

Respuesta fisiológica de *Beilschmiedia miersii* frente al estrés hídrico invernal en vivero

KAREN PEÑA-ROJAS[✉]; SERGIO DONOSO; MIGUEL QUINTANILLA; CLAUDIA ESPINOZA;
ALEJANDRO RIQUELME; RODRIGO GANGAS & CAROLAIN BADARACCO

Laboratorio de Bosques Mediterráneos de la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad de Chile. La Pintana, Chile.

RESUMEN. *Beilschmiedia miersii* (Gay) Kosterm (belloto del norte) es una especie endémica de la zona central de Chile. Perteneció al bosque esclerófilo, subtipo forestal hidrófilo, es de carácter azonal y su distribución es fragmentada. Sus poblaciones se encuentran próximas a cursos de agua por poseer altos requerimientos hídricos; actualmente, esta situación está agravada por la sequía intensa y prolongada que afecta al área de su distribución. Durante el período estival, *B. miersii* enfrenta un estrés ambiental fuerte, y se desconoce si la reducción de las precipitaciones ocasiona algún nivel de estrés hídrico invernal crítico. Por lo tanto, se postuló como hipótesis que la especie presenta un nivel bajo de estrés frente a la condición de déficit hídrico durante la temporada de invierno, período en el cual factores climáticos como radiación, humedad relativa y precipitaciones restringen menos la vegetación. El ensayo se estableció en un vivero de la Región Metropolitana en Chile, y contó con dos tratamientos: control (TRC) y restricción hídrica (TRR). En ambos se evaluó el crecimiento (diámetro a la altura del cuello y longitud), la variación de la biomasa, el potencial hídrico foliar y el contenido hídrico del sustrato a lo largo de la estación de crecimiento (días 1, 126 y 161). De acuerdo con los resultados, la hipótesis fue rechazada, ya que el déficit hídrico invernal provocó estrés en las plantas de TRR. Ello generó cambios en la respuesta fisiológica y metabólica, y afectó negativamente su crecimiento, desarrollo y acumulación de biomasa. En el corto plazo, esto se traduce en una menor capacidad para enfrentar las condiciones climáticas adversas que se registran en el período estival.

[Palabras clave: bosque esclerófilo, hidrófilo, potencial hídrico, sequía]

ABSTRACT. *Physiological response of Beilschmiedia miersii to winter water stress in nursery trials.* *Beilschmiedia miersii* (Gay) Kosterm (Belloto of the North), an endemic species of central Chile, belongs to the hydrophilous forest subtype within the sclerophyllous forest ecosystem; it is azonal in character and fragmented in distribution. Preferably, its populations are found near stream areas, given its high water needs, a situation that is aggravated by the intense and prolonged drought that affects the area where it grows. *B. miersii* faces strong environmental stress during the summer, and it is unknown if the reduction in precipitation also causes water stress during the winter. Therefore, we hypothesized that *B. miersii* would present a low level of stress under the water deficit during the winter season, a period in which climatic factors such as radiation, relative humidity and precipitation are less restrictive to vegetation. The field trial was established in a nursery in the Metropolitan Region of Chile and included two treatments: control (TRC) and restriction (TRR). In both treatments, growth (root collar diameter and length), biomass variation, leaf water potential and substrate water content were evaluated on days 1, 126 and 161. Contrary to our hypothesis, the results revealed that the winter water deficit generated stress in the TRR plants, leading to physiological and metabolic changes that negatively impacted their growth, development and biomass accumulation. In the short term, this resulted in a reduced capacity to face the adverse climatic conditions that occur during the summer period.

[Keywords: sclerophyllous forest, hydrophilic, water potential, drought]

INTRODUCCIÓN

En Chile, la acción antrópica ha afectado los bosques mediterráneos de la zona central (Arancibia et al. 2020). Esto, sumado a la alteración del régimen pluvial y al aumento de las temperaturas producto del cambio climático (Álvarez-Garretón et al. 2019), genera que especies con requerimientos específicos de hábitat se encuentren en un estado de alta vulnerabilidad.

Beilschmiedia miersii (Gay) Kosterm (belloto del norte), es una especie siempreverde endémica de la zona central de Chile, perteneciente al bosque esclerófilo, subtipo forestal hidrófilo. Posee un carácter azonal con una distribución fragmentada. La mayoría de sus poblaciones se encuentran limitadas sobre todo a cauces de quebradas con agua permanente y a laderas de exposición sur de alta humedad (e.g., fondos de quebradas y a sitios con influencia de la neblina costera) (Montenegro 2010; Kremer et al. 2018). Por esta razón, en la actualidad, *B. miersii* está categorizada como una especie vulnerable (Minagri 1995; Minseggres 2008).

Por lo general, en los bosques donde se localiza el belloto del norte se observan rastros de ramoneo de animales domésticos y despepado de vegetación, evidencias claras de la presencia de ganado y de la actividad extractiva humana. La presión antrópica que se ejerce sobre las formaciones de *B. miersii* y las variaciones climáticas —en especial, las precipitaciones y las temperaturas— generaron una disminución de su tasa de germinación y, por lo tanto, en el establecimiento de la regeneración natural, principalmente por alteraciones en la estructura forestal original. En este sentido, las aperturas del dosel incrementan la temperatura y disminuyen la humedad del suelo, lo cual afecta de manera directa el éxito o el fracaso de la regeneración (semillas), favoreciendo el ingreso de especies competidoras (Mancilla et al. 2014). En áreas donde el impacto del ganado es menor, los eventos de desecación son la principal causa de mortalidad en las plántulas: las plantas que logran sobrevivir a la depredación son muy susceptibles a morir durante el período de reclutamiento, producto de la sequía (Mancilla et al. 2014). Por esto, la regeneración se encuentra condicionada a los años con precipitaciones abundantes. En este contexto, se espera que las poblaciones de *B. miersii* se vean reducidas drásticamente en los sectores con mayor restricción hídrica, en

particular durante el período estival, aspecto se acentuó por la mega-sequía a la que se ve expuesta esta especie desde hace 12 años (Kremer et al. 2018; Miranda et al. 2020). Esta situación se ve reflejada en otros estudios como los realizados en vivero y campo por otros autores (Engelbrecht and Kursar 2003; Flores et al. 2012; Valverde and Arias 2020), quienes concluyeron que el estrés hídrico (i.e., respuesta de la planta frente a la falta de agua) afecta el establecimiento, el desarrollo y la sobrevivencia de las plantas. De acuerdo con lo expuesto, se postuló como hipótesis que *B. miersii* presenta un menor estrés frente al déficit hídrico durante la temporada invernal, período en el cual factores climáticos como la radiación, la humedad relativa y las precipitaciones son menos restrictivos para la vegetación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El estudio contó con 73 plantas de vivero de *Beilschmiedia miersii* (belloto del norte) procedentes de la comuna de Nogales, en la Región de Valparaíso (32°39' S - 71°9' O; altitud: 340 m s. n. m.). Estas plantas fueron trasladadas al vivero Antumapu de la Facultad de Ciencias Forestales y de la Conservación de la Naturaleza de la Universidad de Chile, ubicado en la comuna de La Pintana, Región Metropolitana (33°40' S - 70°38' O; altitud: 605 m s. n. m.) donde se instaló y desarrolló el ensayo entre otoño y primavera de 2017. El clima de la zona es templado mesotermal mediterráneo semiárido, con lluvias concentradas en los meses de invierno (Santibáñez and Uribe 1990): la precipitación anual no supera los 300 mm y la estación seca dura entre siete y ocho meses (DMC 2001).

