lawrence y Oechel 1981), como son la presencia de epidermis gruesas y lignificadas, esclerénquima abundante en el mesófilo) y capas impermeabilizantes superficiales de carácter lipídico (cutícula) que disminuyen la conductancia (Larcher 1977), y que a su vez, poseen carácter potencialmente defensivo en relación con la herbivoría (Mooney 1972, Bryant et al. 1983); es decir estructuras ricas en moléculas (lignina, lípidos) que, en términos generales, poseen un elevado costo de síntesis (Penning de Vries et al. 1975).

Por el contrario, las hojas de larga duración de especies propias de ambientes más méxicos, donde el agua es un factor menos crítico (por ejemplo las propias de la laurisilva), no requieren de estructuras antitranspirantes o antideformantes tan efectivas (Lillis 1992) y los mecanismos defensivos están basados posiblemente en la presencia de fracciones en muy baja concentración que las hacen poco atractivas a los

herbívoros (alcaloides, glucósidos cianogénicos) (Bryant et al. 1983), por lo que, en términos generales, la inversión energética requerida para la construcción de este tipo de hojas debe ser forzosamente menor que la requerida por las hojas esclerófilas.

Las fuertes diferencias observadas en el contenido calórico del tejido foliar libre de cenizas (el principal determinante de las diferencias observadas en el costo de construcción), indica que efectivamente la composición química de la materia orgánica foliar de las especies caducifolias y perennifolias difiere significativamente (Tabla 2.6). Desafortunadamente no se conoce la composición química de las hojas consideradas en este estudio, por lo que no es posible conocer los determinantes químicos de las diferencias observadas en el costo de construcción.

No obstante, se conocen las concentraciones de lípidos y nitrógeno de la mayor parte del conjunto de las hojas del sur de España (Villar y Merino, no publicado) estudiadas por Merino (1987) y que han sido incluidas en la discusión del presente estudio (Tabla 2.8).

En la Tabla 2.9 se presentan los resultados del análisis de correlación del contenido energético libre de cenizas con la concentración de lípidos y nitrógeno en el conjunto de las muestras del sur de España y en los subconjuntos que agrupan a las hojas de especies perennifolias, caducifolias y semiperennes. En las Figuras 2.1 y 2.2 se presentan las relaciones estadísticamente significativas.

Como puede comprobarse, excepto en el caso de especies caducifolias, existe una relación positiva y significativa entre el contenido calórico y concentración de lípidos que absorbe un 64 % (Tabla 2.9, r^2) de la varianza total del contenido calórico, lo que sugiere que la diferencia observada entre las especies perennifolias y las caducifolias del sur de España está fuertemente relacionada con la abundancia de lípidos presentes.

Por otra parte, la extrapolación de las ecuaciones correspondientes a las especies perennes y semiperennes a una concentración de lípidos foliares igual a cero, permite estimar el contenido calórico libre de cenizas de esos dos tipos foliares en ausencia de lípidos. Los valores así obtenidos (4673 y 4689 cal g^{-1} libre de ceniza, para perennifolios y

ESPECIE	LONGEVIDAD HOJA	Hc (cal g ⁻¹)	NITROG (%)	LIPIDOS (%)
<i>Cistus albidus</i>	SP	4767	1.19	2.51
<i>Cistus laurifolius</i>	SP	5237	1.48	10.52
<i>Cistus ladanifer</i>	SP	5010	1.77	4.86
<i>Cistus libanotis</i>	SP	5115	1.58	5.66
<i>Cistus monspeliensis</i>	SP	5137	1.39	14.15
<i>Cistus populifolius</i>	SP	4866	1.47	7.41
<i>Halimium commutatum</i>	SP	4745	1.27	2.24
<i>Halimium halimifolium</i>	SP	4746	1.41	1.75
<i>Halimium umbellatum</i>	SP	5217	1.36	18.11
<i>Rosmarinus officinalis</i>	SP	5674	1.62	14.42
<i>Lavandula stoechas</i>	SP	5764	2.03	19.72
<i>Phillyrea angustifolia</i>	P	5551	1.63	7.50
<i>Erica scoparia</i>	P	5995	1.26	13.60
<i>Arbutus unedo</i>	P	5053	1.06	5.77
<i>Quercus coccifera</i>	P	5010	1.35	3.29
<i>Quercus rotundifolia</i>	P	4866	1.16	1.79
<i>Quercus suber</i>	P	4904	1.86	2.72
<i>Rubus ulmifolius</i>	P	4894	1.91	3.71
<i>Myrtus communis</i>	P	4773	1.27	6.32
<i>Nerium oleander</i>	P	5446	1.45	8.92
<i>Pistacia lentiscus</i>	P	5070	1.45	3.70
<i>Smilax aspera</i>	P	5208	1.99	3.04
<i>Fraxinus ornus</i>	C	5043	2.31	2.99
<i>Fraxinus angustifolia</i>	C	4979	2.31	5.11
<i>Salix spp.</i>	C	5072	2.28	2.27
<i>Quercus lusitanica</i>	C	4886	1.47	2.78
<i>Quercus pyrenaica</i>	C	4812	2.09	2.70
<i>Quercus canariensis</i>	C	4795	2.03	2.57
<i>Pyrus bourgeana</i>	C	5025	1.95	6.06
<i>Crataegus monogyna</i>	C	4921	1.44	6.04

Tabla 2.8. Contenido calórico libre de ceniza (Hc) y concentraciones de nitrógeno y lípidos en las hojas de especies representativas de ecosistemas del sur de España clasificadas según la longevidad de la hoja en caduca (C), semiperenne (SP) y perenne (P) (datos de Merino y Villar, no publicados).

GRUPO	Y-X	r	SIGNIFICACION
Todas	Hc - Grasa	0.74	****
Semiperenne	Hc - Grasa	0.85	***
Perenne	Hc - Grasa	0.85	***
Caduca	Hc - Grasa	0.24	n.s.
Todas	Hc - Nitrógeno	0.03	n.s.
Semiperenne	Hc - Nitrógeno	0.72	*
Perenne	Hc - Nitrógeno	-0.06	n.s.
Caduca	Hc - Nitrógeno	0.39	n.s.

Tabla 2.9. Resumen de las correlaciones entre contenido calórico (Hc) y la concentración de lípidos y proteínas en las hojas de especies representativas del sur de España (Merino y Villar, no publicado). Abreviaturas como en la Tabla 2.3.

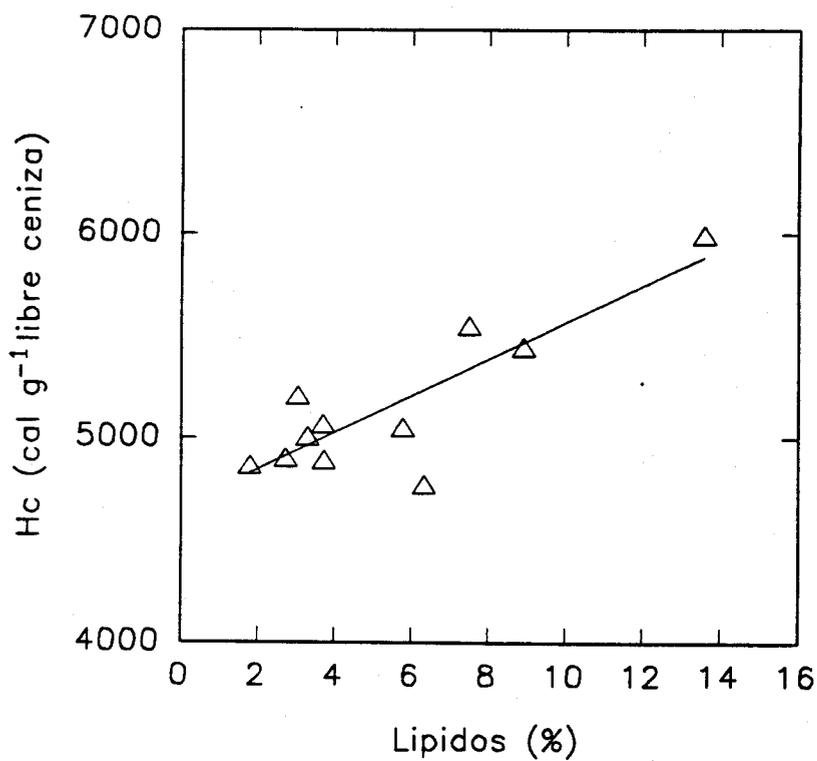
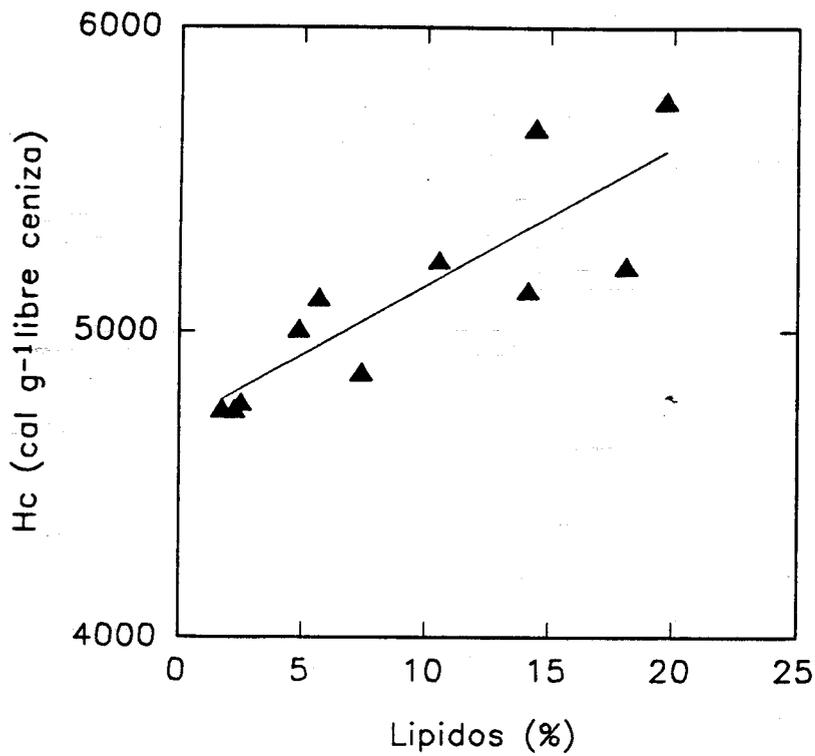


Figura 2.1. Relación entre el contenido calórico libre de ceniza (Hc) y la concentración de lípidos en las hojas semiperennes (▲) y hojas perennes (△) de especies representativas del sur de España. Las líneas representan las regresiones lineales de las especies semiperennes: $y = 4695.7 + 45.6 * x$ y perennes: $y = 4669.4 + 89.5 * x$.

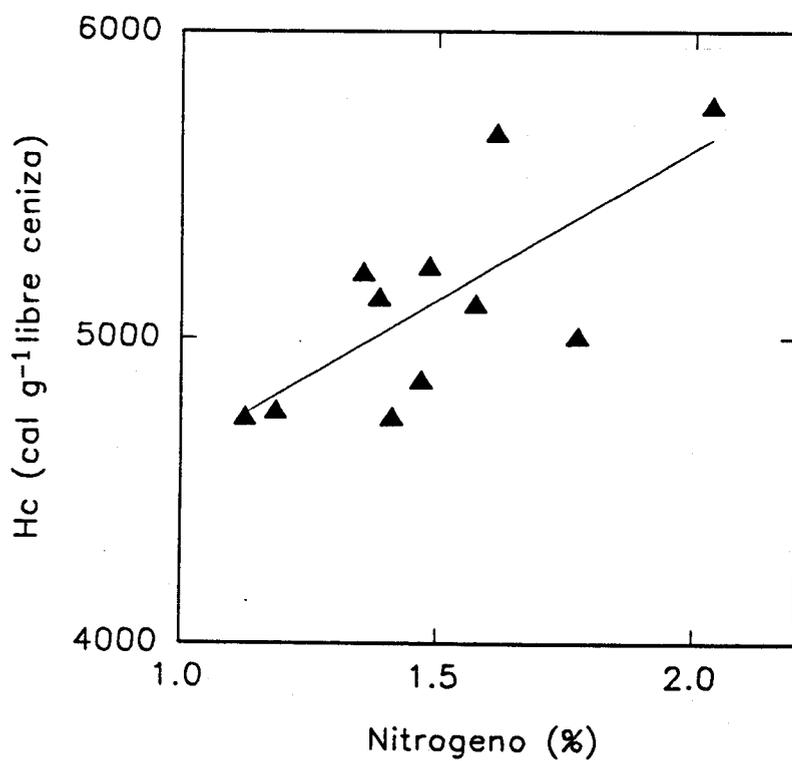


Figura 2.2. Relación entre el contenido calórico (Hc) y la concentración de nitrógeno en las hojas semiperennes (▲) de especies representativas del sur de España. La línea representa la regresión lineal: $y = 3641.3 + 98761.7 * x$.

semiperennes respectivamente) son muy similares y prácticamente idénticos al valor medio del contenido en energía en ausencia de lípidos de las hojas caducifolias de esas mismas localidades (4617 cal g⁻¹ libre de ceniza).

Por último, el cómputo del contenido energético de las hojas de las diferentes especies, calculado a partir de su concentración en lípidos explica la mayor parte de la diferencia entre el contenido calórico medio en ausencia de lípidos obtenido analíticamente (Figuras 2.1 y 2.2) y el valor de contenido calórico estimado para cada especie (Tabla 2.8).

Todo ello sugiere que las diferencias de costo de construcción detectadas entre las hojas de las especies perennifolias y de las caducifolias del sur de España se deben básicamente a la mayor concentración en lípidos de las primeras.

Las conclusiones anteriores pueden extenderse al conjunto de las hojas consideradas en el presente estudio, ya que las hojas de las especies caducifolias del sur de España no difieren de las restantes caducifolias ni de las perennifolias de ambientes más húmedos estudiadas (Tabla 2.5). Esto sugiere que los relativamente altos valores del costo de construcción estimados para las hojas de ambientes más xéricos se deben posiblemente a que poseen una concentración en lípidos superior al de las hojas perennifolias de ambientes más húmedos.

No obstante, la correlación existente entre el contenido calórico y la concentración de nitrógeno en las hojas semiperennes, sugiere que las diferencias observadas en el contenido calórico son también consecuencia -aunque en menor grado- de las diferencias en la concentración de otras fracciones; concretamente de la concentración de proteínas, en el caso de las especies semiperennes. En el caso de las especies perennes del sur de España, la variación del valor del contenido calórico de las hojas, podría estar relacionada (además de con la concentración de lípidos), con la concentración de otras fracciones, como por ejemplo la lignina.

En definitiva, los resultados no permiten detectar diferencias significativas en el costo de construcción asociadas a la amplitud del ciclo de vida de las hojas, sino que, por el contrario, parecen más una consecuencia del ajuste evolutivo a las características de cada ambiente concreto. En los ambientes mediterráneos, los lípidos son una fracción

significativa del costo total de las hojas perennes y semiperennes. Por esta razón, los costos de construcción elevados no parecen ser ni privativos ni típicos de las hojas esclerófilas "per se" (por ejemplo, las hojas de *Ilex platyphylla* poseen un alto grado de esclerofilia, pero su costo de construcción está en el tramo bajo del rango de valores, Apéndice I) sino más bien de todas aquellas que posean lípidos abundantes. Muchas hojas xeromorfas, como son las hojas de las especies semiperennes estudiadas, están en este caso, ya que poseen consistencia blanda y su concentración de lignina es baja (Gallardo 1990), pero presentan lípidos abundantes, por lo que su costo de construcción es muy elevado. Las hojas de las especies de la tundra consideradas en este estudio son muy flexibles pero presentan una alta concentración de lípidos, lo que se interpreta como una adaptación al almacenamiento de energía (Bliss 1962). Ambos tipos (semiperennes mediterráneos y caducifolios de la tundra) presentan un elevado costo de construcción, como ya se ha señalado anteriormente.

Aunque, como se ha comentado ya, la representación de la diversidad de especies leñosas en algunos de los ecosistemas estudiados es muy escasa, la Tabla 2.2 puede dar una idea del orden de magnitud de los costos de construcción medios de esos ecosistemas. Los valores más altos se registran en los ecosistemas donde el componente xeromorfo representa una parte importante de la flora presente en la muestra. El valor más alto corresponde a la tundra, lo que en definitiva, sugiere que las diferencias entre ecosistemas se deben básicamente a la riqueza en lípidos de sus floras correspondientes. La ausencia de otros patrones identificables en el valor del costo de construcción no apoya pues la hipótesis de Golley (1961) según la cual el contenido energético de los tejidos foliares aumenta con la latitud.

Es llamativo también el hecho de que no se detecte ningún otro patrón en los valores del costo medio que pueda asociarse al grado de estrés del habitat. En principio, el costo de construcción de un tejido es función, entre otros, de las condiciones de crecimiento y debería ser mayor en los habitats más estresados (Penning de Vries et al. 1974, Anthor 1989, Lambers 1990). Según Pitelka (1978) en los habitats estresados la inversión energética en la construcción de un órgano

debería ser la mínima compatible con su funcionalidad. Sin embargo, el costo de construcción medio estimado en hojas de especies leñosas del sur de España, creciendo en condiciones de estrés hídrico y nutricional y el estimado en habitats menos estresados, es muy constante (Merino 1987). Posiblemente, el ahorro de energía y, en general, el efecto de las situaciones estresantes, se traduce no en diferencias apreciables en el costo de construcción foliar, sino más bien en una variación en la cantidad (biomasa) de hojas por individuo (Villar 1987).

Esta constancia, así como la convergencia observada en los costos medios foliares en el conjunto de los ecosistemas estudiados, puede explicarse en base a la correlación negativa existente entre las concentraciones de las distintas fracciones foliares con un costo de síntesis elevado (Merino 1987, Chapin 1989). Esto no significa que no existan diferencias interespecíficas, ya que aunque la varianza observada en el conjunto de especies consideradas en el presente estudio puede calificarse de pequeña (coeficiente de variación del 7 %), el rango de valores observado oscila entre 1.2 y 1.8 g glucosa por gramo de peso seco de hojas de *Maytenus canariensis* y *Dryas integrifolia* respectivamente.

2.5. CONSIDERACIONES FINALES

Desde el punto de vista metodológico, es interesante señalar que el término que corresponde al valor de $2.6795 \cdot N$ en la fórmula de predicción del costo de construcción sólo supone alrededor del 3 % del valor total de éste. Por otra parte, este es el término cuya variación influye menos en las diferencias detectadas entre el costo de las hojas estudiadas; sobre todo si éstas no son caducifolias. Por todo ello, su contribución a la estimación del valor del costo de construcción de un órgano es prácticamente irrelevante, lo que simplifica las determinaciones químicas y las reducen en la práctica a la cuantificación del contenido energético y la concentración de cenizas de la muestra.

A pesar de la escasa entidad de las diferencias observadas en el costo de construcción medio en relación al tipo de ecosistema (coeficiente de variación del 5 %), las fuertes diferencias de peso específico que muestran las hojas estudiadas, se traducen en fuertes diferencias cuando el costo de construcción se expresa en términos de

superficie (Tabla 2.7). Así cuando las comparaciones se establecen entre ecosistemas extremos en cuanto al valor de su peso específico (por ejemplo el chaparral y el bosque templado), las diferencias en el costo de construcción pueden alcanzar valores superiores al 400 %. Igualmente, el costo de construcción medio referido a superficie de las hojas de larga duración es del orden del 200 % del que presentan las hojas de las especies caducifolias.

Estos resultados del análisis del costo en términos de superficie muestran pues que las hojas difieren mucho menos en su costo intrínseco (energía requerida para la construcción de un gramo de tejido) que en la forma en como se invierte esa energía para la construcción de la hoja. Concretamente, los resultados de la Tabla 2.6 indican que con un gramo de glucosa se pueden construir 90 cm² de hoja caducifolia, en tanto que solo pueden construirse 43 cm² de hoja perennifolia (ó 36 cm² de hoja semiperenne). Esta matización es importante ya que, si bien los costos de construcción (y mantenimiento) del tejido foliar son función del peso de tejido presente, la entrada de energía en el proceso fotosintético es función de la superficie foliar; por lo que, en igualdad de condiciones, el balance beneficio fotosintético-costo de síntesis al final de la estación de crecimiento es más positivo para la hoja caducifolia que para la perennifolia.

Hay que señalar que en tanto que la variación esperada en cuanto a la tasa fotosintética de las hojas en función de su carácter perennifolio o caducifolio es del orden del 50 % (Tabla 2.10), la diferencia en el costo de construcción de estos dos tipos de hojas es del orden del 100 % debido a la diferencia de peso específico, por lo que puede concluirse que, dado que las diferencias en el costo de construcción en relación a la longevidad de la hoja pueden considerarse pequeñas (coeficiente de variación del 3 %), el peso específico foliar es el parámetro más importante en la determinación de las diferencias esperadas en el balance beneficio-costo de las hojas de las especies leñosas.

	CADUCAS	PERENNES
FOTOSINTESIS (mg glu m ⁻² h ⁻¹)	1.15	0.77
COSTO CONSTRUCCION (g glu m ⁻²)	111.10	212.90

Tabla 2.10. Valores medios de la tasa de fotosíntesis máxima (recopilado de Mooney 1972, Chabot y Hicks 1982, Field y Mooney 1986) y costo de construcción en especies caducas y perennes.

CAPITULO 3

METODOS PARA LA ESTIMA DEL COSTO DE MANTENIMIENTO EN HOJAS

3.1. INTRODUCCION

La respiración de las plantas es el resultado de la suma de dos componentes: la respiración de crecimiento y la de mantenimiento (Hiroi y Monsi 1964, McCree 1970). La respiración de crecimiento es necesaria para la síntesis de nueva fitomasa, en tanto que la respiración de mantenimiento suministra la energía necesaria para mantener la fitomasa ya existente. Ambos componentes son de gran interés para el análisis del balance de carbono y para la generación de modelos de producción en estudios agrícolas, ecológicos y evolutivos.

Desde el punto de vista cuantitativo, el costo de mantenimiento es un factor de gran significación en el balance de carbono de una hoja, ya que puede suponer un gasto energético superior al costo de crecimiento (Penning de Vries 1974, Amthor 1989).

Existen diferentes aproximaciones básicas para la estimación del costo de mantenimiento. La aproximación teórica desarrollada por Penning de Vries (1975), estima el costo de mantenimiento a partir de coeficientes basados en el costo estimado de los principales procesos implicados (básicamente el mantenimiento de proteínas y lípidos de membrana y el gradiente de iones), las tasas a las que transcurren estos procesos y la eficiencia en la producción de energía e intermediarios metabólicos. Este método es adecuado únicamente para hacer estimaciones aproximadas, ya que no considera, entre otras, las diferencias entre las especies en cuanto a las tasas a las que transcurren esos procesos y las diferentes eficiencias con que las distintas especies utilizan la energía.

Otra aproximación se basa en la estimación de la producción de CO_2 asociada a los procesos de mantenimiento (respiración de mantenimiento); concretamente al producido en procesos respiratorios que suministran energía y cadenas carbonatadas para los procesos de mantenimiento. La tasa de respiración de mantenimiento puede ser determinada directamente a

partir de las tasas de producción de CO_2 de los órganos en los que el componente de respiración de crecimiento es nulo. Los métodos que se siguen para la estimación de la respiración de mantenimiento difieren principalmente en la forma en como se anula el componente respiratorio de crecimiento. Los más utilizados son: el método de regresión, el método de órgano maduro y el método de inanición.

El método de regresión, desarrollado por McCree (1970) y Hesketh (1971), analiza la relación entre respiración y el crecimiento en un tejido, órgano o individuo completo. La extrapolación de la tasa de respiración a una situación de crecimiento cero, punto en el que la respiración debida al crecimiento es nula, suministra la tasa de mantenimiento. Este método tiene la ventaja de que además de estimar la tasa de respiración de mantenimiento proporciona estimas de la tasa de respiración asociada al crecimiento. El inconveniente principal de este método es la dificultad que supone la estimación de la tasa de crecimiento en órganos de pequeño tamaño, como es el caso de las hojas de muchas especies.

El método de órgano maduro consiste en estimar la tasa de respiración en tejidos que ya han finalizado su fase de crecimiento y en los que se asume que la respiración de crecimiento es nula (Amthor 1989). En estas condiciones, la respiración total se debe exclusivamente a los procesos de mantenimiento. Este método tiene la ventaja de su gran facilidad y rapidez de aplicación y el inconveniente de que las tasas de respiración de mantenimiento pueden cambiar con la edad siguiendo un patrón complejo, y quizás impredecible.

El método de inanición consiste en someter las plantas a condiciones de oscuridad por periodos prolongados de tiempo con objeto de disminuir así el nivel de carbohidratos hasta que el crecimiento se detiene por falta de sustrato. En este estado de ausencia de crecimiento se asume que la tasa de respiración se debe exclusivamente a los procesos de mantenimiento (Penning de Vries 1975, Amthor 1989). Este método tiene la ventaja de que es muy fácil de aplicar, pero el inconveniente de que, al someter la planta a oscuridad durante un periodo de tiempo prolongado, se pueden producir cambios en el metabolismo que posiblemente afectan a la tasa de mantenimiento (Challa 1976, Breeze y Elston 1983).

Amthor (1989) ha realizado una evaluación de los resultados obtenidos por estos métodos en los estudios publicados sobre el costo de mantenimiento en hojas. Sin embargo, los resultados comparados corresponden a hojas de especies diferentes y en condiciones de crecimiento distintas, por lo que los resultados de la comparación de los diferentes métodos es poco satisfactoria.

El objetivo principal de este capítulo es comparar los resultados de los cuatro métodos descritos más arriba en hojas de las mismas especies creciendo en condiciones controladas.

3.2. MATERIAL Y METODO

Para la realización del trabajo se eligieron dos especies con características bien diferenciadas. Una perenne, *Nerium oleander* (L) y una caduca *Quercus canariensis* (Willd) (Tabla 3.1).

Las plantas se cultivaron en macetas en cámaras de cultivo con objeto de que las condiciones ambientales fuesen constantes para impedir así procesos de adaptación fisiológica. De esta forma, el costo de mantenimiento solo se debe a procesos de renovación de moléculas y mantenimiento del gradiente de iones.

Las plantas se regaron cada dos días con solución nutritiva Epstein al 100 % (Epstein 1972). La temperatura de la cámara de cultivo fué de 25 °C día y 20 °C noche. La luz procedía de tubos fluorescentes de 30 W (luz solar y ultravioleta) que daban una intensidad media de $250 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a la altura media de las plantas.

La tasa de respiración se determinó en hojas unidas a la planta, estimando la evolución de CO_2 en la oscuridad con ayuda de un sistema de intercambio de gases similar al descrito por Field et al. (1982) y manteniendo la temperatura de la hoja a 20 °C. Los cálculos de intercambio de gases fueron realizados según Field et al. (1989). La tasa de respiración se refirió a gramos de peso seco y se expresó en $\text{mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ hora}^{-1}$. El costo de mantenimiento se expresó en $\text{mg glucosa g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ utilizando la conversión $1 \text{ mg CO}_2 = 0.6823 \text{ mg glucosa}$ ($180.16 \text{ mg glucosa}/264.06 \text{ mg CO}_2$).

