

## Respuestas al déficit hídrico estacional en dos especies de *Piper* creciendo a lo largo de un gradiente altitudinal en la Sierra de San Javier (Tucumán, Argentina)

Cantero, E. A.<sup>1</sup>; J. A. González<sup>1</sup>; F. E. Prado<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Ecología (Botánica), Fundación Miguel Lillo. Miguel Lillo 251, (4000) San Miguel de Tucumán, Argentina. elizabethcantero@gmail.com

<sup>2</sup> Cátedra de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias Naturales e IML. Miguel Lillo 205, (4000) San Miguel de Tucumán, Argentina.

► **Resumen** — Cantero, E. A.; J. A. González; F. E. Prado. "Respuestas al déficit hídrico estacional en dos especies de *Piper* creciendo a lo largo de un gradiente altitudinal en la Sierra de San Javier (Tucumán, Argentina)". *Lilloa* 47 (1-2). El objetivo del trabajo fue estudiar las interacciones entre las variables ambientales y morfológicas en *Piper tucumanum* y *Piper hieronymi* a lo largo de un gradiente altitudinal en la Sierra de San Javier (Tucumán-Argentina). Para tal finalidad se realizaron mediciones del potencial hídrico ( $\Psi$ ); área foliar específica (AFE) y se analizaron los pigmentos fotosintéticos (clorofilas, carotenoides) y protectores de UV-B (flavonoides). Se incluyen también un estudio anatómico de la lámina foliar. Los datos obtenidos se correlacionaron con datos climáticos relativos a los sitios de estudio. Del análisis de los resultados se pudo concluir que las especies estudiadas no presentan las características típicas observadas para otras especies en otros gradientes altitudinales más severos. Si bien, los datos climáticos variaron en el gradiente altitudinal, las condiciones microclimáticas de la población localizada a 970 m.s.n.m influyeron en los resultados de la mayoría de los parámetros estudiados.

**Palabras claves:** *P. tucumanum*, *P. hieronymi*, gradiente altitudinal, potencial hídrico, área foliar específica, anatomía foliar, pigmentos fotosintéticos.

► **Abstract** — Cantero, E. A.; J. A. González; F. E. Prado. "Responses to seasonal water deficit in two *Piper* species growing in an altitudinal gradient in Sierra de San Javier (Tucumán, Argentina)". *Lilloa* 47 (1-2). The objective of this work was the study of the interactions between environmental data and morphological and physiological variables in *Piper tucumanum* and *Piper Hieronymi* along a gradient elevation in the mountain range of San Javier (Tucuman, Argentine). Measurements of water potential ( $\Psi$ ); specific leaf area (SLA) and photosynthetic (chlorophylls, carotenoids) and protective (flavonoids) pigments were analyzed in the gradient. Another studies included leaf anatomy. All the data obtained were correlated with climatic data of the sites where both species were grown. From the analysis of the results we can conclude that both species does not present the typical characteristics observed in other species in others elevation gradients. While climate data varied in elevation gradient, microclimatic conditions of the population located 970 meters influenced the outcome of most of the parameters studied.

**Keywords:** *P. tucumanum*, *P. Hieronymi*, elevation gradient, water potential, specific leaf area, leaf anatomy, photosynthetic pigments.

### INTRODUCCION

*Piper tucumanum* y *Piper hieronymi* son dos especies perennifolias que pertenecen a la familia Piperaceae. En Tucumán se encuentran en la provincia fitogeográfica de

las Yungas (Cabrera, 1976). A pesar de que se desarrollan en un mismo microambiente de selva nublada, también es posible encontrarlas en pisos altitudinales diferentes (Zuloaga & Morrone, 1999). Esta característica es importante ya que brinda la posibilidad de estudiar las adaptaciones producidas para poder crecer en diferentes alturas (Gon-

zález & Ponessa, 1988). Todo gradiente altitudinal se caracteriza por presentar a lo largo de su trayectoria variaciones en las condiciones medioambientales; lo que resulta de mucha importancia en las especies perennifolias, ya que las mismas mantienen su funcionalidad fotosintética a lo largo de todas las estaciones; sean éstas favorables o desfavorables. En ese sentido, durante los períodos de sequía las especies perennifolias son capaces de usar el agua retenida por los suelos a mayor profundidad (Sobrado, 1986). Si bien esto es cierto mayormente para especies arbustivas también en este caso debe ser cierto para las especies de *Piper* que se tratan en este trabajo, ya que las mismas a pesar de ser herbáceas presentan una altura considerable (entre 3-5 metros) y el sistema radicular es bastante desarrollado a juzgar por las observaciones de campo realizadas en zonas de laderas, donde debido a derrumbes quedó expuesto el sistema radicular. Por lo tanto, es posible suponer que dichas especies presentan estrategias ecofisiológicas relacionadas a su *status hídrico* únicas, que les permiten cumplir su ciclo de vida y perdurar en el tiempo. Numerosos trabajos han demostrado la existencia de una estrecha correlación entre el potencial hídrico de una planta y el contenido de agua del suelo y de la atmósfera. En ese contexto, Sobrado (1986) al comparar las relaciones hídricas de los tejidos en función de los cambios estacionales, encontró diferencias significativas en el potencial hídrico foliar entre especies perennifolias y deciduas que coexisten en un bosque tropical seco en Venezuela. Por su parte, Colombo *et al.* (2007), si bien, no observó diferencias significativas en el *status hídrico* de dos especies de *Calotropis* para una misma estación; si las encontró al hacer la comparación entre las épocas seca y lluviosa. Para explicar estos comportamientos, Goldstein *et al.* (1989) propuso la existencia de ciertos mecanismos adaptativos que les permitirían a las plantas de diferentes ecosistemas tropicales, mantener un balance hídrico favorable durante los períodos de baja disponibilidad de agua en el suelo. Además de los parámetros relacionados al *status hídrico*,

existen otros como el área foliar específica (AFE) y la eficiencia en el uso de agua (EUA), parámetros directamente implicados en el crecimiento de la planta, que también varían con los cambios estacionales (Pérez Amaro *et al.*, 2004). Estos parámetros además de variar estacionalmente, también lo hacen en función de la intensidad lumínica y de la altitud (Körner *et al.*, 1986; Lee & Henvinlink, 2003; Pérez Amaro *et al.*, 2004; Castrillo, 2006). En relación a esto último, a lo largo de todo gradiente altitudinal se produce un incremento de la radiación solar, especialmente; ultravioleta (UV-B). En ese contexto, se han observado variaciones significativas en los niveles de compuestos fenólicos, especialmente flavonoides, dada su capacidad para absorber radiación ultravioleta, fundamentalmente UV-B (Lavola, 1998; Day, 2001; Havaux & Kloppstech, 2001; Nikolova & Ivancheva, 2005; González *et al.*, 2007). No obstante, algunos autores consideran a la variación en el contenido de flavonoides como una adaptación fitoquímica general al ambiente biótico y abiótico más que una simple respuesta a la radiación ultravioleta (Dixon & Pavia, 1995; Nikolova & Ivancheva, 2005).