Se utilizaron plantas de dos años, las que se encontraban dentro de bolsas de polietileno de 20x30 cm. Estas tenían características morfológicas semejantes (i.e., longitud del tallo y diámetro a la altura del cuello) y presentaban un buen estado sanitario. Cada planta fue trasplantada a una maceta plástica de 11 L conteniendo un sustrato proveniente de un bosque de belloto del norte, cercano al vivero del que procedían las plantas, cuyo origen es principalmente limo aluvial de composición mixta, ubicado en una posición baja, siendo un plano deposicional ligeramente ondulado y de buen drenaje (IREN 1964).

Para mantener las condiciones ambientales seminaturales, las plantas fueron dispuestas sobre plataformas de madera a fin de evitar el contacto directo con el suelo. Además, el vivero se cubrió con una malla sombreadora tipo raschel al 65% para controlar la incidencia de la radiación solar directa. Asimismo, previo a las lluvias, se cubrió temporalmente con una lona de polietileno transparente para resguardar a las plantas de las posibles precipitaciones.

Luego del trasplante y antes del inicio del ensayo, las plantas pasaron por un período de aclimatación de dos meses para evitar los efectos del trasplante y para homogeneizar su estado hídrico. Para determinar la respuesta morfo-fisiológica de los individuos de *B. miersii* frente al contenido hídrico del sustrato, se establecieron dos tratamientos de riego: control (TRC), en el que las plantas estaban bien hidratadas al ser regadas cada tres días a capacidad de campo, y un segundo tratamiento con restricción hídrica (TRR), en el que el riego se redujo de forma gradual. Los ejemplares de cada tratamiento fueron seleccionados al azar del conjunto de plantas previamente aclimatadas; los tratamientos contaron con 34 y 39 ejemplares, respectivamente. Para determinar la pérdida de agua promedio del sustrato en la maceta, y antes de comenzar el ensayo, se realizó la curva del contenido hídrico del sustrato. Para ello, se llenaron cuatro macetas de 11 L con sustrato para luego ser regados a capacidad de campo. Transcurridas 24 horas, y considerando la pérdida de agua gravitacional, se pesaron las macetas y con los datos obtenidos a lo largo de un período de dos semanas, se construyó la curva de pérdida de agua del sustrato.

Evaluación de las variables hídricas

Para definir el contenido hídrico relativo del sustrato (CHRs), se utilizó la Ecuación 1. Se seleccionaron al azar 21 plantas por tratamiento. El riego en TRC se mantuvo próximo a capacidad de campo, regándose cada tres días, mientras que en TRR se efectuó una disminución progresiva de este para simular la condición de sequía, dando por finalizado el período de déficit hídrico el día 126 desde iniciado el ensayo. El peso fresco (PF) se evaluó cada siete días en vivero con una balanza de precisión al gramo. El peso hidratado (PH) se obtuvo al inicio del ensayo pesando todos los individuos después de 24 horas de aplicado el riego a saturación

y luego de drenar el agua gravitacionalmente (capacidad hídrica máxima). El peso seco (PS) se consiguió al secar el sustrato de cuatro macetas utilizadas para biomasa inicial en una estufa de aire forzado a 105 °C hasta obtener el peso estable.

$$\text{CHRs (\%)} = [(\text{PF} - \text{PS}) / (\text{PH} - \text{PS})] * 100$$

Ecuación 1

Para determinar el potencial hídrico al alba (Ψ_a), se seleccionaron aleatoriamente 6 plantas por tratamiento en cada momento de medición. En cada ejemplar se escogió una ramilla con hojas sanas y bien desarrolladas, y se la cubrió con papel metálico al atardecer. La medición del potencial hídrico se realizó al amanecer mediante una cámara de presión (Scholander et al. 1965) modelo 1505D (PMS Instrument Company, USA). Finalmente, después de determinar el potencial hídrico, se calculó el contenido hídrico relativo (CHR%) de las ramillas utilizando la Ecuación 2. Para ello, se usó una balanza de precisión (± 0.01 g). El peso fresco (Pf) se obtuvo una vez que finalizaron los ensayos fisiológicos con las ramillas de cada planta. Después, cada ramilla se introdujo en un contenedor plástico con agua destilada durante 24 horas, y almacenadas en oscuridad a 4 °C con el objetivo de humedecer los tejidos y obtener el peso hidratado (Ph). Finalmente, las muestras se introdujeron en una estufa de aire forzado a 65 °C hasta registrar un peso constante, correspondiente al peso seco (Ps).

$$\text{CHR (\%)} = [(\text{Pf} - \text{Ps}) / (\text{Ph} - \text{Ps})] * 100$$

Ecuación 2

Antes de determinar el peso seco de las muestras se construyeron las curvas de presión/volumen (P/V). Para este fin se utilizaron cuatro de las seis ramillas. El protocolo general para medir las curvas P/V implicó medir repetidamente el potencial hídrico y la masa en sucesión (Karlic and Richter 1983). Con la información de las curvas P/V se obtuvieron los siguientes parámetros: potencial osmótico a 100%, turgor (π_{100}) y a cero turgor (π_0), módulo de elasticidad (ϵ), contenido hídrico relativo a cero turgor (CHR_0) y el potencial de presión a 100% turgor (Ψ_{P100}). Para ello, se utilizó la transformación tipo II (Tyree and Richter 1981), que relaciona el inverso del potencial hídrico total con el CHR (Ecuación 3).

$$1 / \Psi_t = a \times \text{CHR} + b$$

Ecuación 3

donde, Ψ_t : potencial hídrico total, a y b : coeficientes de regresión y CHR: contenido hídrico relativo.