Para la estimación del costo de mantenimiento se aplicaron los siguientes métodos:

	<i>N. oleander</i>	<i>Q. canariensis</i>
Peso específico (g m ⁻²)	90	75
Area (cm ²)	40	25
Fotosíntesis neta (mg CO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹)	6.8	8.7
Duración de la hoja (años)	1-2	0.8

Tabla 3.1. Valores medios de diversas características observados en las hojas maduras de las dos especies estudiadas.

a) Método teórico

Se seleccionaron entre 5 a 8 hojas maduras de distintos individuos, se secaron a 80 °C y se molieron con un micromolino Culatti con una malla de 1 mm. En estas muestras se determinó la concentración de nitrógeno orgánico total (N) por el método de Kjeldhal.

El costo de mantenimiento de las hojas de cada especie se calculó multiplicando el coeficiente de mantenimiento asociado a la renovación de proteínas, estimado entre 28 y 53 mg glucosa g⁻¹ proteína día⁻¹ por la concentración de proteínas en el tejido (N * 6.25) y añadiéndole al valor obtenido el coeficiente de mantenimiento de las concentraciones iónicas, estimado entre 6 y 10 mg glucosa g⁻¹ día⁻¹ y de los lípidos de membrana (1.7 mg glucosa g⁻¹ día⁻¹) (Penning de Vries 1975).

b) Método de regresión

Se seleccionaron hojas de diferente edad en fase de crecimiento en distintos individuos de las dos especies consideradas. En cada hoja se estimó la tasa de crecimiento en un periodo de 4 días. La estimación se basó en medidas de área foliar realizadas los días 0 (inicio del experimento), 2 y 4. El área era determinada dibujando su contorno sobre láminas de acetato. Las áreas foliares medidas eran convertidas a sus correspondientes pesos secos utilizando regresiones lineales del peso seco foliar frente a la superficie foliar medida en hojas similares en tamaño y edad a las hojas de la muestra. En el caso de *N. oleander* las hojas consideradas en la regresión fueron las hojas opuestas a aquellas en las que se determinó el crecimiento. Los pesos de las hojas se determinaron después de secadas a 80 °C durante 48 horas. La tasa específica de crecimiento (SGR, mg g⁻¹ h⁻¹) de cada hoja se determinó según la expresión:

$$\text{SGR (mg g}^{-1} \text{ h}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Peso día 4 (mg)} - \text{Peso día 0 (mg)}}{\text{Peso día 2 (g)} * 4 * 24 \text{ horas}}$$

El día central del intervalo de medida (día 2) se estimó la tasa de respiración total de cada hoja, calculándose su tasa específica de respiración a partir de ese valor y del peso de la hoja en ese día.

Con los datos de SGR y SRR se aplicó la regresión $SRR = a + b * SGR$. La intersección de la recta de regresión con el eje de ordenadas (tasa de crecimiento igual a cero) se considera la tasa de respiración de mantenimiento.

c) Método de órgano maduro

Para obtener la respiración de mantenimiento por este método se estimó la tasa de respiración de 7 hojas de *Q. canariensis* y 10 hojas de *N. oleander* que habían finalizado su fase de crecimiento; considerándose como final de esta fase el estadio en que éstas alcanzan la superficie y peso específico característicos de las hojas maduras de cada especie, los cuales habían sido determinados en un análisis previo (Tabla 3.1).

d) Método de inanición

En este caso, la tasa de respiración de mantenimiento se obtuvo estudiando la evolución de la tasa de producción de CO_2 en hojas sometidas a un periodo de oscuridad prolongada, hasta alcanzar su estabilización. El valor medio de la tasa de respiración en el periodo de estabilización se consideró representativo de la respiración de mantenimiento. Un análisis previo mostró que el periodo anterior a la fase de estabilización podía ser muy prolongado, por lo que las medidas de respiración de cada hoja se realizaron a intervalos de 2 a 4 días. En total se consideraron entre 3 y 5 hojas de diferentes individuos.

Dado que un estudio previo mostró que la forma en que se imponía la oscuridad podía tener efectos distintos en la tasa de respiración, las estimaciones se realizaron en tres situaciones distintas:

- d1) Sometiendo a la planta completa a condiciones de oscuridad.
- d2) Sometiendo la hoja seleccionada a oscuridad y manteniendo el resto de la planta con un ciclo normal de luz-oscuridad.
- d3) Separando la hoja de la planta y manteniendo el peciolo en agua y en condiciones de oscuridad durante el tiempo de realización del experimento.

3.3. RESULTADOS

a) Método teórico

En la Tabla 3.2 se presentan los resultados del análisis de la concentración de nitrógeno, concentración estimada de proteínas y el costo de mantenimiento de las hojas de las dos especies estudiadas según el método teórico. Como puede comprobarse, los costos de mantenimiento son muy similares, aunque el de *N. oleander* es algo superior, estando comprendido entre 13.80 y 25.70 mg glucosa g⁻¹ día⁻¹, en tanto que en *Q. canariensis* el rango está entre 12.87 y 21.48 mg glucosa g⁻¹ día⁻¹.

b) Método de regresión

En la Figura 3.1 se presenta la relación entre la tasa específica de crecimiento (SGR) y la tasa específica de respiración (SRR) de las hojas de las dos especies estudiadas. La intersección de la recta de regresión con el eje de ordenadas (tasa de crecimiento cero) corresponde a la tasa de respiración de mantenimiento.

Los valores de la respiración de mantenimiento son 1.24 ± 0.27 y 2.19 ± 0.37 mg CO₂ g⁻¹ h⁻¹ para *N. oleander* y *Q. canariensis* respectivamente, lo que corresponde a un costo de mantenimiento de 20.28 ± 4.48 y 35.87 ± 6.02 mg glucosa g⁻¹ día⁻¹.

c) Método órgano maduro

En la Tabla 3.3 se presentan los resultados del análisis de la respiración de las hojas maduras de las dos especies estudiadas. Las hojas maduras de *N. oleander* presentan un valor medio de respiración de mantenimiento de 0.79 ± 0.27 mg CO₂ g⁻¹ h⁻¹, lo que corresponde a un costo de mantenimiento de 12.92 ± 4.48 mg glucosa g⁻¹ día⁻¹, en tanto que la tasa media de respiración de las hojas de *Q. canariensis* es 1.31 ± 0.26 mg CO₂ g⁻¹ h⁻¹, lo que corresponde a un costo de mantenimiento de 21.37 ± 4.26 mg glucosa g⁻¹ día⁻¹.

d) Método de inanición

d1) *Planta completa sometida a oscuridad*

En la Figura 3.2 se presenta la evolución de la tasa de respiración de las hojas de *N. oleander* y *Q. canariensis* en plantas sometidas a

	<i>N. oleander</i>	<i>Q. canariensis</i>
Nitrógeno (%)	4.24	2.95
Proteínas (%)	26.5	18.4
Costo de mantenimiento (mg glu g ⁻¹ día ⁻¹)	13.8 - 25.7	12.9 - 21.5

Tabla 3.2. Concentración de nitrógeno y proteínas (nitrógeno * 6.25) y valor mínimo y máximo de costo de mantenimiento según los coeficientes de Penning de Vries (1975) en las hojas de las dos especies estudiadas.

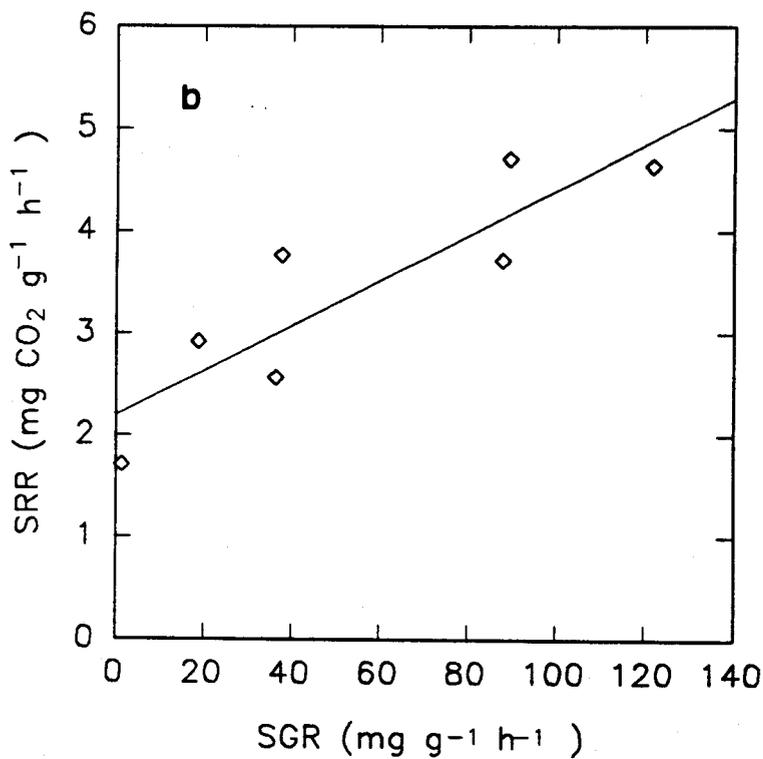
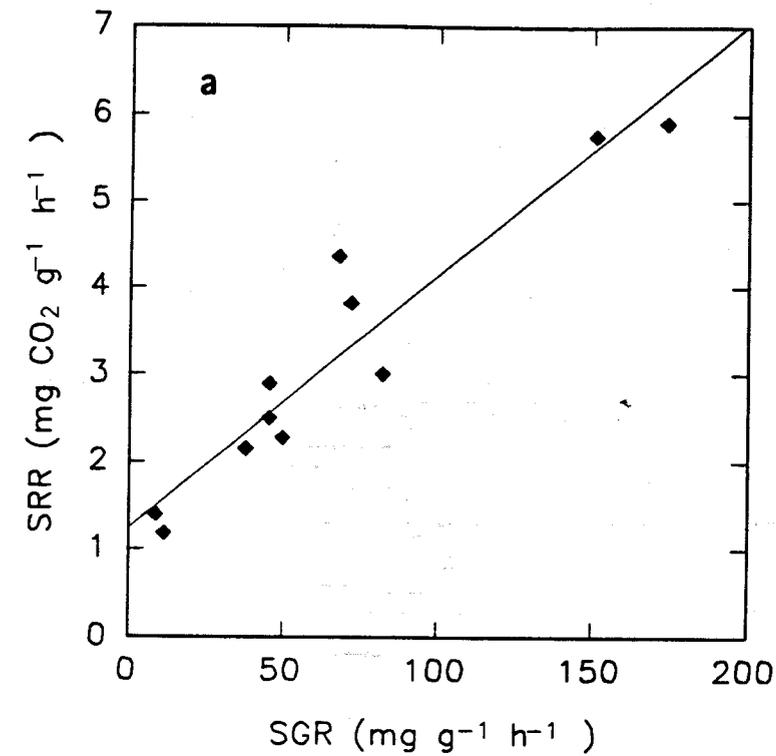


Figura 3.1. Relación entre la tasa específica de respiración (SRR) y la tasa específica de crecimiento (SGR) en las hojas de *N. oleander* (a) y *Q. canariensis* (b). Para *N. oleander* la línea representa la regresión lineal $y = 1.23884 + 0.029 * x$; ($n=11$, $r=0.95$, $p<0.01$). En el caso de *Q. canariensis* la línea representa la regresión lineal $y = 2.1904 + 0.0221 * x$ ($n=7$, $r= 0.88$, $p<0.01$).

Respiración de mantenimiento
(mg CO₂ g⁻¹ h⁻¹)

Hoja	<i>N. oleander</i>	<i>Q. canariensis</i>
1	0.51	1.23
2	0.47	1.03
3	1.22	1.46
4	0.80	1.58
5	0.85	1.59
6	1.21	1.32
7	0.58	0.93
8	0.45	
9	0.61	
10	1.12	
11	0.98	
12	0.71	
13	0.74	
MEDIA	0.79	1.31
S.D.	± 0.27	± 0.26

Tabla 3.3. Valores de respiración de mantenimiento obtenidos por el método de órgano maduro en las hojas de *N. oleander* y *Q. canariensis*.

oscuridad. Como puede comprobarse, en los dos casos, la tasa de respiración experimentó una caída brusca (más marcada en *Q. canariensis*) durante los primeros 5 días y una tendencia posterior a la estabilización que se alcanza hacia los 6 días en *N. oleander* y hacia los 3-4 días en *Q. canariensis*. Los valores medios de estabilización para *N. oleander* y *Q. canariensis* son respectivamente 0.22 ± 0.04 y 0.33 ± 0.12 mg CO₂ g⁻¹ h⁻¹, lo que corresponde a un costo de mantenimiento de 3.52 ± 0.64 y 5.38 ± 2.00 mg glucosa g⁻¹ día⁻¹.

d2) Hojas sometidas a oscuridad

En la Figura 3.3 se presenta la evolución de la tasa de respiración de hojas de *N. oleander* y *Q. canariensis* en las que, a diferencia del caso anterior, sólo se sometió a condiciones de oscuridad las hojas consideradas en el análisis. La evolución de la tasa de respiración es similar a la observada en el caso anterior (Figura 3.2), pero con la diferencia de que las oscilaciones a lo largo del experimento fueron más marcadas y la tasa de respiración descendió más lentamente, por lo que tardó más tiempo en alcanzarse la fase de estabilización.

En el caso de las hojas de *Q. canariensis* la estabilización tardó en alcanzarse unos 8 días, siendo la tasa de respiración de mantenimiento 0.51 ± 0.09 mg CO₂ g⁻¹ h⁻¹, lo que equivale a un costo de mantenimiento de 8.40 ± 1.40 mg glucosa g⁻¹ día⁻¹. Las hojas de *N. oleander* no alcanzaron una fase nítida de estabilización hasta transcurridos los 15 días, tiempo en que fué necesario detener los experimentos porque las hojas mostraban síntomas visibles de degradación (marchitamiento, necrosis, etc). No obstante, si a la vista de los resultados en la Figura 3.3 se considera que transcurridos los 10 días comienza una fase incipiente de estabilización, la respiración de mantenimiento podría situarse en 0.28 ± 0.04 mg CO₂ g⁻¹ h⁻¹, lo que equivale a un costo de mantenimiento de 4.58 ± 0.72 mg glucosa g⁻¹ día⁻¹ para las hojas de esta especie.

d3) Hoja separadas de la planta y sometidas a oscuridad

En la Figura 3.4 se presenta la evolución de la tasa de respiración en hojas de las dos especies estudiadas separadas de la planta y

sometidas a condiciones de oscuridad. En los dos casos, y a diferencia de los experimentos anteriores, durante las primeras 20 horas se produce un aumento de la tasa de respiración. Posteriormente se produce un rápido y continuo descenso, alcanzándose la fase de estabilización hacia las 30 ó 40 horas de iniciación del experimento. La estabilización se produce a valores que pueden situarse en 0.36 ± 0.03 y 0.93 ± 0.12 mg CO₂ g⁻¹ h⁻¹ para *N. oleander* y *Q. canariensis* respectivamente, lo que corresponde a un costo de mantenimiento de 5.92 ± 0.43 y 15.19 ± 2.01 mg glucosa g⁻¹ día⁻¹.

3.4. DISCUSION

En la Tabla 3.4 se presenta un resumen de los resultados medios obtenidos por cada método. Cada uno proporciona una estima del costo de mantenimiento que difiere significativamente de los demás. El orden de los valores de costo de mantenimiento estimado según los distintos métodos es:

Regresión > Organo maduro = Teórico > Inanición

y dentro del método de inanición:

Hoja separada > Hoja oscuridad > Planta oscuridad.

El método basado en el análisis de la relación crecimiento-respiración, que se ha denominado de Regresión en el presente estudio, presenta en el caso de las dos especies estudiadas los valores de costo de mantenimiento más altos; lo que se debe posiblemente a que, debido a los condicionantes del método, el análisis debe realizarse en hojas que están en la fase de crecimiento activo, lo que restringe las determinaciones a las hojas más jóvenes.

Las hojas más jóvenes suelen presentar unas tasas metabólicas más altas debido, entre otras causas, a la mayor abundancia de moléculas más activas (proteínas, lípidos de membrana). El carácter más lábil (turnover más alto) de las fracciones moleculares más activas supone un mayor costo de mantenimiento de esas fracciones; lo que se traduce en unos costos más altos para el órgano en cuestión.

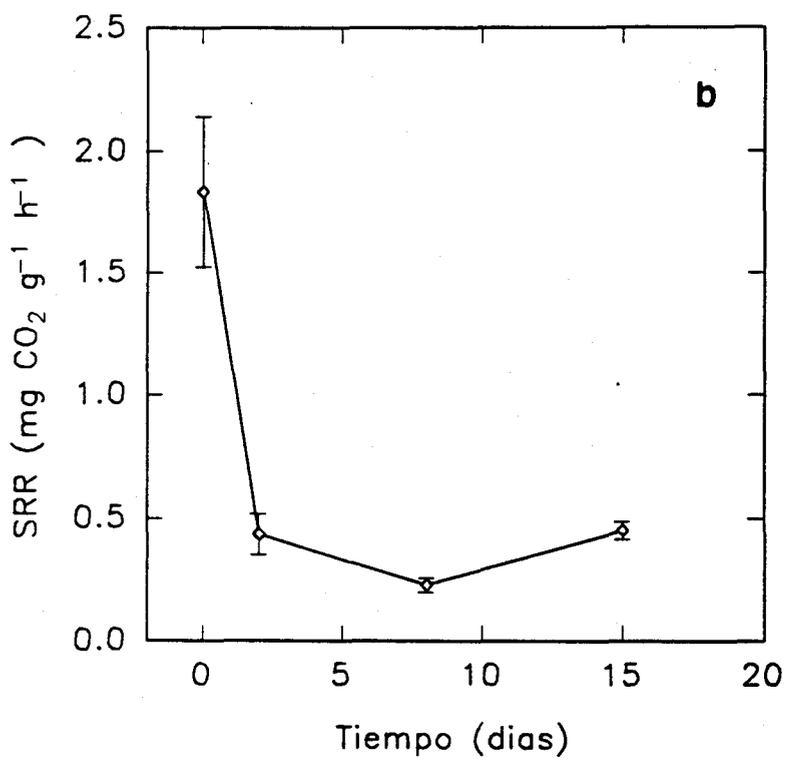
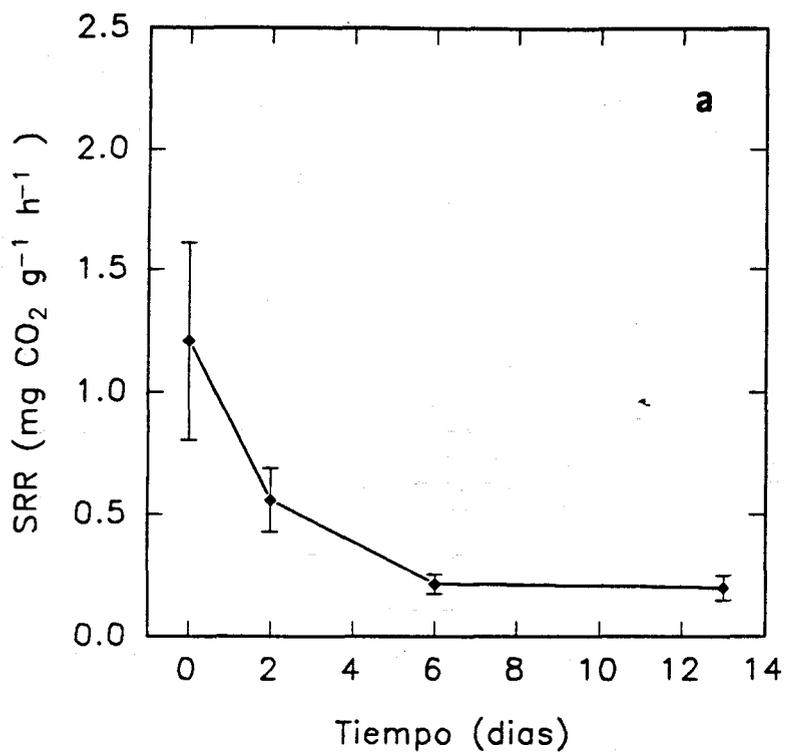


Figura 3.2. Evolución de la tasa específica de respiración (SRR) en hojas de *N. oleander* (a) y *Q. canariensis* (b) sometiendo a la planta completa a un periodo prolongado de oscuridad. Cada punto representa la media de 3-5 medidas. Los segmentos verticales representan la desviación standard.

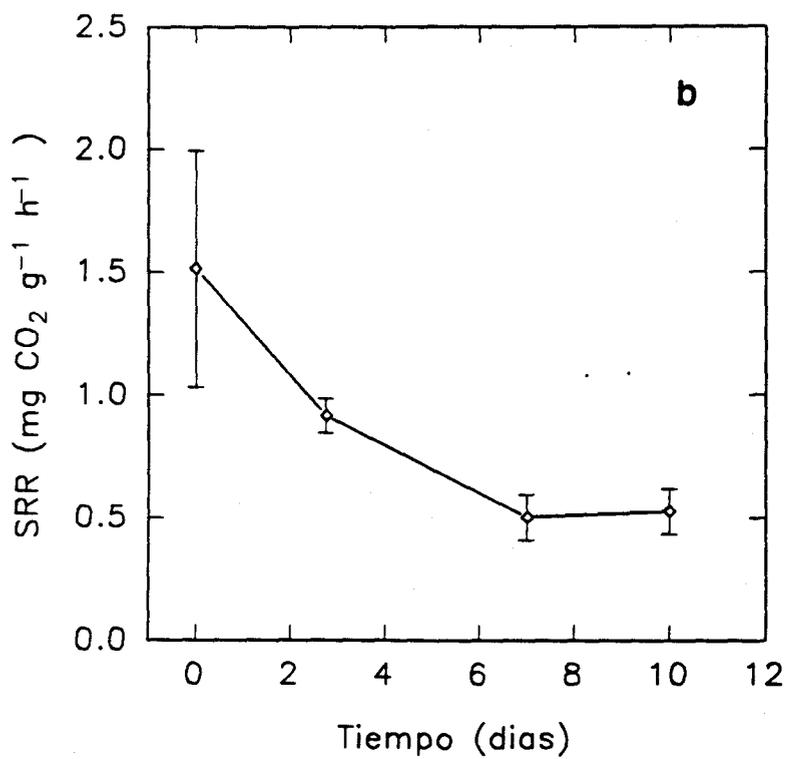
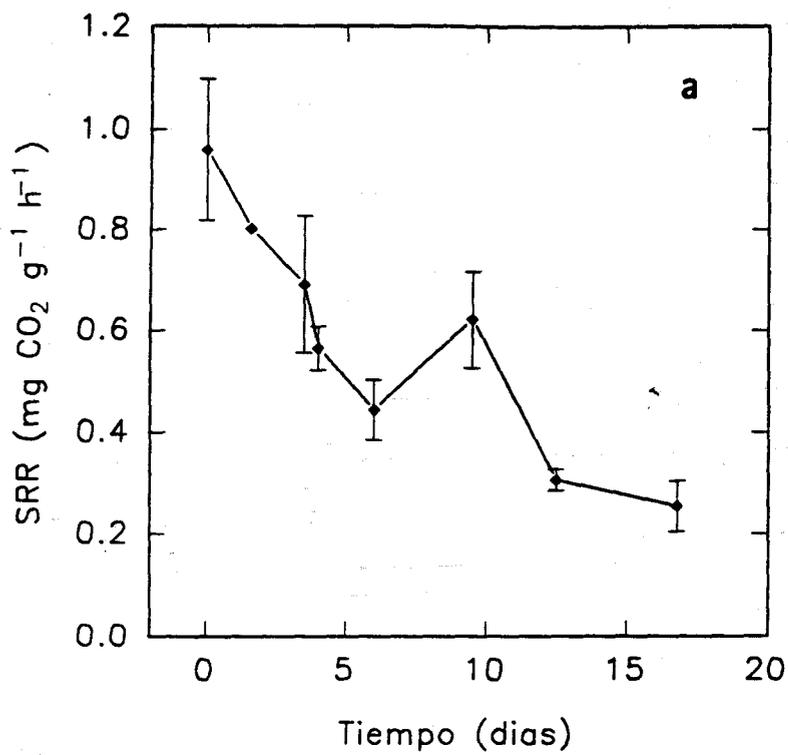


Figura 3.3. Evolución de la tasa específica de respiración (SRR) en hojas de *N. oleander* (a) y *Q. canariensis* (b) sometidas individualmente a condiciones de oscuridad. Cada punto representa la media de 3-5 medidas. Los segmentos verticales representan la desviación standard.

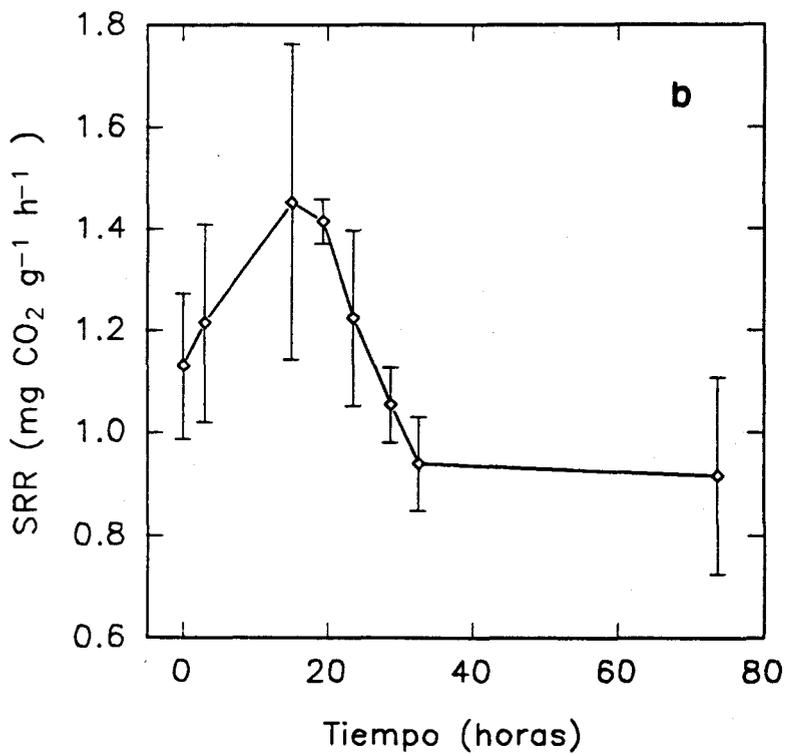
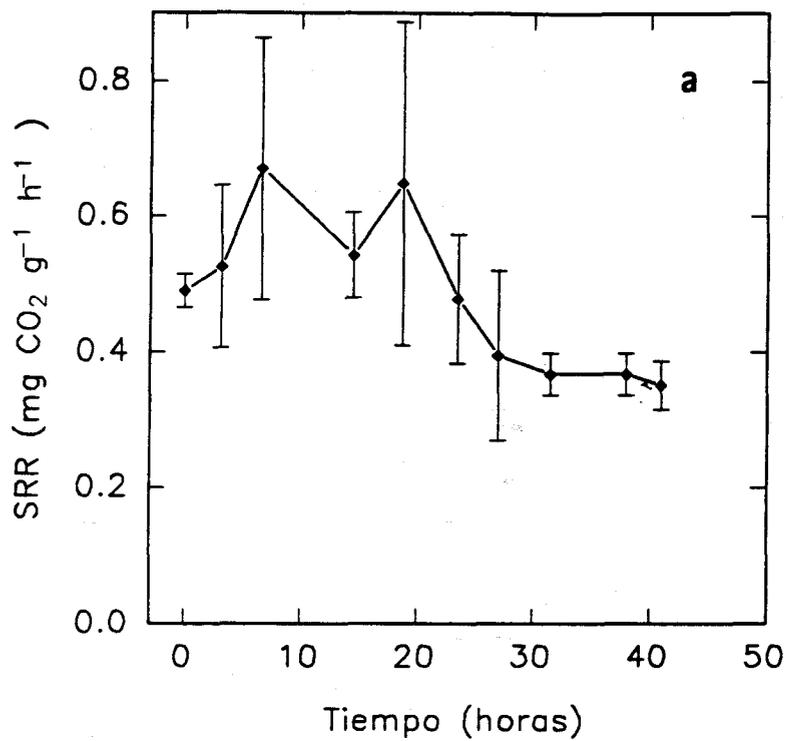


Figura 3.4. Evolución de la tasa específica de respiración (SRR) en hojas de *N. oleander* (a) y *Q. canariensis* (b) separadas de la planta y sometidas a un periodo prolongado de oscuridad. Cada punto representa la media de 2 medidas. Los segmentos verticales representan la desviación standard.

