

Densidad de la madera como variable integradora de la anatomía del leño: análisis de ramas y fuste en cuatro especies de *Eucalyptus*

Monteoliva, Silvia^{1,2,5}; Antonio José Barotto^{1,2}; Pamela Alarcón³; Natalia Tesón³; María Elena Fernández^{2,4}

¹Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, INFIVE, Universidad Nacional de La Plata. CC 31 (1900) La Plata, Argentina. TE +54-2214236616; ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina; ³INTA EEA Concordia, CC 34 (3200) Concordia, Entre Ríos, Argentina; ⁴INTA EEA Balcarce, Oficina Tandil. CC 370 (7000) Tandil, Argentina; ⁵smonteoliva@yahoo.com.ar

Monteoliva, Silvia; Antonio José Barotto; Pamela Alarcón; Natalia Tesón; María Elena Fernández (2017) Densidad de la madera como variable integradora de la anatomía del leño: análisis de ramas y fuste en cuatro especies de *Eucalyptus*. Rev. Fac. Agron. Vol 116 (1): 1-11.

El objetivo del presente trabajo fue determinar la relación entre densidad aparente normal y la anatomía del xilema de ramas terminales y de tronco de cuatro especies de *Eucalyptus* L'Hér. (Myrtaceae) de importancia comercial, considerando a la anatomía como principal determinante de la funcionalidad de la madera. Se trabajó con material proveniente de ramas (n=30) y fuste (n=82) de ejemplares adultos de: *E. grandis*, *E. camaldulensis*, *E. viminalis* y *E. globulus*. Se determinaron la densidad de la madera y los caracteres anatómicos cuantitativos de vasos, fibras y proporción de tejidos (fibras, traqueidas vasicéntricas, vasos, radios y parénquima) en cortes histológicos y macerados en ambos tipos de órganos (ramas y tronco). La densidad difirió a nivel de fuste pero fue similar en las ramas al comparar las distintas especies. Según las relaciones halladas entre densidad y anatomía, mediante correlaciones y análisis de componentes principales, las tendencias no siempre siguieron patrones similares entre ramas y troncos. La densidad de la madera no resultó buen predictor de las distintas variables anatómicas individuales dentro de cada órgano. En el caso de las ramas, la densidad se reveló como una variable integradora de la fracción de lúmenes más que de las variables individuales de vasos (diámetro o número) o las asociadas a la fracción de pared (biometría de fibras y área ocupada). En cambio, en fuste, la densidad integró tanto la fracción de lúmenes (vasos), como la morfometría de fibras y porcentajes de tejidos. Es posible entonces hallar especies/genotipos de densidad similar dentro de este género pero con diferente composición/estructura anatómica.

Palabras clave: morfometría celular, densidad de la madera, porcentaje de tejidos, vasos, fibras.

Monteoliva, Silvia; Antonio José Barotto; Pamela Alarcón; Natalia Tesón; María Elena Fernández (2017) Wood density as an integrating variable of wood anatomy: analysis of branches and stem in four species of *Eucalyptus*. Rev. Fac. Agron. Vol 116 (1): 1-11.

The aim of this study was to determine the relationship between wood density and xylem anatomy of branches and stem of four commercial *Eucalyptus* L'Hér. (Myrtaceae) species, considering anatomy as the main determinant of xylem functionality. We worked with samples from branches (n = 30) and stem (n = 82) of four species of adult's trees: *E. grandis*, *E. camaldulensis*, *E. viminalis* and *E. globulus*. The wood density and quantitative anatomical features of vessels, fibers and proportion of tissue (fibers, vasicentric tracheids, vessels, rays and parenchyma) in histological sections and macerated were determined in both organ types (stem and branches). The wood density of stem was different among species but it was similar in the branches. According to the relationships found between density and anatomy, using correlations and principal component analysis, trends not always followed similar patterns among branches and stem. The wood density was not a good predictor of the several individual anatomical variables within each organ considered. In the case of branches, the density was revealed as an integrating variable of fraction lumens more than the individual variables of vessels (diameter or number) or the associated wall fractions (biometrics of fibers and occupied area). In contrast, in stem, density integrated fraction lumens (vessels), including morphometry of fibers and tissue percentages. Then, it is possible to find species / genotypes of similar density in this genus but with different composition / anatomical structure.

Key words: cell morphometry, wood density, percentage of tissues, vessels, fibers.

Recibido: 04/02/2016

Aceptado: 09/03/2017

Disponible on line: 31/07/2017

ISSN 0041-8676 - ISSN (on line) 1669-9513, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP, Argentina

INTRODUCCIÓN

La densidad de la madera juega un rol fundamental en la estrategia ecológica de las plantas (Chave et al., 2009). En primer lugar, la densidad está relacionada con la estrategia hidráulica, ya que a mayor densidad, mayores son las tensiones que puede tolerar el xilema (i.e. menores potenciales hídricos), lo que se asocia indirectamente con una mayor resistencia a la cavitación (Hacke et al., 2001; Jacobsen et al., 2007). En segundo lugar la densidad está asociada a la estrategia mecánica de las plantas, las especies con maderas más densas son más resistentes a quebrarse para un mismo diámetro de fuste (Chave et al., 2009). En tercer lugar, maderas más densas y con mayor cantidad de extractivos pueden ser más resistentes al ataque de patógenos (Chave et al., 2009).

La madera de las especies angiospermas es un tejido complejo formado esencialmente por tres componentes celulares: los vasos con función de conducción de agua, las fibras, de sostén, y el parénquima, de reserva y transporte de nutrientes. Estos tipos celulares se diferencian en estructura y proporción relativa dentro del xilema de las distintas especies y afectan, de esta manera, a la densidad (Zieminska et al., 2013). La bibliografía muestra que en general la fracción de vasos no se correlaciona con la densidad de la madera o lo hace negativamente (Martínez Cabrera et al., 2009; Zanne et al., 2010; Poorter et al., 2010; Zheng et al., 2013; Zieminska et al., 2013), mientras que las características de las fibras, principalmente la fracción de pared de fibras en el conjunto del tejido, se correlaciona muy bien con la densidad en múltiples especies (Fujiwara et al., 1991; Thomas et al., 2007; Drew et al., 2009; Zheng et al., 2013; Zieminska et al., 2013). Sin embargo, no se ha estudiado exhaustivamente la relación de la densidad con algunos componentes celulares del xilema, como traqueidas vasicéntricas, y sus interacciones con otros componentes como radios y parénquima axial, en particular en el género *Eucalyptus* L'Hér. (Myrtaceae) de amplia distribución comercial en el mundo.