Evaluación de las respuestas fotosintéticas

Se midieron los parámetros de fluorescencia de clorofila α mediante un fluorímetro modulado portátil Mini-PAM Photosynthesis Yield Analyser (Walz, Effeltrich, Alemania). El equipo Mini-PAM realiza medidas cuantitativas *in situ* no destructivas de la emisión de fluorescencia de las hojas. Los valores obtenidos corresponden a la fluorescencia inicial mínima (F_0) y a la fluorescencia máxima (F_m), adaptados a la oscuridad. Por otra parte, también permite obtener la fluorescencia estable (F) y la fluorescencia máxima (F'_m), adaptadas a la luz. Con ello se calculó la fluorescencia variable a la oscuridad (F_v), el rendimiento cuántico máximo del PSII (F_v/F_m) al alba (PD) y al mediodía, la eficiencia fotoquímica del PSII (Φ PSII), la fluorescencia variable (F'_v), la fluorescencia mínima a la luz (F'_0), el quenching fotoquímico (qP), el quenching no-fotoquímico (NPQ) y la tasa relativa de transporte de electrones (ETR).

Evaluación del crecimiento y de la biomasa

Para evaluar el crecimiento se midieron al azar 21 plantas por tratamiento. Las mismas fueron marcadas para su seguimiento a lo largo de todo el ensayo, monitoreándose cada 15 días hasta el final del proceso. Para conocer la variación morfológica de las plantas seleccionadas se evaluó el crecimiento del diámetro a la altura del cuello (DAC [mm]) y la longitud del tallo (L [cm]). Para evaluar la biomasa se seleccionaron al azar 5 plantas por tratamiento. Las mediciones se realizaron al inicio del ensayo (día 1) y al finalizar los períodos de restricción hídrica (día 126) y de rehidratación (día 161). Como el método empleado fue destructivo, antes de iniciarlo se registró el DAC, la longitud del tallo y de la raíz. Luego se separaron los componentes (i.e., biomasa foliar, biomasa de tallo, ramas y biomasa radicular), se introdujeron en bolsas de papel previamente rotuladas y se llevaron a una estufa de aire forzado a 65 °C hasta alcanzar un peso seco estable, obteniéndose así el peso seco de los componentes de cada individuo.

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño fue del tipo aleatorio bifactorial, considerando el modo de riego y el tiempo

como factores. Las respuestas sobre los parámetros hídricos, lumínicos y de biomasa se compararon mediante un análisis de varianza (ANDEVA), considerando un error del 5%. Para las variables que presentaron diferencias significativas se realizó una prueba de comparaciones múltiples de Duncan con un nivel de confianza del 95%. Para las respuestas de crecimiento en longitud y DAC, se realizó un análisis de medidas repetidas a través del tiempo. Finalmente, se aplicó la prueba de Bonferroni (nivel de confianza=95%) para determinar las diferencias significativas entre los tratamientos.

RESULTADOS

Evaluación de las variables hídricas

El CHRs promedio en ambos tratamientos en la primera evaluación fue del 96%. Durante el desarrollo del estudio, TRC presentó valores de CHRs entre 85% y 98%, correspondiente a una condición hídrica adecuada para la especie y usual en períodos invernales lluviosos. En el caso del TRR, el valor promedio del CHRs fue 66% durante todo el período de restricción hídrica. Los valores de TRR variaron desde un 46% —asociado a una restricción hídrica severa— hasta un 89% observado al inicio de la restricción. Posteriormente, en el curso del período de rehidratación, las plantas de TRR lograron recuperar su estado hídrico, llegando a un CHRs del 90%, condición similar al inicio de la restricción hídrica aplicada (Figura 1). Asimismo, se observó que el CHRs más bajo se presentó durante la temporada invernal en ambos tratamientos.

Al inicio del ensayo, los tratamientos (TRC y TRR) presentaron un potencial hídrico al alba (Ψ_a) promedio de -0.6 MPa (Tabla 1). Las diferencias entre los tratamientos comenzaron a ser significativas después de 51 días de haberse iniciado el ensayo, situación no observable al inicio pese a que TRR estaba bajo una restricción hídrica leve (CHRs de 73%, en promedio). Asimismo, la mayor restricción hídrica se registró bajo un CHRs promedio del 50%, valor monitoreado en el día 126. Las plantas de TRR presentaron potenciales hídricos al alba significativamente más negativos que las plantas de TRC, alcanzando un valor aproximado de -6.5 MPa. El contenido hídrico relativo de la ramilla (CHRr) no necesariamente está relacionado con el potencial hídrico al alba (Ψ_a), a menos que la especie a la cual se le realice la medición tenga la capacidad de realizar ajuste elástico;

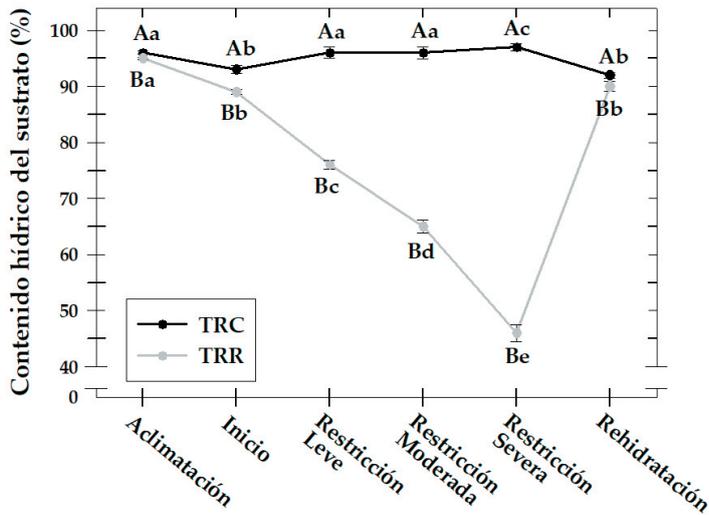


Figura 1. Parámetros hídricos de *B. miersii* derivados del contenido hídrico relativo del sustrato (CHR%) de los tratamientos (TRC: tratamiento riego control; TRR: tratamiento riego restringido) a través del tiempo. Los valores corresponden a la media±EE (n=21). Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre tratamientos y letras minúsculas distintas indican diferencias significativas entre períodos de evaluación (P≤0.05).

Figure 1. Water parameters of *B. miersii* derived from the relative water content of the substrate (CHR%) of the treatments (TRC: irrigation control treatment; TRR: restricted irrigation treatment) through time. Values correspond to the mean±SE (n=21). Different capital letters indicate significant differences between treatments and different lowercase letters indicate significant differences between evaluation periods (P≤0.05).