A lo largo de un gradiente altitudinal la temperatura del aire disminuye (aproximadamente 0,65 °C cada 100 m en altitud) mientras que las precipitaciones tienden a aumentar hasta una cierta altitud (cerca de los 1.300 m snm) y luego disminuyen fuertemente (Minetti, 2.005). Por otro lado la velocidad del viento, la radiación solar y la tasa de evaporación aumentan a lo largo del gradiente altitudinal; lo que determina que las adaptaciones morfológicas (externas o internas) también adquieran una gran significación en el ciclo de vida de las plantas (Castrillo, 2006). Dentro de éstas, las características anatómicas foliares constituyen una herramienta muy útil para estudiar las adaptaciones morfológicas y/o fisiológicas a lo largo del gradiente altitudinal.

Teniendo en cuenta que se trata de dos especies emparentadas, de un mismo género y que se presentan en pisos altitudinales diferentes se hipotetiza que podrían presentar

un comportamiento ecofisiológico diferente tanto a lo largo del gradiente altitudinal como en estaciones contrastantes (verano-invierno). En base a estas consideraciones y teniendo en cuenta que los estudios anatómicos foliares realizados en *P. tucumanum* y *P. hieronymi* (Cantero *et al.*, 2005) demostraron que ambas especies pueden distinguirse claramente una de otra, se propone como objetivo de este trabajo el estudio de las interacciones entre los parámetros fisiológicos y anatómicos, en función de las variables ambientales, en estas dos especies a lo largo de un gradiente altitudinal en la selva montana tucumana.

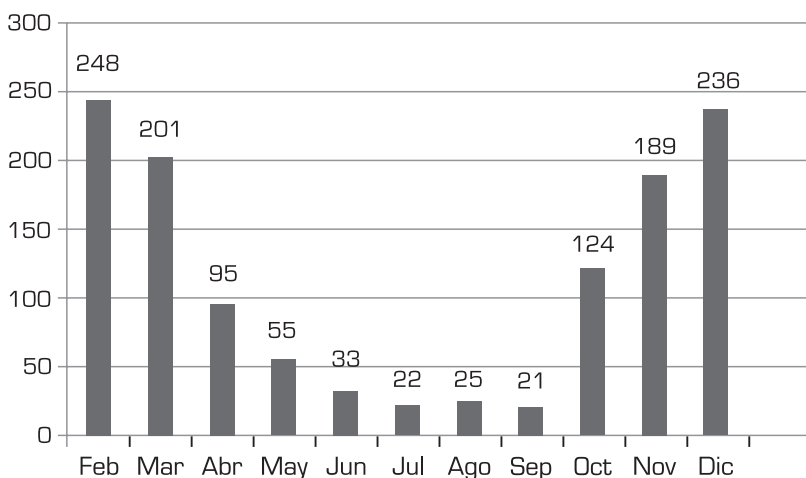
#### MATERIALES Y METODOS

*Material vegetal.*— Como material de estudio se utilizaron especímenes completamente desarrollados de *Piper tucumanum* C. DC y *Piper hieronymi*.

*Área de estudio y obtención de las muestras.*— El área de estudio se encuentra ubicada en la Sierra de San Javier (Tucumán, Argentina). Se trata de una región cubierta por bosque subtropical húmedo que forma parte de las Yungas tropicales de Bolivia, representa la franja altitudinal de máxima plu-

viosidad y biodiversidad. Fitogeográficamente corresponde a la denominada Selva Montana (Brown & Grau, 1995; Hunzinger, 1995). El clima es subtropical con una estación seca bien definida y otra húmeda correspondientes a los meses de verano. En la Fig. 1 se muestra la distribución de las precipitaciones a lo largo del año para la localidad de Villa Nougés (aproximadamente 1.300 m snm) con el fin de mostrar las variaciones estacionales en la entrada de agua al sistema. Se utiliza una serie de datos del período 1951-1960 ya que son las únicas disponibles para ese lugar en particular. Sin embargo, debe recordarse que tanto en invierno como en verano, existe un cierto aporte de humedad proveniente de los bancos de neblina (“lluvia horizontal”) (Hunzinger, 1995)). Este aporte también varía según la altitud siendo mayor en sitios de altitudes mayores (Ayarde, H. 2010 comunicación personal).

Los sitios de muestreo a lo largo del gradiente altitudinal se establecieron a 820, 970 y 1.320 m.snm, respectivamente. Los muestreos se llevaron a cabo en Febrero (época húmeda) y Agosto (época seca).



**Figura 1.** Distribución de las precipitaciones a lo largo del año para la localidad de Villa Nougés (1.300 m snm). Período 1951 - 1960. Total anual 1388 mm. (Fuente: Servicio Meteorológico Nacional, 1969 - Estadísticas Climatológicas - Bs As - 3ª Edición.)

*Determinación de parámetros hídricos (curvas presión-volumen [P-V], potencial hídrico [ $\Psi$ ] y contenido relativo de agua (CRA).—* Las curvas P-V se realizaron por la técnica de transpiración libre de acuerdo al método de Tyree y Hammel (1972). Para ello se recolectó en cada época de muestreo, y en cada una de las alturas seleccionadas, material fresco de ambas especies. Se escogieron 10 individuos al azar de los cuáles se tomaron 10 ramas adultas de aproximadamente 70 cm de longitud. Las ramas se colocaron en recipientes de plástico con el extremo del corte sumergido en agua y transportadas así hasta el laboratorio. Posteriormente se mantuvo las ramas durante un día, en oscuridad a temperatura ambiente, a fin de obtener la máxima hidratación posible. Posteriormente se separó de cada rama mayor una más pequeña (~ 15 cm de longitud) que se pesó de inmediato para obtener el peso turgente (PT). Luego con el uso de la bomba de Scholander se procedió a determinar el potencial hídrico ( $\Psi$ ) a máxima hidratación. Una vez concluida la primera estimación de  $\Psi$ , la muestra se volvió a pesar para obtener el peso fresco (PF) resultante. Luego el material fue dejado para que transpire libremente y al cabo de un tiempo determinado se volvió a someter a presión en la Bomba de Scholander y posteriormente se volvió a obtener un nuevo peso fresco. Esta operación se repitió hasta que los pesos frescos eran más o menos constantes. Luego el material se llevó a estufa a 84°C hasta peso seco constante para obtener el peso seco (PS) final. Con estos valores se determinó el CRA empleando la siguiente fórmula:

$$\text{CRA} = [(\text{PF} - \text{PS}) / (\text{PT} - \text{PS})] 100$$

A partir de los valores de  $\Psi$  y CRA se obtuvieron las curvas P-V representando en un eje de coordenadas  $1/\Psi$  en función de  $(1 - \text{CRA})$  (Schulte & Hinckley, 1985). Las curvas P-V se utilizaron para calcular el potencial osmótico de saturación (POS), el potencial osmótico a pérdida de turgor (POPT) y el módulo de elasticidad de las paredes celulares ( $\epsilon$ ); que son los parámetros más repre-

sentativos de la capacidad de ajuste osmótico de las plantas.