Por otro lado, frente al desafío del cambio climático global, que afecta particularmente a los ecosistemas boscosos y a las especies forestales cultivadas en todo el mundo (Allen et al., 2010), los programas actuales de mejoramiento genético forestal requieren el desarrollo de criterios de selección basados en caracteres adaptativos relacionados con la resistencia al estrés ambiental (Booth, 2013; Lachenbruch & McCulloh, 2014). En este sentido, existen técnicas modernas que permiten el fenotipaje a gran escala, como determinaciones de anatomía o microdensidad de la madera con rayos X (Brodersen, 2013; Novak et al., 2013) o espectroscopía de infrarrojo cercano (NIR) (Fernandes et al., 2013), tradicionalmente aplicadas a la selección tomando en cuenta la calidad de la madera en términos físico-mecánicos y químicos (Brotel et al., 2010). Sin embargo, dado que la densidad puede estar –directa o indirectamente– implicada en la resistencia al déficit hídrico vía sus relaciones con la conductividad hidráulica máxima, la capacitancia (Meinzer et al., 2003) y la vulnerabilidad a la cavitación (Hacke et al., 2001; Jacobsen et al., 2007), es potencialmente posible utilizar estas herramientas para la selección genética

tomando como criterio la resistencia a estrés hídrico. Estas técnicas tienen además la ventaja de poder analizar la madera de manera retrospectiva, analizando los anillos de crecimiento en el fuste y pudiendo relacionar las respuestas anatómico-funcionales con el clima pasado. Sin embargo, requieren que se conozcan fehacientemente las relaciones entre anatomía-densidad en el órgano considerado de la planta, y las relaciones entre órganos debido a que para las determinaciones de microdensidad suelen muestrearse fustes, mientras que son las ramas terminales los órganos que, por limitaciones metodológicas, se muestrean para las determinaciones hidráulicas mencionadas, particularmente en especies con vasos largos como los *Eucalyptus*. En este sentido, hasta nuestro conocimiento, no existen antecedentes que reporten las relaciones densidad-anatomía en ambos tipos de órganos de una misma especie, para un rango de edad y condiciones ambientales generales similares.

De acuerdo a estos antecedentes, el objetivo del presente trabajo fue determinar la relación entre densidad aparente normal y la anatomía del xilema de ramas terminales y de tronco de cuatro especies de *Eucalyptus* de importancia comercial, considerando a la anatomía como principal determinante de la funcionalidad de la madera.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material utilizado

Ramas

Se trabajó con material proveniente de 30 ejemplares adultos de cuatro especies de *Eucalyptus*: *E. grandis* W. Hill (n=12), *E. camaldulensis* Dehnh. (n=6), *E. viminalis* Labill. (n=6) y *E. globulus* Labill. (n=6). Se muestrearon para la primera especie 12 individuos pertenecientes a cuatro clones (3 individuos por clon) instalados en Concordia, Pcia. de Entre Ríos, Argentina (31°22'S, 58°07' O, 43 m snm), pertenecientes a la red de ensayos genéticos de INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria de Argentina). Para las otras tres especies se seleccionaron árboles, de implantación no comercial, en un mismo sitio y condiciones de crecimiento (Tandil, Pcia. de Buenos Aires, Argentina, 37°20'36''S; 59°08'04''O). Se colectaron ramitas terminales (en adelante lo llamaremos ramas) de la porción basal de la copa de los diferentes individuos, procurando que las mismas tuvieran dimensiones similares (4-10 mm de diámetro con corteza).

Tronco principal

Para el análisis de la relación densidad-anatomía en fustes, se muestrearon en total 82 individuos adultos de tres de las cuatro especies anteriormente mencionadas: *E. globulus* (n=16, 11-15 años), *E. viminalis* (n=30) y *E. grandis* (n=36), ambos de 14 años de edad. En *E. grandis* y *E. viminalis* se tomaron muestras de barreno completas (médula a corteza) a la altura de pecho (1,3 m), una por ejemplar sobre el radio en dirección N-S. En *E. globulus* se tomaron muestras destructivas (rodajas), también a la altura de pecho. En el caso de *E. grandis*, se analizaron muestras de los mismos árboles muestreados para las ramas. En el

caso de las otras especies, los datos de ramas y fustes no pertenecen a los mismos individuos, por lo que no se realizan correlaciones entre órganos a nivel de individuo. Los datos de *E. viminalis* pertenecen a individuos que también forman parte de la red de ensayos genéticos de INTA, instalados en las localidades de Guaminí (35° 52'S; 60°43'O; 297 msnm) y Del Valle (37° 6'S; 62°26'O; 297 msnm), Pcia. de Buenos Aires, Argentina. El material correspondiente a *E. globulus* proviene de individuos creciendo en plantaciones comerciales con dos fuentes de semillas – local y Valdivia- instalados en la localidad de Necochea (Pcia. de Buenos Aires, 38° 57'S; 58° 57'O; 17 m snm). Cada una de las especies fue muestreada en los ambientes normales donde se las cultiva en la Argentina.

Procesamiento de las muestras para el análisis histológico

Las ramas y submuestras del tronco principal fueron hervidas en agua por 2-4 horas para ablandarlas a fin de obtener los cortes histológicos para las mediciones anatómicas. Se obtuvieron preparados de la totalidad de la sección transversal en las ramas y de aproximadamente el último anillo de crecimiento en los troncos, de 20-25 μm de espesor utilizando un micrótopo de deslizamiento. A los cortes histológicos obtenidos no se les aplicó tinción y fueron montados en forma transitoria en agua.

Por otro lado, se realizaron macerados en una porción de 1 cm de largo de cada muestra, con una mezcla en partes iguales de ácido acético y agua oxigenada (Franklin, 1945) para el conteo de fibras, traqueidas vasicéntricas (en adelante traqueidas) y parénquima axial.

Las imágenes de la sección transversal y de macerados fueron capturadas con una cámara digital (Infinity1-2CB, Lumenera Corporation, Canadá) montada a un microscopio óptico de investigación (CX31, Olympus, Japón) usando el objetivo de 4X (20-25 imágenes para tomar el total del segmento muestreado) y de 20X (20 imágenes para tomar dos radios completos de médula a corteza por muestra). Las imágenes luego fueron procesadas a través de un software específico para el análisis de imágenes (ImagePro Plus 6.0, Media Cybernetics, Carlsbad, CA, USA).