Tabla 1. Parámetros hídricos de *B. miersii* derivados del potencial hídrico al alba (Ψ_a) según tratamiento (TRC: tratamiento riego control; TRR: tratamiento riego restringido) a través del tiempo. Los valores corresponden a medias±EE (n=6). Ψ alba: potencial hídrico al alba; CHRr: contenido hídrico relativo de la ramilla. Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre tratamientos y letras minúsculas distintas indican diferencias significativas dentro del tratamiento (P≤0.05).

Table 1. Water parameters of *B. miersii* derived from dawn water potential (Ψ_a) according to treatment (TRC: irrigation control treatment; TRR: restricted irrigation treatment) over time. Values correspond to means±SE (n=6). Ψ alba: water potential at dawn; CHRr: relative water content of the twig. Different capital letters indicate significant differences between treatments and distinct lowercase letters indicate significant within-treatment differences (P≤0.05).

Momento	Ψ alba (MPa)		CHRr (%)	
	TRC	TRR	TRC	TRR
Previo	-0.39±0.02 Bb	-0.83±0.08 Ab	96.1±1.0 Aa	95.9±0.7 Aa
Inicial	-0.73±0.17 Aab	-0.38±0.11 Bc	92.0±2.2 Ab	94.1±1.7 Aab
Restricción leve	-0.52±0.13 Ab	-0.53±0.21 Ac	97.1±0.7 Aa	94.2±2.1 Aab
Restricción moderada	-0.98±0.18 Ba	-1.63±0.46 Ab	89.2±0.9 Ac	90.4±1.6 Ab
Restricción severa	-1.09±0.08 Ba	-6.48±0.77 Aa	92.5±1.1 Ab	69.7±4.9 Bc
Rehidratación	-0.47±0.10 Bb	-1.19±0.40 Ab	92.3±1.6 Ab	78.4±6.8 Bc

en este caso, *B. miersii* sí lo realiza, por lo que se observó que a medida que el CHRr disminuía, el valor del Ψ_a fue más negativo (Tabla 1). Durante el período de restricción hídrica severa, las ramillas de las plantas de TRR registraron los valores más bajos de contenido hídrico relativo (CHRr=69.7%). No obstante, una vez iniciado el período de rehidratación, los Ψ_a fueron menos negativos, restableciéndose el CHRr. Sin embargo, este incremento no fue suficiente para recobrar la condición hídrica inicial debido al daño generado durante la etapa de estrés hídrico severo.

Por otra parte, se observó que, en el caso de TRR a partir de un CHRr igual a 65% (restricción hídrica moderada), las plantas alcanzaron un potencial de -1.63 MPa (Tabla 1), encontrando diferencias significativas

frente a TRC. Una vez que se advirtió el Ψ_a de -6.48 MPa en TRR, se suspendió el proceso de disminución del CHRr debido a que las plantas registraban una muerte de ~25% de las hojas, sobre todo las situadas en la parte superior de la planta. Luego, se inició la etapa de rehidratación, que si bien ayudó a recobrar el CHRr inicial (valor promedio de un 90%), no fue suficiente para que las plantas de TRR alcanzasen un estado funcional e hídrico adecuado. Por esto, al finalizar el ensayo, las diferencias entre TRR y TRC persistieron.

Las curvas de presión/volumen permitieron caracterizar los mecanismos de tolerancia al estrés hídrico adoptados por *B. miersii* frente a la condición de déficit hídrico. El potencial osmótico de cero turgencia (π_0) y turgencia máxima (π_{100}) no mostró diferencias

significativas entre tratamientos durante los períodos de evaluación. Sin embargo, sí existieron diferencias significativas dentro del tratamiento considerado (Tabla 2). Las plantas bajo déficit hídrico se tornaron más elásticas, evidenciándose esta situación al momento de evaluar el contenido hídrico relativo. Al inicio del ensayo, el módulo de elasticidad de TRR fue 16.01 ± 8.41 ; al final del período de restricción severa, fue 23.69 ± 9.36 , y una vez concluida la rehidratación, el valor disminuyó a 9.48 ± 1.18 . Si bien no existieron diferencias significativas, se observó una variación clara en el módulo de elasticidad. Ello implicó que las paredes de sus células se modificaran para ajustarse al nuevo contenido hídrico. Con el estrés hídrico, la pared celular se vuelve más rígida, y con el agua se vuelve más plástica. Esta situación también se reflejó en el período de estrés hídrico, ya que el contenido hídrico foliar registró valores inferiores al 70%, lo que significó que sí existió un leve ajuste elástico debido a que el ajuste osmótico no fue significativo.

Evaluación de las respuestas fotosintéticas

Las plantas pertenecientes al TRR frente al estrés hídrico (desde un CHRs del 65%) registraron valores de F_v/F_m significativamente menores que TRC. Durante el período de estrés severo (CHR 50% promedio), cuando los potenciales hídricos al alba en promedio fueron de -6.5 MPa, se advirtió la destrucción de los PSII, llegando a valores promedio de F_v/F_{mPD} de 0.37; esta situación explica, en parte, la muerte de ~25% de la biomasa foliar, que se recuperó en el período de rehidratación.

Evaluación del crecimiento y la biomasa

Con respecto a la variación en la longitud del tallo (L) y en el diámetro a la altura del cuello (DAC) de las plantas, ambos tratamientos mostraron diferencias significativas producto del estrés hídrico; los valores medios de L y DAC fueron 49 cm y 9 mm, respectivamente. Para el análisis estadístico se consideraron como covariable las mediciones realizadas al inicio del ensayo. En cuanto al DAC, se observaron diferencias significativas en TRR con respecto a TRC, desde la restricción hídrica leve (día 29) a la moderada (día 51) (CHR inferior al 70%), momento en el que se evidenciaron respuestas de decrecimiento frente al estrés hídrico (Figura 2A). Esta situación persistió hasta el final del ensayo, mientras que en TRC se observó un incremento en el DAC de 0.72 ± 0.2 mm. En tanto, la afectación del déficit hídrico en L (Figura 2B) fue positiva para ambos tratamientos. En el caso del TRR, se evidenció una elongación significativa del tallo principal, y si bien esta situación también se replicó en TRC, fue a una menor proporción (7.52 ± 0.90 cm). Finalmente, el crecimiento acumulado de TRR en L fue de 29.78 ± 1.59 cm y de -0.55 ± 0.20 mm en DAC.