*Determinación del área foliar específica (AFE).—* Para la determinación del AFE se tomaron diez (10) plantas distintas y de cada una de ellas se tomo una hoja completamente expandida de la cual se obtuvieron, con un sacabocado, 20 discos de 10,12 mm de diámetro. Estas muestras se sometieron a 84°C durante 24 horas para determinar al cabo de ese tiempo su peso seco (PS). El valor del AFE resultante es el cociente entre el total de la superficie foliar procesada para cada planta y su peso seco. De esta forma el AFE queda expresado como superficie foliar referida a peso seco ( $\text{cm}^2/\text{g}$  peso seco). La inversas del AFE ( $1/\text{AFE}$ , g de peso seco/ $\text{cm}^2$ ), denominada masa foliar específica, es una medida de la inversión en carbono que la planta realiza para obtener un centímetro cuadrado de superficie foliar. Es por lo tanto el “costo” de inversión en carbono que la planta realiza para obtener una superficie foliar determinada.

*Cuantificación de pigmentos fotosintéticos y protectores de UV-B.—* Para la determinación de los pigmentos fotosintéticos y protectores de UV-B se utilizaron hojas completamente desarrolladas de cinco (5) ejemplares distintos. De las hojas se obtuvieron cinco discos con sacabocados de 3,21 mm de diámetro. La cuantificación de clorofila y carotenoides se realizó colocando 3 de los discos obtenidos, previamente pesados, en un tubo de hemólisis conteniendo 2 ml de dimetilsulfóxido (DMSO) (Chapelle & Kim, 1992); mientras que para la estimación de los compuestos protectores se utilizaron los dos discos restantes, que se pusieron en un tubo que contenía 2 ml de metanol acidulado (metanol/agua/HCl: 79/20/1) (Mirecki & Teramura, 1984). Luego de incubar los tubos en oscuridad a 45°C por 12 h se midió la absorbancia a 480, 649 y 665 nm para los pigmentos fotosintéticos y a 305 nm para los protectores de UV-B en un espectrofotómetro UV-visible (Metrolab 1700). El contenido de clorofila y carotenoides se determinó utili-

zando las ecuaciones de Wellburn (1994) mientras que los flavonoides se refieren como absorbancia a 305 por gramo de peso fresco.

*Análisis anatómico foliar.*— Para este estudio se recolectó material fresco de ambas especies en los tres puntos de muestreo. El material fue incluido en FAA (formaldehído/ácido acético/alcohol) y luego se realizaron cortes transversales a mano alzada de la porción correspondiente al tercio medio de la lámina de la hoja. Para el análisis microscópico los cortes se tiñeron con safranina-fast-green y se montaron en glicerina-agua. La obtención de las epidermis se realizó utilizando el método de diafanización, de acuerdo a Dizeo de Strittmater (D'Ámbrogio de Argüeso, 1986). Las observaciones se realizaron con un microscopio óptico (Zeiss, Germany) y los espesores cuticulares y tisulares se midieron usando un ocular micrométrico 4x (Leitz, Germany).

*Datos climáticos (temperatura, precipitaciones).*— Temperatura: Teniendo en cuenta que la temperatura experimenta un cambio lineal con la altitud, se utilizaron técnicas de regresión lineal para el cálculo de las temperaturas medias en los sitios de muestreo ubicados a 820, 970 y 1320 metros de altitud. Para los cálculos de regresión se utilizaron datos de mediciones reales de temperatura correspondientes al gradiente San Miguel de Tucumán (420 m snm) - Villa Nougés (1.300 m snm), ambos de la serie 1951 - 1960 (Servicio Meteorológico Nacional, 1969). Se debe hacer la salvedad que estas estimaciones se pueden realizar sólo en la zona lineal ya que fuera de esta zona los datos tienen comportamientos no lineales (Minetti, J. 2009 comunicación personal). Las ecuaciones derivadas que vinculan la temperatura con la altitud fueron:

$$\text{Temperatura } (^{\circ}\text{C}) = 0,006 * \text{altitud (m)} + 26,26 \text{ (para el mes de febrero)}$$

$$\text{Temperatura } (^{\circ}\text{C}) = 0,003 * \text{altitud (m)} + 15,83 \text{ (para el mes de agosto)}$$

*Precipitaciones:* Las precipitaciones también cambian linealmente con la altitud pero se debe hacer la salvedad que esto es verdadero para el tramo comprendido entre los 500 y 1.500 m snm (Minetti, 2005, comunicación personal). Teniendo en cuenta esta salvedad se utilizaron datos de precipitaciones medias mensuales existentes S.M de Tucumán y San Javier para calcular las precipitaciones en el sitio de muestreo. Las ecuaciones que vinculan ambas variables fueron:

$$\text{Precipitación (mm)} = 0,054 * \text{altitud} + 172 \text{ (para el mes de febrero)}$$

$$\text{Precipitación (mm)} = 0,014 * \text{altitud} + 4,582 \text{ (para el mes de agosto)}$$

*Análisis estadísticos.*— Los datos obtenidos fueron sometidos al análisis de la varianza (ANOVA) y test de Tukey para  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS

*Parámetros hídricos relativos al ajuste osmótico.*— En general se observó que tanto en la estación seca como en la húmeda los valores de los parámetros hídricos relacionados al ajuste osmótico (POS, POPT,  $\epsilon$ ), calculados a partir de las curvas P-V fueron más altos (menos negativos) en *P. tucumanum* que en *P. hieronymi* (Tabla 1).

**Tabla 1.** Variaciones del potencial osmótico de saturación (POS), potencial osmótico a pérdida de turgor (POPT) y módulo de elasticidad ( $\epsilon$ ), durante la época húmeda (febrero) y época seca (agosto) en el gradiente altitudinal.

<i>Piper tucumanum</i>						
Altitud (msnm)	POPT (MPa)		POS (MPa)		$\epsilon$	
	Feb	Ago	Feb	Ago	Feb	Ago
820	-2,1	-2,5	-2,0	-2,2	19,4	17,7
970	-2,2	-2,3	-2,1	-2,0	12,4	15,4
1320	-1,9	-2,6	-1,9	-2,3	29	21,7
<i>Piper hieronymi</i>						
Altitud (msnm)	POPT (MPa)		POS (MPa)		$\epsilon$	
	Feb	Ago	Feb	Ago	Feb	Ago
820	-2,4	-2,4	-2,0	-1,7	9,03	4,6
970	-2,5	-2,3	-1,8	-1,8	3,1	3,4
1320	-2,5	-1,9	-2,1	-1,7	11,2	4,7

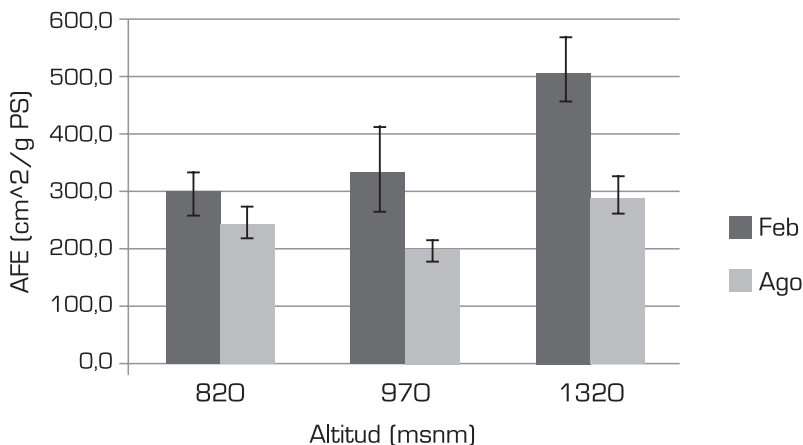
El análisis interestacional muestra que los valores de POS, POPT y ( $\epsilon$ ) fueron más altos en la estación húmeda. Con relación al último de dichos parámetros, al analizar su distribución altitudinal se encontró que el valor más alto corresponde a la población ubicada a 1.320 m.s.n.m tanto para *P. tucumanum* como para *P. hieronymi*.