El diámetro y número de vasos por mm^2 se midieron en forma automática en la totalidad de los vasos de las imágenes de 20X de los cortes transversales (20 imágenes por muestra) como el conteo de píxeles claros definidos en un rango de 15-90 μm de diámetro medio en ramas y 50-170 μm de diámetro medio en tronco (count/size, automatic bright objects, ImagePro Plus 6.0, Media Cybernetics, USA).

El tamaño de las fibras se midió sobre las imágenes 20x de los cortes transversales. Se midieron 60 fibras por muestra en forma manual, como la longitud del doble espesor de pared (de lumen a lumen celular) y luego se dividió por 2 el valor obtenido. El diámetro del lumen se midió sobre 60 fibras como dos medidas de longitud ortogonales de pared interna a pared interna de la fibra. El ancho de las fibras se calculó como la suma del diámetro del lumen más dos veces el espesor de pared.

La proporción de tejidos se determinó midiendo el área de cada tipo de tejido sobre imágenes tomadas en 20x (15 imágenes por muestra). Se calculó el porcentaje de vasos, de fibras y de radios en relación al área total. El porcentaje de fibras (en área) se calculó restando al área total de la foto, el área de vasos y radios medidos. La proporción (% de la cantidad de células totales) de fibras, traqueidas vasicéntricas y de parénquima axial se determinó en los macerados debido a que no es posible su distinción en los cortes transversales vistos con microscopía óptica en estas especies. La identificación de cada tipo celular en el macerado se realizó por el tipo y cantidad de puntuaciones de las paredes. La cuantificación se realizó siguiendo la norma TAPPI 401 om-93 (1993) contando la cantidad de los tipos celulares (fibras, traqueidas y parénquima axial) presente en un extendido de macerado referido a la cantidad total de células contadas ($n \geq 1000$) sobre imágenes tomadas en 20x (15 imágenes por muestra).

La densidad aparente normal de la madera se determinó en las ramas secas al aire (con un contenido de humedad del 15%) sin corteza sobre una porción de 15 cm de longitud (una por individuo), como masa/volumen. Asimismo, la densidad de las muestras de fuste se estimaron en muestras sin corteza (muestras de barreno o rodajas según la especie y una por individuo) secadas al aire. El volumen en ambos casos se determinó por desplazamiento de fluidos.

Análisis estadísticos

Los análisis se realizaron separadamente en ramas y tronco debido a que, en general, pertenecen a diferentes individuos. Para determinar la diferencia entre las especies dentro de cada órgano (rama o tronco) se realizó un ANOVA Kruskal-Wallis (Análisis no paramétricos, Statistica v7, Statsoft, Tulsa, USA) debido a que los datos no cumplieron con los supuestos de normalidad y homogeneidad de las varianzas que exige el ANOVA. Las diferencias se testearon con la prueba de comparación múltiple de medianas.

La relación entre la densidad de la madera y las variables anatómicas de a pares se realizó mediante correlaciones de Spearman Rank ($p \leq 0,05$, análisis no paramétrico) para el conjunto de datos de las especies en forma separada para ramas ($n=30$) y fuste ($n=82$). Se realizó un Análisis de Componentes Principales en forma separada en ramas y fuste, para establecer relaciones entre densidad y las variables anatómicas en conjunto. Se seleccionó la extracción en 3 ejes dependiendo de la variación explicada en conjunto, poniendo como mínimo un límite de 70%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La densidad de la madera difirió o no entre las especies dependiendo del órgano analizado (Figura1). En ramas terminales de árboles adultos, no se observaron diferencias entre las especies ($p \geq 0,05$) hallándose valores entre 0,776 g/cm^3 y 0,742 g/cm^3 . En cambio, en tronco principal las especies presentaron diferencias significativas en la densidad. La densidad aparente normal de *E. viminalis* fue significativamente superior (0,668 g/cm^3) a *E. globulus* (0,553 g/cm^3) y a *E. grandis* (0,517 g/cm^3).

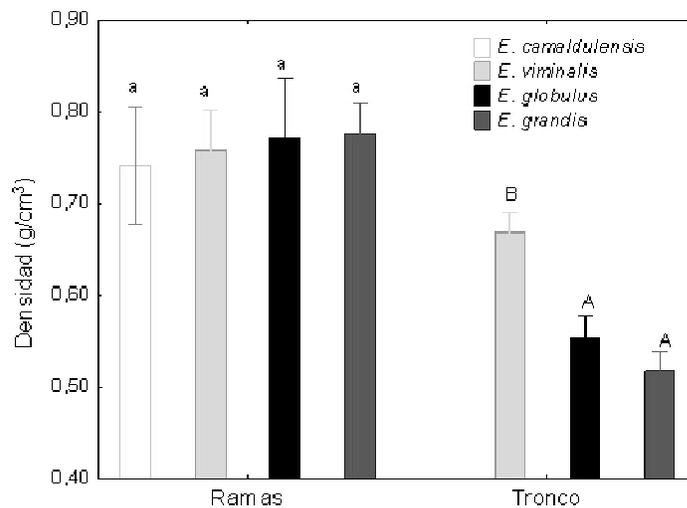


Figura 1. Densidad de la madera en ramas y tronco de *E. grandis*, *E. viminalis*, *E. globulus* y *E. camaldulensis* (sólo ramas para esta especie). Las letras distintas indican diferencias significativas comparando las especies dentro de cada órgano ($p < 0,05$).

Esta diferencia de densidad en los fustes de las distintas especies está de acuerdo con valores normales promedios reportados para las mismas, aunque no puede descartarse un efecto adicional debido a respuestas plásticas diferenciales debido a que fueron muestreadas en distintas localidades geográficas (interacción genotipo x ambiente). La densidad de madera es un carácter que puede mostrar distinto grado de plasticidad fenotípica en respuesta al ambiente en función de los genotipos u especies (e.g. Martínez Meier et al, 2008 mostrando variación en densidad de madera entre individuos y en respuesta al ambiente en *Pseudotsuga menziesii*; Corcuera et al, 2011, reportando que la densidad de madera difirió entre genotipos pero no presentó plasticidad con respecto al sitio en *Pinus pinaster*). En el caso particular de *Eucalyptus*, se ha reportado que existe variación significativa, pero muy baja, de la densidad de madera en función del nivel de estrés hídrico en *E. grandis*, pero no en otras especies del mismo género, *E. sideroxylon* y *E. occidentalis*, ensayadas bajo las mismas condiciones y una vez removido el efecto de los cambios en la concentración de extractivos (Searson et al, 2004). La densidad de la madera aumenta plásticamente con la temperatura media de crecimiento en *E. camaldulensis* (Thomas et al, 2004), y en el caso de *E. viminalis*, estudios preliminares de similares progenies creciendo en dos sitios distintos sugieren que la densidad de la madera aumenta significativamente en sitios con mayor estrés (Alarcón et al., 2016). Por lo tanto, es esperable que en las especies estudiadas exista un cierto componente de las condiciones ambientales del sitio de muestreo en los valores medios de la densidad de la madera. Sin embargo, la diferenciación interespecífica no se verificó en la densidad de las ramas, a pesar de que hubo la misma diferenciación ambiental que para el estudio de los fustes. Esto sugiere que las tendencias en densidad no necesariamente son similares entre órganos.