<u>METODO</u>	<u>N. oleander</u>	<u>Q. canariensis</u>
a) Teórico		
mínimo	13.80	12.87
máximo	25.70	21.48
b) Regresión	20.28 ± 4.48	35.87 ± 6.02
c) Tejido maduro	12.92 ± 4.48	21.37 ± 4.26
d) Inanición		
d1) Planta completa	3.52 ± 0.64	5.38 ± 2.00
d2) Hoja oscuridad	4.58 ± 0.72	8.40 ± 1.40
d3) Hoja separada de la planta	5.92 ± 0.43	15.19 ± 2.01

Tabla 3.4. Resumen de los valores medios de costo de mantenimiento (mg glucosa g^{-1} día $^{-1}$) estimado en las hojas de *N. oleander* y *Q. canariensis* según los métodos que se indican. Las medias obtenidas por los diferentes métodos son significativamente distintas ($p < 0.05$) tanto en *N. oleander* como en *Q. canariensis* (test t-Student). La respiración de mantenimiento de *Q. canariensis* es significativamente superior ($p < 0.05$) que en *N. oleander* en todos los casos considerados.

En cambio, el método de tejido maduro genera estimas a partir de hojas que han superado la fase de crecimiento y que, posiblemente por ello, presentan un metabolismo más bajo; lo que explica que los valores sean más bajos que los obtenidos por el método anterior. La relación positiva y significativa entre la tasa de crecimiento y costo de mantenimiento ha sido observada por distintos autores (Wilson et al. 1980, McCree 1982).

Tanto en el caso del método de regresión (una vez eliminado el componente de respiración de crecimiento) como en el de órgano maduro, la evolución de CO_2 medida se debe no sólo a la respiración asociada a los procesos de mantenimiento, sino también a la producción de CO_2 relacionada con otros procesos; fundamentalmente con el transporte de carbohidratos hacia otros órganos de la planta. Por lo tanto, para obtener tasas de respiración de mantenimiento más realistas habría que restar a las tasas de respiración, la debida a procesos de traslocación de carbohidratos.

Peel (1987) ha estimado el costo medio del transporte de azúcares en 36.5 mg glucosa por gramo de sacarosa transportado. En el caso de *N. oleander*, considerando una asimilación neta durante el día de 68 mg CO_2 (tasa de fotosíntesis, Tabla 3.1, en 10 horas de fotoperiodo) y que alrededor de un 50% de carbohidrato sintetizado se transporta como sacarosa hacia otros órganos (Moorby 1981, Devlin y Witham 1983), el costo asociado a la traslocación sería de 0.84 mg glucosa $\text{g}^{-1} \text{ día}^{-1}$, lo que supone alrededor de un 5 % del costo de mantenimiento observado por estos dos métodos (Tabla 3.4). En el caso de *Q. canariensis*, el costo asociado al transporte de sacarosa sería de 1.08 mg glucosa $\text{g}^{-1} \text{ día}^{-1}$, lo que representaría alrededor de un 3.5 % del costo de mantenimiento estimado por estos dos métodos. Todo ello indica que los valores de costo de mantenimiento obtenidos por estos dos métodos estarían ligeramente sobrestimados por efecto de los procesos de transporte (en torno al 3-5 %).

En cualquier caso, los valores obtenidos en el caso de los dos métodos anteriores pueden considerarse realistas, ya que están comprendidos en el rango de los valores del costo de mantenimiento publicados para especies de interés agrícola (18.01 - 81.87 mg glucosa g^{-1}

¹ día⁻¹, Amthor 1989) a partir de estimaciones basadas en la cuantificación de sus tasas de respiración. La localización de los valores de los costos de mantenimiento, estimados en el presente estudio, en el tramo inferior de ese rango puede explicarse como consecuencia del ~~generalmente~~ más alto metabolismo de las especies seleccionadas para su aprovechamiento agrícola.

En cuanto al método de inanición hay que subrayar que los valores de respiración de mantenimiento obtenidos por este método están muy por debajo del rango de valores publicado; y son, en todos los casos, inferiores a los obtenidos por los métodos anteriores. La respiración observada durante periodos extendidos de oscuridad podría representar la tasa mínima de respiración del órgano, más que la respiración de mantenimiento, ya que en estas condiciones su metabolismo debe estar asociado con la mera supervivencia, con lo que la tasa de respiración será menor que la necesaria para mantener el tejido de la planta en un estado funcional (Penning de Vries 1975, Amthor 1989).

El método de inanición ha sido objeto de numerosas críticas debido principalmente a los profundos cambios fisiológicos y bioquímicos, que inducen los largos periodos de oscuridad (McCree y Silsby 1978, Amthor 1989); ya que, en estas condiciones, las plantas suelen metabolizar incluso sus propios componentes estructurales (Challa 1976), lo que se manifiesta, por ejemplo en su incapacidad para recuperar las tasas fotosintéticas originales cuando se las devuelve a condiciones de luz (Breeze y Elston 1983). El 25 % de disminución observada en la concentración de nitrógeno de las hojas sometidas a oscuridad respecto de la concentración en hojas similares creciendo en condiciones normales en cuanto al fotoperiodo (Tabla 3.5), puede interpretarse como un claro indicio de degradación. Todo ello sugiere que durante el periodo en que las hojas están sometidas a oscuridad se llega a una situación compleja en la que tienen lugar procesos de sentido contrapuesto en los que la posible disminución de la tasa de respiración por debajo de los valores reales de mantenimiento, consecuencia de la disminución de la actividad metabólica, puede ir acompañada de un aumento paralelo asociado a la degradación y oxidación de algunas fracciones moleculares con mayor o menor carácter estructural.

	<u>N. oleander</u>	<u>Q. canariensis</u>
Condiciones normales	4.24	2.95
Oscuridad durante 10 días	2.97	2.28
Diferencia (%)	29.9	22.7

Tabla 3.5. Concentración de nitrógeno (%) en hojas en condiciones normales y en hojas de la misma edad sometidas a periodos prolongados de oscuridad (10 días).

Por otra parte, las diferencias ($p < 0.05$) observadas entre los resultados de las tres variantes seguidas de este método sugieren que existen interacciones entre las hojas objeto de estudio y el resto de la planta que podrían interferir en las estimaciones. Así, cuando se mantiene la planta iluminada durante la realización de los experimentos, la hoja objeto de estudio puede importar azúcares sintetizados por las hojas iluminadas, lo que explicaría que los valores estables sean más elevados y que la estabilización tarde más tiempo en alcanzarse que cuando se oscurece la planta completa (Tabla 3.4, Figura 3.2 y 3.3). Ello sugiere, a su vez, que el nivel de reserva energética del órgano (o del individuo completo) es un factor determinante del tiempo que se requiere para alcanzar el periodo de estabilización. Así, con plantas de pequeño tamaño o con órganos aislados la estabilización suele alcanzarse en una 40 horas (Irving y Silsbury 1987, Robson y Parson 1981, Figura 3.4), lo que permite realizar las determinaciones cuando la hoja no ha experimentado aún alteraciones fisiológicas significativas.

Por último, hay que señalar el hecho de que, independientemente del método seguido, las hojas de *Q. canariensis* presentan siempre una tasa de respiración superior a la estimada en *N. oleander* ($p < 0.05$) (Tabla 3.4). Esto puede ser debido a que por su carácter caducifolio conlleva un metabolismo más alto, como de hecho sugiere su tasa fotosintética más elevada (Tabla 3.1).

El hecho de que la concentración de nitrógeno de las hojas de *Q. canariensis* sea más baja (Tabla 3.2) sugiere que la concentración de nitrógeno "per se" no siempre es un buen indicador del costo de mantenimiento. De hecho, el costo de mantenimiento no necesariamente debe estar relacionado con el contenido de proteínas, sino con la tasa de renovación de éstas (Amthor 1989); aunque, en muchos casos, contenido y renovación de proteínas están relacionados positiva y significativamente (Jones et al. 1978). Sin embargo, el nitrógeno puede estar en múltiples formas distintas - algunas no proteínicas- poseyendo cada una diferentes tasas de renovación (Merino et al. 1984). Por todo ello, la aplicación del método de los coeficientes de Penning de Vries (1975) no parece ser el más adecuado cuando se pretende poner de manifiesto diferencias entre especies.

3.5. CONSIDERACIONES FINALES

En resumen, el método de inanición no parece ser el más adecuado para la estima del costo de mantenimiento, dados los profundos cambios bioquímicos y fisiológicos que tienen lugar en los tejidos sometidos a oscuridad durante periodos prolongados de tiempo y a las alteraciones metabólicas que tienen lugar en hojas separadas de la planta. Por otra parte, la aplicación de los coeficientes de mantenimiento propuestos por Penning de Vries (1975) (método teórico) proporcionaría sólo valores con carácter indicador.

Posiblemente, el método de regresión y el de órgano maduro generan los valores más realistas del costo de mantenimiento, aunque los resultados obtenidos por ambos métodos difieren significativamente ($p < 0.001$). Esta diferencia se debe posiblemente al cambio que experimenta la tasa de respiración de mantenimiento con la ontogenia del órgano; por lo que el primero suministraría la respiración de mantenimiento de un órgano joven; en tanto que el segundo suministraría la respiración de mantenimiento de uno maduro. En este sentido, los valores obtenidos por estos dos métodos representarían respectivamente el límite superior e inferior del costo de mantenimiento de las hojas durante su ciclo de vida.

No obstante, dadas las dificultades que supone el análisis de la relación crecimiento-respiración en especies con hojas de pequeño tamaño, y las ventajas que supone el método de órgano maduro en cuanto a rapidez y simplicidad, éste último parece el más adecuado en la realización de estudios que suponen la consideración de un conjunto de especies que incluyen hojas con características distintas.

CAPITULO 4

COSTO DE MANTENIMIENTO EN HOJAS DE ESPECIES LEÑOSAS

4.1. INTRODUCCION

El costo de mantenimiento de un órgano es la energía necesaria para mantener la fitomasa existente; y se emplea principalmente en la renovación de moléculas lábiles, en el mantenimiento del gradiente de iones y en procesos de adaptación a nivel fisiológico.

Desde el punto de vista cuantitativo, el costo de mantenimiento supone un gasto energético importante para la planta que puede superar al costo de construcción (Penning de Vries 1975, Amthor 1989). Por ello, el estudio del costo de mantenimiento es de gran interés en el análisis del balance de carbono y para la elaboración de modelos de producción en estudios agrícolas y ecológicos. Puede dar idea de este interés el hecho de que en los últimos años se esté desarrollando líneas de investigación dirigidas a obtener variedades de especies de interés agrícola con bajos costos de mantenimiento para mejorar su productividad (Wilson 1982). Sin embargo, a pesar de que existen muchos trabajos sobre el costo de mantenimiento de especies herbáceas de interés agrícola, los referentes a especies silvestres son muy escasos.

Aunque la consideración aislada del costo de mantenimiento no permite posiblemente sacar conclusiones sobre las posibles estrategias asociadas al balance de carbono de un órgano, podría esperarse en principio que la evolución hubiese llevado a las hojas de las especies perennes mediterráneas a unos costos de mantenimiento más bajos, ya que las hojas de estas especies tienen que persistir durante periodos en los que la ganancia neta de carbono es muy baja (Mooney y Dunn 1970, Orians y Solbrig 1977, Merino et al. 1982).

Sin embargo, la información disponible es escasa y fragmentaria en cuanto al número y tipo de especies consideradas, y poco comparable debido al abanico de métodos considerados; no existiendo estudios que combinen una diversidad de especies suficientemente amplia con la aplicación de un único método para la estimación del costo de

mantenimiento; todo lo cual dificulta la obtención de conclusiones de validez general.

El objetivo del presente estudio es estimar el costo de mantenimiento de las hojas en un conjunto de especies leñosas; tratando de detectar las posibles diferencias existentes entre las hojas de corta y larga duración.

4.2. MATERIAL Y METODO

Para el estudio se seleccionaron 26 especies leñosas, la mayoría de las cuales son representativas de los distintos ecosistemas del Suroeste de la Península Ibérica y que aparecen listadas en la Tabla 1. El conjunto incluye especies arbóreas y de matorral que difieren en la longevidad de la hoja. Para la determinación de las especies se siguió a Valdés et al. (1987). La longevidad de la hoja de las distintas especies se tomó de diversas fuentes (Valdés et al. 1987, Diamantoglou y Mitrakos 1981, Orshan 1989) y observaciones de campo. Las especies se clasificaron según su longevidad de la hoja en tres grupos: especies de hoja caduca (longevidad de la hoja de 4 a 8 meses), semiperennes (especies de matorral xerofítico que aún poseyendo hojas durante todo el año, la longevidad de la hoja está entre 5 y 12 meses) y especies de hoja perenne (longevidad de la hoja entre 12 y 24 meses). Las especies de hoja marcescente (*Q. canariensis*, *Q. faginea*, *Q. lusitanica*, *Q. pyrenaica*) se consideraron dentro del grupo de especies caducas, dado que la vida media de sus hojas es menor de un año.

Las plantas se cultivaron en macetas durante un periodo medio de 3 años, se mantuvieron a la intemperie y se regaron diariamente, abonándolas cada tres meses con 20 g m⁻² de fertilizante sólido granulado (12 % nitrógeno, 12 % anhídrico fosfórico, 17 % óxido de potasio, 1.2 % magnesio, 6 % azufre y otros micronutrientes en menor porcentaje).

Durante el periodo en que se hicieron las medidas de respiración (julio 1991) las temperaturas diurnas a la sombra oscilaron entre los 20 - 35 °C y las nocturnas entre 15 - 20 °C y la intensidad luminosa máxima fue de 600 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

El costo de mantenimiento se estimó como la tasa de respiración en la oscuridad de las hojas que habían finalizado su fase de crecimiento

(método descrito en el capítulo anterior). Las medidas de respiración (flujo de CO₂) se realizaron con un sistema de intercambio de gases similar al descrito por Field et al. (1982). Las medidas se realizaron en oscuridad manteniendo la temperatura de la hoja a 20 °C, y se prolongaron durante aproximadamente una hora, hasta obtener una tasa de respiración constante. Las tasas de respiración se refirieron al peso seco de la hoja y se expresaron en mg glucosa g⁻¹ día⁻¹. Para ello se utilizó la conversión 1 mg CO₂ = 0.6823 mg glucosa (180.16 mg glucosa / 264.06 mg CO₂).

En la mayoría de los casos las medidas de respiración se realizaron introduciendo en la cámara una sola hoja unida a la planta. En el caso de las especies con hojas pequeñas (superficie foliar menor de 2 cm²) se introducía en la cámara un tallo con varias hojas maduras. En este caso, una vez obtenida la tasa de respiración de la rama completa (hojas y tallo), se cortaban las hojas y al día siguiente se medía de nuevo la respiración del tallo desprovisto de hojas; calculándose la respiración de las hojas como la diferencia de la respiración de la rama completa y la respiración del tallo desprovisto de hojas. Experimentos previos con *Q. lusitanica* que posee hojas cuyo tamaño (superficie media: 2.7 cm²) permite introducir en la cámara tanto una rama provista de varias hojas como las hojas consideradas individualmente, demostraron que las dos aproximaciones daban resultados muy similares. En las especies con hoja compuesta y superficie amplia (*Acer negundo*, *Ceratonia siliqua* y *Juglans regia*) se estimaba la respiración de uno sólo de los folíolos.

En las mismas hojas donde se midió la respiración se midió su superficie, utilizando un sistema analizador de área foliar (Skye Instruments LTD, Escocia) y se obtuvo su peso fresco, su peso seco a 80 °C y su concentración de nitrógeno orgánico total (método Kjeldhal). A partir de estos datos se calculó el peso específico (g m⁻²) y el contenido en agua (%) de la hoja según las expresiones:

$$\text{peso específico (g m}^{-2}\text{)} = \frac{\text{peso seco (g)}}{\text{superficie (m}^2\text{)}}$$

$$\text{contenido en agua (\%)} = \frac{\text{peso fresco (g)} - \text{peso seco (g)}}{\text{peso seco (g)}}$$

En de cada especie se consideraron al menos cuatro hojas de individuos diferentes. En todas las hojas se realizaron las medidas descritas, salvo la concentración de nitrógeno que se obtuvo del homogenizado de todas las hojas consideradas en cada especie.

4.3. RESULTADOS

En la Tabla 4.1 se presentan los valores medios de las variables consideradas en las hojas de las 26 especies estudiadas.

El rango de los valores medios del costo de mantenimiento foliar está situado entre 5.25 mg glucosa $\text{g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ para *Ceratonia siliqua* y 27.60 mg glucosa $\text{g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ para *Cistus salvifolius*, siendo el valor medio para todas las especies 13.78 mg glucosa $\text{g}^{-1} \text{ día}^{-1}$.

En la Tabla 4.2 se presenta un resumen de los coeficientes de correlación entre las cuatro variables estudiadas.

El peso específico foliar esta correlacionado negativamente ($p < 0.05$) con la concentración de nitrógeno; en tanto que esta última está correlacionada positivamente ($p < 0.001$) con el contenido hídrico (Figura 4.1).

Por su parte, el costo de mantenimiento de las hojas está correlacionado negativamente ($p < 0.05$) con su peso específico y positivamente ($p < 0.05$) con su concentración de nitrógeno (Figura 4.2) y con su contenido hídrico (Figura 4.3).

Cuando se analiza cada una de las variables estudiadas agrupando las especies según la duración de la hoja (caduca, semiperenne y perenne) se detectan diferencias significativas en las características de los distintos grupos (Tabla 4.3).

Así las hojas de las especies perennifolias y caducifolias difieren al ser, en estas últimas, más elevados el costo de mantenimiento y la concentración de nitrógeno ($p < 0.05$) y más bajo su peso específico ($p < 0.001$); presentando un contenido de agua similar; en tanto que las hojas de semiperennes presentan el contenido de agua más elevado ($p < 0.05$) y unas características intermedias respecto a los dos tipos foliares

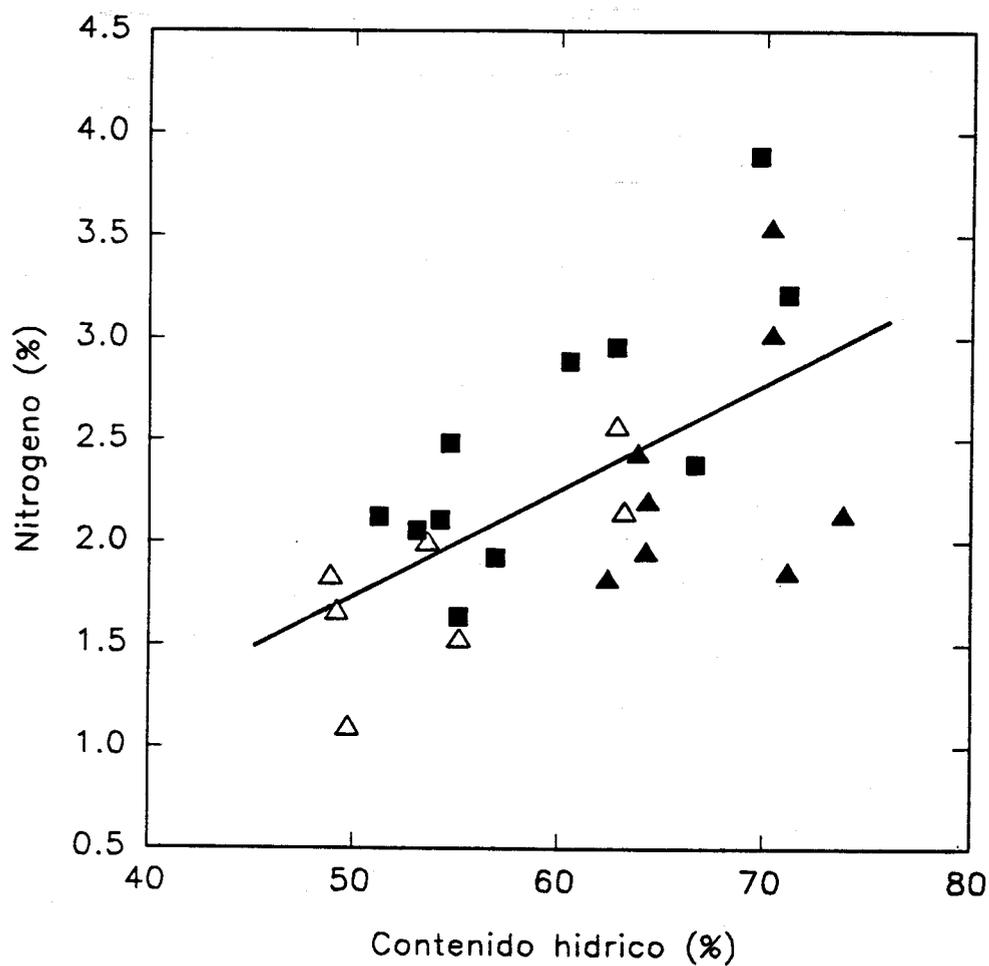


Figura 4.1. Relación entre la concentración de nitrógeno y el contenido hídrico de la hoja en las 26 especies estudiadas. La línea representa la recta de regresión $y = -8.5389 + 0.5176 * x$ ($r = 0.62$, $p < 0.01$). Caduca: ■ ; Semiperenne: ▲ ; Perenne: △ .

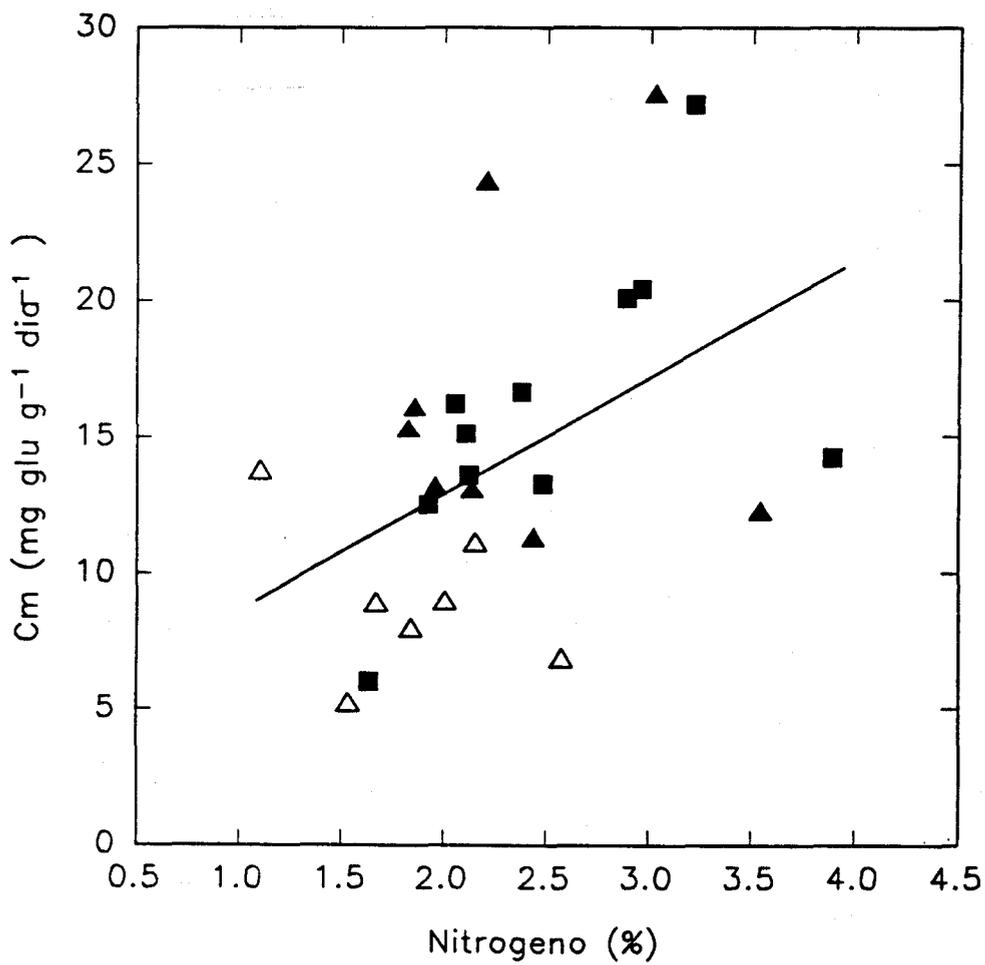


Figura 4.2. Relación entre el costo de mantenimiento y la concentración de nitrógeno de la hoja en las 26 especies estudiadas. La línea representa la recta de regresión $y = 4.67 + 0.042 * x$ ($r = 0.46$, $p < 0.05$). Símbolos como en la Figura 4.1.