El análisis de la biomasa en ambos tratamientos se efectuó en tres instancias (Figura 3), en concordancia con momento del ensayo y la condición a la que se encontraban expuestas las plantas: inicio del ensayo (día 1), término de la etapa de restricción (día 126) y finalización del ciclo de rehidratación (día 161). Al comienzo del ensayo, y producto del período de aclimatación, no se registraron

Tabla 2. Parámetros hídricos de *B. miersii* derivados de las curvas presión/volumen según tratamiento (TRC: tratamiento riego control; TRR: tratamiento riego restringido) a través del tiempo. Los valores corresponden a medias \pm EE (n=4). CHR: contenido hídrico relativo del sustrato; π_0 : potencial osmótico a cero turgor; π_{100} : potencial osmótico a turgor máximo. Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre tratamientos. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas dentro del tratamiento ($P \leq 0.05$).

Table 2. Water parameters of *B. miersii* derived from pressure/volume curves according to treatment (TRC: irrigation control treatment; TRR: restricted irrigation treatment) over time. Values correspond to means \pm SE (n=4). CHR: relative substrate water content; π_0 : osmotic potential at zero turgor; π_{100} : osmotic potential at maximum turgor. Different capital letters indicate significant differences between treatments. Distinct lowercase letters indicate significant within-treatment differences ($P \leq 0.05$).

Momento	CHR(%)	π_0		π_{100}	
		TRC	TRR	TRC	TRR
Previo	100	-3.18 ± 0.64 Aa	-2.08 ± 0.25 Bb	-2.42 ± 0.49 Aa	-1.47 ± 0.21 Bb
Inicial	89	-1.77 ± 0.27 Ab	-1.89 ± 0.26 Ab	-1.20 ± 0.20 Ab	-1.30 ± 0.22 Ab
Restricción leve	77	-1.74 ± 0.15 Ab	-1.32 ± 0.12 Bc	-1.31 ± 0.14 Ab	-0.92 ± 0.13 Bc
Restricción moderada	65	-1.26 ± 0.22 Ac	-1.58 ± 0.31 Abc	-0.78 ± 0.11 Ac	-1.22 ± 0.27 Bbc
Restricción severa	47	-1.43 ± 0.27 Bbc	-2.29 ± 0.40 Ab	-1.20 ± 0.26 Ab	-1.63 ± 0.38 Aab
Rehidratación	90	-2.39 ± 0.27 Ba	-3.01 ± 0.25 Aa	-1.83 ± 0.23 Aa	-2.08 ± 0.24 Aa

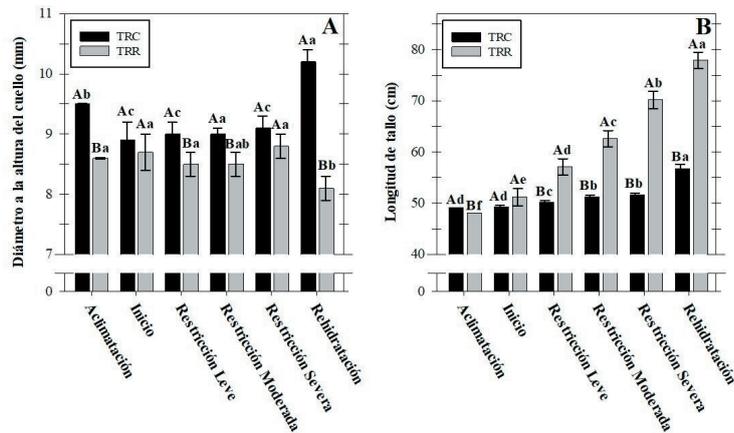


Figura 2. A) Crecimiento en diámetro a la altura del cuello (DAC [mm]) y B) longitud de tallo (cm) de los tratamientos (TRC: tratamiento riego control; TRR: tratamiento riego restringido) a través del tiempo. Los valores corresponden a las medias±EE (n=21). Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre tratamientos. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas entre periodos de evaluación ($P \leq 0.05$).

Figure 2. A) Growth in diameter at collar height (DAC [mm]) and B) stem length (cm) of the treatments (TRC: irrigation control treatment; TRR: restricted irrigation treatment) over time. Values correspond to the means±ES (n=21). Different capital letters indicate significant differences between treatments. Different small letters indicate significant differences between evaluation periods ($P \leq 0.05$).

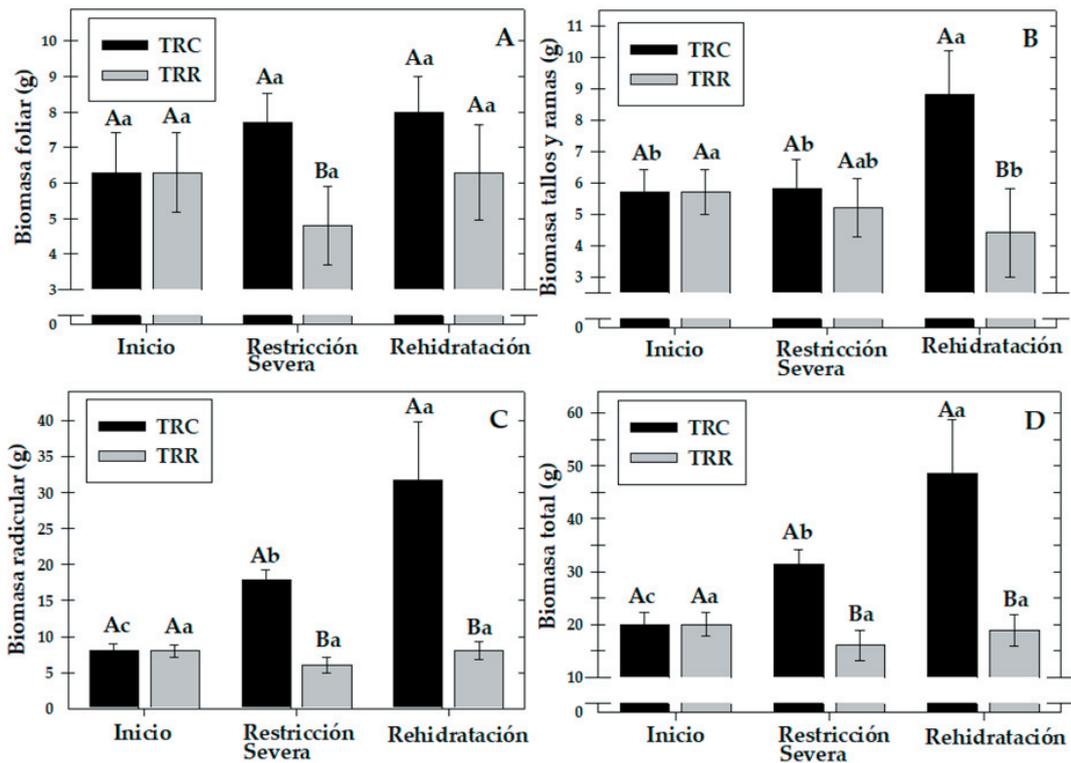


Figura 3. Biomasa total y por componente de cada tratamiento (TRC: tratamiento riego control; TRR: tratamiento riego restringido) a través del tiempo. A) Biomasa foliar (g). B) Biomasa de tallo y ramas (g). C) Biomasa radicular (g). D) Biomasa total (g). Los valores corresponden a medias±SE (n=5). Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre tratamientos. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas entre periodos de evaluación ($P \leq 0.05$).