Asimismo, un factor que podría estar incidiendo estos resultados dispares según el órgano, es la diferencia de edad de los órganos muestreados. En este sentido, la densidad en los fustes se realizó sobre madera formada durante 11-15 años de desarrollo, mientras que en las ramas terminales el xilema analizado tiene 1 ó 2 años. Más allá de esto, para remover el efecto del sitio, no es posible analizar madera de árboles adultos creciendo en la misma localidad geográfica para las 4 especies estudiadas ya que no existe ningún ensayo o plantación comercial que sitúe estas cuatro especies en un "jardín común" debido a los distintos requerimientos de sitio de las mismas.

La densidad de las ramas fue más alta que la del fuste en las tres especies en las que se cuenta con datos para ambos tipos de órganos (*E. viminalis*, *E. globulus* y *E. grandis*).

A pesar de las diferencias halladas en densidad, la composición porcentual de los distintos tipos de células prácticamente no varió entre las especies al considerar el fuste, existiendo sólo un menor porcentaje de radios en *E. grandis* que en las otras dos especies (Fig. 2). Por el contrario, en las ramas hubo mayor variación en porcentaje de vasos, parénquima axial y radios entre especies, aunque con similar composición porcentual de fibras y traqueidas en todas ellas (Figura 2).

Considerando la magnitud de la diferenciación en ramas, a nivel de vasos, radios y parénquima axial, fue del orden de 1,4 a 1,5 veces diferente entre los valores extremos. *E. viminalis* presentó alto porcentaje de vasos, similar al de *E. camaldulensis* y *E. grandis*, pero con el menor porcentaje de radios y parénquima axial. Las ramas de *E. grandis* presentaron alto porcentaje de vasos, radios y parénquima axial, éstos últimos similares a los valores de *E. globulus*, que presentó el menor porcentaje de vasos. *E. camaldulensis* presentó cantidades relativas de radios y parénquima intermedias entre las otras especies y alto porcentaje de vasos. Como se mencionó, la cantidad relativa de fibras y de traqueidas vasicéntricas no se diferenció

entre las especies y constituyeron el 65-70% de la composición total del tejido.

En tronco, todas las especies presentaron una alta y similar proporción de fibras (73 a 80% del tejido), mayor a la de las ramas. Las diferencias en este órgano se hallaron solamente en los radios (variación máxima 2 veces).

Las variables anatómicas restantes se expresan en las tablas 1 y 2 discriminadas según el órgano y la especie. Se indica también la variación hallada entre los valores extremos cuando hay diferencias significativas entre especies. Tabla 1.

Las diferencias porcentuales en el tejido de las ramas pueden explicarse por las diferencias en el número de vasos por unidad de superficie, que fue el carácter que presentó mayor variación (2,3) al comparar especies, seguido del diámetro de los mismos (1,6). La morfometría de las fibras presentó una variación de 1,3 (tabla 1). Estas diferencias en la morfometría de vasos y fibras no se reflejaron, sin embargo, en la densidad aparente normal que no varió entre especies (Figura 1, tabla 1), lo que *a priori* sugiere que ésta última no sirve como carácter que se correlacione con cada una de las variables anteriormente mencionadas. Esto no excluye que sí pueda ser una variable integradora de determinadas combinaciones de atributos (ver más adelante el análisis de ACP).

En tronco principal, el número de vasos por unidad de superficie fue también el carácter que presentó mayor variación (1,8) entre especies, seguido del ancho de las

fibras (1,6). Mientras que el diámetro de vasos y el espesor de pared de fibras variaron 1,4 veces (tabla 2). Contrariamente a las ramas, la densidad aparente normal se diferenció entre las especies y presentó una variación máxima de 1,3 (Figura 1, tabla 2).

E. grandis presentó los mayores valores de espesor y ancho de fibras en ramas y fuste (tabla 1 y 2, Figura 3 y 4), lo que implica una menor cantidad de fibras por unidad de superficie en comparación con las otras especies estudiadas. Presentó también una gran cantidad de vasos en ambos tipos de órganos (Tabla 1 y 2, Figura 3 y 4), aunque se destaca que a nivel de ramas, fue la especie con menor diámetro de vasos (Tabla 1), mientras que ocurrió lo contrario a nivel de fuste (Tabla 2). Esto sugiere una diferente estrategia hidráulica en ramas vs fuste en esta especie, que se condice con el hecho de que la densidad de sus ramas no se diferencia de la de las otras especies, mientras que la densidad del fuste sí es menor (al menos que *E. viminalis*). Así, el área ocupada por vasos, por unidad de superficie, que resulta del producto entre el área individual y la cantidad de vasos por milímetro cuadrado, fue similar entre especies a nivel de ramas (0,12, 0,14, 0,11 y 0,11 para *E. viminalis*, *E. camaldulensis*, *E. globulus* y *E. grandis*, respectivamente), mientras que fue aproximadamente el doble en *E. grandis* que en *E. viminalis* y *E. globulus* a nivel de fuste (0,15, 0,06 y 0,07, respectivamente). Asimismo, el área ocupada por vasos fue más similar entre ramas y fuste en *E. grandis* que en las otras especies, en las que fue mayor en ramas que en fuste.