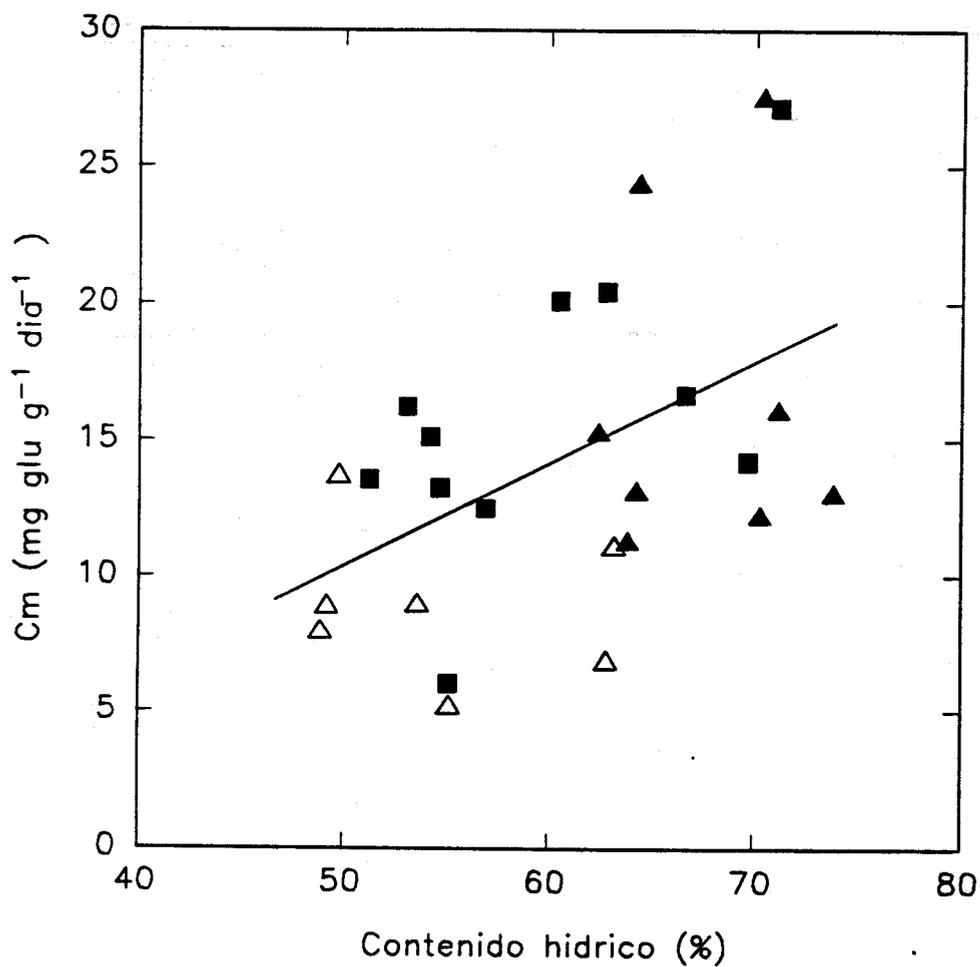


Figura 4.3. Relación entre el costo de mantenimiento y el contenido hídrico de la hoja en las 26 especies estudiadas. La línea representa la recta de regresión $y = - 8.08 + 0.3686 * x$ ($r= 0.49$, $p<0.05$). Símbolos como en la Figura 4.1.

ESPECIE	LONG	P. ESPEC (g m ²)	AGUA (%)	NITROG (%)	C. MANTEN (mg glu g ⁻¹ día ⁻¹)
<i>Acer negundo</i>	C	45.8	71.1	3.22	27.18
<i>Castanea sativa</i>	C	54.6	56.9	1.93	12.53
<i>Ceratonia siliqua</i>	P	170.5	55.1	1.53	5.25
<i>Cistus albidus</i>	SP	101.5	64.3	1.96	13.20
<i>Cistus populifolius</i>	SP	106.4	62.4	1.83	15.34
<i>Cistus salvifolius</i>	SP	67.4	70.4	3.03	27.60
<i>Halimium halimifolium</i>	SP	92.9	71.2	1.86	16.14
<i>Halimium atriplicifolium</i>	SP	66.0	73.8	2.14	13.12
<i>Juglans regia</i>	C	47.6	66.7	2.38	16.67
<i>Lavandula stoechas</i>	SP	141.5	64.4	2.21	24.42
<i>Myrtus communis</i>	P	88.4	63.2	2.15	11.14
<i>Olea europaea</i>	P	127.2	62.8	2.57	6.92
<i>Phillyrea angustifolia</i>	P	180.8	49.7	1.10	13.78
<i>Phlomis purpurea</i>	SP	87.5	70.3	3.55	12.30
<i>Populus alba</i>	C	72.4	62.8	2.96	20.43
<i>Quercus canariensis</i>	C	85.0	54.2	2.11	15.14
<i>Quercus coccifera</i>	P	105.1	49.2	1.67	8.96
<i>Quercus faginea</i>	C	97.9	53.1	2.06	16.24
<i>Quercus rotundifolia</i>	P	145.7	48.9	1.84	8.01
<i>Quercus lusitanica</i>	C	111.8	55.2	1.64	6.04
<i>Quercus pyrenaica</i>	C	90.6	51.3	2.12	13.60
<i>Quercus robur</i>	C	49.7	60.5	2.89	20.10
<i>Quercus rubra</i>	C	51.0	54.7	2.49	13.28
<i>Quercus suber</i>	P	119.7	53.6	2.00	9.01
<i>Rosmarinus officinalis</i>	SP	229.9	63.9	2.44	11.35
<i>Salix fragilis</i>	C	60.3	69.7	3.89	14.23
MEDIA		99.9	60.7	2.29	13.78
S.D.		± 45.4	± 7.6	± 0.63	± 6.27

Tabla 4.1. Valores medios de las diferentes variables consideradas en las hojas de las 26 especies leñosas estudiadas. Long: longevidad de la hoja (C: hoja caduca, SP: hoja semiperenne, P: hoja perenne); P. Esp: peso específico; Agua: contenido hídrico; Nitrog: concentración de nitrógeno orgánico; C. Manten: costo de mantenimiento.

	<u>AGUA</u>	<u>NITROG.</u>	<u>C. MANTEN</u>
P. ESPEC	-0.35 n.s	-0.48 *	-0.43 *
AGUA		0.62 * * *	0.49 *
NITROG			0.46 *

Tabla 4.2. Resultado del análisis de correlación entre las distintas variables estudiadas. Abreviaturas igual que en la Tabla 4.1. *: $p < 0.05$; * *: $p < 0.01$; * * *: $p < 0.001$; n.s.: no significativa.

LONG	P. ESP (g m ⁻²)	AGUA (%)	NITROG (%)	C. MANTEN (mg glu g ⁻¹ día ⁻¹)
C	69.7 ± 23.2 a	59.7 ± 7.0 a	2.52 ± 0.66 a	15.9 ± 5.4 a
SP	111.6 ± 53.4 b	67.6 ± 4.3 b	2.38 ± 0.61 a,b	16.7 ± 6.0 a
P	133.9 ± 33.7 b	54.6 ± 6.2 a	1.84 ± 0.47 b	9.0 ± 2.8 b

Tabla 4.3. Valor medio y desviación típica de las diferentes variables estudiadas en las hojas de distintas especies agrupadas según su longevidad (C: hoja caduca, SP: hoja semiperenne, P: hoja perenne). Letras diferentes en cada columna indican que existen diferencias singificativas ($p < 0.05$) entre las medias de los distintos grupos considerados en cada columna (test t-Student).

antes mencionados como son: un costo de mantenimiento prácticamente idéntico al de las hojas caducifolias, un peso específico similar al de las perennifolias y una concentración de nitrógeno intermedia.

Cuando la comparación se expresa en términos de superficie las relaciones descritas más arriba se alteran debido a las fuertes diferencias en peso específico que muestran los tres grupos considerados. Así, los costos de mantenimiento de las hojas perennifolias son prácticamente idénticos a los de las hojas caducifolias, en tanto que su concentración de nitrógeno y su contenido de agua son superiores ($p < 0.01$) (Tabla 4.5). Las hojas semiperennes presentan los valores más elevados, aunque muestran clara similitud con las hojas de las especies perennifolias.

4.4. DISCUSION

Los valores disponibles sobre el costo de mantenimiento de especies leñosas silvestres son muy escasos y resultado de la aplicación de métodos muy distintos, lo que, en conjunto, dificulta mucho el establecimiento de comparaciones. No obstante, el valor medio del costo de mantenimiento estimado en este estudio (13.78 ± 6.27 mg glucosa g^{-1} día $^{-1}$) es muy similar al publicado para otras especies leñosas mediterráneas (Merino et al. 1982) y prácticamente idéntico al estimado para las especies leñosas del sur de España (Merino 1987) siguiendo el método de los coeficientes de Penning de Vries (1975). Sin embargo, el valor medio obtenido en este estudio es muy inferior a los publicados por otros autores para especies herbáceas de interés agrícola obtenidos por el método de órgano maduro (Winkler 1971, Jones y Nelson 1979, Robson y Parsons 1981, Etzel et al. 1988, Winzeler et al. 1988), lo que puede explicarse teniendo en cuenta que, en la mayoría de los casos, estas especies han sido seleccionadas en base a su alta productividad; la cual suele estar asociada a altas tasas fotosintéticas (Zetlich 1975) que, a su vez, suelen ir casi invariablemente asociadas a una alta concentración de proteína (Field y Mooney 1986).

El mantenimiento de las fracciones protéicas representa el componente más elevado del costo de mantenimiento foliar (Penning de Vries 1975, Hunt y Loomis 1979) por lo que la concentración de proteína

Regresión	Fuente	Suma cuadrados	Probabilidad	Varianza absorbida (%)
C. MANTEN-AGUA	Agua	202.7	0.012	23.5
	Error	659.1		76.5
	Total	861.8		
C. MANTEN-NITROG	Nitrogeno	184.2	0.017	21.4
	Error	677.7		78.6
	Total	861.8		

Tabla 4.4. Resultado del análisis de la varianza para las regresiones lineales C. mantenimiento - Agua y C. mantenimiento - Nitrógeno.



LONG	AGUA (g H ₂ O m ⁻²)	NITROG (g N m ⁻²)	C. MANTEN (g gluc m ⁻² día ⁻¹)
C	40.6 ± 10.8 a	1.7 ± 0.4 a	1.0 ± 0.3 a
SP	74.2 ± 32.3 b	2.6 ± 1.4 a,b	1.8 ± 0.9 b
P	72.4 ± 16.4 b	2.4 ± 0.5 b	1.2 ± 0.6 a,b

Tabla 4.5. Valor medio y desviación típica (referidos a la superficie foliar) de las diferentes variables estudiadas en las especies agrupadas según la duración de la hoja. Letras distintas en la misma columna indican que existen diferencias significativas entre las medias de los distintos grupos (test t-Student). Abreviaturas como en la Tabla 4.1.

en el tejido (o su equivalente, su concentración de nitrógeno) ha sido utilizado con éxito como un indicador del costo de mantenimiento de especies herbáceas (Jones et al. 1978, McCree 1983, Irving y Silsbury 1987). Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que, de acuerdo con lo esperado, la concentración de nitrógeno foliar puede ser utilizada como un predictor del costo de mantenimiento de las hojas de especies leñosas silvestres (Figura 4.2).

La mayor concentración de nitrógeno foliar puede explicar también el costo de mantenimiento más elevado que muestran las especies caducifolias (Tabla 4.3); lo que apoya la hipótesis de que las hojas de especies perennifolias son menos costosas de mantener que las hojas de las especies caducifolias (Orians y Solbrig 1977, Merino et al. 1982, Merino 1987).

La similitud entre el costo de mantenimiento de las hojas de las especies caducifolias y las semiperennes consideradas en este estudio puede explicarse también en base a su relativamente similar (aunque algo inferior) concentración de nitrógeno (Tabla 3) y a su alto contenido en agua.

Efectivamente, el contenido hídrico de un órgano es uno de los factores determinantes de su actividad metabólica (Kramer 1969), y, en poblaciones creciendo en condiciones naturales, está correlacionado positivamente con parámetros indicadores de la actividad fisiológica foliar, tales como la concentración de nitrógeno o la capacidad fotosintética (Stewart et al. 1990).

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que la concentración de nitrógeno y el contenido en agua de la hoja están fuertemente correlacionados ($p < 0.001$) (Figura 4.1) y que ambos predicen el costo de mantenimiento de las hojas con una absorción de varianza prácticamente idéntica (Tabla 4.4); lo que está de acuerdo con lo esperado, ya que el costo de mantenimiento es una consecuencia de la actividad fisiológica del tejido en cuestión (Penning de Vries 1975).

El contenido en agua de las hojas semiperennes es significativamente superior ($p < 0.05$) al del resto de las hojas estudiadas, lo que explica que su costo de mantenimiento y el estimado para las hojas de las especies caducifolias sean similares, a pesar de

que la concentración de nitrógeno que muestran estas últimas es relativamente más alta.

Hay que señalar que aunque los individuos de las especies de hoja semiperenne consideradas en el presente estudio mantienen una parte significativa de sus hojas durante todo el año y pueden ser tipificadas por tanto como especies perennifolias, la vida media de las hojas de estas especies oscila aproximadamente entre cuatro y doce meses. Por lo tanto, dada la gran similitud observada entre los valores del costo de mantenimiento de las hojas de estas especies y el de las especies típicas caducifolias; y la diferencia significativa detectada entre las hojas semiperennes y las hojas de las especies de larga duración (Tabla 3), puede concluirse que los resultados apoyan la hipótesis de que las hojas de corta duración (independientemente del carácter perennifolio o caducifolio de la especie) son más costosas de mantener que las de larga duración.

El menor costo de mantenimiento de las hojas de larga duración (del orden del 50% del que muestran las hojas de corta duración) puede ser muy ventajoso en ambientes mediterráneos donde la alternancia de periodos con temperatura e intensidad luminosa bajas, con periodos caracterizados por temperaturas altas y baja accesibilidad de agua, determinan situaciones frecuentes y prolongadas en las que el balance de carbono puede ser próximo a 0 e, incluso, negativo (Küppers 1984, Tehunenn 1987). Esta ventaja contribuiría a explicar la predominancia de especies con hojas de larga duración en ambientes mediterráneos, y su selección y evolución en ambientes donde el costo de construcción de nuevas hojas no puede ser compensado por la escasa ganancia anual de carbono (Chabot e Hicks 1982).

Cabe plantearse aquí sobre el posible origen adaptativo de la baja concentración de nitrógeno (o el bajo contenido en agua) observada en las hojas de larga duración, factor determinante de su bajo costo de mantenimiento.

En principio, esta baja concentración de nitrógeno podría interpretarse como resultado de la selección de un bajo costo de mantenimiento "per se" en base a las ventajas señaladas más arriba. Sin embargo, la baja concentración de nitrógeno observada en las hojas de larga duración y la relación negativa existente entre concentración de

nitrógeno y el peso específico (Tabla 4.2) puede explicarse también como resultado de la mera dilución del nitrógeno por efecto de otras moléculas presentes (Schlessinger y Chabot 1977, Chabot y Hicks 1982).

Así, en los ecosistemas mediterráneos, las hojas de larga duración presentan normalmente carácter esclerófilo, debido a su mayor peso específico y a la presencia de estructuras rígidas ricas en celulosa (colénquima) y sobre todo en lignina (esclerénquima) que se explica como consecuencia de las fuerzas selectivas en favor de una mayor resistencia a la herbivoría (Chapin 1979), a la deformación provocada sobre todo por el estrés hídrico (Lawrence y Oechel 1981), o simplemente como consecuencia del desequilibrio nutricional en este tipo de habitats (Loveless 1961, 1962) y que pueden actuar como fracciones dilutoras de nitrógeno. De hecho, cuando se expresa el contenido de nitrógeno por unidad de superficie (Tabla 4.5), las hojas de larga duración presentan un mayor contenido de nitrógeno ($2.4 \pm 0.5 \text{ g N m}^{-2}$) que las especies caducifolias ($1.7 \pm 0.4 \text{ g N m}^{-2}$).

Las hojas semiperennes consideradas en el presente estudio presentan niveles mucho más bajos de lignina que los de las hojas de larga duración, y niveles similares a los de las hojas de las especies caducifolias estudiadas (Gallardo 1990). La ausencia de moléculas dilutoras y la similitud de su peso específico con el de las hojas de larga duración, determinan pues concentraciones de nitrógeno (2.6 g N m^{-2}) superiores a los de las hojas de larga duración, lo que explica que su costo de mantenimiento por unidad de superficie sea más elevado (Tabla 4.4). La similitud en las características del mesófilo (ausencia de moléculas dilutoras, concentración de nitrógeno semejante) y los relativamente altos pesos específicos de estas hojas respecto a las hojas caducifolias, explican la práctica igualdad del costo de mantenimiento cuando se considera en términos de peso (Tabla 4.3) y un costo significativamente más alto cuando la comparación se establece en términos de superficie (Tabla 4.5).

La fuerte diferencia en concentración de nitrógeno existente entre las hojas de las especies perennes y las de las caducas contrasta con la práctica igualdad de sus costos de mantenimiento (1.21 y $1.05 \text{ g glucosa m}^{-2} \text{ día}^{-1}$). En este sentido, la idoneidad del nitrógeno como determinante

e indicador de la actividad fisiológica de las hojas y como indicador, por tanto, del costo de mantenimiento puede ser problemática, dadas las diferencias entre estos dos tipos foliares. En principio, el nitrógeno total puede estar distribuido en diferentes familias moleculares, cada una con un costo de mantenimiento distinto y con una representación distinta en los diferentes tipos foliares considerados. La representación de fracciones de nitrógeno relacionadas con la reserva o con la defensa con respecto a las asociadas directamente a la actividad fisiológica, suele ser más alta en las hojas de larga duración (Field y Mooney 1987).

Esta distinta distribución de las fracciones activas y no activas en los dos tipos foliares comentados podría explicar el costo de mantenimiento similar que muestran a pesar de la mayor concentración de nitrógeno de las hojas de larga duración. Por esta razón, para el establecimiento de comparaciones, sería deseable un indicador más directo de la actividad fisiológica del tejido como, por ejemplo, la tasa relativa de crecimiento o, en su defecto, la tasa fotosintética.

Aunque se desconocen los valores de estos dos parámetros en las especies estudiadas, existen en la bibliografía numerosos estudios sobre la tasa de fotosíntesis de las hojas de especies leñosas perennifolias y caducifolias (Tabla 4.6). Los valores medios de la tasa fotosintética pueden resumirse en $0.77 \text{ g glucosa m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ para las especies perennifolias con hojas de larga duración y en $1.15 \text{ g glucosa m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ para las especies caducifolias. Si se aceptan esos dos valores como indicadores de la actividad media de los dos tipos de hojas mencionados, se comprueba que el costo de mantenimiento de la actividad fisiológica ($C_m/\text{Tasa fotosintética}$) es casi dos veces más alto en las especies de larga duración (Tabla 4.6).

Como se ha comentado anteriormente, en ambientes de clima mediterráneo las especies con hojas de larga duración son propias de habitats más estresados. Este nivel de estrés más alto podría ser responsable de unos costos de mantenimiento más elevados, como de hecho ha sido publicado ya para especies vegetales (Amthor 1989) y animales (Parsons 1989). Tasas intrínsecas de renovación enzimática más altas asociadas a un mejor ajuste a las condiciones instantáneas (Hochacka y Somero 1973) podrían explicar estos costos de mantenimiento superiores.

	CADUCA	PERENNE	
	0.68 - 1.71	0.68 - 1.09	(1)
TASA FOTOSINTETICA (g glu m ⁻² h ⁻¹)	0.68 - 1.36	0.34 - 1.02	(2)
	0.82 - 1.64	0.41 - 1.09	(3)
	-----	-----	
MEDIA	1.15	0.77	
C MANTEN (g glu m ⁻² h ⁻¹)	0.045	0.047	
C MANTEN/T FOTOS (x100)	3.7	6.2	

Tabla 4.6. Valores medios de las tasas fotosintéticas en especies caducas y perennes publicadas por diversos autores, costo de mantenimiento medio (este estudio) y valor del cociente costo de mantenimiento y la tasa fotosintética. (1): Mooney 1972; (2) Chabot y Hicks 1982; (3) Field y Mooney 1986.

En definitiva, es evidente que los resultados no apoyan la hipótesis de que las hojas de larga duración son menos costosas de mantener que las de corta duración; y que el mantenimiento de un determinado grado de actividad fisiológica es al menos igualmente costoso en especies de corta y larga duración. No puede hablarse, por tanto, de adaptaciones relacionadas con la minimización del costo de mantenimiento. Las diferencias observadas inicialmente en el costo de mantenimiento se deben básicamente a la existencia de bajas concentraciones de nitrógeno debidas a la presencia de fracciones estructurales que producen un efecto de dilución, o dicho con otras palabras, a la disminución de tejidos fisiológicamente activos por unidad de peso de hoja.

En conjunto, los resultados sugieren que el diseño de las hojas de larga duración no se ha seleccionado en base a un menor costo de mantenimiento "per se". El menor costo de mantenimiento en términos de peso observado podría ser sólo un carácter secundario consecuencia de adaptaciones relacionadas con la mayor longevidad (defensa contra herbívoros, defensa contra las deformaciones inducidas por el estrés).

4.5. CONSIDERACIONES FINALES

Los resultados obtenidos aquí para un conjunto de especies con características muy diferentes parecen robustos, ya que se mantienen cuando se considera un conjunto de especies más emparentadas filogenéticamente y con hojas de características mucho más homogéneas; como es el caso de las especies del género *Quercus* consideradas en el presente estudio (Apéndice II).

Estos resultados ponen de manifiesto la capacidad de algunos parámetros asociados a la actividad fisiológica (concentración de nitrógeno, contenido de agua) como predictores del costo de mantenimiento en hojas de especies leñosas silvestres.

No obstante, en la consideración de los resultados discutidos debe tenerse en cuenta que el estudio ha sido realizado con plantas cultivadas en condiciones óptimas de riego y de abonado lo que, evidentemente, difiere de las condiciones medias en habitats mediterráneos. Esta forma de proceder tiene la ventaja de que pone de manifiesto diferencias intrínsecas, y, quizás por ello, de gran interés desde el punto de vista

comparativo; pero tiene el inconveniente a su vez de que quizás no representen los valores reales en condiciones naturales, tanto en lo que se refiere a los valores absolutos como en la diversidad de respuestas posibles.

Las hojas de plantas crecidas en condiciones naturales posiblemente difieren en cuanto a peso específico, estado de hidratación, concentración de nitrógeno, etc., lo que seguramente supone diferencias entre los valores reales y los propuestos en el presente estudio para la misma especie. Además, en los ecosistemas mediterráneos las especies caducifolias son propias de habitats más fértiles (menos estresados) por lo que las condiciones ambientales deben diferir menos de las condiciones en las que se han cultivado las especies consideradas en este estudio. Por el contrario, las especies con hojas de larga duración son propias de habitats más estresados, lo que evidentemente difiere de las condiciones experimentales. Por todo ello, las diferencias detectadas en el presente estudio entre estos dos grandes grupos de especies podrían ser una infraestimación de las que se dan en condiciones naturales.

Por último, debería subrayarse la fuerte similitud existente entre el valor medio del costo de mantenimiento estimado aquí, vía el análisis de la respiración y el estimado para este tipo de vegetación por Merino (1987) siguiendo el método de los coeficientes propuesto hace casi dos décadas por Penning de Vries (1975). Aunque la varianza detectada en el presente estudio es significativamente mayor, la gran similitud de los valores medios estimados por ambos métodos subraya el gran interés de los coeficientes propuestos por ese autor como indicadores del costo de mantenimiento de las hojas de una comunidad.

CAPITULO 5

METODOS PARA LA ESTIMACION DE LA RESPIRACION EN CONDICIONES LUMINOSAS

5.1. INTRODUCCION

En los estudios sobre el balance de carbono de órganos, individuos y comunidades vegetales suele asumirse que la respiración continúa en la luz a la misma tasa que en la oscuridad. Sin embargo, existen pruebas de que la luz parece inhibir la tasa de respiración oscura (Kok 1948, Sharp et al. 1984, Brooks y Farquhar 1985). Esta inhibición parece ser debida al efecto de los metabolitos procedentes del proceso fotosintético (ATP, NADPH) sobre las enzimas respiratorias, actuando sobre éstas como reguladores de la respiración (McCashin et al. 1988).

La evolución instantánea de CO_2 en condiciones luminosas es consecuencia de la superposición temporal de -al menos- cuatro procesos, que discurren a distintas tasas: fotosíntesis, fotorespiración, respiración en la luz (R_d) y refijación de CO_2 procedente de la respiración (Graham 1980); por lo que la estimación de la tasa de respiración en condiciones luminosas presenta muchas dificultades desde el punto de vista metodológico.

En las estimas de R_d por análisis de intercambio de gases se siguen principalmente dos métodos. El primero, descrito por Kok (1948), analiza la respuesta de la asimilación neta de CO_2 a bajas intensidades luminosas. Hacia intensidades luminosas decrecientes la curva de luz presenta un aumento brusco de la pendiente (disminución brusca de la tasa de asimilación neta) que se interpreta como consecuencia de un aumento brusco en la tasa de respiración, que es debido a la desaparición del efecto depresor de la luz sobre el proceso de respiración. La extrapolación a una intensidad luminosa 0, del tramo lineal de la curva de luz anterior al cambio de pendiente, proporciona una estima de la tasa de respiración en la luz. El principal inconveniente de este método es que el cambio de pendiente tiene lugar a intensidades muy bajas (en torno a los $5 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) por lo que suele ser difícil de detectar.

El segundo método, descrito por Laisk (1977), siguiendo a Brooks y Farquhar (1985), analiza la asimilación neta de CO_2 a presiones parciales de CO_2 intercelular e intensidades de luz limitantes. El análisis tiene por objeto encontrar la concentración interna de CO_2 (Γ^*) al cual la tasa de fotosíntesis iguala la tasa de fotorespiración (punto de compensación real). Dado que a esta presión parcial, el CO_2 procedente del proceso de fotorespiración es consumido en el proceso fotosintético, la tasa de producción de CO_2 en estas condiciones -caso de producirse- representa la tasa de respiración en la luz. El principal inconveniente de este método es que los experimentos deben realizarse a concentraciones de CO_2 muy bajas y por tanto, muy alejadas de las condiciones ambientales normales.

Dado que estos métodos se basan en aproximaciones muy distintas y utilizan condiciones experimentales muy diferentes, es presumible que su aplicación genere estimas diferentes de R_d . Sin embargo, no existe, hasta la fecha, ningún trabajo donde se considere los resultados obtenidos por los dos métodos en el análisis del mismo material.

El objetivo de este estudio es comparar los resultados de R_d obtenidos por estos dos métodos en hojas de especies leñosas.

5.2. MATERIAL Y METODO

Para el estudio se seleccionaron dos especies leñosas típicas del chaparral californiano *Heteromeles arbutifolia* (Ait.), una especie perenne cuyas hojas persisten, por término medio, durante dos o tres años, y *Lepechinia fragans* (Greene), una especie de hoja caduca cuyas hojas persisten durante cinco o seis meses. Las plantas, de dos años de edad fueron cultivadas a la intemperie, en macetas a temperaturas diurnas que oscilaban entre los 20 y los 30 °C y temperaturas nocturnas entre los 10 y los 20 °C y una intensidad luminosa próxima a los 600 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Para el análisis se utilizaron cuatro hojas bien desarrolladas de cada especie, con características (edad, tamaño, densidad y aspecto) similares.