**Área foliar específica (AFE).**— Los valores de AFE en ambas especies fueron más altos en las muestras correspondientes al período húmedo; sin embargo, la diferencia interestacional fue más marcada en *P. tucumanum* (Fig. 2). Asimismo, para esta especie se observó un incremento casi lineal de los valores de AFE de la época húmeda a lo largo del gradiente altitudinal ( $AFE = 107,6 * \text{altitud} + 166,3$ ;  $r^2 = 0,891$ ) (Fig. 1). No se registró la misma tendencia para la época seca. Por otro lado, la misma tendencia se observó para la época húmeda en *P. hieronymi*, ( $AFE = 16,24 * \text{altitud} + 313,3$ ;  $R^2 = 0,854$ ) (Fig. 3).

**Pigmentos fotosintéticos y protectores de UV-B.**— En general, el contenido de clorofilas totales, independiente de la estación climática analizada, es mayor en *P. hieronymi* que en *P. tucumanum*. El mismo patrón se presenta para el caso de los contenidos de clorofila a y clorofila b. Aunque los valores de la

relación clorofila a/b resultaron algo mayores en *P. tucumanum*, las diferencias no fueron significativas ( $p < 0,05$ ). Aunque el contenido de clorofila no mostró cambios interestacionales significativos para ambas especies, el contenido de carotenoides correspondiente al período seco resultó significativamente más alto en las poblaciones de 970 y 1320 m.s.n.m pero más bajo en la de 820 m.s.n.m, en comparación con los valores obtenidos para la estación húmeda. Con relación a los compuestos protectores de UV-B se encontró una sostenida disminución a lo largo del gradiente, en ambas estaciones, tanto para *P. tucumanum* como *P. hieronymi*; sin embargo, la misma resultó más pronunciada en el período húmedo. La comparación interestacional mostró, a su vez, que los valores más altos correspondieron al período de sequía; sobretodo, para las dos últimas alturas (Tabla 2).

**Anatomía foliar.**— El estudio anatómico reveló que *P. tucumanum* presenta una epidermis adaxial con espesor constante a lo largo del gradiente; mientras que, el correspondiente a la abaxial aumenta con la altura. Sin embargo, en *P. hieronymi* el espesor de ambas epidermis se incrementó con la elevación (Tabla 3). Con relación al tejido hipodérmico tanto en *P. tucumanum* como en *P. hieronymi* los menores espesores, para las



**Figura 2.** *Piper tucumanum*. Variación del área foliar específica (AFE) a lo largo del gradiente. Cada barra representa el valor promedio de 10 individuos distintos con su desviación estándar.



**Tabla 2.** Datos de pigmentos (Cl: clorofila; Carot: carotenoides y Flav: flavonoides) en *P. tucumanum* y *P. hieronymi*. Cada valor es el promedio de 5 plantas distintas. El valor entre paréntesis corresponde a la desviación standard.

<i>Piper tucumanum</i>												
Altitud (m snm)	Cl a (mg/g.PF)		Cl b (mg/g.PF)		Cl (a+b) (mg/g.PF)		Cl a/b		Carotenoides (mg/g.PF)		Flavonoides (Abs. 305/g.PF)	
	Feb	Ago	Feb	Ago	Feb	Ago	Feb	Ago	Feb	Ago	Feb	Ago
820	2,58 (0,12)	2,35 (0,27)	0,79 (0,05)	1,46 (0,10)	3,37 (0,28)	3,82 (0,38)	3,26 (0,17)	1,61 (0,02)	424,98 (0,42)	293,0 (0,39)	26,04 (2,87)	33,30 (3,1)
970	2,52 (0,14)	3,15 (0,13)	0,99 (0,06)	1,32 (0,22)	3,50 (0,26)	4,47 (0,20)	2,57 (0,12)	2,42 (0,21)	323,27 (0,38)	583,1 (0,35)	6,45 (1,57)	13,86 (3,2)
1320	2,93 (0,15)	2,63 (0,18)	1,0 (0,06)	0,69 (0,13)	3,93 (0,22)	3,32 (0,12)	2,95 (0,16)	3,88 (0,14)	395,15 (0,35)	550,2 (0,12)	5,50 (0,87)	13,81 (1,6)

<i>Piper hieronymi</i>												
Altitud (m snm)	Cl a (mg/g.PF)		Cl b (mg/g.PF)		Cl (a+b) (mg/g.PF)		Cl a/b		Carotenoides (mg/g.PF)		Flavonoides (Abs.305/g.PF)	
	Feb	Ago	Feb	Ago	Feb	Ago	Feb	Ago	Feb	Ago	Feb	Ago
820	3,09 (0,15)	2,64 (0,18)	1,14 (0,05)	1,83 (0,14)	4,22 (0,25)	4,47 (0,25)	2,74 (0,11)	1,45 (0,02)	463,86 (0,65)	184,4 (0,22)	12,15 (0,66)	15,71 (0,86)
970	2,51 (0,13)	3,15 (0,16)	1,10 (0,06)	1,13 (0,13)	3,61 (0,18)	4,27 (0,13)	2,34 (0,09)	2,86 (0,03)	300,6 (0,40)	497,1 (0,25)	4,93 (0,97)	13,06 (0,86)
1320	2,79 (0,06)	2,60 (0,13)	1,13 (0,08)	0,89 (0,16)	3,93 (0,31)	3,49 (0,15)	2,61 (0,12)	2,94 (0,04)	448,2 (0,39)	469,9 (0,24)	11,28 (0,57)	10,14 (1,9)

caras adaxial y abaxial, fueron observados en la población más baja (820 m.s.n.m), aunque el efecto fue más marcado en la primera de las especies. Resulta interesante destacar que la hipodermis abaxial, en ambas especies, muestra una clara tendencia a aumentar de espesor a medida que se asciende en el gradiente altitudinal. El espesor del parénquima en empalizada resultó mayor en la población de 970 m.s.n.m para ambas especies; sin embargo, en *P. tucumanum* dicho tejido también presentó un espesor elevado a la mayor altitud. El parénquima esponjoso, en ambas especies, presentó un espesor mayor en la población que se desarrollaba a los 970 m snm. (Tabla 3). El análisis histológico no reveló diferencias significativas a nivel celular entre ambas especies (dato no mostrado) Si bien, los datos mostrados corresponden al muestreo de la época húmeda, los resultados obtenidos para el período seco fueron similares no mostrando ninguna diferencia.