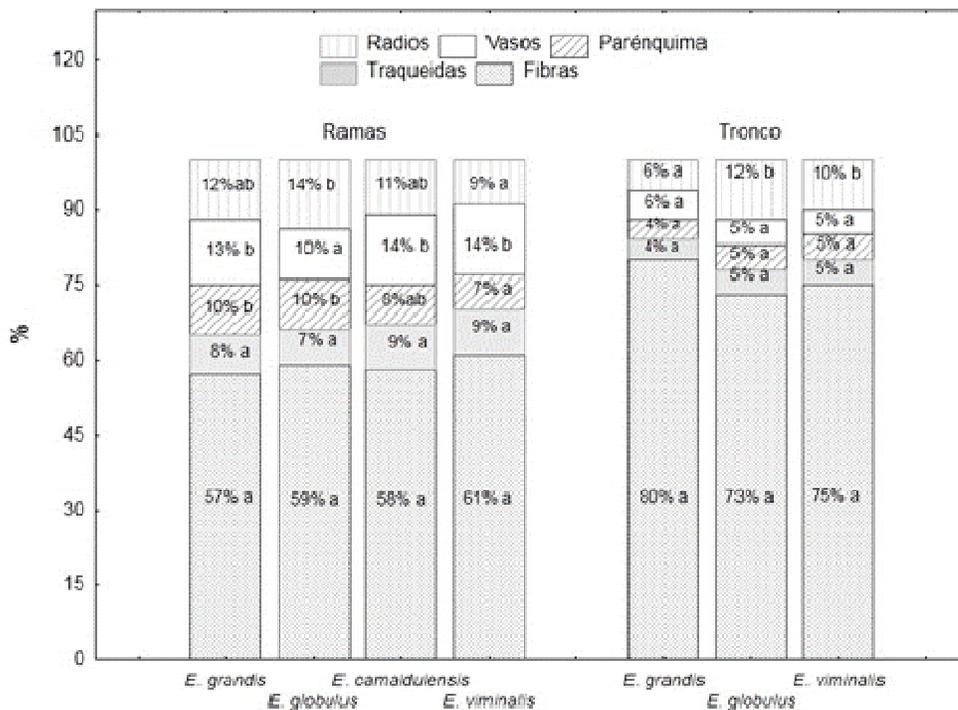


Figura 2. Composición porcentual de los tejidos en ramas y tronco de *E. grandis*, *E. viminalis*, *E. globulus* y *E. camaldulensis* (sólo ramas para esta especie). Letras distintas indican diferencias significativas comparando las especies dentro de cada órgano.

Tabla 1. Valores medios (\pm desvío estándar) de las variables anatómicas y densidad de ramas para cuatro especies del género *Eucalyptus*. Prueba de comparación múltiple de medianas entre especies (letras minúsculas distintas denotan diferencias significativas entre especies para una variable dada). *Variación máxima: cantidad de veces que se diferencian el valor mayor y el menor, calculado como el valor mayor sobre el valor menor.

	<i>E. viminalis</i>	<i>E. camaldulensis</i>	<i>E. globulus</i>	<i>E. grandis</i>	Variación máxima*
Densidad (g/cm ³)	0,756 a \pm 0,054	0,742 a \pm 0,061	0,771 a \pm 0,068	0,776 a \pm 0,049	1,0
Diámetro de vasos (μ m)	49,68 b \pm 3,39	45,47 b \pm 4,91	34,33 ab \pm 6,52	31,82 a \pm 3,95	1,6
Número de vasos (n°/mm ²)	62 a \pm 8	87ab \pm 21	119bc \pm 36	142 c \pm 25	2,3
Espesor pared fibras (μ m)	2,07 ab \pm 0,10	1,93 a \pm 0,23	1,83 a \pm 0,17	2,29 b \pm 0,22	1,3
Ancho de fibras(μ m)	8,26 a \pm 0,62	9,02ab \pm 0,51	8,56 a \pm 0,64	10,34 b \pm 0,36	1,3

Tabla 2. Valores medios (\pm desvío estándar) de las variables anatómicas y densidad de tronco principal para las 3 especies. Prueba de comparación múltiple de medianas entre especies (letras minúsculas). *Variación máxima: cantidad de veces que se diferencian el valor mayor y el menor, calculado como el valor mayor sobre el valor menor.

	<i>E.viminalis</i>	<i>E. globulus</i>	<i>E.grandis</i>	Variación máxima*
Densidad (g/cm ³)	0,668b \pm 0,053	0,553a \pm 0,045	0,517 a \pm 0,061	1,3
Diámetro de vasos (μ m)	100,3 b \pm 13,73	84,08 a \pm 17,21	115,46c \pm 19,72	1,4
Número de vasos (n°/mm ²)	8 a \pm 2	12ab \pm 4	14 b \pm 8	1,8
Espesor pared fibras (μ m)	2,23 a \pm 0,28	2,29 a \pm 0,49	3,21 b \pm 0,38	1,4
Ancho de fibras (μ m)	12,6 a \pm 0,68	13,94b \pm 0,80	19,73 c \pm 2,38	1,6

Relación densidad-anatomía

Correlaciones

Considerando sólo las ramas, y tomando el conjunto de datos de las cuatro especies estudiadas (N=30), la densidad de la madera se encuentra asociada solamente con el diámetro y número de vasos (Figura 5 panel inferior). No se halló ninguna otra correlación significativa entre densidad y las otras variables anatómicas individuales en este órgano tomadas de a pares. Si bien el tamaño muestral es bajo para realizar análisis intraespecíficos, pareciera que dentro de las especies las tendencias se desdibujan aún más que considerando el conjunto de las mismas (Figura 5).

A nivel de fuste, las correlaciones de a pares halladas para las especies en conjunto (N=82), demostraron que la densidad se correlaciona significativamente con varias variables anatómicas. El espesor de la pared y el ancho de las fibras, así como el diámetro y número de vasos se correlacionaron negativamente con la

densidad en el tronco (Figura 5). El ancho de las fibras puede considerarse una medida indirecta de la cantidad de fibras por área, de ahí su relación negativa con la densidad. Dentro del porcentaje de tejidos se halló sólo una correlación significativa con los radios ($r=0,49$).