5.2.1. Estimación de R_d y R_n

El análisis de intercambio de CO_2 en hojas se realizó con ayuda de un sistema similar al descrito por Held et al. (1991). Antes de la realización de los experimentos se calibró el IRGA a bajas concentraciones de CO_2 en la forma recomendada por Bloom et al. (1980), no detectándose cambios en su sensibilidad en el rango de concentraciones de CO_2 utilizadas en los experimentos. Los cálculos se realizaron de acuerdo con Ball (1987), expresándose los resultados en base al peso seco de la hoja.

La fuente de luz era una lámpara metal halide (Sylvania, GTE, Danvers, Massachusetts, USA) situada encima de la cámara en la que se colocaba la hoja. Para absorber la radiación infrarroja se utilizó una bandeja transparente con agua, localizada entre la lámpara y la cámara. La intensidad de la radiación se midió dentro de la cámara utilizando un sensor de arseniuro de galio calibrado previamente con un sensor LI-190S (Lambda Instruments, Lincoln, Nebraska, USA). Las distintas intensidades luminosas se obtuvieron cubriendo la cámara con filtros de nylon de diferente paso de luz. Todas las determinaciones se hicieron manteniendo las hojas a una temperatura de 20 °C.

Las determinaciones se realizaron en hojas individuales unidas a la planta. Los experimentos se iniciaron al comienzo del día con objeto de evitar variaciones en la tasa de respiración debidas a los cambios en la concentración de carbohidratos (Azcon Bieto et al. 1983).

Un análisis previo de las curvas de luz mostró que la saturación luminosa en las hojas de los individuos seleccionados se alcanzaba a intensidades luminosas en el entorno de los 1000 y 600 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para *L. fragans* y *H. arbutifolia* respectivamente y que, por debajo de estas intensidades, la relación entre la intensidad luminosa y la tasa de fotosíntesis neta era prácticamente lineal, con una rotura de pendiente hacia los 5 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (efecto Kok).

Para la estima de la tasa de respiración en condiciones luminosas por el método de Kok (1948), la hoja se sometió a intensidades luminosas decrecientes, comenzando a intensidades próximas a los 40 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ hasta alcanzar los 0 $\mu\text{Einstein m}^{-2} \text{s}^{-1}$. La prolongación del segmento lineal anterior a la rotura de pendiente y su intersección con el eje de

ordenadas (intensidad luminosa 0) suministró la tasa de respiración en condiciones de luz (R_d). Para cada intensidad luminosa, se permitió a la hoja un periodo de estabilización de aproximadamente una hora. La tasa de respiración medida cubriendo la cámara con una envoltura negra que impedía el paso de luz representa la respiración en condiciones de oscuridad (R_n).

El día siguiente a la aplicación del método de Kok se estimó la tasa de respiración en condiciones luminosas (R_d) por el método de Laisk (1977) en las mismas hojas. Este método analiza la tasa de asimilación neta de CO_2 a concentraciones de CO_2 intercelular e intensidades de luz limitantes. Para ello, una vez dispuesta la hoja dentro de la cámara, se estimaba la tasa fotosintética neta a $40 \mu\text{Einstein m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en el rango de concentraciones internas de CO_2 comprendido entre 30 y 90 ppm. Los experimentos se repetían a otras intensidades luminosas, usualmente 70 y $140 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Para cada intensidad luminosa se calculó la regresión lineal de la tasa de fotosíntesis neta sobre la concentración de CO_2 intercelular. En la mayoría de los casos, las regresiones lineales interceptaron en un punto común, de coordenadas (Γ^* , R_d), siendo Γ^* el punto de fotocompensación de CO_2 (concentración de CO_2 intercelular a la que la tasa de fotosíntesis iguala a la de fotorespiración) y R_d la tasa de respiración en condiciones luminosas.

En todas las hojas estudiadas, la tasa de asimilación neta de CO_2 , a la concentración de CO_2 intercelular Γ^* , fué negativa, indicando que las hojas presentaban actividad respiratoria en condiciones de iluminación (R_d).

La tasa de respiración oscura en condiciones de oscuridad (R_n) se midió cubriendo la cámara con una envoltura negra que impedía el paso de la luz y a una concentración ambiental de CO_2 de 350 ppm.

Con objeto de analizar el efecto de la baja concentración de CO_2 sobre la tasa de respiración, se midió la tasa de respiración oscura (R_n) en un conjunto de hojas de los mismos individuos considerados en los experimentos anteriores, seleccionando siempre aquellas hojas con similares características a las consideradas en los experimentos

descritos más arriba. Para cada hoja se estimó la tasa de respiración a concentraciones de CO_2 en el aire de 50 y 350 ppm.

5.3. RESULTADOS

5.3.1. Tasa de respiración en la luz (R_d)

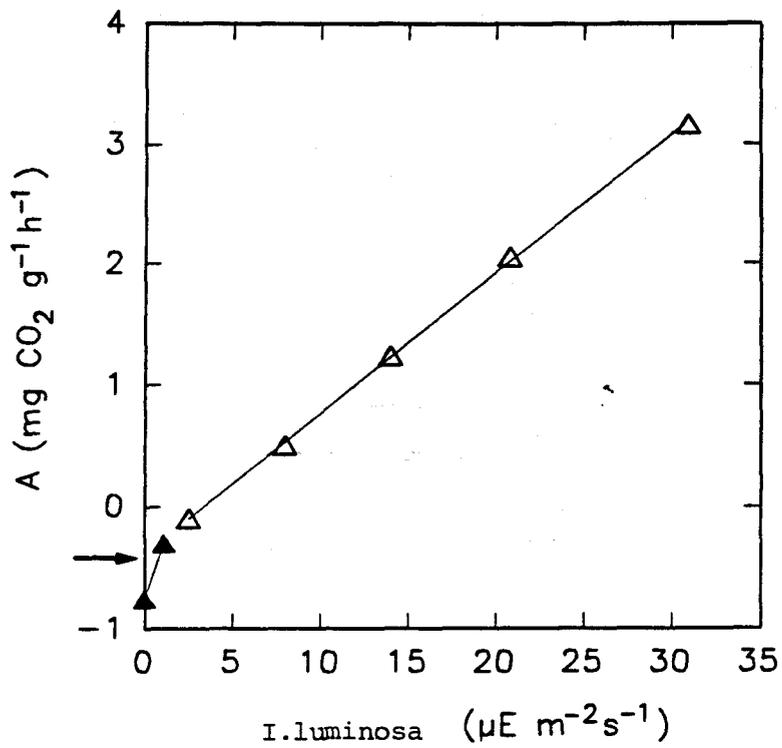
Para ilustrar los resultados del análisis, la Figura 5.1 presenta los resultados obtenidos por el método de Kok para una hoja de cada una de las especies estudiadas. En ambas especies puede apreciarse un cambio de pendiente de la recta hacia los $5 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y que la prolongación del segmento anterior al cambio de pendiente intercepta al eje de ordenadas en un punto que representa la tasa de respiración en condiciones luminosas. Estos valores son 0.42 y $0.47 \text{ mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ para *H. arbutifolia* y *L. fragans* respectivamente.

La Figura 5.2 presenta, para ilustrar los resultados, del análisis siguiendo el método de Laisk para una hoja de cada una de las especies estudiadas. En el caso de *L. fragans* las rectas de regresión cortan en un punto cuya ordenada ($0.71 \text{ mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) representa la tasa de respiración en condiciones luminosas. Para *H. arbutifolia* este valor es $0.61 \text{ mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

En la Tabla 5.1 se presentan los valores de R_d estimados por el método de Kok y por el método de Laisk. En la tabla se incluye también el punto de compensación (Γ^*) para las hojas estudiadas. Los valores medios de R_d para *H. arbutifolia* obtenidos por los métodos de Kok y de Laisk fueron respectivamente 0.29 y $0.48 \text{ mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ en tanto que para *L. fragans* fueron 0.28 y $0.60 \text{ mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

Dentro de cada especie, y considerados hoja a hoja, los valores de R_d obtenidos por el método de Laisk son siempre superiores a los obtenidos por el método de Kok; estando la diferencia entre las medias muy próxima al límite de significación estadística (test t-Student). Cuando se considera el conjunto de las 8 hojas analizadas por un método (independientemente de la especie), la diferencia entre el valor medio de R_d obtenida por el método de Laisk ($0.54 \text{ mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) es significativamente superior al valor medio de R_d obtenido por el método de Kok ($0.29 \text{ mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) ($p < 0.01$, test de la t-Student).

a



b

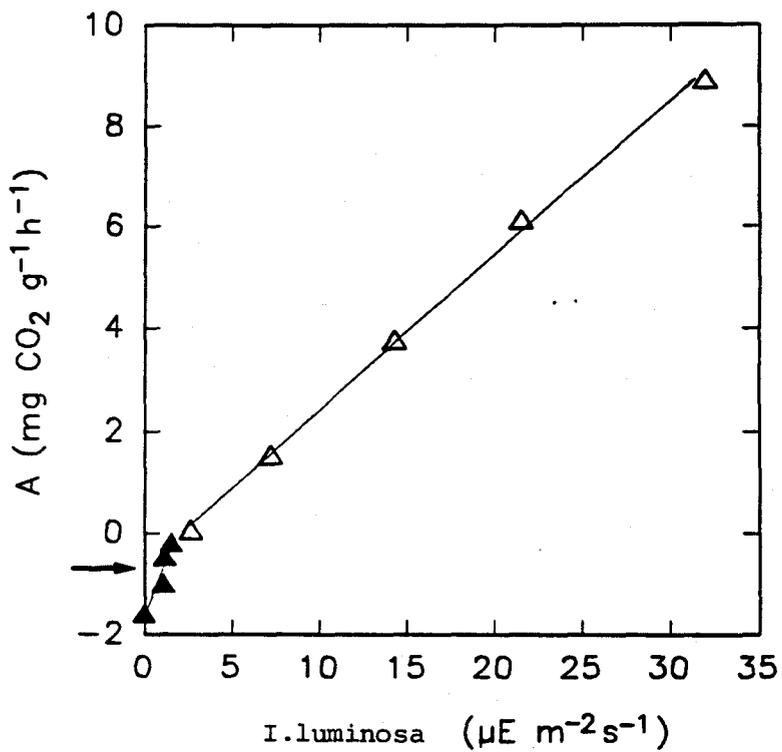


Figura 5.1. Respuesta de la fotosíntesis neta a intensidades luminosas limitantes (0-40 $\mu\text{Einstein m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, PAR) (método de Kok, 1949). Las líneas representan las regresiones lineales. a: *H. arbutifolia*; b: *L. fragans*.

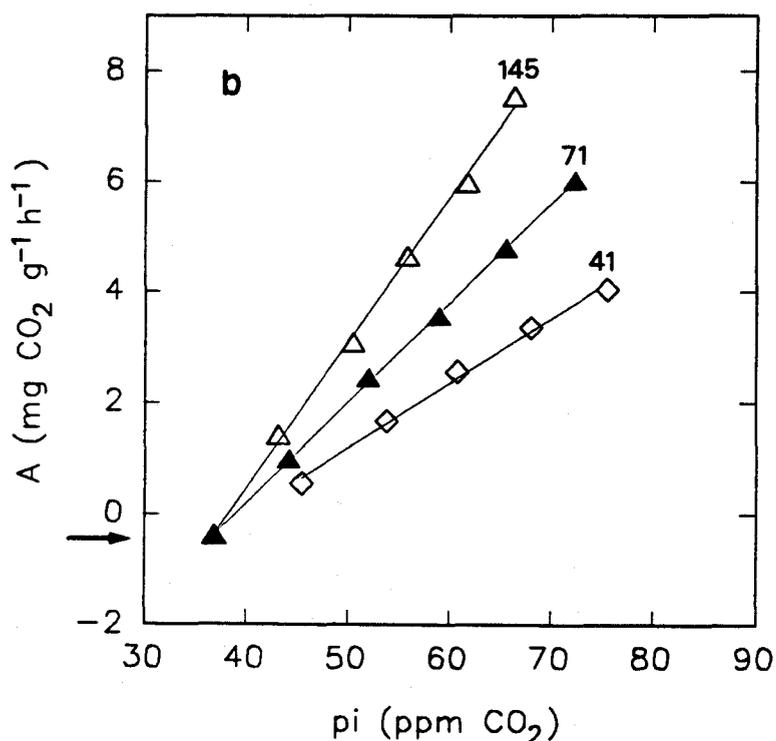
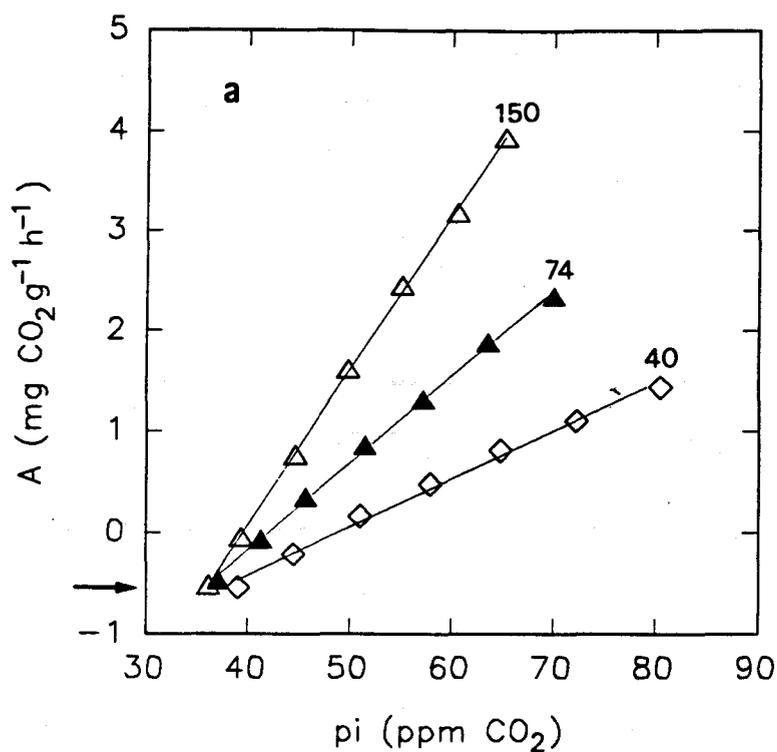


Figura 5.2. Respuesta de la fotosíntesis neta a la concentración interna de CO_2 en la hoja (método de Laisk, 1977). Los números en la figura indican las intensidades luminosas consideradas ($\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Las líneas representan las regresiones lineales a cada intensidad luminosa. Las coordenadas de la intersección de las regresiones lineales se tomaron como Γ - (punto de fotocompensación) y R_d (respiración en la luz). a: *H. arbutifolia*; b: *L. fragans*

a) *Heteromeles arbutifolia*

Hoja	Rd (mg CO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹)		Rn (mg CO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹)	Γ* (ppm)
	Kok	Laisk		
1	0.2551	0.3408	0.4591	36.47
2	0.3485	0.5862	0.9642	34.49
3	0.1707	0.3986	0.5513	36.35
4	0.4208	0.6159	0.8129	35.29
MEDIA	0.2988	0.4854	0.6969	35.65
S.D.	± 0.0944	0.1179	±0.2017	±0.81

b) *Lepechinia fragans*

Hoja	Rd (mg CO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹)		Rn (mg CO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹)	Γ* (ppm)
	Kok	Laisk		
1	0.2093	0.6308	0.7474	35.86
2	0.2268	0.3672	0.9776	37.24
3	0.2154	0.6897	0.8742	33.83
4	0.4729	0.7055	1.6266	36.85
MEDIA	0.2811	0.5983	1.0565	35.95
S.D.	± 0.1109	±0.1363	±0.3391	±1.32
MEDIA TOTAL	0.2899	0.5418	0.8767	35.8
S.D. TOTAL	± 0.1105	±0.1490	±0.3548	±1.11

Tabla 5.1. Valores de Rd, Rn y Γ* en las dos especies estudiadas. Rd se estimó por los métodos de Kok (1948) y de Laisk (1977). Media Total y S.D. Total corresponden a las ocho hojas estudiadas.

Por el contrario, en ningún caso existen diferencias significativas entre los valores de R_d de las dos especies estudiadas (Test de la t-Student para la diferencia de medias).

Por último, debe subrayarse que los valores de Γ son prácticamente idénticos en todas las hojas estudiadas.

5.3.2. Tasas de respiración en la oscuridad (R_n)

En la Tabla 5.1 se presentan los valores de R_n en las hojas de las dos especies en ambiente de CO_2 normal (350 ppm CO_2). Dentro de cada especie, el valor medio de R_n en *H. arbutifolia* ($0.69 \text{ mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) y *L. fragans* ($1.05 \text{ mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) es significativamente superior ($p < 0.05$, test de la t-Student) a los valores de R_d obtenidos para estas especies por cualquiera de los dos métodos considerados. No se detectan diferencias significativas (test de la t-Student) entre los valores medios de R_n de las dos especies estudiadas.

En la Figura 5.3 se presenta la relación entre los valores de R_n estimados a las concentraciones de CO_2 ambiental de 50 y 350 ppm. La relación es lineal ($r = 0.99$, $p < 0.01$) y está definida por la ecuación:

$$R_n_{350} = -0.10029 + 0.83752 * R_n_{50}$$

siendo R_n_{350} y R_n_{50} , las tasas de respiración oscura estimadas a las concentraciones de CO_2 ambiental de 350 y 50 ppm respectivamente.

Esta ecuación indica que la tasa de respiración oscura a 350 ppm es inferior, entre un 20 y un 50%, a la tasa de respiración registrada a 50 ppm.

4. DISCUSION

A pesar de las diferencias existentes entre las hojas de las dos especies en cuanto a duración de la hoja, peso específico foliar, composición química, etc (Merino et al. 1984), los métodos no ponen de manifiesto diferencias significativas entre los valores medios de R_d de estas dos especies. Sin embargo, las diferencias debidas al método son fuertes y consistentes; tanto cuando se comparan los resultados dentro de

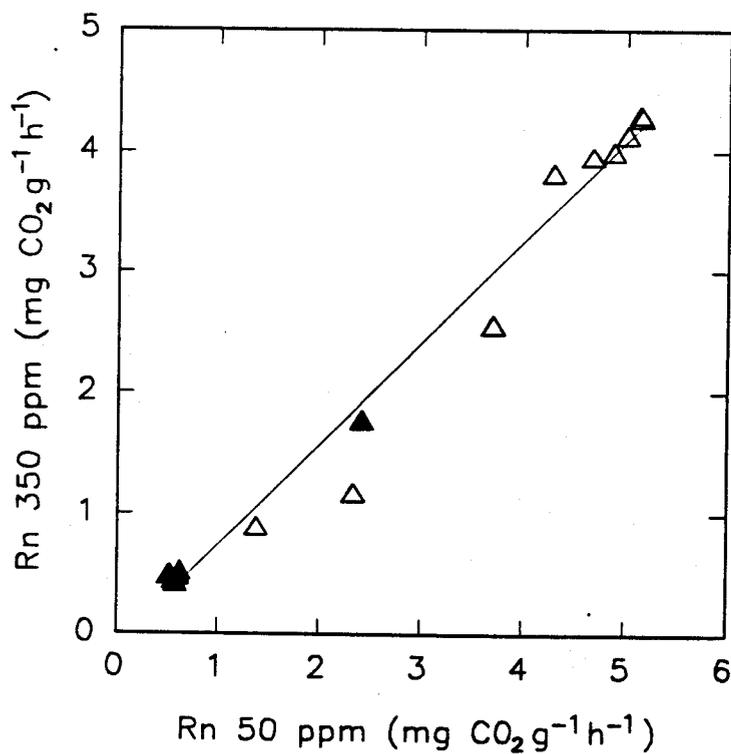


Figura 5.3. Relación entre la respiración oscura (Rn) medida a 350 y 50 ppm de concentración ambiental de CO₂ en *H. arbutifolia* (▲) y *L. fragans* (Δ). La línea representa la recta de regresión $Y = -0.10029 + 0.83752 \cdot X$ ($r = 0.99$, $p < 0.01$).

cada especie como cuando se comparan los resultados globales de uno y otro método.

La diferencia de resultados debe estar pues, en la naturaleza de los dos métodos seguidos. Dado que el método de Kok es más directo que el de Laisk y que corresponde a la aproximación tradicional para separar la respiración luminosa de la oscura (Kok 1948), cabe preguntarse por la razón de las relativamente altas tasas de respiración luminosa obtenidas por el método de Laisk (Tabla 5.1).

Debe subrayarse que, a pesar de la artificiosidad del método de Laisk, el método es fiel (es decir: que hay ausencia de aleatoriedad en los resultados), ya que los valores de Γ^* son prácticamente idénticos en la totalidad de las hojas consideradas. A igualdad de condiciones ambientales, Γ^* depende de las características de la Rubisco (ribulosa 1-5 bifosfato carboxilasa/oxigenasa), que razonablemente deberían ser las mismas en las hojas de la misma especie y posiblemente en las hojas de especies de ecología similar (Jordan y Ogren 1981). Debería desecharse por tanto, la posibilidad de errores significativos en la aplicación de este método.

Los altos valores de R_d obtenidos por el método de Laisk podrían estar relacionados entonces con la sensibilidad de los procesos respiratorios a la baja concentración de CO_2 de las condiciones de experimentación. Efectivamente, los resultados muestran un claro efecto depresor de la concentración de CO_2 sobre la tasa de respiración oscura (Figura 5.3), que es similar al detectado para otras especies herbáceas de interés agronómico (Gifford et al. 1985, Reuveni y Gale 1985) y que puede explicarse en base al carácter del CO_2 como inhibidor de algunos enzimas (por ejemplo succinato deshidrogenasa, Saishy et al. 1989).

Desgraciadamente las condiciones experimentales que requiere la aplicación del método de Laisk, no permiten la exploración directa del efecto de la concentración de CO_2 sobre el valor de R_d . Sin embargo, aunque no se conoce bien el mecanismo de acción del CO_2 sobre la tasa de respiración, no hay motivos para suponer que la respuesta de R_n y R_d al CO_2 pueda ser distinta. En principio, los procesos respiratorios en condiciones luminosas no parecen diferir esencialmente de los que tienen lugar en condiciones de oscuridad ya que las rutas fisiológicas son las

mismas, estribando la diferencia en el grado de actividad de los enzimas implicados en el proceso de respiración (Graham 1980). La similitud de la respuesta de R_d y R_n a una serie de factores ambientales (Brooks y Farquhar 1985) están de acuerdo con esta suposición.

De ser así, la relación esperada entre los valores de R_d estimados a concentraciones ambientales de CO_2 de 50 y 350 ppm sería similar a la observada entre los valores de R_n a esas mismas concentraciones (Figura 5.3) y expresada por la ecuación enunciada en el Apartado 5.3.2. Utilizando esta ecuación, la media de los valores de R_d esperados a una concentración ambiental de CO_2 de 350 ppm deberían ser 0.31 y 0.40 $\text{mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ para *H. arbutifolia* y *L. fragans* respectivamente; lo que los acercaría sensiblemente a la media de los obtenidos por el método de Kok en esas dos especies (0.30 y 0.28 $\text{mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ respectivamente).

Por otra parte, los resultados muestran que la tasa de respiración en la luz en las dos especies son significativamente menores ($p < 0.05$) que las tasas de respiración en la oscuridad (Tabla 5.1), lo que indica que la respiración oscura resulta parcialmente inhibida por el efecto de la luz en las hojas de las dos especies. El grado de inhibición de la respiración (calculado hoja por hoja en la Tabla 5.1) y corregido para el efecto del CO_2 es del 65%, lo que está en el rango de los resultados obtenidos por otros autores (17 - 66 %) en diferentes especies de interés agrícola (Sharp et al. 1984, Brooks y Farquhar 1985, Kirshbaum y Farquhar 1987).

La naturaleza de la inhibición parece ser debida al efecto inhibitor de la luz sobre los enzimas respiratorios mediada por cofactores diversos entre los que se encuentran NADPH, ATP, ADP (McCashing et al. 1988). Adicionalmente el uso de ATP y poder reductor provenientes directamente del proceso fotosintético puede también contribuir de forma significativa al metabolismo foliar, disminuyendo los requerimientos de origen catabólico (ATP y NADH_2) y disminuyendo por tanto, la tasa de respiración (Raven 1976).

Estos resultados ponen de manifiesto que las tasas de respiración foliar durante las horas de sol (respiración en la luz) pueden ser del orden del 65% inferiores a la tasa de respiración nocturna, por lo que deberían ser tenidas en cuenta en los modelos de balance de carbono.

Los resultados muestran que el método de Laisk sobreestima significativamente las tasas de respiración en condiciones luminosas. No obstante, la dificultad de detectar el cambio de pendiente en las curvas de luz en el entorno de las bajas intensidades luminosas (método Kok) y la larga duración de estos experimentos, los cuales suelen requerir un mínimo de 5 horas por hoja estudiada, en contraposición con un media de 2 horas en el caso del método de Laisk, hacen idóneo a este último método en los casos en que el número de determinaciones es elevado y se conoce la dependencia de R_n de la concentración de CO_2 ambiental.

CAPITULO 6

RESPIRACION EN CONDICIONES DE OSCURIDAD Y DE LUZ EN HOJAS DE ESPECIES LEÑOSAS DE DIFERENTE LONGEVIDAD. EFECTO DE ALGUNOS FACTORES INTRINSECOS Y AMBIENTALES

6.1. INTRODUCCION

El patrón de distribución de las plantas con hojas que difieren en su longevidad ha sido explicado principalmente en términos de balance de energía de la hoja (la diferencia entre ganancia de energía por fotosíntesis y pérdida de energía por respiración) (Orians y Solbrig 1977, Chabot y Hicks 1982).

Al contrario que las hojas de corta duración en los ecosistemas mediterráneos, las hojas de larga duración tienen que resistir largos periodos del ciclo anual (invierno, verano) con una ganancia de energía muy baja (incluso nula) razón por la cual los costos respiratorios de estas hojas (concretamente los relacionados con los procesos de mantenimiento) deberían ser lo suficientemente bajos como para ser compatibles con un balance de energía positivo (Orians y Solbrig 1977).

Debido, sobre todo, a la complicación metodológica, los estudios del balance de energía han asumido hasta la fecha que, la tasa de respiración en condiciones de iluminación, es igual a la estimada en condiciones de oscuridad. Sin embargo, aunque la información disponible es muy escasa, y referida casi exclusivamente a especies de interés agrícola, los resultados de algunos estudios sugieren que, como se concluye en el capítulo 4 de esta memoria, la respiración oscura puede ser inhibida en parte en la luz (Kok 1949, Sharp et al. 1984, Brooks y Farquhar 1985). El mecanismo por el que se produce esta inhibición está sometido a controversia (Dry y Wiskich 1982, Gardstrom y Wigge 1988, Krömer y Heldt 1991), y parece que podría tener lugar por el efecto inhibidor de metabolitos procedentes del proceso fotosintético (ATP, NADPH) sobre los enzimas respiratorios (Graham 1980). El uso de ATP y poder reductor procedente directamente del proceso fotosintético podría disminuir las demandas de glucosa en la mitocondria, explicando así la disminución observada en la tasa de respiración.