*Datos climáticos.*— Tanto en la época seca como húmeda, la temperatura mostró una progresiva disminución a medida que se asciende en el gradiente; en tanto que, la lluvia exhibió un sostenido incremento a medida que aumenta la altitud (Tabla 4).

## DISCUSION

*Ajuste osmótico.*— Para resistir las condiciones estacionales de sequía, las especies arbóreas han desarrollado dos estrategias principales: pérdida de las hojas durante la estación desfavorable (especies deciduas) y adaptaciones funcionales para mantener la disponibilidad hídrica en los tejidos (especies perennifolias) (Sobrado, 1986). La capacidad de realizar ajustes osmóticos e incrementar la elasticidad de las paredes celulares, son mecanismos que se relacionan con la mayor capacidad de

**Tabla 3.** Espesores de tejidos foliares en *P. tucumanum* y *P. hieronymi*. Cada valor es el promedio de 5 plantas distintas. En cada planta se tomaron 10 mediciones a lo largo de la semilámina.

<i>P. tucumanum</i>								
Altitud (m.s.n.m)	Cutícula (µm)		Epidermis (µm)		Hipodermis (µm)		Parénquima (µm)	
	Adaxial	Abaxial	Adaxial	Abaxial	Adaxial	Abaxial	Empalizada	Esponjoso
820	3,30	3,30	15,70	19,80	22,70	25,7	29,70	33,70
970	3,30	3,30	17,30	21,40	34,65	32,17	42,90	57,70
1320	5,40	3,30	14,80	23,90	33,00	37,12	33,00	49,50
<i>P. hieronymi</i>								
Altitud (m.s.n.m)	Cutícula (µm)		Epidermis (µm)		Hipodermis (µm)		Parénquima (µm)	
	Adaxial	Abaxial	Adaxial	Abaxial	Adaxial	Abaxial	Empalizada	Esponjoso
820	3,30	3,30	16,40	20,30	20,40	23,90	28,90	35,80
970	3,30	3,30	25,70	21,70	30,40	28,38	31,00	46,90
1320	3,30	3,30	31,30	26,40	23,90	31,35	28,00	25,60

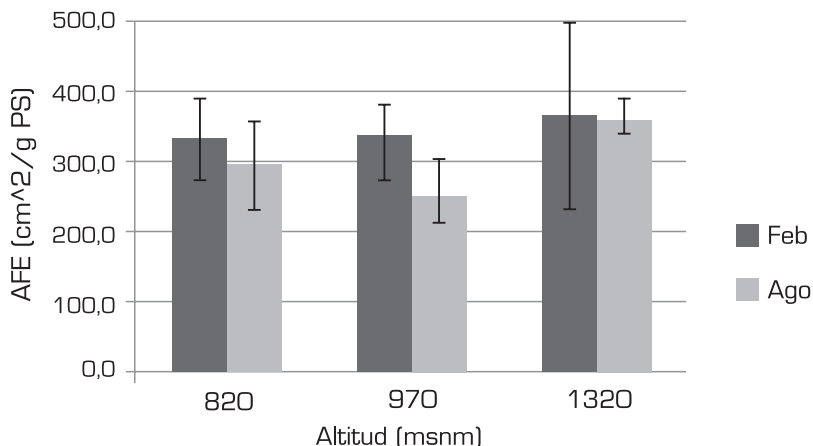
las plantas para resistir situaciones de estrés hídrico (Momen *et al.*, 1992). Ambos mecanismos permiten a las plantas mantener la turgencia celular y por tanto, conservar la capacidad fotosintética y de crecimiento bajo potenciales hídricos de los suelos muy negativos (Villar Salvador *et al.*, 1997). En ese contexto, valores más negativos del POS (potencial osmótico de saturación) o del POPT (potencial osmótico a pérdida de turgor) durante el período de sequía se consideran como una medida de la habilidad de las plantas para ajustarse osmóticamente y por lo tanto mantener una adecuada turgencia de sus tejidos (Goldstein *et al.*, 1989; Pinheiro *et al.*, 2005). Por otra parte, un aumento en la elasticidad de las paredes celulares (menor módulo de elasticidad,  $\epsilon$ ) ayuda a mantener la turgencia en los tejidos dado

que a valores similares de contenidos relativos de humedad, los tejidos más elásticos van a promover una disminución más rápida del volumen celular al producirse una pérdida de agua; lo que resulta en una disminución más lenta de la turgencia es decir, dichos tejidos presentan potenciales osmóticos más negativos y por ende potenciales de turgencia más altos (Fan *et al.*, 1994; Merchant *et al.*, 2007). En concordancia con estas consideraciones, nuestros resultados mostraron valores de POS y POPT más negativos así como menores valores de  $\epsilon$  para la época seca tanto en *P. tucumanum* como en *P. hieronymi* (Tabla 1). Este hecho permitiría suponer que las especies estudiadas presentan una estrategia similar para retener el agua y mantener la turgencia de sus tejidos. Así, durante la época húmeda (verano) el POS, el POPT y el  $\epsilon$  de ambas especies tienden a incrementar sus valores (los dos primeros se hacen menos negativos), quizás porque durante este período (aproximadamente mitad de la estación lluviosa) el agua aportada por las lluvias sea lo suficiente abundante para ser absorbida por el sistema radicular, a fin de mantener un balance hídrico favorable sin necesidad de recurrir a adaptaciones funcionales. Por el contrario, durante la época seca los valores de dichos parámetros tienden a hacerse más negativos; con lo

**Tabla 4.** Datos climáticos de los sitios de muestreo donde crecen *P. tucumanum* y *P. hieronymi*.

Altitud (m. snm)	Temperatura (°C)		Precipitación (mm)	
	Feb.	Ago.	Feb.	Ago.
820	21,3	13,4	216,3	16,1
970	20,4	12,9	224,3	18,2
1320	18,3	11,9	243,3	23,1





**Figura 3.** *Piper hieronymi*. Variación del área foliar específica (AFE) a lo largo del gradiente. Cada barra representa el valor promedio de 10 individuos distintos con su desviación estándar.

cual, al disminuir el potencial osmótico y aumentar la elasticidad de las paredes celulares se aseguraría una mejor absorción de agua y por ende un balance hídrico más favorable. Si bien, los valores de POS y POPT fueron diferentes entre ambas estaciones, no resultaron tan marcados como los observados en otros estudios (Melkonian *et al.*, 1982; Corcuera *et al.*, 2002; Merchant *et al.*, 2007). Este hecho probablemente se debe a que en el gradiente estudiado durante los meses correspondientes al período de sequía, se registra la presencia de neblina (precipitación horizontal) con elevada frecuencia (Hunzinger, 1995); lo que determina que exista una cierta disponibilidad de agua para las hojas con independencia del contenido hídrico del suelo. En consonancia con esta suposición, las variaciones interestacionales observadas en el contenido relativo de agua (CRA) para *P. tucumanum* y *P. hieronymi*, si bien fueron significativas, resultaron de menor magnitud que las comunicadas en otros estudios (Parker *et al.*, 1982; Goldstein *et al.*, 1989; Merchant *et al.*, 2007)