Las correlaciones entre densidad y anatomía halladas en la bibliografía para una amplia variedad de angiospermas indican que de acuerdo al subconjunto de especies analizadas los resultados pueden cambiar. Así encontramos correlaciones dispares con diámetro y número de vasos que pueden ser positivas (Jacobsen et al., 2005), negativas (Preston et al., 2006) o no significativas (Jacobsen et al., 2007, Poorter et al., 2010, Zieminska et al., 2013). En este estudio, las relaciones entre densidad de madera fueron negativas con el diámetro de vasos, tanto en ramas como en fuste, siguiendo un patrón común entre ambos tipos de órgano, lo que mejoró la correlación entre estas variables al considerar el conjunto de todos los datos

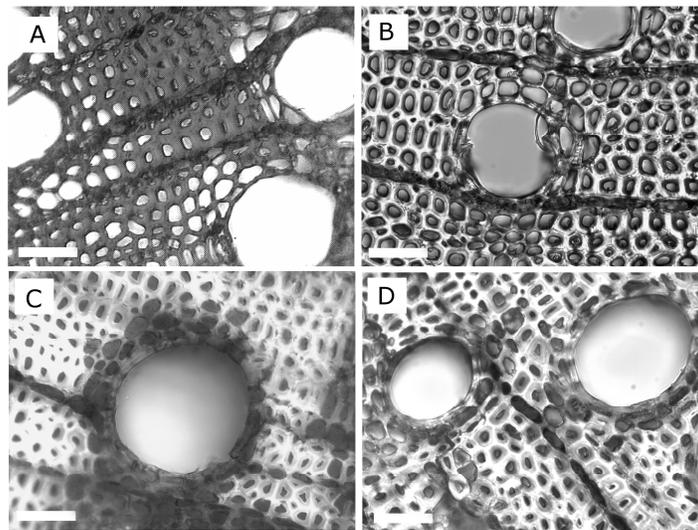


Figura 3. Cortes transversales de ramas. A: *E. grandis*, B: *E. globulus*, C: *E. viminalis*, D: *E. camaldulensis*. Barra: 25 μ m.

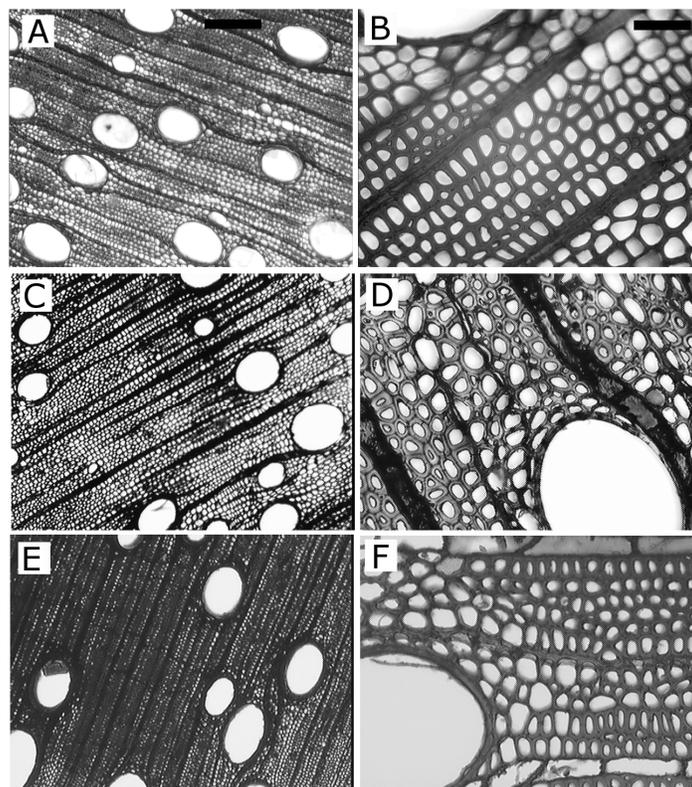


Figura 4. Cortes transversales de tronco. A y B: *E. grandis*, C y D: *E. globulus*, E y F: *E. viminalis*. Barras: 200 μ m (A, C y E) y 50 μ m (B, D y F).

(Figura 5). Con el número de vasos (por unidad de área) se halló, sin embargo, una correlación positiva con la densidad en ramas, y una negativa en fuste. Ocurre una situación similar con la morfometría de las fibras: en la bibliografía se describen relaciones positivas entre la densidad y el espesor de pared de fibras (Thomas et al., 2007), negativas tanto con espesor como con ancho y lumen de fibras (Fujiwara et al., 1991, Drew et al., 2009, Thomas et al., 2007, Jacobsen et al., 2007) o no significativas con espesor de pared (Jacobsen et al., 2007), dependiendo de las especies consideradas. La relación más ampliamente establecida como significativa y positiva es la de densidad versus área de pared (Fujiwara et al., 1991, Jacobsen et al., 2007, Zheng et al., 2013, Zieminska et al., 2013), medida que lamentablemente no estuvo disponible en nuestro trabajo. En el presente estudio, se hallaron claras relaciones negativas entre la densidad de madera y el ancho de pared y espesor total de las fibras a nivel de fuste (Figura 5), relaciones que desaparecieron considerando las ramas. Esto pone de manifiesto que las relaciones entre densidad y morfometría de fibras, ampliamente descritas para

diversas especies, deben ser consideradas válidas para el órgano exclusivo donde se han medido (generalmente, fuste), existiendo una importante variación entre órganos para estas relaciones. Considerando las relaciones entre proporciones de células y densidad, la proporción de vasos y su influencia en la densidad de la madera ha sido estudiada de diversas formas, como un porcentaje del total del tejido en corte transversal o como una fracción de lúmenes, y las relaciones con la densidad han sido negativas (Thomas et al., 2006, 2007, Jacobsen et al., 2007, Searson et al., 2004) o no significativas (Poorter et al., 2010, Zanne et al., 2010, Martínez Cabrera et al., 2011, Zheng et al., 2013). La proporción de tejidos fuera de los vasos no ha sido tan estudiada y se hallaron relaciones positivas con el porcentaje de radios (Fujiwara et al., 1991, Zheng et al., 2013) y negativas con parénquima axial (Jacobsen et al., 2007, Zheng et al., 2013). El porcentaje de fibras fue inconsistente con la densidad hallándose relaciones positivas (Fujiwara et al., 1991) o no significativas (Poorter et al., 2010, Zheng et al., 2013). No se halló ninguna relación entre densidad y porcentaje de traqueidas vasicéntricas.