La inhibición parcial de la respiración oscura por efecto de la luz sería, en principio, ventajosa para cualquier especie, por el ahorro de energía que supone, pero, comparativamente, debería serlo más para las especies perennifolias mediterráneas que para las especies caducifolias, ya que, cualquier disminución en la tasa de respiración de una planta, cuyo balance energético está muy próximo a cero durante un periodo significativo del ciclo anual, como parece ser el caso de las especies perennifolias mediterráneas, podría significar su persistencia o exclusión de un área concreta.

El objetivo principal del presente estudio es la estimación de la tasa de respiración oscura en condiciones luminosas en dos especies de matorral mediterráneo, que difieren en la duración de la hoja, así como la cuantificación del grado de inhibición de la respiración oscura por efecto de la luz. En el estudio, se hace también un primer análisis sobre el grado de dependencia de la tasa de respiración en condiciones luminosas de algunos factores internos (concentraciones de nitrógeno foliar y de carbohidratos, edad de la hoja) y ambientales (temperatura, intensidad luminosa y concentración ambiental de CO_2).

6.2. MATERIAL Y METODO

El presente estudio se realizó en las mismas especies del capítulo 5. El material y el método utilizado para la estima de la respiración en condiciones de oscuridad y luz se ha descrito anteriormente en el Apartado 5.2 de esta memoria.

En las hojas estudiadas se determinó además su superficie, peso específico y concentración de nitrógeno (método de Kjeldhal). La larga duración de las hojas de *H. arbutifolia* permitió clasificarlas de acuerdo con su edad como hojas jóvenes (hojas que estaban creciendo activamente), hojas de edad intermedia (hojas con aproximadamente dos o tres meses de edad y que habían finalizado la fase de expansión de la lámina) y hojas maduras (hojas con edad comprendida en el entorno de los dos años y que habían finalizado su crecimiento en grosor).

6.2.1. Efecto de la disponibilidad de carbohidratos

En un conjunto de hojas de edad intermedia de las dos especies se estimó el valor de R_n y R_d antes de la salida del sol. A esta hora del día, debido al periodo de oscuridad nocturno (alrededor de 9 horas), el nivel de carbohidratos de la hoja es mínimo, lo que permite obtener los valores de R_n y R_d de cada hoja en condiciones de baja disponibilidad de carbohidratos (Azcon-Bieto et al. 1983). Para ello se determinó en primer lugar la tasa de respiración en la oscuridad (R_n) a una concentración de CO_2 ambiental de 350 ppm. A continuación se procedió a la estimación del valor de R_d y su punto de fotocompensación de CO_2 (Γ^*) en esa misma hoja, de acuerdo con el método descrito en el Apartado 4.2.

Para la estimación de R_d en condiciones de alta disponibilidad de carbohidratos se siguió el procedimiento descrito por Brooks y Farquhar (1985). Para ello, inmediatamente después de finalizar el experimento anterior, y sin sacar la hoja de la cámara, se la sometió a una intensidad luminosa de $600 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y 500 ppm de CO_2 ambiental durante un periodo de 5 horas. Experiencias previas de otros autores (Hrubec et al. 1985) y datos no presentados, demostraron que estas condiciones son suficientes para elevar significativamente el nivel de carbohidratos. Trascurrido este periodo, se estimó de nuevo el valor de R_d de la hoja. Para ello se sometió a cada hoja a una intensidad luminosa de $150 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y a una concentración de CO_2 ambiental tal que la concentración intercelular de CO_2 era igual al valor de Γ^* determinado al comienzo del experimento para esa hoja concreta; obteniéndose así el valor de R_d en condiciones de alto contenido en carbohidratos. Por último, se determinó de nuevo el valor de R_n a una concentración ambiental de 350 ppm obteniéndose así el valor de R_n en condiciones de alta disponibilidad de carbohidratos.

6.2.2. Efecto de los factores ambientales

Para analizar el efecto de la temperatura sobre el valor de R_d se seleccionaron dos hojas de edad intermedia de cada especie y, en tres experimentos sucesivos, se estimaron los valores de R_d y Γ^* de acuerdo

con el método descrito en el Apartado 4.2., manteniendo la temperatura de la hoja a 10, 20 y 30 °C. En las mismas hojas se estimó el valor de R_n a las tres temperaturas indicadas según el método descrito en ese Apartado. En la mayoría de los casos fue necesario esperar menos de una hora hasta alcanzar tasas de respiración oscura estables.

En una hoja de cada especie con características similares a las de las consideradas en el experimento anterior, se estimó el valor de R_d a distintas intensidades luminosas. Para ello, se estimaron los valores de R_d y Γ_* de cada hoja en la forma descrita en el Apartado 2.1. A continuación se estimó el valor de R_d a distintas intensidades luminosas en el rango de 0 a 600 $\mu\text{Einstein m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, manteniendo siempre la concentración de CO_2 intercelular igual al valor de Γ_* de la hoja mediante la selección de las concentraciones de CO_2 ambientales adecuadas. La tasa de evolución de CO_2 obtenida a cada intensidad luminosa seleccionada, tras un periodo de estabilización de alrededor de 30 minutos, se consideró como la tasa de R_d a esa intensidad luminosa.

El método seguido para la estimación de R_d obliga a trabajar a concentraciones de CO_2 muy bajas, por lo que no es posible explorar directamente el comportamiento de R_d en relación con la concentración ambiental de CO_2 . Por ello, el análisis del efecto de la concentración de CO_2 se realizó solamente en el caso de R_n .

Para ello, en una hoja de cada especie de características similares a las de las consideradas en los experimentos anteriores, se estimó la tasa de respiración en la oscuridad (R_n) a concentraciones de CO_2 ambiental de 350 y 700 ppm.

6.3. RESULTADOS

6.3.1. Tasa de respiración (R_d y R_n)

En la Tabla 6.1 se presentan los valores de R_d estimados en el conjunto de las hojas de edad intermedia consideradas, así como el valor de Γ_* , a 20 °C, correspondiente a cada una.

No existen diferencias significativas entre los valores medios de R_d de las dos especies (test de la t-Student) aunque en *L.fragans* la

media ($0.58 \pm 0.15 \text{ mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) es algo más alta que en *H. arbutifolia* ($0.49 \pm 0.10 \text{ mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$). El punto de fotocompensación de CO_2 (Γ_*) es prácticamente idéntico en las dos especies ($35.84 \pm 1.04 \text{ ppm}$ para *H. arbutifolia* y $35.21 \pm 1.51 \text{ ppm}$ para *L. fragans*).

La Tabla 6.1 presenta también los valores de R_n de las mismas hojas obtenidos en condiciones standard ($20 \text{ }^\circ\text{C}$ temperatura foliar y 350 ppm CO_2 ambiente). Al igual que en el caso de R_d , el valor medio de R_n en las hojas de *L. fragans* ($1.11 \pm 0.42 \text{ mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) es superior al de las hojas de *H. arbutifolia* ($0.71 \pm 0.20 \text{ mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) aunque la diferencia tampoco es significativa en este caso (test de la t-Student).

En las dos especies, R_n es significativamente superior ($p < 0.05$, test t-Student) a R_d , indicando que la respiración oscura resulta parcialmente inhibida en la luz. El grado de inhibición, estimado según la fórmula: $((R_n - R_d)/R_n) * 100$, es significativamente superior en *L. fragans* (48%) que en *H. arbutifolia* (28%) ($p < 0.05$, test t-Student).

6.3.2. Efecto de la concentración de nitrógeno y de la edad de la hoja

En la Figura 6.1 se presenta la relación entre la concentración de nitrógeno foliar y los valores de R_d y R_n en las hojas de las dos especies estudiadas. Tanto R_n como R_d muestran una correlación positiva y significativa ($p < 0.05$) con la concentración de nitrógeno, que tienden a ser más alta en las hojas de *L. fragans* (Tabla 6.1).

En la Figura 6.2 se representan los valores medios de R_d y R_n con respecto a la edad de la hoja y su grado de inhibición en *H. arbutifolia* (Tablas 5.1 y 5.2). Tanto R_d como R_n disminuyen significativamente al aumentar la edad; en tanto que el grado de inhibición de R_n por efecto de la luz aumenta con la edad. Comparando los valores medios de R_d correspondientes a las distintas edades se comprueba que son significativamente distintos ($p < 0.05$, test t-Student). Las diferencias son también significativas en el caso de R_n ($p < 0.05$, test t-Student). El grado de inhibición de R_n por efecto de la luz también difiere significativamente entre edades, excepto cuando se comparan la edad más joven y la intermedia (test t-Student).

<i>Heteromeles arbutifolia</i>					
Hoja	Rd	Rn	Γ -	N	Inhibición
----	(mg CO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹)	(mg CO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹)	(ppm)	(%)	(%)
1	0.34	0.46	36.47	2.16	25.77
2	0.59	0.96	34.49	1.94	39.21
3	0.40	0.55	36.35	2.06	27.70
4	0.62	0.81	35.29	2.07	24.23
5	0.49	0.78	37.41	1.90	36.59
6	0.60	0.99	35.12	1.93	38.70
7	0.53	0.63	36.98	2.00	16.42
8	0.37	0.46	34.57	1.91	19.06
MEDIA	0.49	0.71	35.84	2.00	28.46
S.D.	± 0.10	± 0.20	± 1.04	± 0.09	± 8.26

<i>Lepechinia fragans</i>					
Hoja	Rd	Rn	Γ -	N	Inhibición
----	(mg CO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹)	(mg CO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹)	(ppm)	(%)	(%)
1	0.63	0.75	35.86	3.30	15.61
2	0.37	0.98	37.24	3.04	62.44
3	0.69	0.87	33.83	3.14	57.44
4	0.71	1.63	36.85	3.30	56.63
5	0.32	0.47	35.72	3.55	33.02
6	0.70	1.59	32.93	2.89	55.93
7	0.63	1.49	34.01	3.14	57.72
MEDIA	0.58	1.11	35.21	3.19	48.40
S.D.	± 0.15	± 0.42	± 1.51	± 0.20	± 17.33

Tabla 6.1. Valores de Rd, Rn, Γ - (punto de fotocompensación de CO₂), nitrógeno orgánico y grado de inhibición de la respiración en las hojas de edad intermedia de las dos especies estudiadas.

Heteromeles arbutifolia

Hojas jóvenes

Hoja	Rd (mg CO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹)	Rn (mg CO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹)	Γ- (ppm)	N (%)	Inhibición (%)
1	1.35	1.53	36.46	2.4	11.4
2	1.21	1.21	35.31	2.9	0.0
MEDIA	1.28	1.37	35.89	2.65	5.7
S.D.	0.07	0.16	0.58	0.25	5.7

Hojas maduras

Hoja	Rd (mg CO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹)	Rn (mg CO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹)	Γ- (ppm)	N (%)	Inhibición (%)
1	0.14	0.59	38.31	1.9	75.5
2	0.16	0.53	33.25	1.8	69.1
MEDIA	0.15	0.56	35.78	1.85	72.3
S.D.	± 0.01	± 0.03	± 2.53	± 0.05	± 3.2

Tabla 6.2. Valores de Rd, Rn, Γ-, nitrógeno orgánico y grado de inhibición de la respiración en las hojas de edad joven y madura de *H. arbutifolia*.

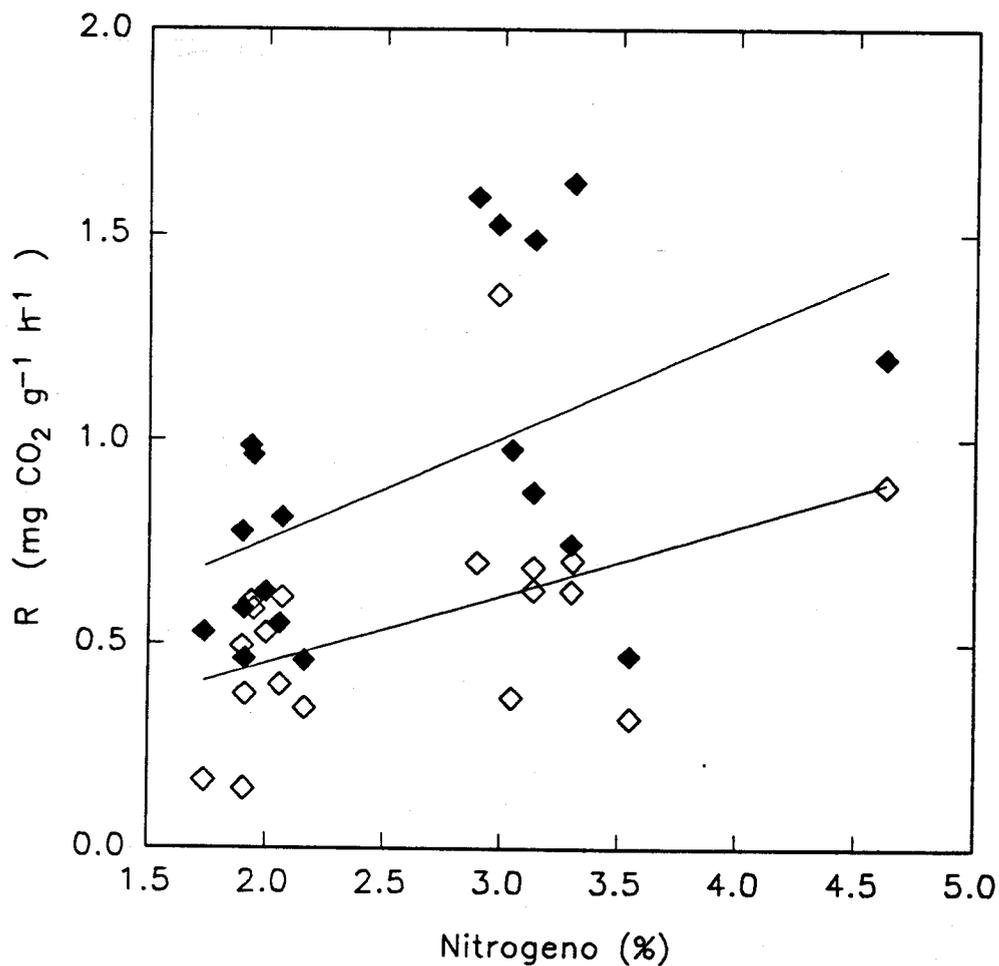


Figura 6.1. Relación de Rd (símbolos vacíos) y Rn (símbolos llenos) con la concentración de nitrógeno foliar en *H. arbutifolia* y *L. fragans*. Las líneas representan las regresiones lineales para Rn: $y = 0.2573 + 0.2495 * x$ ($r=0.49$, $p<0.05$) y para Rd: $y = 0.1147 + 0.1685 * x$ ($r=0.48$, $p<0.05$).

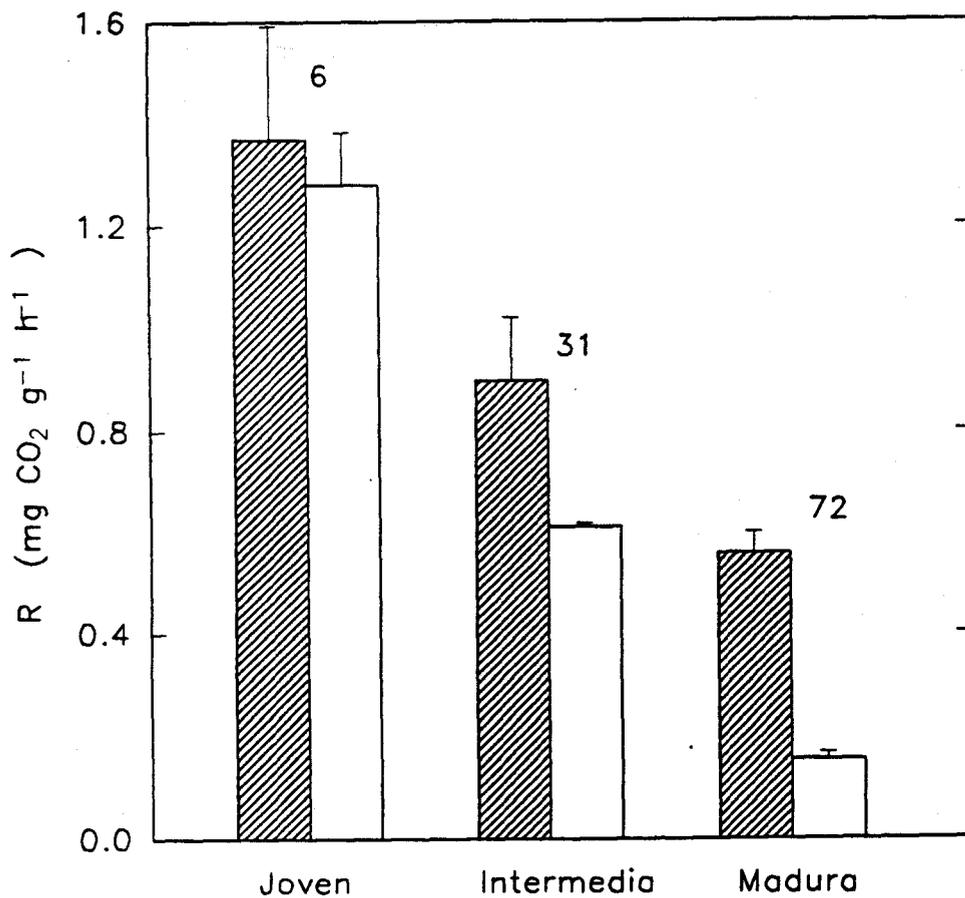


Figura 6.2. Valores de Rd (barras vacías) y Rn (barras rayadas) en hojas de *H. arbutifolia* pertenecientes a distintas clases de edad. Los números sobre las barras indican el porcentaje de inhibición de la respiración oscura en la luz. Los segmentos sobre las barras indican la desviación estandard.

6.3.3. Efecto del contenido en carbohidratos de la hoja

En la Tabla 6.3 se presentan los valores de R_d y R_n en las hojas de edad intermedia de las dos especies en condiciones de bajo y alto contenido de carbohidratos.

Como puede comprobarse, el previsible aumento en el nivel de carbohidratos de la hoja como consecuencia del tratamiento a alta intensidad luminosa y alta concentración ambiental de CO_2 , lleva emparejado un aumento en los valores de R_d y R_n de las dos especies (del orden del 20-30%), siendo este aumento significativo ($p < 0.05$) en el caso de R_d , aunque no en el de R_n (test t-Student).

6.3.4. Efecto de la temperatura e intensidad luminosa

En la Tabla 6.4 se presentan los valores de R_d y R_n estimados a 10, 20 y 30 °C en las hojas de las dos especies estudiadas. La tabla incluye el Q_{10} para los tramos de 10-20 °C y 20-30 °C, así como el valor de Γ^* para las tres temperaturas estudiadas. Los resultados muestran que, en las dos especies, las tasas de respiración (R_d y R_n) aumentan con la temperatura.

En *H. arbutifolia* el Q_{10} de R_d y R_n es similar en los dos tramos de temperatura estudiados, estando próximo a 2, en tanto que en *L. fragans* el Q_{10} es muy superior a 2 en el tramo de temperatura comprendido entre 10-20 °C; descendiendo en el tramo 20-30 °C a un valor próximo a 2. En todos los casos el Q_{10} correspondiente al primer tramo de temperatura (10-20 °C) es superior al Q_{10} del segundo (20-30 °C).

En las dos especies, los valores de Γ^* aumentan con la temperatura; siendo idénticos en las dos especies los correspondientes a cada una de las temperaturas consideradas.

En la Figura 6.3 se presenta el efecto de la intensidad luminosa sobre el valor de R_d . La intensidad luminosa afecta al valor de R_d en las hojas de las dos especies estudiadas, cuyo valor disminuye a medida que aumenta la intensidad luminosa hasta aproximadamente $300 \mu E m^{-2} s^{-1}$; intensidad a partir de la cual el valor de R_d se estabiliza, alcanzando

Heteromeles arbutifolia

Nivel de carbohidratos -----	Rd (mg CO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹) -----	Rn (mg CO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹) -----	Inhibición (%) -----
BAJO	0.55 ± 0.06	0.78 ± 0.01	30.1
ALTO	0.88 ± 0.10	1.13 ± 0.02	22.0

Lepechinia fragans

Nivel de carbohidratos -----	Rd (mg CO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹) -----	Rn (mg CO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹) -----	Inhibición (%) -----
BAJO	0.70 ± 0.01	1.23 ± 0.36	43.6
ALTO	0.94 ± 0.05	1.79 ± 0.15	47.1

Tabla 6.3. Efecto del nivel de carbohidratos en la hoja sobre los valores de Rd y Rn en las dos especies estudiadas (n=2).

Heteromeles arbutifolia

Temperatura (°C)	Rd (mg CO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹)	Q ₁₀	Rn (mg CO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹)	Q ₁₀	Γ _c (ppm)	Inhibición (%)
10	0.13	2.5	0.22	2.5	27.24	41.8
20	0.32	1.8	0.56	2.2	37.65	42.4
30	0.58		1.21		56.15	51.8

Lepechinia fragans

Temperatura (°C)	Rd (mg CO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹)	Q ₁₀	Rn (mg CO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹)	Q ₁₀	Γ _c (ppm)	Inhibición (%)
10	0.05	11.2	0.46	3.6	26.95	89.6
20	0.53	2.0	1.63	1.6	36.85	67.3
30	1.05		2.58		58.25	59.5

Tabla 6.4. Efecto de la temperatura sobre los valores de Rd, Rn, Q₁₀ y Γ_c en las hojas de las dos especies estudiadas.

su valor más bajo. El grado de inhibición es más alto en las hojas de *L. fragans* donde, como muestra la Figura 6.3, puede alcanzar casi el 100% a intensidades luminosas próximas a $200 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$, en tanto que en *H. arbutifolia* la máxima inhibición solo alcanza el 80% de la tasa de respiración oscura.

6.3.5. Efecto de la concentración de CO_2 sobre el valor de R_n

En la Figura 6.4 se presenta el efecto de la concentración ambiental de CO_2 sobre el valor de R_n de las hojas de las dos especies estudiadas. Considerando los valores medios estimados para cada especie se comprueba que R_n es menor cuanto mayor es la concentración ambiental de CO_2 . En *H. arbutifolia* R_n pasa de $0.50 \pm 0.02 \text{ mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ en condiciones estándar (350 ppm) a $0.38 \pm 0.03 \text{ mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ a 700 ppm, lo que supone una disminución en R_n del 24 %. En *L. fragans* el valor medio de R_n a la concentración ambiental de CO_2 de 350 ppm ($4.20 \pm 0.17 \text{ mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) pasa a $3.46 \pm 0.17 \text{ mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ a una concentración ambiental de CO_2 de 700 ppm lo que supone una disminución del 18 % con respecto al valor de R_n a 350 ppm.

6.4. DISCUSION

En general, los resultados de este estudio muestran que, a pesar de las diferencias existentes entre las hojas de las dos especies consideradas en cuanto a duración, peso específico foliar, composición química, etc (Merino et al. 1984), las hojas no difieren significativamente en el valor de R_d ; aunque el valor medio de *L. fragans* ($0.58 \pm 0.15 \text{ mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) es superior al de *H. arbutifolia* ($0.49 \pm 0.10 \text{ mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$). El mayor contenido en nitrógeno orgánico en *L. fragans* podría explicar esta pequeña diferencia; al ser el contenido en proteínas uno de los determinantes más importantes de la tasa de respiración de las hojas (Penning de Vries 1975; Anthor 1989). La correlación positiva y significativa que muestra la concentración de nitrógeno con las tasas de respiración en la luz y en la oscuridad (Figura 6.1) están de acuerdo con ello. Esta relación entre la tasa de

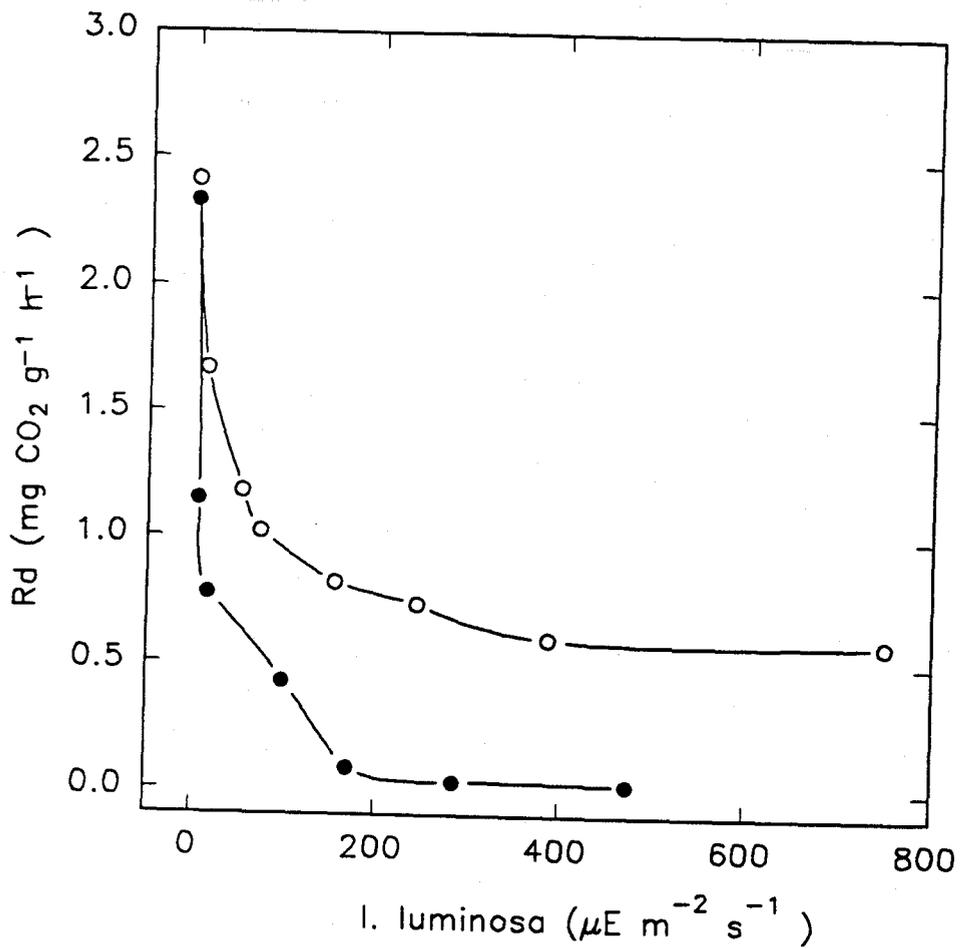


Figura 6.3. Efecto de la intensidad luminosa sobre el valor de Rd en *H. arbutifolia* (símbolos vacíos) y *L. fragans* (símbolos llenos).