**Área foliar específica.**— El área foliar específica (AFE) es un parámetro que también resulta afectado por las condiciones de déficit hídrico. Ajustes en el área foliar específica (AFE) durante períodos de sequía han sido comunicados para diferentes especies

arbóreas (Abrams, 1990; Ngugi *et al.*, 2004; Merchant *et al.*, 2007). Dichos estudios han demostrado también que las reducciones más significativas de AFE ocurren en aquellas especies localizadas en áreas con altas precipitaciones (Ngugi *et al.*, 2003); lo que indicaría que la reducción del AFE podría ser un mecanismo adaptativo frecuente bajo condiciones de déficit hídrico. En concordancia con estas aseveraciones, en nuestro estudio también se observaron reducciones en los valores del AFE durante la estación seca para *P. tucumanum* y *P. hieronymi* (Fig 2 y 3). Asimismo, como el gradiente estudiado se localiza en una región con elevados índices pluviométricos (1400-1600 mm/año) (Minetti, 2005), puede suponerse que las variaciones en dicho parámetro también ayudarían a soportar el déficit hídrico originado en la estación seca. No obstante, debido a que dichas disminuciones fueron más marcadas en la primera de las especies, hace suponer que la misma posee una mayor plasticidad en el AFE para contrarrestar la carencia hídrica estacional. Por otra parte, el incremento del AFE a lo largo del gradiente altitudinal observado para *P. tucumanum*, se contrapone con los estudios de Körner (1989) y Castrillo (2006) que demostraron que el valor del AFE disminuye a medida que se incrementa la altura. La incongruencia entre estos resultados probablemente puede explicarse por el

hecho de que el presente estudio, fue realizado en un ambiente selvático sin grandes variaciones en las condiciones climáticas; mientras que los de los otros autores se desarrollaron en ambientes de alta montaña, con escasa vegetación y condiciones ambientales extremas y en desniveles altitudinales más pronunciados.

*Pigmentos fotosintéticos y protectores de UV-B.*— Al analizar los pigmentos fotosintéticos se encontró que el contenido de clorofila no mostró cambios de significación a lo largo del gradiente para ambas especies; lo cual, resultó discordante con las disminuciones en el contenido de pigmentos fotosintéticos observadas en otras especies a medida que se asciende en un gradiente altitudinal más severo (Tranquilini, 1979; Castrillo, 2006). Sin embargo, en estos casos se trató de especies que crecen en ambientes abiertos y con escasa vegetación, tal el caso de *Espeletia schultzii* en los páramos venezolanos (Castrillo, 2006); situación que se contrapone con el presente estudio donde *P. tucumanum* y *P. hieronymi* se desarrollan en un ambiente con abundante vegetación arbórea circundante, especialmente en los sitios de muestreos más elevados donde la selva se torna más densa que la correspondiente a la menor altitud (pedemonte) (Brown & Grau, 1995). En estas condiciones las plantas disponen de una mayor protección para hacer frente a la radiación lumínica más intensa resultante de la mayor altitud (González *et al.*, 2007). De este modo el daño fotooxidativo de la clorofila podría reducirse de manera significativa (Demmig-Adams *et al.*, 1996), con lo que no sería necesario disponer de un alto contenido en carotenoides para su atenuación en las diferentes poblaciones de *P. tucumanum* y *P. hieronymi*. Sin embargo, el hecho de que el contenido de carotenoides disminuya con la altitud probablemente involucre también otro tipo de mecanismo regulatorio aún no dilucidado. No obstante, este aparente anómalo comportamiento de las carotenoides ya fue comunicado con anterioridad para otras especies. Así, Todaria *et al.* (1980) trabajando

con 16 especies del Himalaya Central encontró que cuando las plantas eran cultivadas a bajas altitudes y luego trasladadas a mayores alturas, mostraban la mayor parte de ellas disminuciones pronunciadas en el contenido de clorofila y carotenoides. Asimismo, diversos estudios han demostrando que la síntesis de compuestos protectores de UV-B también resulta afectada por la altura en la siguiente dirección: mayor altitud – mayor contenido (González *et al.*, 1993; Lavola, 1998; Day, 2001; Havaux & Kloppstech, 2001; Nikolova & Ivancheva, 2005). En el presente estudio, sin embargo, se encontró con una situación diferente es decir, el contenido de compuestos protectores de UV-B disminuyó con la altura (Tabla 2). Al igual que para los pigmentos fotosintéticos la presencia de abundante vegetación, sobre todo en los sitios más elevados, limita grandemente la penetración de radiación solar especialmente UV-B, con lo que la llegada de la señal para estimular la síntesis de tales compuestos queda bloqueada (Krause *et al.*, 2003).

*Anatomía foliar.*— Considerando que *P. tucumanum* y *P. hieronymi* están sometidos a las mismas condiciones climáticas y poseen, de acuerdo a este estudio, una misma estrategia para crecer en ambientes protegidos, determina que aunque la descripción anatómica de los tejidos foliares no mostró grandes diferencias entre ambas especies, algunos cambios significativos fueron observados a lo largo del gradiente sobre todo a nivel de los tejidos más superficiales (epidermis e hipodermis). Así, mientras en *P. hieronymi* las epidermis adaxial y abaxial muestran un sostenido incremento a medida que se asciende, en *P. tucumanum* solamente lo hace la abaxial. Por el contrario, al analizar la hipodermis el patrón observado fue inverso (Tabla 3). El aumento de espesor en los tejidos foliares superficiales ha sido comunicado para diversas especies, como una respuesta al incremento de la radiación solar, especialmente UV-B, originado por la altura (Schumaker *et al.*, 1997; Hilal *et al.*, 2004; Amiard *et al.*, 2005; Ely *et al.*, 2005). Sin

embargo, esta aseveración no puede aplicarse en el presente estudio dado que las especies analizadas, por el entorno donde se desarrollan, no reciben dosis elevadas de radiación UV-B. Consecuentemente, las variaciones observadas probablemente sean el resultado de algún tipo de plasticidad anatómica presente en ambas especies, relacionada al ambiente en el cual se desarrollan. No obstante, estudios adicionales resultan necesarios para dilucidar esta cuestión.