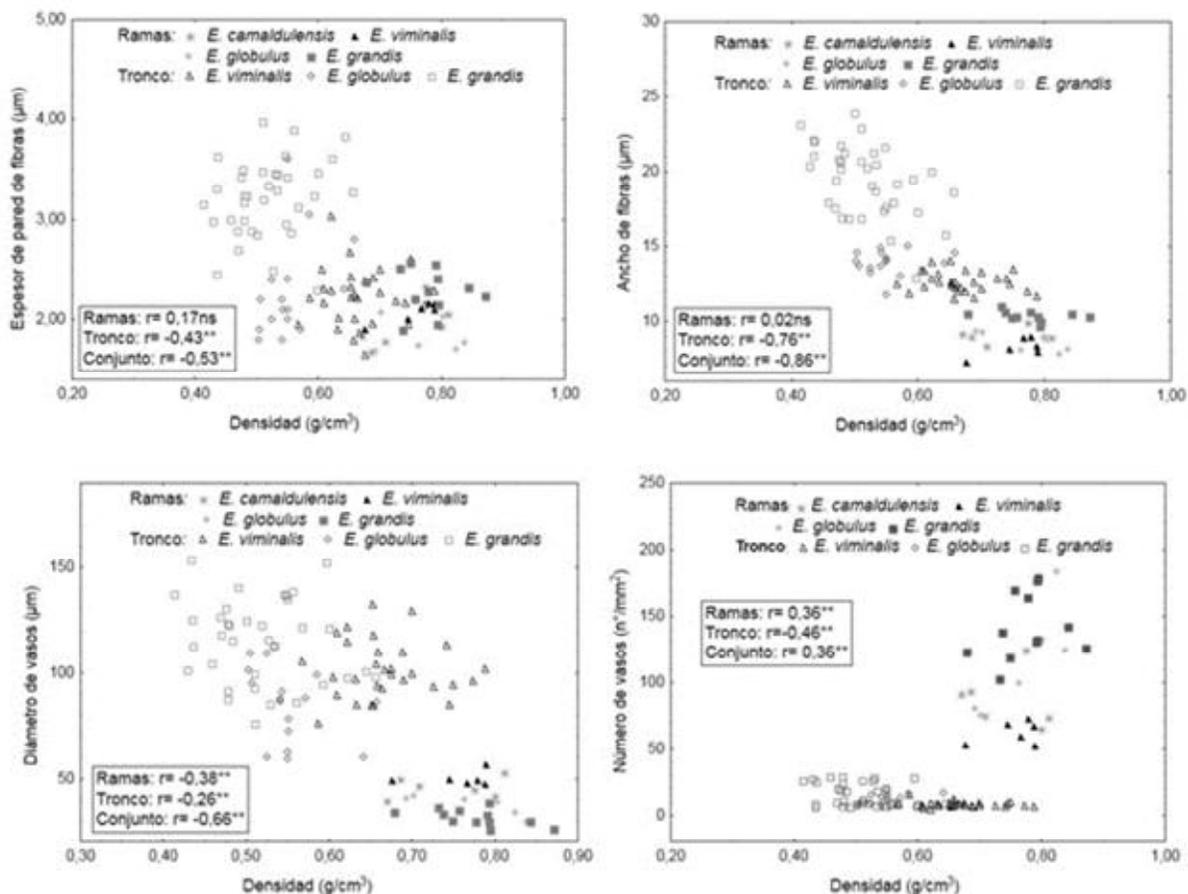


Figura 5. Correlaciones entre densidad de la madera y espesor de pared de fibras, ancho de fibras, diámetro y número de vasos según especie y órgano. Coeficiente de correlación ($p \leq 0,05$ cuando es significativo) discriminado por órgano y en conjunto.

Se realizó un ACP en forma separada en ramas y fuste, para establecer relaciones entre densidad y las variables anatómicas en conjunto. El número de variables consideradas en el análisis fue de 11.

Ramas: el diámetro de vasos (DV) y la morfometría de fibras (AF y luF) junto con el número de vasos (NV) y el porcentaje de fibras (F%) se asociaron inversamente en el factor 1 explicando el 42% de la variación, la densidad se asoció positivamente al espesor de pared (EP) e inversamente al porcentaje de vasos (V%) y traqueidas (TV%) en el factor 2 (16%), mientras que en el factor 3 se asociaron el parénquima axial (Pq%), los radios (R%) y el espesor de pared de fibras (EP) (13%)

Tronco: la densidad de la madera en este caso se relacionó con los dos primeros ejes, aunque sus valores de correlación fueron levemente superiores con el factor 1 (47% de la variación). Sobre este eje se situaron las variables de morfometría de fibras (EP, AF y luF) y los porcentajes de fibras y radios (F% y R%), todas en sentido negativo con respecto a la densidad, excepto R%. Sobre el eje 2 (17%) se asociaron los otros tejidos como parénquima axial y traqueidas (Pq% y TV%), situándose en forma inversa a la densidad, mientras que en el eje 3 (12%) se presentaron en forma inversa las variables individuales de morfometría de vasos (DV y NV) (Figura 7).

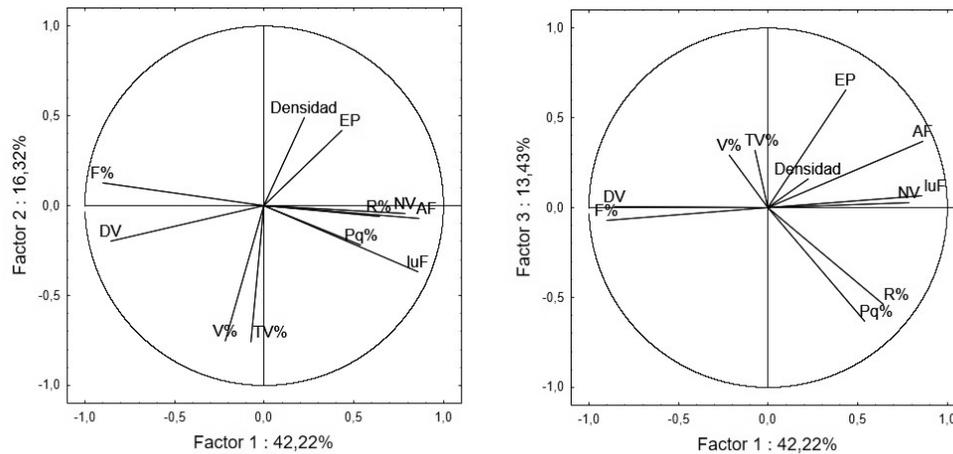


Figura 6. Distribución de las variables medidas en ramas según tres factores en el ACP. F%: porcentaje de fibras, TV%: porcentaje de traqueidas vasicéntricas, Pq%: porcentaje de parénquima axial, V%: porcentaje de vasos, R%: porcentaje de radios, DV: diámetro de vasos, NV: número de vasos por mm², EP: espesor de pared de fibras, AF: ancho de fibras, luF: diámetro del lumen de fibras