Figure 3. Total biomass and biomass per component of each treatment (TRC: irrigation control treatment; TRR: restricted irrigation treatment) over time. A) Leaf biomass (g). B) Stem and branch biomass (g). C) Root biomass (g). D) Total biomass (g). Values correspond to means±SE (n=5). Different capital letters indicate significant differences between treatments. Different lowercase letters indicate significant differences between evaluation periods ($P \leq 0.05$).

diferencias significativas entre los ejemplares de cada uno de los tratamientos. La biomasa foliar de TRR presentó diferencias significativas a lo largo del ensayo, reduciéndose en casi un 25% en los individuos durante el período de máximo estrés hídrico; durante el período de rehidratación se registraron valores similares a los observados al inicio del estudio (Figura 3A). En cuanto a la biomasa de tallo y ramas, las diferencias significativas fueron observables al finalizar la etapa de rehidratación. En el caso de TRR se produjo una disminución de la biomasa aérea leñosa en un 22%, mientras que en TRC aumentó un 55% (Figura 3B). En cambio, la biomasa radicular de TRR decreció en un 25% con respecto a la condición inicial durante el período de restricción hídrica total. La rehidratación solo logró elevar levemente la biomasa de las raíces, superando por poco la biomasa inicial de las plantas (Figura 3C).

El déficit hídrico generó la pérdida de gran parte de la biomasa foliar y la disminución de la tasa de elongación del tallo, observándose diferencias significativas entre TRR y TRC; esto influyó en el valor final de la biomasa de la parte aérea de la planta. Del mismo modo, la biomasa total al término del período de sequía registró diferencias significativas: TRR disminuyó y TRC aumentó progresivamente. Al finalizar la etapa de rehidratación, TRR tuvo una menor acumulación de biomasa total en comparación con TRC, provocado en parte por la sequía aplicada y a la poca tolerancia de la especie a esta condición (Figura 3D). En cuanto a la relación de la biomasa (parte aérea/parte subterránea; Pa/Ps) de ambos tratamientos, se observó una disminución en TRR y en TRC de 45% y 7%, respectivamente, situación que se generó a medida que avanzaba el ensayo (Figura 4).

DISCUSIÓN

Evaluación de variables hídricas

La carencia de agua disponible en las plantas genera un estrés, correspondiente a una respuesta fisiológica por parte del organismo frente a un desequilibrio entre el agua transpirada y la absorbida (Valverde and Arias 2020). No obstante, el estrés no solo se produce por el déficit hídrico, sino también por otras condiciones, como altas o bajas temperaturas en el suelo o altos valores de salinidad (Drechsler et al. 2019). *B. miersii* es una especie hidrófila, con carácter azonal, cuyo hábitat está siendo degradado y fragmentado por una serie de perturbaciones antropogénicas; esto la hace muy vulnerable ante las variaciones del ambiente, tales como como el déficit pluvial y el aumento de las temperaturas producto del cambio climático.

El ensayo de restricción hídrica en vivero permitió identificar el umbral de contenido hídrico del sustrato del período invernal que necesita la especie para que sea capaz de enfrentar los períodos de sequía. En este estudio se observó que *B. miersii* requiere un mayor contenido hídrico en comparación con otras especies del bosque esclerófilo (e.g., *Quillaja saponaria* y *Cryptocarya alba*), las cuales ya se pueden advertir en tramos dentro de su distribución o creciendo en asociación con *B. miersii* (Peña-Rojas et al. 2018). El estrés hídrico afecta en gran medida el desarrollo de una planta puesto que tiene efectos químicos e hidráulicos: reduce el potencial hídrico, incide en la concentración de las moléculas a medida que decrece el volumen celular que se genera producto de la disminución de la turgencia, altera las relaciones espaciales en el plasmalema, en el

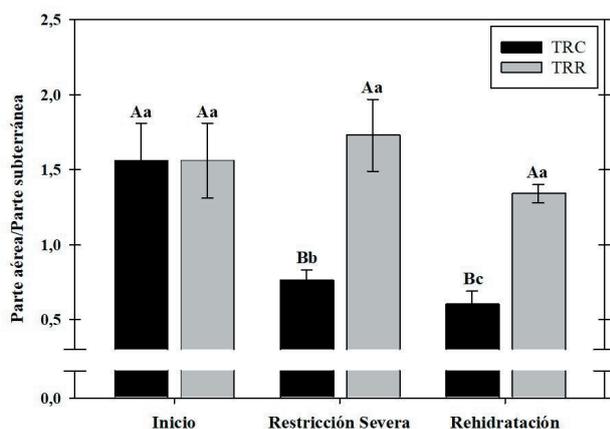


Figura 4. Relación parte aérea (Pa)/parte subterránea (Ps) de la biomasa de los tratamientos (TRC: tratamiento riego control; TRR: tratamiento riego restringido) a través del tiempo. Los valores corresponden a las medias \pm EE (n=5). Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre tratamientos. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas entre períodos de evaluación (P \leq 0.05).

Figure 4. Ratio of aboveground (Pa)/belowground (Ps) biomass of the treatments (CRT: irrigation control treatment; RRT: irrigation restricted treatment) over time. Values correspond to means \pm SE (n=5). Different capital letters indicate significant differences between treatments. Different lowercase letters indicate significant differences between evaluation periods (P \leq 0.05).

tonoplasto y en las membranas de orgánulos, alterando la estructura o configuración de las macromoléculas. Además, el estrés hídrico perjudica el desarrollo de los procesos fisiológicos o metabólicos, cuyo efecto principal es la reducción del crecimiento. Además de las alteraciones que pueda generar a nivel estructural y morfológico, el estrés hídrico genera una disminución en la relación parte aérea/parte radicular. Finalizando con una abscisión de hojas y frutos (Valverde and Arias 2019; Hachemi et al. 2021).

El tratamiento bajo la condición de sequía se enfrentó a una condición severa de déficit hídrico, llegando a soportar un 47% de contenido hídrico en el sustrato. Se podría considerar a este como el umbral del período invernal más bajo de resistencia al déficit hídrico para *B. miersii* debido a que el estrés presentado por falta de agua en el sustrato comenzó a evidenciarse desde un 65% de CHRs, con notorios cambios morfológicos como marchitamiento, pérdida de hojas y clorosis del tejido foliar. Por ello se pasó a la etapa de rehidratación. No obstante, el período de rehidratación no permitió la recuperación de los ejemplares a pesar de haber sido regados a capacidad de campo durante un mes continuo, situación totalmente diferente a lo observado en otra especie arbórea como *Cryptocarya alba* (Donoso et al. 2011).