*Temperatura y precipitaciones.*— El efecto de la temperatura sobre la anatomía foliar de *P. tucumanum* y *P. hieronymi*, no pudo ser interpretado apropiadamente en base a los datos disponibles en la literatura; por cuanto, mientras algunos autores comunicaron incrementos en el espesor foliar con la disminución de la temperatura (Charles-Edwards *et al.*, 1974; Pieters, 1974; Chabot & Chabot, 1977; Bruno, 2006), otros informaron lo contrario, es decir, disminución al descender la temperatura en presencia de baja intensidad luminosa, o muy poco cambio cuando la intensidad de la luz fue alta (Ballantine & Forde, 1970; P'yankov & Kondrachuk, 2003). Por otra parte, respecto a la lluvia debe tenerse presente que aunque en la estación seca (invierno) el nivel de las precipitaciones (lluvia vertical) es bastante bajo, existe un aporte extra proveniente de las neblinas (lluvia horizontal) que pueden afectar en mayor o menor medida las variables anatómicas, sobre todo las correspondientes a la población de 1320 m.s.n.m; por cuanto en dicha altitud los bancos de neblina son mucho más frecuentes y de mayor duración que en los otros sitios de muestreo, llegando el volumen de agua aportado por esta precipitación a sobrepasar el proveniente de la lluvia vertical (Hunzinger, 1995). Por esta razón, consideramos que los cambios anatómicos observados en este estudio no dependen de un único factor climático sino que son el resultado de todos ellos actuando en forma conjunta.

Como conclusión de este trabajo podemos decir que *P. tucumanum* y *P. hieronymi* exhiben adaptaciones osmóticas destinadas a

contrarrestar el déficit hídrico de la estación seca (invierno) bastante similares. Asimismo, aunque los pigmentos fotosintéticos y protectores de UV-B así como los caracteres anatómicos foliares mostraron ciertas diferencias interespecíficas y algunas dependientes de la estacionalidad, en conjunto no tuvieron gran significación para establecer diferencias adaptativas entre ambas especies. Finalmente, en base a la información disponible en la literatura sobre especies perennifolias, puede considerarse a ambos *Piper* como especies bien adaptadas a las condiciones imperantes en el gradiente estudiado.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abrams, M. D. 1990. Adaptations and responses to drought in *Quercus* species of North-America. *Tree Physiology* 7: 227-238.
- Amiard, V., Mueh, K. E., Demmig-Adams, B., Ebbert, V., Turgeon, R. & Adams, III, W. W. 2005. Anatomical and photosynthetic acclimation to the light environment in species with differing mechanisms of phloem loading. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 102: 12968-12973.
- Ballantine, J. E. M. & Forde, B. J. 1970. The effect of light intensity and temperature on plant growth and chloroplast ultrastructure in soybean. *American Journal of Botany* 57: 1150-1159.
- Brown, D. A. & Grau, H. R. 1995. Investigación, Conservación y Desarrollo en las Selvas Subtropicales de Montaña. Laboratorio de Investigaciones Ecológicas de las Yungas. Facultad de Ciencias Naturales e IML - UNT, Argentina.
- Bruno, M. A. 2006. Anatomía foliar de distintas formas de vida a lo largo de un gradiente altitudinal y su relación con mecanismos adaptativos. Consideraciones ecofisiológicas. *Curso de Entrenamiento*. Facultad de Ciencias Naturales e IML - U.N.T, Argentina.
- Cabrera, A. L. 1976. Regiones Fitogeográficas Argentinas. *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Ganadería*. Fasc. 1, Tomo II. Buenos Aires, Argentina.
- Cantero, E. A., Albornoz, P. L., Arias, M. E. & Alvarez, M. J. 2005. Anatomía foliar de *Piper tucumanum* C. DC. y *Piper hieronymi* C. DC. (Piperaceae) Tucumán, Argentina. *Lilloa* 42: 3-14.
- Castrillo, M. 2006. Fotosíntesis en tres poblaciones altitudinales de la planta andina *Espeletia schultzii* (Compositae). *Revista de Biología Tropical* 54: 1143-1149.
- Colombo, R., Marín, O., Irazábal, S. & Tezara, W. 2007. Relaciones hídricas, fotosíntesis, y anato-

- mia foliar de dos especies del género *Calotropis*. *Interciencia* 32: 11.
- Chabot, B. F., Chabot, J. F. 1977. Effects of light and temperature on leaf anatomy and photosynthesis in *Fragaria vesca*. *Oecologia* 26: 363-377.
- Chapelle, E. W. & Kim, M. S. 1992. Ratio analysis of reflectance spectra (RARS): an algorithm for the remote estimation of the concentration of chlorophyll *a*, Chlorophyll *b*, and carotenoids in soybean leaves. *Remote Sensing and Environment* 39: 239-247.
- Charles-Edwards, D. A., Charles-Edwards, J. & Sant, F. I. 1974. Leaf photosynthetic activity in six temperate grass varieties grown in contrasting light and temperature environments. *Journal of Experimental Botany* 25: 715-724.
- Corcuera, L., Camarero, J. J., Gil-Pelegrin, E. 2002. Functional groups in *Quercus* species derived from the analysis of pressure-volume curves. *Trees-Structure and Function* 16: 465-472.
- D' Ambrogio de Argüeso, A. 1986. Manual de Técnicas en Histología Vegetal. Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina.
- Day, T. A. 2001. Ultraviolet radiation and plant ecosystem. In: *Ecosystems, Evolution, and Ultraviolet Radiation*. (Edited by C. S. Cockell & A. R. Blaustein), pp. 80-117. Springer-Verlag, New York, USA
- Demmig-Adams, B., Gilmore, A.M., Adams, W. W. III. 1996. In vivo functions of carotenoids in higher plants. *FASEB Journal* 10: 403-412.
- Dixon, R. & Pavia, N. 1995. Stress-induced phenylpropanoids metabolism. *Plant Cell* 7: 1085-1097.
- Ely, F., Torres, F., Gaviña, J. 2005. Relación entre la morfoanatomía foliar de tres especies de *Miconia* (Melastomataceae) con su hábitat y distribución altitudinal en el Parque Nacional Sierra Nevada de Mérida, Venezuela. *Acta Botanica Venezuelica* 28: 2
- Fan, S. H., Blake, T. J., Blumwald, E. 1994. The relative contribution of elastic and osmotic adjustments to turgor maintenance of woody species. *Physiologia Plantarum* 90: 408-413.
- Goldstein, G., Rada, F., Orozco, A., Montilla, M., Zabala, O., Cavalier, J. & Azócar, A. 1989. Mantenimiento de turgor en especies leñosas tropicales: un modelo basado en cambios estacionales de osmolaridad y elasticidad. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden* 27: 37-49.
- González, J. A. & Ponessa, G.I. 1988. Anatomía foliar de *Hypochoeris meyeniana* (Walp.) Grisebach (Compositae) en una transecta altitudinal. *Lilloa* 37: 37-45.
- González, J. A., de Riera, M. Q., de Israilev, L.A. 1993. Chlorophyll concentration and flavonoids in the fern *Woodsia montevidensis* in different light regimes at two altitudes in northwestern Argentina. *Acta Oecologica* 14: 839-846.
- González, J. A., Gallardo, M. G., Boero, C., Liberman, M. & Prado, F.E. 2007. Altitudinal and seasonal variation of protective and photosynthetic pigments in leaves of world's highest elevation trees *Polylepis tarapacana* (Rosaceae)" *Acta Oecologica* 32: 36-41.
- Havaux, M. & Kloppstech, K. 2001. The protective functions of carotenoids and flavonoid pigments against excess visible radiation at chilling temperature investigated in Arabidopsis npq and tt mutants. *Planta* 213: 953-966.
- Hilal, M., Parrado, M. F., Rosa, M., Gallardo, M., Orce, L., Massa, E. M., González, J. A., Prado, F. E. 2004. Epidermal lignin deposition in quinoa cotyledons in response to UV-B radiation. *Photochemistry and Photobiology* 79: 205-210.
- Hunzinger, H. 1995. La precipitación horizontal: su importancia para el bosque y a nivel de cuencas en la Sierra de San Javier, Tucumán, Argentina. En: *Investigación, Conservación y Desarrollo en las Selvas Subtropicales de Montaña* (Editado por A. D. Brown & H. R. Grau), pp. 53-58. Proyecto de Desarrollo Agroforestal, Laboratorio de Investigaciones Ecológicas de las Yungas. Facultad de Ciencias Naturales e IML - UNT, Argentina.
- Körner, C. H. 1989. The nutritional status of plants from high elevation: a worldwide comparison. *Oecologia* 81: 379-391.
- Körner, C. H., Bannister, P., Mark, A. F. 1986. Altitudinal variation in stomatal conductance, nitrogen content and leaf anatomy in different plant life forms in New Zealand. *Oecologia* 69: 577-588.
- Krause, G. H., Gallé, A., Gadermann, R., Winter, K. 2003. Capacity of protection against ultraviolet radiation in sun and shade leaves of tropical forest plants. *Functional Plant Biology* 30: 533-542.
- Lavola, A. 1998. Accumulation of flavonoids and related compounds in birch induced by UV-B irradiance. *Tree Physiology* 18: 53-58.
- Lee, J. H. & Henvenlink, E. 2003. Simulation of leaf area development based on dry matter partitioning and specific leaf area for cut *Chrysanthemum*. *Annals of Botany* 91: 319-327.
- Melkonian, J. J., Wolfe, J., Steponkus, P. L. 1982. Determination of the volumetric modulus of elasticity of wheat leaves by pressure-volume relations and the effect of drought conditioning. *Crop Science* 22: 116-123.
- Merchant, A., Callister, A., Arndt, S., Tausz, M., Adams, M. 2007. Contrasting physiological responses of six *Eucalyptus* species to water deficit. *Annals of Botany* 100: 1507-1515.
- Minetti, J. L. 2005. El clima del Noroeste Argentino. Laboratorio Climatológico Sudamericano (LCS). Editorial Magna, Argentina. 449 páginas.
- Mirecki, R. M. & Teramura, A. H. 1984. Effects of ultraviolet-B irradiance on soybean. V. The depen-