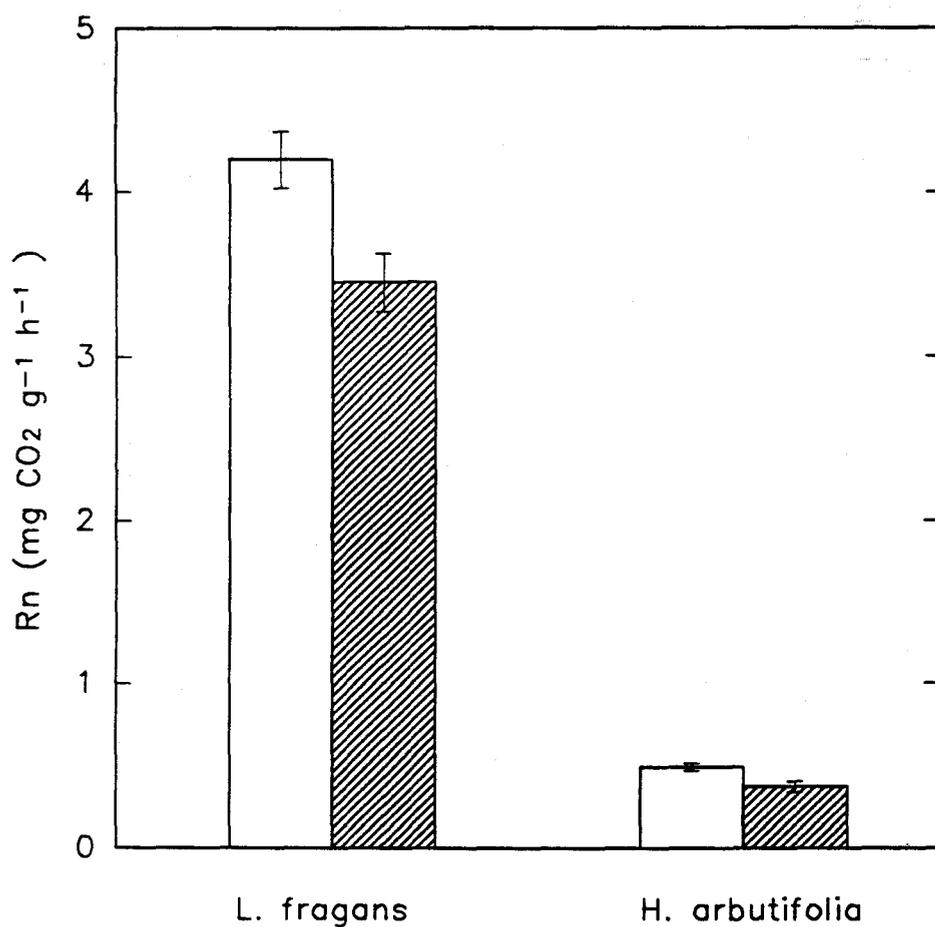


Figura 6.4. Efecto de la concentración ambiental de CO₂ (350 y 700 ppm) sobre el valor de Rn en *H. arbutifolia* y *L. fragans*. Rn a 350 ppm: Barras vacías; Rn a 700 ppm: Barras con trazado.

respiración y la concentración de nitrógeno explicaría también, en parte, los relativamente altos valores de R_d que se observan en las hojas más jóvenes de *H. arbutifolia* ($1.28 \text{ mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) respecto a la que muestran las hojas más maduras ($0.15 \text{ mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$); ya que la concentración de nitrógeno en las primeras es significativamente más alta (2.7 % frente al 2 %) (Tabla 6.1).

Consideradas globalmente, las concentraciones de nitrógeno de las hojas estudiadas, son relativamente bajas (Tabla 6.1) si se las compara con los valores publicados para especies de interés agrícola (Amthor 1989); lo que explicaría los bajos valores de R_d y R_n estimados en el presente estudio en comparación con los publicados para especies de interés agrícola o forestal (Brooks y Farquhar 1985, Kirschbaum y Farquhar 1987).

Los resultados muestran también que las tasas de respiración en la luz en las hojas de las dos especies son significativamente más bajas que las tasas de respiración en la oscuridad, lo que demuestra que la respiración oscura resulta parcialmente inhibida en la luz en las dos especies estudiadas.

El hecho de que las hojas de edad intermedia de *L. fragans* muestren una inhibición de R_n en la luz significativamente mayor (48 %) que las de *H. arbutifolia* (28 %) no apoya la hipótesis de que el efecto inhibitorio de la luz debería ser más intenso en las hojas de mayor duración.

Posiblemente la diferencia observada en el grado de inhibición en estas dos especies no es resultado de un proceso evolutivo que haya llevado a un control fino de la actividad de los enzimas implicados en el proceso respiratorio por la acción de diversos cofactores (ATP, NADPH, etc), sino quizás una mera consecuencia de las diferencias en las tasas medias fotosintéticas. Así, en condiciones de iluminación, la utilización directa de ATP y NADPH procedentes del proceso fotosintético debe disminuir los requerimientos de estas moléculas, disminuyendo así la tasa de respiración. Las tasas fotosintéticas de *L. fragans* son sensiblemente más altas que las de *H. arbutifolia* (Castellanos 1986, datos no publicados), lo que forzosamente debe suponer una mayor disponibilidad de ATP y NADPH, y por tanto un menor requerimiento de estos metabolitos (menor tasa de respiración); lo que, en definitiva, debe traducirse en un

mayor grado de inhibición de la tasa de respiración oscura por efecto de la luz en esta especie.

Como muestran los resultados, el grado de inhibición es variable dependiendo de las características internas de la hoja y de las condiciones ambientales, alcanzando a intensidades luminosas relativamente bajas valores muy elevados en aquellas especies con una tasa fotosintética más alta, como es el caso de *L. fragans*, donde el grado de inhibición puede alcanzar el 100 % a intensidades luminosas de 200 ó 300 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 6.4). No obstante, como muestran los resultados (Figura 6.2), estos fuertes grados de inhibición por efecto de la luz sólo son de esperar en las hojas que han finalizado su fase de crecimiento; mientras que en las hojas jóvenes la inhibición de la respiración en la luz sólo es de un 6 %, ya que, éstas requieren un suministro de esqueletos carbonados para la síntesis de nuevos tejidos; esqueletos que sólo se generan por la vía respiratoria (Graham 1980).

Dado que la respiración asociada a la construcción de las hojas puede constituir alrededor del 30 % del costo de construcción (Merino et al. 1982), la disminución en el costo de construcción debida a la inhibición de la respiración por la luz sería del orden del 2 % (el 6 % del 30 %), por lo que el costo de construcción en condiciones de luz sería prácticamente igual al estimado en el Capítulo 2 de esta memoria. En cambio, el costo de mantenimiento podría variar considerablemente, pudiendo llegar a ser prácticamente nulo en condiciones luminosas por encima de los 300 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Los resultados muestran también que a niveles de carbohidratos similares a los esperados a las intensidades luminosas que se registran en condiciones de iluminación diurna, las tasas de respiración en la luz (R_d) de las dos especies, son significativamente más elevadas (del orden de un 20 a un 30 %) que los esperados a bajos niveles de disponibilidad de carbohidratos. Sin embargo, el grado de inhibición es prácticamente independiente del nivel de carbohidratos y similar a la media estimada para las dos especies (Tabla 6.1), ya que el valor de R_n aumenta en la misma proporción que R_d (Tabla 6.3). La influencia del nivel de carbohidratos sobre la respiración ha sido explicada en base al efecto de

la ley de acción de masas sobre las reacciones oxidativas en las mitocondrias (Azcon Bieto et al. 1983).

El valor de R_d aumenta también con la temperatura con un Q_{10} que en la mayoría de los casos está próximo a 2, aunque el grado de inhibición tiene un comportamiento irregular dependiendo de la especie y del tramo de temperatura considerado.

No obstante, considerando el conjunto de los resultados, las respuestas de R_d y R_n a la variación de los diversos factores considerados (concentración de nitrógeno foliar, nivel de carbohidratos, temperatura) muestran un fuerte paralelismo (Figura 6.5), sugiriendo que los procesos respiratorios en condiciones luminosas no deben diferir esencialmente de los que tienen lugar en condiciones de oscuridad, como, de hecho, ha sido publicado para especies herbáceas (Brooks y Farquhar 1985).

La escasez de datos sobre los valores de R_d en especies leñosas (y particularmente en el caso de las silvestres) dificulta el contraste de los resultados obtenidos en el presente estudio. No obstante, los grados de inhibición observados parecen ser realistas, ya que están comprendidos en el entorno de valores publicados para otras especies siguiendo este mismo método (Brooks y Farquhar 1985, Laisk 1977).

En este sentido debe subrayarse además que el valor de Γ^* -índice de especificidad para el CO_2 de la Rubisco- es prácticamente idéntico en las hojas de las dos especies estudiadas, y muy similar a los publicados para otras especies en experimentos realizados a la misma temperatura (Jordan y Ogren 1984, Brooks y Farquhar 1985), lo que era de esperar en especies C_3 de igual ecología (Jordan y Ogren 1981). De hecho, los valores medios de Γ^* estimados en el presente trabajo para las hojas de *L. fragans* y *H. arbutifolia* a 20 °C (respectivamente 35.21 y 35.84 ppm) y a 30 °C (respectivamente 58.25 y 56.15 ppm), son prácticamente idénticos a los predichos a partir de la ecuación que relaciona Γ^* con la temperatura en hojas de *Spinacia oleracea* (Farquhar 1988). La ecuación falla en la predicción del valor de Γ^* correspondiente a los experimentos realizados a 10 °C lo que podría deberse a la disminución brusca de la especificidad de la Rubisco por el CO_2 respecto del O_2 a bajas temperaturas, según puede deducirse a partir de los datos de Hall y Keys

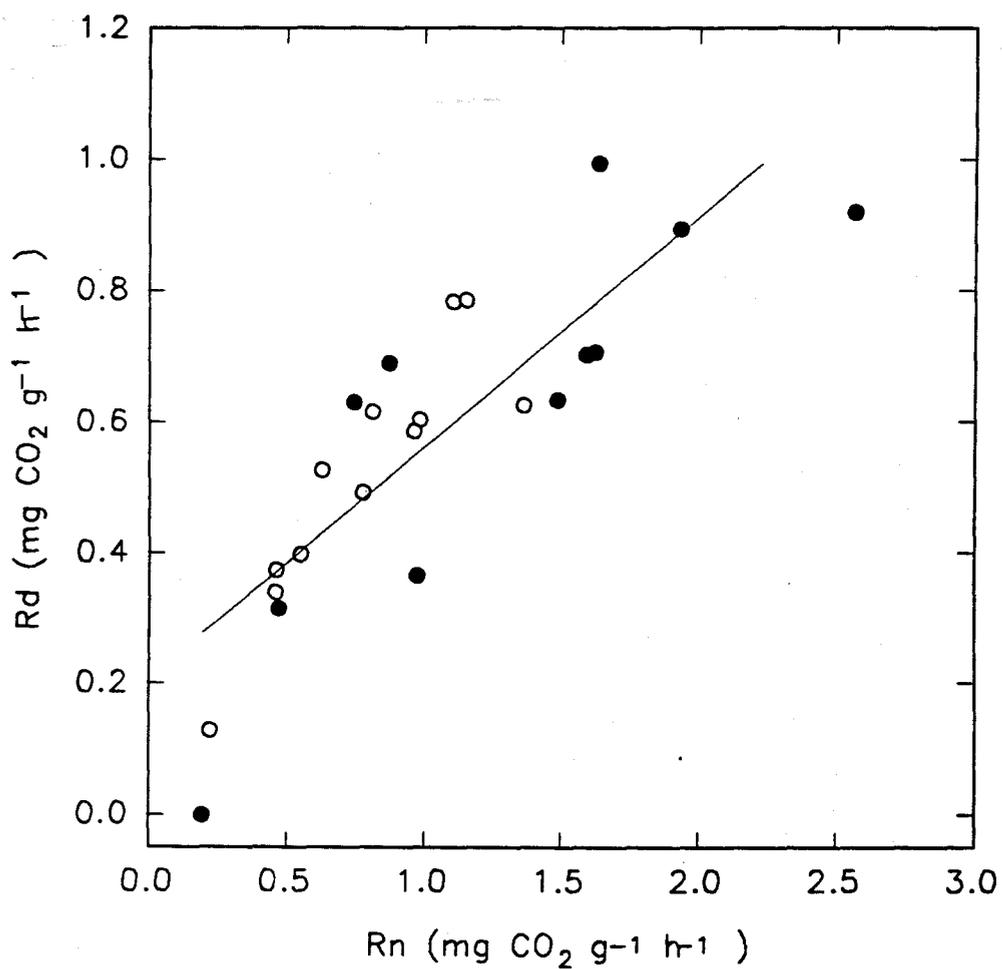


Figura 6.5. Relación entre los valores de Rd y Rn. en las hojas de *H. arbutifolia* (símbolos vacíos) y *L. fragans* (símbolos llenos). La línea representa la regresión lineal $y = 0.2090 + 0.3517 * x$ ($r=0.83$, $p<0.01$).

(1983) modificados por Brooks y Farquhar (1985). Esta similitud en el valor absoluto de F_w y en su respuesta a la variación de la temperatura (Tabla 6.4) refuerza la validez de los valores de R_d estimados aquí.

No obstante, los resultados discutidos en el capítulo 4 indican que, debido a las bajas concentraciones de CO_2 ambiental durante la realización de los experimentos, el método seguido aquí sobrestima las tasas de respiración alrededor de un 28 %; por lo que, si se efectúan las correcciones pertinentes, los valores medios de la respiración luminosa en la Tabla 6.1, para las hojas de edad intermedia de *H. arbutifolia* y *L. fragans* pasarían respectivamente a 0.35 y 0.42 $mg\ CO_2\ g^{-1}\ h^{-1}$; con lo que el grado de inhibición de la respiración en la luz sería de un 49 % para *H. arbutifolia* y un 59 % para *L. fragans*, siendo el valor medio para las dos especies de un 53 %.

Por último, los resultados muestran también que la tasa de respiración oscura de las dos especies disminuye por término medio un 18 % al pasar de concentraciones normales de CO_2 (350 ppm) a concentraciones altas (700 ppm). Si se acepta el paralelismo en las respuestas de R_n y R_d (Figura 6.5) estos resultados sugieren que en el caso de una duplicación de la concentración atmosférica de CO_2 , la R_d a 350 ppm de CO_2 descendería un 18 % para las dos especies estudiadas.

6.5. CONSIDERACIONES FINALES

Considerados en conjunto, estos resultados sugieren que la luz inhibe significativamente la tasa de respiración oscura del orden de un 53 %, y que puede llegar al 90 % a intensidades luminosas por encima de los 300 $\mu E\ m^{-2}\ s^{-1}$, y que, por lo tanto, su efecto debería ser tenido en cuenta en los análisis del balance de carbono. El efecto depresor debe ser mucho más importante en la plantas de sol, ya que, por debajo de 200 $\mu E\ m^{-2}\ s^{-1}$, el efecto inhibitor decrece rápidamente, igualando las tasas de respiración en oscuridad. Así mismo, el efecto debe ser más intenso en doseles con un bajo coeficiente de extinción, ya que las hojas más sensibles al efecto de la luz parecen ser aquellas que han completado ya su crecimiento, y se encuentran, por tanto, en las capas inferiores del dosel.

La tasa de respiración en condiciones luminosas debe ser mínima a primeras horas de la mañana (el grado de inhibición podría alcanzar el 90 %) debido a la alta intensidad luminosa, al bajo nivel de carbohidratos y a la menor temperatura. Por la tarde, la elevación de la temperatura entre 10 y 15 °C aumentaría el valor de R_d entre un 200 a un 300 % ($Q_{10} = 2$), y el aumento en la disponibilidad de carbohidratos lo podría incrementar un 20 %. En estas condiciones, el valor de R_d podría estar situado entre un 24 y un 35 % de la tasa de respiración nocturna.

A esta variación diaria del efecto depresor de la luz habría que superponerle la variación estacional debida a la variación de la temperatura y de la intensidad luminosa, así como al efecto de los cambios ontogénicos de la hoja.

En la perspectiva del Cambio Global, los resultados sugieren que la duplicación de la concentración de CO_2 atmosférico puede contribuir a una disminución de las tasas de respiración, tanto oscura como luminosa, del orden de un 18%. Este efecto debe ser especialmente importante en regiones en las que los individuos presentan un balance de carbono muy próximo a cero, durante una parte significativa del año como es el caso de las áreas mediterráneas.

RESUMEN DE LAS PRINCIPALES CONCLUSIONES

1. No se han detectado diferencias significativas en el costo de construcción asociadas a la longevidad de las hojas. Las diferencias observadas entre las hojas de las especies perennifolias (1.55 ± 0.12 g glucosa g^{-1}) y las caducifolias (1.49 ± 0.09 g glucosa g^{-1}) se deben a la presencia de hojas xeromorfas en el conjunto de hojas de larga duración. Las hojas xeromorfas presentan un elevado contenido en lípidos y, por lo tanto, un costo de construcción relativamente elevado.

1 a. Las diferencias observadas parecen ser una consecuencia del ajuste evolutivo de las características de las hojas a cada ambiente concreto. Las hojas de las especies propias de los ambientes xéricos y de los ambientes fríos parecen ser las más costosas de construir, independientemente de su longevidad.

1 b. El contenido en lípidos parece ser el determinante fundamental (aunque quizás no el único) de las diferencias observadas en el costo de construcción.

2. Las fuertes diferencias del peso específico foliar que muestran las hojas estudiadas, son el factor determinante de las diferencias observadas en el costo de construcción por unidad de superficie, que, en las especies perennifolias, (233.1 ± 65.9 g glucosa m^{-2}) llega a duplicar el valor estimado para las especies caducifolias (111.1 ± 47.0 g glucosa m^{-2}).

El peso específico foliar emerge así, como el parámetro más importante en la determinación de las diferencias esperadas en el balance costo-beneficio de las hojas de las especies leñosas.

3. Ninguno de los cuatro métodos seguidos para la estimación del costo de mantenimiento resulta completamente satisfactorio. El método de regresión y el método del tejido maduro parecen suministrar las estimas más realistas.
 - 3 a. Las diferencias observadas entre los resultados obtenidos por los dos últimos métodos parecen corresponder a diferencias en el costo de mantenimiento asociadas a la ontogenia de la hoja.
 - 3 b. El método de regresión parece más apropiado par estimaciones relativas a los primeros estadios del desarrollo de las hojas, en tanto que el segundo parece más adecuado para las fases en las que se ha completado el crecimiento foliar.
4. Las hojas muestran diferencias en el costo de mantenimiento que están asociadas a su longevidad. Las hojas de larga duración son las menos costosas de mantener (9.0 ± 2.8 mg glucosa g^{-1} día $^{-1}$), en tanto que las de especies caducifolias son las más costosas (15.9 ± 5.4 mg glucosa g^{-1} día $^{-1}$). Las hojas de las especies semiperennes, con una duración mínima, presentan unos valores similares (16.7 ± 6.0 mg glucosa g^{-1} día $^{-1}$) a los de las hojas de las especies caducifolias.
 - 4 a. Las diferencias observadas están asociadas a parámetros indicadores de la actividad fisiológica foliar, como son la concentración de nitrógeno y el contenido hídrico.
 - 4 b. El mantenimiento de un determinado grado de actividad fisiológica es muy parecido en las hojas de corta y larga duración, lo que sugiere que no existen diferencias intrínsecas entre las características de sus tejidos activos.
5. De los dos métodos considerados, el método de Laisk (1977) parece sobreestimar la tasa de respiración en condiciones luminosas debido a la baja concentración de CO_2 ambiental que requieren las condiciones experimentales. No obstante, si se establece la relación entre

respiración y concentración ambiental de CO_2 , este método parece el más adecuado en los estudios que requieren la consideración de números elevados de muestras.

6. La luz inhibe la tasa de respiración en las hojas de las dos especies estudiadas. El grado de inhibición a intensidades luminosas no saturantes es significativamente mayor en las hojas de la especie de corta duración (60 %) que en las hojas de larga duración (40 %).

6 a. El grado de inhibición depende de las condiciones intrínsecas (edad de la hoja) y ambientales (intensidad luminosa). En las hojas maduras es significativamente más elevado que en las más jóvenes (6 %), pudiendo alcanzar en las primeras el 90 % en condiciones de iluminación moderadas ($300 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

6 b. Lo anterior sugiere que el costo de construcción no parece resultar afectado por la luz, en tanto que el costo de mantenimiento podría ser prácticamente nulo en condiciones de iluminación moderada.

6 c. El fuerte efecto inhibitorio de la luz sobre el costo de mantenimiento sugiere a su vez que la importancia relativa de este componente de la respiración puede haber sido sobrevalorado en los estudios sobre balance de carbono.

Apéndice I. Valores medios del peso específico, contenido calórico (cal g^{-1} libre de ceniza), concentración de ceniza, concentración de nitrógeno y costo de construcción de las hojas de las especies estudiadas. Long: longevidad de la hoja (C: hoja caduca; SP: hoja semiperenne; P: hoja perenne).

LAURISILVA (Canarias, España)

ESPECIE	LONG	SUP (cm ²)	P ESP (g m ⁻²)	Hc (cal g ⁻¹)	CENIZA (g g ⁻¹)	NITROG (g g ⁻¹)	C CONST (g glu g ⁻¹)
<i>Prunus lusitanica</i>	P	23.880	129.55	5322.62	0.0553	0.0174	1.6313
<i>Myrica faya</i>	P	9.760	94.77	4747.82	0.0453	0.0208	1.4783
<i>Apollonias barbujana</i>	P	24.870	141.51	4860.18	0.0429	0.0127	1.4930
<i>Persea indica</i>	P	57.140	118.84	5088.57	0.0421	0.0153	1.5736
<i>Laurus azorica</i>	P	26.090	128.90	5090.61	0.0437	0.0126	1.5634
<i>Picconia excelsa</i>	P	26.260	174.65	5169.09	0.0479	0.0136	1.5843
<i>Ilex canariensis</i>	P	33.190	157.66	5296.40	0.0731	0.0088	1.5675
<i>Heberdenia bahamensis</i>	P	23.040	113.12	4587.70	0.0719	0.0093	1.3556
<i>Ilex platyphylla</i>	P	39.900	140.30	5143.10	0.0730	0.0135	1.5354
<i>Ocotea foetens</i>	P	14.830	109.90	5251.40	0.0417	0.0210	1.6425
<i>Visnea mocanera</i>	P	15.600	139.10	4775.76	0.0739	0.0103	1.4128
<i>Arbutus canariensis</i>	P	82.700	143.45	5016.75	0.0757	0.0124	1.4895
<i>Rhamnus glandulosa</i>	P	27.220	123.66	4919.90	0.1291	0.0165	1.3904
<i>Viburnum rigidum</i>	P	21.360	142.48	5259.36	0.0650	0.0128	1.5818
<i>Salix canariensis</i>	C	9.460	60.38	5128.02	0.0497	0.0316	1.6229
<i>Maytenus canariensis</i>	P	16.230	118.07	4402.85	0.1696	0.0156	1.1844
MEDIA		28.221	127.27	5003.76	0.0690	0.015	1.507
S.D.		18.715	26.310	267.13	0.0350	0.006	0.122

VEGETACION XEROFITICA (Canarias, España)

ESPECIE	LONG	SUP (cm ²)	P ESP (g m ⁻²)	Hc (cal g ⁻¹)	CENIZA (g g ⁻¹)	NITROG (g g ⁻¹)	C CONST (g glu g ⁻¹)
<i>Juniperus phoenicea</i>	P	--	--	5326.44	0.0529	0.0084	1.6094
<i>Olea europaea</i>	P	4.170	196.40	5492.97	0.0564	0.0178	1.6834
<i>Pinus canariensis</i>	P	21.320	68.79	4866.56	0.0291	0.0124	1.5151
<i>Erica arborea</i>	P	0.029	131.57	5892.79	0.0412	0.0124	1.8190
<i>Erica scoparia</i>	P	0.057	128.68	5462.11	0.0371	0.0138	1.6949
<i>Dorycnium spectabile</i>	-	8.670	80.50	4929.86	0.0895	0.0366	1.5148
<i>Jasminum odoratisimum</i>	P	17.060	154.61	5680.15	0.0753	0.0202	1.7148
<i>Bupleurum salicifolium</i>	-	5.140	140.36	5209.58	0.0848	0.0216	1.5608
<i>Dafne gnidium</i>	P	1.290	159.22	5385.64	0.0527	0.0162	1.6517
<i>Chamaecytisus proliferus</i>	-	2.020	151.81	5440.49	0.0361	0.0306	1.7402
<i>Cistus simphytifolius</i>	SP	10.330	165.16	4919.67	0.0713	0.0150	1.4748
<i>Argyranthemum spp</i>	-	1.990	138.71	4933.02	0.1321	0.0113	1.3739
<i>Rumex lunaria</i>	-	16.830	93.38	4416.37	0.1417	0.0214	1.2442
<i>Cistus monspeliensis</i>	SP	1.880	215.97	5046.77	0.1014	0.0128	1.4594
<i>Hypericum reflexum</i>	-	0.990	109.58	4931.84	0.0443	0.0102	1.5056
<i>Adenocarpus foliolosus</i>	-	0.040	99.83	5505.22	0.0426	0.0389	1.7746
MEDIA		6.121	137.046	5214.97	0.068	0.019	1.584
S.D.		7.105	40.019	374.74	0.034	0.009	0.156

BOSQUE MEDITERRANEO HUMEDO (California, EE.UU.)

ESPECIE	LONG	SUP (cm ²)	P ESP (g m ⁻²)	Hc (cal g ⁻¹)	CENIZA (g g ⁻¹)	NITROG (g g ⁻¹)	C CONST (g glu g ⁻¹)
<i>Alnus rhombifolia</i>	C	41.570	96.85	4727.71	0.0548	0.0225	1.4633
<i>Quercus lobata</i>	C	28.130	131.12	4788.24	0.0642	0.0205	1.4617
<i>Quercus keloggii</i>	C	40.890	117.73	4553.84	0.0358	0.0158	1.4160
<i>Quercus douglasii</i>	C	12.670	126.35	4725.15	0.0522	0.0172	1.4502
<i>Aesculus californica</i>	C	15.560	71.85	4712.41	0.1311	0.0202	1.3394
<i>Salix laevigata</i>	C	17.780	121.17	5172.43	0.0504	0.0184	1.5958
<i>Heteromeles arbutifolia</i>	P	28.400	192.84	5124.08	0.0526	0.0068	1.5423
<i>Rhamnus californica</i>	P	11.180	93.64	4775.99	0.0643	0.0134	1.4365
<i>Quercus agrifolia</i>	P	9.060	179.76	4520.99	0.0327	0.0109	1.3953
<i>Arbutus menziesii</i>	P	41.590	143.48	4814.19	0.0405	0.0121	1.4803
MEDIA		24.683	127.479	4791.50	0.058	0.016	1.458
S.D.		13.170	37.400	211.05	0.028	0.005	0.072

CHAPARRAL (California, EE.UU.)