El valor de potencial hídrico más negativo coincidió con el momento de mayor restricción hídrica del ensayo (Ψ_a -6.48 MPa). También CHRr disminuyó de manera significativa al enfrentar la restricción hídrica más severa, aunque con un CHRs de 65% se registró una fuerte disminución del Ψ_a (-1.63 MPa), sin cambios negativos en el estado hídrico en la ramilla. Una situación similar fue determinada por Mancilla et al. (2014), en la que *B. miersii* ante un déficit hídrico severo registró valores de Ψ_a menores de -5.0 MPa. Las curvas de presión/volumen obtenidas indican que *B. miersii* realizó un ajuste elástico, ya que se produjo una disminución significativa del valor en el módulo de elasticidad. La elasticidad de las paredes celulares ayudó a mantener la turgencia celular pese a reducir el CHRr, lo que permite mantener un estado hídrico adecuado más allá de la falta de agua.

Evaluación de la respuesta fotosintética

De acuerdo con los resultados hídricos obtenidos, se puede afirmar que las plantas

juveniles de *B. miersii* frente a condiciones de restricción hídrica, con CHRs inferiores al 50%, generan problemas fisiológicos principalmente por el estrés oxidativo, que produce la destrucción de la clorofila y de los fotosistemas (PSII). Se obtuvieron valores muy bajos de F_v/F_m en pre-alba (0.37), lo que demuestra que no solo la destrucción de los fotosistemas, sino también la incapacidad de recuperación de la planta durante el período nocturno. Además, producto de la falta de agua y la reducción de la fotosíntesis por la destrucción severa de los fotosistemas, se generó la pérdida de biomasa foliar e incluso la muerte de los ejemplares. Existen experiencias con otras especies del bosque mediterráneo de Chile en las que se observó una reducción de los valores de F_v/F_m a pre-alba por efecto de la restricción hídrica, pero sin llegar a un valor inferior de 0.65 (Peña-Rojas et al. 2004, 2018). Asimismo, se realizaron estudios semejantes con especies endémicas de Chile como *Lithraea caustica* (Litre) (Peña-Rojas et al. 2018) y con *Quercus ilex*, una de las especies más importantes de los bosques mediterráneos del norte de España, el oeste de Francia y el sur de Gran Bretaña (Peña-Rojas et al. 2004).

Evaluación de crecimiento y biomasa

Ante condiciones de restricción hídrica, *B. miersii* tendió a responder con una disminución continua del DAC. Esta situación fue observada en especies mediterráneas del género *Quercus* (Peña-Rojas et al. 2004), propensas a disminuir su diámetro bajo la condición de restricción hídrica. El decrecimiento del intercambio gaseoso por causa de potenciales hídricos muy negativos trae consigo una disminución del DAC (Peña-Rojas et al. 2018). Con respecto a la longitud, *B. miersii* respondió con una significativa elongación del tallo durante el período de escasez, diferenciándose del tratamiento con aporte hídrico constante.

La restricción hídrica en las plantas afectó la capacidad de acumulación de biomasa aérea y radicular. Pese a la elongación del tallo en los ejemplares del tratamiento con restricción, se observó que la acumulación de biomasa a nivel del tallo y ramas fue menor. Por otra parte, en el tratamiento control (TRC) se observó una mayor acumulación de biomasa, que concuerda con los resultados obtenidos por Valverde y Arias (2020), ya que el estrés hídrico perjudica el desarrollo de los procesos fisiológicos y metabólicos cuyo principal efecto negativo es la reducción del crecimiento. La

situación se observó al comparar TRR con TRC, dado que las plantas con déficit hídrico (TRR) arrojaron DAC inferiores a los obtenidos en TRC, además de una menor acumulación de biomasa.

En cuanto a la relación entre la parte aérea y la parte subterránea, los bellotos del tratamiento de restricción hídrica no mostraron una gran variación, a diferencia de lo observado en el tratamiento control. Durante la etapa de máxima restricción, la biomasa foliar y radicular en TRR disminuyó drásticamente, situación que cambió una vez que se inició la etapa de rehidratación. Esto se debió a que al momento de ser sometido a una condición de estrés por sequía, *B. miersii* tendió a perder sus hojas en forma paulatina, y las volvió a formar una vez que recuperó su estado hídrico. Seguramente la pérdida de hojas se debió a un incremento de la senescencia foliar causado por los cambios hormonales que provocó la alteración del balance metabólico. Se ha sugerido que esto puede ser una respuesta adaptativa para intentar sobrevivir a una condición de sequía (Munné-Bosche et al. 2004). Si bien existen especies que al estar adaptadas a condiciones de aridez desarrollan una mayor biomasa radicular, hay otras —como *B. miersii*— que regulan su biomasa foliar a medida que se acentúa la escasez hídrica logrando disminuir la transpiración y evitando la muerte del individuo (Arcos 2020).

El presente estudio permitió determinar que el déficit hídrico invernal afectó negativamente el fotosistema, provocando fotooxidación y generando cambios a nivel fisiológico y metabólico que afectaron el crecimiento y el desarrollo de *B. miersii*. Por lo tanto, se rechaza la hipótesis planteada. Asimismo, frente a la restricción hídrica, la especie presentó un grado elevado de estrés y una baja tolerancia a eventos de sequía. Además, bajo una condición de riego restringido, el belloto del norte realizó un ajuste elástico que le permitió mantener el turgor celular a pesar de reducir el CHRr. De manera similar, frente a un déficit hídrico, el belloto del norte no mostró un mayor desarrollo radicular. En cambio, la pérdida paulatina de biomasa le permite reducir la transpiración, situación que varía una vez que la situación hídrica es favorable, siempre y cuando exista una rápida recuperación de los fotosistemas, ya que esto incide directamente en la posibilidad de recuperación de la especie.

AGRADECIMIENTOS. Se agradece al Laboratorio de Bosques Mediterráneos de la Facultad de Ciencias Forestales y de la Conservación de la Naturaleza, Universidad de Chile, a Anglo American Sur, y a ANID-Subdirección de Capital Humano/Doctorado Nacional/ 2022-21222054. También deseamos agradecer las observaciones realizadas por cada uno de los revisores, quienes permitieron enriquecer y mejorar este artículo.