- dence of plants sensitivity on the photosynthetic photon flux density during and after leaf expansion. *Plant Physiology* 74: 475-480.
- Momen, B., Menke, J. W. & Welker, J. M. 1992. Tissue water relations in *Quercus wislizenii* seedlings: drought resistance in a California evergreen oak. *Acta Oecologica* 13: 127-136.
- Ngugi, M. R., Doley, D., Hunt, M. A., Ryan, P., Dart, P. 2004. Physiological responses to water stress in *Eucalyptus cloeziana* and *E. argophloia* seedlings. *Trees-Structure and Function* 18: 381-389.
- Ngugi, M. R., Hunt M. A., Doley, D., Ryan, P., Dart, P. 2003. Dry matter production and allocation in *Eucalyptus cloeziana* and *Eucalyptus argophloia* seedlings in response to soil water deficits. *New Forestry* 26: 187-200.
- Nikolova, M. T. & Ivancheva, S. V. 2005. Quantitative flavonoid variations of *Artemisia vulgaris* L. and *Veronica chamaedrys* L. in relation to altitude and polluted environment. *Acta Biologica Szegedensis* 49: 29-32.
- Parker, W. C., -Pallardy, S. G., -Hinckley, T. M., - Teskey, R. O. 1982.- Seasonal changes in tissue water relations of three woody species of the Quercus-Carya forest type. *Ecology* 63: 1259-1267.
- Pérez Amaro, J. A., García Moya, E., Enríquez Quiroz, J. F., Quero Carrillo, A. R., Pérez Pérez, J. & Hernández Garay, A. 2004. Análisis de crecimiento, área foliar específica y concentración de nitrógeno en hojas de pasto "mulato" (*Brachiaria* híbrido, cv.). *Técnica Pecuaria en Mexico* 42: 447-458.
- Pieters, G. A. 1974. The growth of sun and shade leaves of *Populus euramericana* "Robusta" in relation to age, light intensity and temperature. *Meded Landbou Hoogeschool Wageningen* 11: 1-106.
- Pinheiro, H. A., DaMatta, F. M., Chaves, A. R. M., Loureiro, M. E., Ducatti, C. 2005. Drought tolerance is associated with rooting depth and stomatal control of water use in clones of *Coffea canephora*. *Annals of Botany* 96: 101-108.
- P'yankov, V. I. & Kondrachuk, A. V. 2003. Basic types of structural changes in the leaf Mesophyll during adaptation of eastern Pamir plants to mountain conditions. *Russian Journal of Plant Physiology* 50: 28-35.
- Schulte, P. J., Hinckley, T. M. 1985. A comparison of pressure-volume curve data analysis techniques. *Journal of Experimental Botany* 36: 1590-1602.
- Schumaker, M. A., Bassman, J. H., Robberecht, R., Rademaker, G. K. 1997. Growth, leaf anatomy, and physiology of *Populus* clones in response to solar ultraviolet-B radiation. *Tree Physiology* 17: 617-626.
- Servicio Meteorológico Nacional. 1969. Estadísticas Climatológicas 1951-1960, 3ª edición, Buenos Aires, Argentina. 3ª edición.
- Sobrado, M. A. 1986. Aspects of tissue water relations and seasonal changes of leaf water potential components of evergreen and deciduous species coexisting in tropical dry forests. *Oecologia* 68: 413-416.
- Todaria, N. P., Thapliyal, A. P. & Purohit, A. N. 1980. Altitudinal effects on chlorophyll and carotenoid contents in plants. *Photosynthetica* 14: 236-238.
- Tranquilini, W. 1979. Physiological ecology of the Alpine Timberline. Springer-Verlag, New York, USA.
- Tyree, M. T. & Hammel, H. T. 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.
- Villar Salvador, P., Ocaña Bueno, L., Peñuelas Rubira, J. L., Carrasco Manzano, I., Domínguez Lerena, S. & Renilla Estrada, I. 1997. Relaciones hídricas y potencial de formación de raíces en plántulas de *Pinus halepensis* Mill. sometidas a diferentes niveles de endurecimiento por estrés hídrico. *Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales* 4: 81-92.
- Wellburn, A. R. 1994. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology* 144: 307-313.
- Zuloaga, F. O. & Morrone, O. 1999. Piperaceae. En: Catálogo de las plantas vasculares de la República Argentina II. *Monographs Missouri Botanical Garden* 74: 1-1269.