ESPECIE	LONG	SUP (cm ²)	P ESP (g m ⁻²)	Hc (cal g ⁻¹)	CENIZA (g g ⁻¹)	NITROG (g g ⁻¹)	C CONST (g glu g ⁻¹)
<i>Arctostaphylos crustacea</i>	P	7.800	189.03	5197.23	0.0274	0.0077	1.6086
<i>Adenostoma fasciculatum</i>	P	0.054	246.40	5031.04	0.0291	0.0103	1.5609
<i>Eriodictyon californicum</i>	SP	11.090	272.85	5375.13	0.0359	0.0097	1.6571
<i>Ceanotus cuneatus</i>	P	1.320	277.59	4783.78	0.0300	0.0133	1.4899
<i>Diplacus aurantiacus</i>	SP	-	-	4905.4	0.0420	0.0174	1.582
<i>Lepechinia calycina</i>	C	-	-	5010.5	0.0721	0.023	1.556
MEDIA		5.066	246.467	5111.79	0.0401	0.014	1.579
S.D.		13.170	37.400	211.05	0.028	0.005	0.072

BOSQUE AUSTRAL (Tierra de Fuego, Argentina)

ESPECIE	LONG	SUP (cm ²)	P ESP (g m ⁻²)	Hc (cal g ⁻¹)	CENIZA (g g ⁻¹)	NITROG (g g ⁻¹)	C CONST (g glu g ⁻¹)
<i>Nothofagus antarctica</i>	C	2.860	92.12	4804.49	0.0430	0.0242	1.5097
<i>Nothofagus pumilio</i>	C	2.470	54.55	4509.12	0.0882	0.0224	1.3482
<i>Nothofagus betuloides</i>	P	1.800	150.42	4891.34	0.0245	0.0128	1.5310
<i>Berberis ilicifolia</i>	P	4.600	205.44	4615.06	0.0375	0.0117	1.4208
<i>Embothrium coccineum</i>	P	13.110	127.95	4961.99	0.0460	0.0120	1.5178
<i>Maytenus magellanica</i>	P	8.710	136.56	4516.37	0.0768	0.0100	1.3292
<i>Drimys winteri</i>	P	31.220	145.91	4818.34	0.0358	0.0088	1.4785
MEDIA		9.253	130.42	4730.96	0.0503	0.0145	1.4479
S.D		10.502	47.49	182.95	0.023	0.006	0.083

DESERTO (Mohave, Chihuahua, RR.UU.)

ESPECIE	LONG	SUP (cm ²)	P ESP (g m ⁻²)	Hc (cal g ⁻¹)	CENIZA (g g ⁻¹)	NITROG (g g ⁻¹)	C CONST (g glu g ⁻¹)
<i>Larrea tridentata</i>	P	0.311	121.41	5644.43	0.0965	0.0239	1.6774
<i>Simmondsia chinensis</i>	-	2.348	196.76	4783.42	0.0566	0.0172	1.4618
<i>Flourensia cernua</i>	-	1.011	115.89	5333.71	0.1258	0.0244	1.5377
<i>Artemisia tridentata</i>	-	0.112	131.13	4870.02	0.0686	0.0160	1.4666
<i>Chilopsis linearis</i>	P	3.692	232.50	4956.10	0.0667	0.0154	1.4943
<i>Chrysothamnus nauseosus</i>	-	0.283	122.24	5140.67	0.0898	0.0193	1.5252
MEDIA		1.293	153.32	5121.39	0.0840	0.0194	1.5271
S.D		1.437	49.06	323.65	0.025	0.004	0.080

BOSQUE TEMPLADO (E.E.U.U.)

ESPECIE	LONG	SUP (cm ²)	P ESP (g m ⁻²)	Hc (cal g ⁻¹)	CENIZA (g g ⁻¹)	NITROG (g g ⁻¹)	C CONST (g glu g ⁻¹)
<i>Chionanthus virginicus</i>	C	83.770	34.54	4820.58	0.0777	0.0176	1.4428
<i>Cornus florida</i>	C	36.040	43.17	4657.83	0.1037	0.0151	1.3482
<i>Carya tomentosa</i>	C	344.870	35.86	4583.12	0.0903	0.0164	1.3493
<i>Liquidambar styraciflua</i>	C	113.600	71.45	4651.99	0.0677	0.0145	1.3970
<i>Liriodendron tulipifera</i>	C	128.000	35.55	4936.45	0.0723	0.0160	1.4815
<i>Platanus occidentalis</i>	C	169.350	42.96	4999.99	0.0304	0.0201	1.5784
<i>Populus heterophylla</i>	C	65.280	69.74	5224.97	0.1685	0.0240	1.4354
<i>Ilex opaca</i>	P	15.020	135.85	4994.91	0.0418	0.0112	1.5323
MEDIA		119.491	58.64	4858.73	0.082	0.017	1.446
S.D.		103.842	34.57	220.13	0.042	0.004	0.083

BOSQUE TEMPLADO (Canadá)

ESPECIE	LONG	SUP (cm ²)	P ESP (g m ⁻²)	Hc (cal g ⁻¹)	CENIZA (g g ⁻¹)	NITROG (g g ⁻¹)	C CONST (g glu g ⁻¹)
<i>Populus tremuloides</i>	C	37.060	81.27	5117.64	0.0840	0.0186	1.5256
<i>Acer rubrum</i>	C	78.200	44.32	4936.12	0.0753	0.0199	1.4882
<i>Quercus rubra</i>	C	83.660	82.67	4924.36	0.0541	0.0206	1.5194
<i>Betula papyrifera</i>	C	24.422	84.53	4830.69	0.0467	0.0190	1.4968
MEDIA		55.836	73.20	4952.20	0.0650	0.0195	1.5075
S.D.		29.517	19.30	119.96	0.018	0.001	0.018

TUNDRA (Artico, Canadá)

ESPECIE	LONG	SUP (cm ²)	P ESP (g m ⁻²)	Hc (cal g ⁻¹)	CENIZA (g g ⁻¹)	NITROG (g g ⁻¹)	C CONST (g glu g ⁻¹)
<i>Salix arctica</i>	C	0.960	75.35	5423.43	0.0688	0.0499	1.7374
<i>Dryas integrifolia</i>	C	0.040	106.21	6011.98	0.0476	0.0100	1.8372
<i>Cassiope tetragona</i>	C	0.230	110.53	5372.57	0.0834	0.0175	1.5997
MEDIA		0.410	97.36	5602.66	0.0666	0.0258	1.7247
S.D		0.486	19.17	355.40	0.018	0.021	0.119

LONG	P. ESP (g m ⁻²)	AGUA (%)	NITROG (%)	C. MANTEN (mg glu g ⁻¹ día ⁻¹)
C	81.0 ± 25.4 a	54.8 ± 3.1 a	2.21 ± 0.43 a	14.1 ± 4.6 a
P	123.5 ± 20.6 b	50.5 ± 2.6 a	1.84 ± 0.17 a	8.7 ± 0.6 a

Apéndice II. Valor medio y desviación típica de las diferentes variables estudiadas en las hojas de las 9 especies del género *Quercus* agrupadas según su longevidad (C: hoja caduca, P: hoja perenne). Letras diferentes en cada columna indican que existen diferencias singificativas ($p < 0.05$) entre las medias de los distintos grupos considerados en cada columna (test t-Student).

BIBLIOGRAFIA

- Adamandiadou, S., Siafaca, L., Margaris, N.S. (1978). Caloric contents of plants dominating phryganic (East Mediterranean) ecosystems in Greece. *Flora* 167: 574-584.
- Amthor, J.S. (1989). *Respiration and crop productivity*. Springer-Verlag, New York.
- Axerold, D.I. (1966). Origin of deciduous and evergreen habits in temperate forest. *Evolution* 20: 1-15.
- Azcón-Bieto, J., Lambers, H., Day, D.A. (1983) Effect of photosynthesis and carbohydrate status on respiratory rates and the involvement of the alternative pathway in leaf respiration. *Plant Physiol.* 72: 598-603.
- Ball, J.T. (1987) Calculations related to gas exchange. En: *Stomatal function*, pp. 445-476, Zeiger, E et al, eds. Stanford University Press, Stanford.
- Beadle, N.C.W. (1954). Soil phosphate and the delimitation of plant communities in eastern Australia. I. *Ecology* 35: 370-375.
- Beevers, H. (1961). *Respiratory metabolism in plants*. Harper & Row, New York.
- Benson, L., Darrow, R.A. (1981). *Trees and shrubs of the southwester deserts*. University of Arizona Press, Tucson, Arizona.
- Bliss, L.C. (1962). Caloric and lipid content in alpine tundra plants. *Ecology* 43: 753-754.
- Bloom, A.J., Mooney, H.A., Björman, O., Berry, J.A. (1980) Materials and methods for carbon dioxide and water exchange analysis. *Plant Cell Environ.* 3: 371-6
- Bramwell, D., Bramwell, Z. (1974). *Wild flowers of the Canary Islands*. Exmo Cabildo Insular de Tenerife (Aula de Cultura). 261 pp.
- Breeze, V. y Elston, J. (1983) Examination of a model and data describing the effect of temperature on the respiration rate of crop plants. *Annals of Botany* 51: 611-616.
- Bryant, J.P., Chapin III, F.S., Klein, D.R. (1983). Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. *Oikos* 40: 357-368.
- Brooks, A. y Farquhar, G.D. (1985) Effect of temperature on the CO₂/O₂ specificity of ribulose-1,5-biphosphate carboxilase/oxigenase and the rate of respiration in the light. *Planta* 165, 397-406.

- Bunce, J.A. (1977). Leaf elongation in relation to leaf water potential in soybean. *J. Exp. Bot.* 28: 156-161.
- Castellanos, A. (1986). *Physiological ecology of Heteromeles arbutifolia under sun and shade field conditions*. Tesis Doctoral. Universidad de Stanford, EE.UU.
- Chabot, B.F. y Hicks, D.J. (1982). The ecology of leaf life spans. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 13: 229-259.
- Challa, H. (1976). An analysis of the diurnal course of growth, carbon dioxide exchange and carbohydrate reserve content of cucumber. *Agricultural Journal of Biological Sciences* 18: 711-719.
- Chapin, F.S., III. (1989). The cost of plant structures: evaluation of concepts and currencies. *Am. Nat.* 133: 1-19.
- Coley, P.D. (1980). Effects of leaf age and plant life history patterns on herbivory. *Nature* 284: 545-546.
- Coley, P.D., Bryant, J.P., Chapin III, F.S. (1985). Resource availability and plant anti-herbivore defense. *Science* 230: 895-899.
- Collier, D.E., Cummins, W.R, Villar, R. (1992). Diurnal patterns of respiration in the leaves of four forest tree species. *Physiol. Plant.* 84: 361-366.
- Darling, M.S. (1976). Interpretation of global differences in plant calorific values. The significance of desert and arid woodland vegetation. *Oecologia* 23: 127-140.
- Devlin, R.M. y Witham, F.H. (1983). *Plant Physiology*. 577 pp. Wadsworth Publishing Company, California.
- Diamantoglou, S., Mitrakos, K. (1981). Leaf longevity in mediterranean evergreen sclerophylls. pp 17-21. En: *Components of productivity of Mediterranean-climate regions. Basic and applied aspects*. Margaris, N.S., Mooney, H.A. (Eds). Dr W. Junk Publishers. La Haya.
- Dry, I.B. y Wiskich, J.T. (1982). Role of the external adenosine triphosphate/adenosine diphosphate ratio in the control of plant mitochondrial respiration. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 217: 72-79.
- Epstein, E. (1972). *Mineral nutrition of plants. Principles and perspectives*. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Etzel, M.G., Volenec, J.J. y Vorst, J.J. (1988). Leaf morphology, shoot growth and gas exchange of multifoliate alfalfa phenotypes. *Crop Science* 28: 263-269.

- Farquhar, G.D. (1988). Models relating subcellular effects of temperature to whole plant responses. *Soc. Exp. Bot.*
- Farrar, J.F. (1985). The respiratory source of CO₂. *Plant, Cell and Environment* 8: 427-438.
- Field, C.B., Berry, J.A., Mooney, H.A. (1982). A portable system for measuring carbon dioxide and water vapour exchanges of leaves. *Plant, Cell Environ.* 5: 179-186.
- Field, C.B., Merino, J., Mooney, H.A. (1983). Compromises between water-use efficiency and nitrogen-use efficiency in five species of California evergreens. *Oecologia* 60: 384-389.
- Field, C.B., Ball, J.T., Berry, J.A. (1989). Photosynthesis: principles and field techniques. pp 209-253. En: *Plant Physiological Ecology. Field methods and instrumentation*. R.W. Pearcy, J.R. Ehleringer, H.A. Mooney, P.W. Rundel (Eds). Chapman and Hall, Londres.
- Field, C.B. y Mooney, H.A. (1986). The photosynthesis-nitrogen relationship in wild plants. pp 25-55. En: *On the economy and form and function* T.J. Givinish (Ed). Cambridge University Press, Cambridge.
- Gallardo, A. (1990). *Descomposición de las hojas de especies leñosas en dos ecosistemas del SW Peninsular*. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla.
- Gallardo, A., Merino, J. (1992). Nitrogen immobilization in leaf litter at two Mediterranean ecosystems of SW Spain. *Biogeochemistry* 15: 213-228.
- Gardestrom, P. y Wiggie, B. (1988). Influence of photorespiration on ATP/ADP ratios in the chloroplasts, mitochondria, and cytosol, studied by rapid fractionation of barley (*Hordeum vulgare*) protoplasts. *Plant Physiol.* 88: 69-76.
- Gifford, R.M., Lambers, H., Morison, J.I.L. (1985) Respiration of crop species under CO₂ enrichment. *Physiol. Plant.* 63, 351-356.
- Golley, F.B. (1961). Energy values of ecological materials. *Ecology* 42: 581-584.
- Graham, D. (1980) Effects of light and "dark" respiration. En: *The biochemistry of plants. A comprehensive treatise*, vol. 2: Metabolism and respiration, pp. 525-579, Davies, D.D., ed. Academic Press, New York London.

- Hall, N.P. y Keys, A.J. (1983). Temperature dependence of the enzymic carboxylation and oxygenation of ribulose 1,5-bisphosphate in relation to effects of temperature on photosynthesis. *Plant Physiol.* 72: 945-948.
- Harrison, A.T. (1971). *Temperature related effects on photosynthesis in Heteromeles arbutifolia M.* Roem. Tesis Doctoral. Universidad de Stanford, EE.UU.
- Held, A.A., Mooney, H.A., Gorham, J.N. (1991). Acclimation to ozone stress in radish: leaf demography and photosynthesis. *New Phytol.* 118, 417-423
- Hesketh, J.D., Baker, D.N. y Duncan, W.G. (1971). Simulation of growth and yield in cotton: respiration and the carbon balance. *Crop Science* 11: 394-398.
- Hochachka, P.W., Somero, G.N. (1973). *Strategies of biochemical adaptation.* 358 pp. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- Hrubec, T.C., Robinson, J.M. y Donaldson, R.P. (1985). Effects of CO₂ enrichment and carbohydrate content on the dark respiration of soybeans. *Plant Physiology* 79: 684-689
- Hunt, W.F., Loomis, R.S. (1979). Respiration modelling and hypothesis testing with a dynamic model of sugar beet growth. *Annals of Botany* 44: 5-17.
- Irving, D.E. y Silsbury, J.H. (1987). A comparison of the rate of maintenance respiration in some crop legumes and tobacco determined by three methods. *Annals of Botany* 59: 257-264.
- Jones, M.B., Leafe, E.L., Stiles, W., B. Collet. (1978). Pattern of respiration of a perennial ryegrass crop in the field. *Annals of Botany* 42: 693-703.
- Jones, R.J. y Nelson, C.J. (1979). Respiration and concentration of water soluble carbohydrate in plant parts of contrasting tall fescue genotypes. *Crop Science* 19: 367-372.
- Jordan, C.F. (1971). A world pattern in plant energetics. *Amer. Sci.* 59: 425-433.
- Jordan, D.B., Ogren, W.L. (1981). Species variation in the specificity of ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase. *Nature* 291: 513-515.
- Jordan, D.B., Ogren, W.L. (1984). The CO₂/O₂ specificity of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase.

- Dependence on ribulose biphosphate concentration, pH and temperature. *Planta* 161: 308-313.
- Kimura, M., Yokoi, Y., Hogetsu, K. (1978). Quantitative relationships between growth and respiration. II. Evolution of constructive and maintenance respiration in growing *Helianthus tuberosus* leaves. *Bot. Mag.* 91:43-56.
- Kirschbaum, M.U.F., Farquhar, G.D. (1987). Investigation of the CO₂ dependence of quantum yield and respiration in *Eucalyptus pauciflora*. *Plant Physiol.* 83: 1032-1036.
- Kok, B. (1948). A critical consideration of the quantum yield of *Chlorella*-photosynthesis. *Enzymologia* 13: 1-56.
- Kramer, P.J. (1974). *Relaciones hídricas de suelo y plantas*. Edutex, Mexico. 538 p.
- Krömer, S., Heldt, H.W. (1991). On the role of mitochondrial oxidative phosphorylation in photosynthesis metabolism as studied by the effect of oligomycin on photosynthesis in protoplasts and leaves of barley (*Hordeum vulgare*). *Plant Physiol.* 95: 1270-1276
- Küppers, M. (1984). Carbon relation and competition between woody species in a central European hedgerow. I Photosynthetic characteristics. *Oecologia* 64: 332-343
- Laisk, A.K. (1977). Kinetics of photosynthesis and photorespiration in C₃-plants. (in russian) Nauka, Moscow.
- Lambers, H. (1985). Respiration in intact plants and tissues: its regulation and dependence on environmental factors, metabolism and invaded organisms. En: *Encyclopedia of Plant Physiology*, New Series, Vol. 18, Higher Plant Cell Respiration (ed. R. Douce y D.A. Day), pp 418-473. Springer-Verlag, Berlin.
- Lambers, H., Cambridge, M.L, Konings, H., Pons, T.L. (1990). *Causes and consequences of variation on growth rate and productivity of higher plants*. 365 pp. SPB Academic Publishing, La Haya, Holanda.
- Larcher, W. (1977). *Ecofisiología Vegetal*. 305 pp. Ediciones Omega, Barcelona.
- Lillis, M. (1991). An ecomorphological study of the evergreen leaf. *Braun-Blanquetia* 7. 127 pp.
- Loveless, A.R. (1961). A nutritional interpretation of sclerophyllous and mesophytic leaves. *Ann. Bot.* 25: 168-184.

- Loveless, A.R. (1962). Further evidence to support a nutritional interpretation of sclerophylly. *Ann. Bot.* 26: 551-561.
- Malone, C.R. (1968). Variation in caloric equivalents for herbs as a possible response to environment. *Bull. Torrey Bot. Club* 95: 87-91.
- Margaris, N.S., Adamandiadou, S., Siafaca, L., Diamantopoulos, J. (1984). Nitrogen and phosphorus content in plant species of mediterranean ecosystems in Greece. *Vegetatio* 55: 29-35.
- McCashin, B.G., Cossins, E.A., Canvin, D.T. (1988). Dark respiration during photosynthesis in wheat leaf slices. *Plant Physiol.* 87: 155-161.
- McCree, K.J. (1970). An equation for the rate of respiration of white clover plants grown under controlled conditions. En: *Prediction and measurement of photosynthetic productivity*. I. Setlik (ed.), pp 221-229. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen.
- McCree, K.J. (1982). Maintenance requirements of white clover at high and low growth rates. *Crop Science* 22: 345-351.
- McCree, K.J. (1983). Carbon balance as a function of plant size in sorghum plants. *Crop Science* 23: 1173-1177.
- McCree, K.J. y Kresovich, S. (1978). Growth and maintenance requirements of white clover as a function of daylength. *Crop Science* 18: 22-25.
- McCree, K.J. y Silsbury, J.H. (1978). Growth and maintenance requirements of subterranean clover. *Crop Science* 18: 13-18.
- Merino, J.A. (1987). The costs of growing and maintaining leaves of mediterranean plants. En: *Plant response to stress*. NATO ASI Series, Vol G15. J.D. Tenhunen et al. (eds). pp 553-564. Springer-Verlag, Berlin.
- Merino, J.A., Field, C.B., Mooney, H.A. (1982). Construction and maintenance costs of mediterranean-climate evergreen and deciduous leaves. I. Growth and CO₂ exchange analysis. *Oecologia* 53: 208-213.
- Merino, J.A., Field, C.B., Mooney, H.A. (1984). Construction and maintenance costs of mediterranean-climate evergreen and deciduous leaves. II. Biochemical pathway analysis. *Oecol. Plant.* 5: 211-229.

- Miller, P.C., Stoner, W.A. (1979). Canopy structure and environmental interactions. En: *Plant Population Biology*. O.T. Solbrig, S. Jain, G.B. Johnson, P.H. Raven (Eds). Columbia University Press, New York, 428 pp.
- Monk, C.D. (1966). An ecological significance of evergreenness. *Ecology* 47: 504-505.
- Mooney, H.A., Dunn, E.L. (1970). Convergent evolution of mediterranean-climate evergreen sclerophyll shrubs. *Evolution* 24: 292-303.
- Mooney, H.A., Gulmon, S.L. (1979). Environmental and evolutionary constraints on the photosynthetic characteristics of higher plants. En: *Topics in plant population biology*, pp. 316-337. O.T. Solbrig, S. Jain, G.B. Johnson, P.H. Raven (Eds). Columbia University Press, New York.
- Mooney, H.A. (1972). The carbon balance of plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 3: 315-346.
- Mooney, H.A., Rundel, P.W. (1979). Nutrient relations of the evergreen shrub, *Adenostoma fasciculatum*, in the California chaparral. *Botanical Gazette* 140: 109-113.
- Moorby, J. (1981). *Transport systems in plants*. 169 pp. Longman, London.
- Moore, D.M. (1983). *Flora of Tierra de Fuego*. Anthony Nelson, England 396 pp.
- Moser, L.E., Volenec, J.J., Nelson, C.J. (1982). Respiration, carbohydrate content, and leaf growth of tall fescue. *Crop Science* 22: 781-786
- Orians, G.H., Solbrig, O.T. (1977). A cost-income model of leaves and roots with special reference to arid and semiarid areas. *Am. Nat.* 111: 677-690.
- Orshan, G. (1989). *Plant pheno-morphological studies in Mediterranean type ecosystems*. 403 pp. Kluwer Academic Publishers, Holanda.
- Pantis, J.D., Diamantoglou, S., Margaris, N.S. (1987). Altitudinal variation in total lipid and soluble sugar content in herbaceous plants on Mont Olympus (Greece). *Vegetatio* 72: 21-25.
- Pantis, J.D., Papagiannis, A., Margaris, N.S. (1987). Altitudinal gradients of energy contents of herbaceous plants on Mt. Olympus (Greece). *Oecologia Platarum* 22: 199-209.
- Parson, P.A. (1989). *Annual Review Ecol. Syst* 20: 29-49.

- Penning de Vries, F.W.T., Brusting, A.H.M. y van Laar, H.H. (1974) Products, requirements and efficiency of biosynthesis: a quantitative approach. *Journal of Theoretical Biology* 45: 339-377.
- Pitelka, L.F. (1978). Variation in caloric values of annual and perennial lupines (*Lupinus*: Leguminosae). *Am. Mid. Nat.* 99: 454-462.
- Raven, J.A. (1976). The quantitative role of dark respiration processes in heterotrophic and photolithotrophic plant growth. *Ann. Bot.* 40, 587-602.
- Reuveni, J., Gale, J. (1985). The effect of high levels of carbon dioxide on dark respiration and growth of plants. *Plant Cell Environ.* 8: 623-628.
- Robson, M.J. y Parsons, A.J. (1981). Respiratory efflux of carbon dioxide from mature and meristematic tissue of unicum barley during eighty hours of continuous darkness. *Annals of Botany* 48: 727-731.
- Rundel, P.W. (1988). Vegetation, nutrition and climate-data tables. Foliar analyses. En: *Mediterranean-type ecosystems. A data source book.* Task for vegetation Science 19. R.L. Specht (ed). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Holanda.
- Schlesinger, W.H., Chabot, B.F. (1977). The use of water and minerals by evergreen and deciduous shrubs in Okefenokee swamp. *Bot. Gaz.* 138: 490-497.
- Shaish, A., Roth-Dejerano, N., Itai, C. (1989) *Physiol. Plant.* 76: 107-111.
- Sharp, R.E., Matthews, M.A., Boyer, J.S. (1984). Kok effect and the quantum yield of photosynthesis: light partially inhibits dark respiration. *Plant Physiol.* 75, 95-101.
- Singh, J.S. (1973). Caloric values of plant and insect species of a tropical grassland. *Oikos* 24: 186-194.
- Sobrado, M.A. (1991). Cost-benefit relationships in deciduous and evergreen leaves of tropical dry forest species. *Functional Ecology* 5: 608-616.
- Specht, R.L. Vegetation, nutrition and climate -examples of integration. (2) Climatic control of ecomorphological characters and species richness on mediterranean ecosystems of Australia. pp 149-155.
- Specht, R.L., Moll, E.J. (1983). Mediterranean-type heathlands and sclerophyllous shrublands of the world: an overview. pp 41-65. En: *Mediterranean-type ecosystems: The role of nutrients.* Springer-Verlag, Berlin.
- Stewart, G.R., Gracia, C.A., Hegarty, E.E., Specht, R.L. (1990). Nitrate reductase activity and chlorophyll content in sun leaves of

subtropical Australian closed-forest (rainforest) and open-forest communities. *Oecologia* 82: 544-551.

- Valdés, B., Talavera, S., Fernández-Galiano, E. (1987). *Flora vascular de Andalucía Occidental*. Ketres, Barcelona.
- Villar, R. (1987). *Variación de la concentración de nitrógeno foliar con la sucesión en el matorral del Parque Nacional de Doñana*. Tesis de Licenciatura. Universidad de Sevilla.
- Walter, H. (1977). *Zonas de vegetación y clima*. Omega, Barcelona. 245 p.
- Williams, K., Field, C.B., Mooney, H.A. (1989). Relationships among leaf construction cost, leaf longevity and light environment in rainforest plants of the genus *Piper*. *Am. Nat.* 133: 198-211.
- Williams, K., Percival, F., Merino, J., Mooney, H.A. (1987). Estimation of tissue construction cost from heat of combustion and nitrogen content. *Plant, Cell Environ* 10: 725-734.
- Wilson, D.R., van Bavel, C.H.M., McCree, K.J. (1980). Carbon balance of water deficient grain sorghum plants. *Crop Science* 20: 153-159.

UNIFORMADO DE...

Reunión de... en el día...

Rafael Villar Montero
costos energéticos en hojas de especies
leñosas

Apto con Lavde

17

Noviembre

92

Rosendo + Nk

Rafael Villar



500405193

FBI E TD-284

405193