REFERENCIAS

- Álvarez-Garretón, C., A. Lara, J. Boisier, and M. Galleguillos. 2019. The impacts of Native Forests and Forest Plantations on water supply in Chile. *Forests* 10(6):1-18. <https://doi.org/10.3390/f10060473>.
- Arancibia, J., J. Araya, and D. Zunino. 2020. Análisis vegetacional del bosque nativo en la región Metropolitana de la zona central de Chile: zona de estudio valle de Colliguay. *Investigaciones Geográficas* 59:115-119. <https://doi.org/10.5354/0719-5370.2020.55371>.
- Arcos, F. 2020. Aporte de nutrientes por caída de hojarasca en plantaciones de *Tectona grandis* (Teca) en períodos de sequía. *Revista Digital Novasinerjia* 3(1):17-26. <https://doi.org/10.37135/ns.01.05.02>.
- DMC (Dirección Meteorológica de Chile). 2001. Climatología regional. Departamento de Climatología. Santiago, Chile. Pp. 47.
- Donoso, S., K. Peña-Rojas, C. Pacheco, G. Luna, and A. Aguirre. 2011. Respuesta fisiológica y de crecimiento en plantas de *Quillaja saponaria* y *Cryptocarya alba* sometidas a restricción hídrica. *Bosque* 32(2):187-195. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002011000200009>.
- Drechsler, K., I. Kisekka, and S. Upadhyaya. 2019. A comprehensive stress indicator for evaluating plant water status in almond trees. *Agricultural Water Management* 216:214-223. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2019.02.003>.
- Engelbrecht, B., and T. Kursar. 2003. Comparative drought-resistance of seedlings of 28 species of co-occurring tropical woody plants. *Oecologia* 136(3):383-393. <https://doi.org/10.1007/s00442-003-1290-8>.
- Flores, L., H. Estrada, J. Jiménez, and L. Pizón. 2012. Efecto del estrés hídrico sobre el crecimiento y eficiencia del uso del agua en plántulas de tres especies arbóreas caducifolias. *Terra Latinoamericana* 30(4):343-353. URL: tinyurl.com/3jcj2dew.
- Hachemi, A., O. Ali, T. Belgasi, A. Lahrouni, D. Mercht, et al. 2021. Effect of hydric and light stress on biomass, nutrient uptake and enzymatic antioxidants of *Argania spinosa* seedlings. *Archives of Biological Sciences* 73(1):145-153. <https://doi.org/10.2298/ABS201220010H>.
- IREN (Instituto Nacional de Investigación de Recursos Naturales). 1964. Suelos: Descripciones. proyecto aerofotogramétrico. Chile/OEA/BID. Santiago, Chile. Pp. 389.

- Kremer, K., A. Promis, G. Mancilla, and C. Magni. 2018. Leaf litter and irrigation can increase seed germination and early seedling survival of the recalcitrant-seeded tree *Beilschmiedia miersii*. *Austral Ecology* 44(1):86-94. <https://doi.org/10.1111/aec.12655>.
- Karlic, H., and H. Richter. 1983. Developmental effects on leaf water relations of two evergreen shrubs (*Prunus laurocerasus* L. and *Ilex aquifolium* L.). *Flora* 173(1-2):143-150. [https://doi.org/10.1016/S0367-2530\(17\)31993-X](https://doi.org/10.1016/S0367-2530(17)31993-X).
- Mancilla, G., C. Magni, and A. Promis. 2014. Proyecto 033/2012. Permanencia de *Beilschmiedia miersii*. Regeneración según contenido hídrico del suelo y presencia de hojarasca. Propuestas. Fondo de Investigación del Bosque Nativo. Facultad de Ciencias Forestales y de la Conservación de la Naturaleza, Universidad de Chile. Corporación Nacional Forestal, Ministerio de Agricultura. Pp. 120.
- MINAGRI (Ministerio de Agricultura). 1995. Decreto 13. Declara Monumento Natural las Especies Forestales Queule, Pítao, Belloto del Sur, Belloto del Norte y Ruil. URL: tinyurl.com/392e8ptb.
- MINSEGPRES (Ministerio Secretaría General de la Presidencia). 2008. Aprueba y oficializa nómina para el tercer proceso de clasificación de especies según su estado de conservación. Diario Oficial de la República de Chile. N°39.100. URL: tinyurl.com/2p93m6e9.
- Miranda, A., A. Lara, A. Altamirano, C. Di Bella, M. González, and J. Camarero. 2020. Forest browning trends in response to drought in a highly threatened mediterranean landscape of South America. *Ecological Indicators* 115: 106401. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106401>.
- Munné-Bosch, S., and L. Alegre. 2004. Die and let live: leaf senescence contributes to plant survival under drought stress. *Funct Plant Biol* 31(3):203-216. <https://doi.org/10.1071/FP03236>.
- Montenegro, G. 2010. Proyecto 025/2010. Distribución, hábitat potencial y diversidad genética de poblaciones de Belloto del Norte (*Beilschmiedia miersii*) y Lúcumo chileno (*Pouteria splendens*). Informe Final. Fondo de Investigación del Bosque Nativo. Corporación Nacional Forestal, Ministerio de Agricultura. Pp. 82.
- Peña-Rojas, K., X. Aranda, and I. Fleck. 2004. Stomatal limitation to CO₂ assimilation and down-regulation of photosynthesis in *Quercus ilex* resprouts in response to slowly imposed drought. *Tree Physiology* 24:813-822. <https://doi.org/10.1093/treephys/24.7.813>.
- Peña-Rojas, K., S. Donoso, C. Pacheco, A. Riquelme, R. Gangas, et al. 2018. Respuestas morfo-fisiológicas de plantas de *Lithraea caustica* (Anacardiaceae) sometidas a restricción hídrica controlada. *Bosque* 39(1):27-36. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002018000100027>.
- Santibáñez, F., and J. Uribe. 1990. Atlas agroclimático de Chile. Regiones V y Metropolitana. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad de Chile. Santiago, Chile. Pp. 65.
- Scholander, P., H. Hammel, E. Bradstreet, and E. Hemminbsen. 1965. Sap pressure in vascular plants: negative hydrostatic pressure can be measured in plants. *Science* 148:339-346. <https://doi.org/10.1126/science.148.3668.339>.
- Tyree, M., and H. Hammel. 1972. The measurement of the turgor pressure and the water relations of plants by the pressure-bomb Technique. *Journal of Experimental Botany* 23:267-282. <https://doi.org/10.1093/jxb/23.1.267>.
- Valverde, J., and D. Arias. 2020. Efectos del estrés hídrico en crecimiento y desarrollo fisiológico de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp. *Colombia Forestal* 23(1):20-34. <https://doi.org/10.14483/2256201X.14786>.