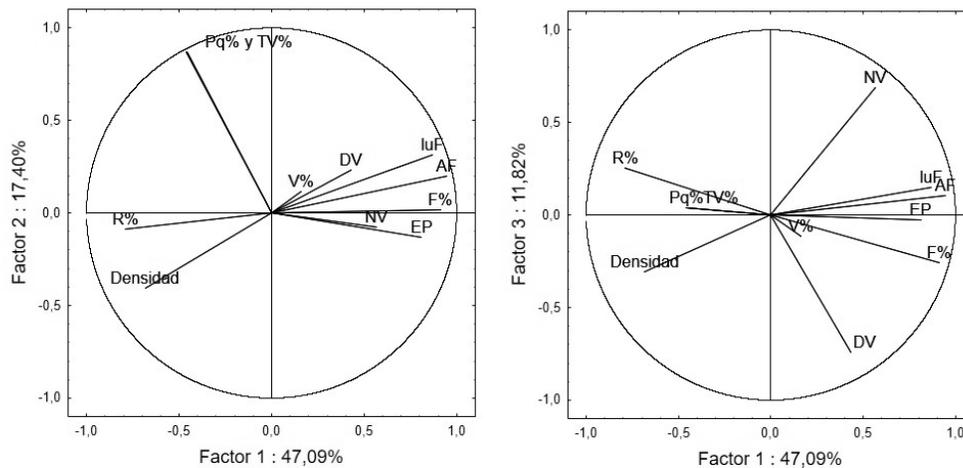


Figura 7. Distribución de las variables medidas en fuste según dos factores en el ACP. F%: porcentaje de fibras, TV%: porcentaje de traqueidas vasicéntricas, Pq%: porcentaje de parénquima axial, V%: porcentaje de vasos, R%: porcentaje de radios, DV: diámetro de vasos, NV: número de vasos por mm², EP: espesor de pared de fibras, AF: ancho de fibras, luF: diámetro del lumen de fibras.

Este tipo de análisis, que toma el conjunto de las variables, muestra que la densidad puede ser una variable integradora de determinadas combinaciones de atributos. Así tenemos que, en las ramas, la densidad está asociada a la cantidad de pared medida a través del espesor de pared (EP) y del porcentaje de lúmenes (%V), mientras que el tamaño individual de las variables de morfometría de fibras y vasos (AF, luF, DV, FV) no reflejan por sí solas la medida de densidad.

Por el contrario, en tronco, las medidas individuales de morfometría de fibras sí se reflejan en la densidad. La asociación negativa entre AF y densidad indica que con fibras más anchas la cantidad de fibras por unidad de superficie es menor y por lo tanto la densidad baja (igual resultado fue hallado en las correlaciones de a pares, Figura5). Los tejidos con menor aporte de pared como el parénquima (Pq%), las traqueidas (TV%) y los vasos (V%) se asocian negativamente con la densidad.

CONCLUSIONES

La densidad de la madera difirió a nivel de fuste pero fue similar en las ramas al comparar las distintas especies, siendo a su vez, superior en las ramas con respecto al tronco principal en todas las especies.

En general, la cantidad de fibras por área (medida indirectamente por el ancho de las fibras) junto a los vasos fueron las variables que se presentaron relacionadas negativamente a la densidad, fundamentalmente en el tronco. Sin embargo, las correlaciones fueron significativas gracias a la variación *entre* especies que marcó tendencias generales, perdiéndose *dentro* de las mismas. Estos estudios deberían complementarse aumentando el tamaño muestral de ramas y unificando el muestreo sobre el mismo individuo (ramas y tronco). De todas maneras, es interesante que de las pocas relaciones encontradas, las tendencias no siempre siguieron patrones similares entre ramas y troncos, aunque la consideración de ambos tipos de órganos en conjunto, que amplía los rangos de variación que toman las variables, en general, mejora las correlaciones.

En base a estos resultados podemos concluir que la densidad de la madera no es buen predictor de distintas variables anatómicas *individuales* dentro de cada órgano considerado, si bien hay patrones generales emergentes del conjunto de los datos que permiten ciertas inferencias a nivel de género. En el caso de las ramas, la densidad se revela como una variable integradora de la fracción de lúmenes (V%) más que con las variables individuales de vasos (DV y NV) o las asociadas a la fracción de pared (AF, luF y F%). En cambio, en fuste, la densidad integra tanto la fracción de lúmenes dada por los vasos, como la morfometría de fibras y porcentajes de tejidos. Es posible entonces hallar especies/genotipos de densidad similar dentro de este género pero con diferente composición/estructura anatómica.

Agradecimientos:

A los Doctores Alejandro Martínez Meier y Javier Gyenge por el muestreo de la plantaciones de *E. viminalis*. A la Dra. Dora Igartúa y la Ing. Karen Moreno por el muestreo de las plantaciones de *E. globulus*.

BIBLIOGRAFÍA

- Alarcón, P., M.E. Fernández, S. Monteoliva & A. Martínez Meier.** 2016. Variación genética y plasticidad fenotípica de la microdensidad de la madera en dos especies de *Eucalyptus*: aportes para la selección de genotipos mejor adaptados al estrés ambiental. XXX Jornadas Forestales de Entre Ríos, Concordia septiembre de 2016
- Allen, C.D., A. K. Macalady, H. Chenchouni, D. Bachelet, N. McDowell, M. Vennetier, T. Kitzberger, A. Rigling, D. D. Breshears, E.H. (Ted) Hogg, P. Gonzalez, R. Fensham, Z. Zhang, J. Castro, N. Demidova, J. Lim, G. Allard, S. W. Running, A. Semerci & N. Cobb.** 2010. A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. *Forest Ecology and Management* 259: 660–684.
- Booth, T.H.** 2013. Eucalypt plantations and climate change. *Forest Ecology and Management* 301: 28–34.
- Brodersen, C.R.** 2013. Visualizing wood anatomy in three dimensions with high-resolution X-ray microtomography (μ CT) – a review – *IAWA Journal* 34 (4): 408–424.
- Brotel, M.C.G., P.F. Trugilho, S.C. da Silva Rosado & J.R. Moreira da Silva.** 2010. Seleção de clones de *Eucalyptus* para biomassa florestal e qualidade da madeira Selection of *Eucalyptus* clones for forest biomass and wood quality. *Sci. For.*, Piracicaba 38 (86):237-245.
- Corcuera, L., Cochard, H., Gil-Pelegrin, E. & Notivol E.** 2011. Phenotypic plasticity in mesic populations of *Pinus pinaster* improves resistance to xylem embolism (P_{50}) under severe drought. *Trees* 25: 1033.
- Chave, J., D. Coomes, S. Jansen, S.L. Lewis, N.G. Swenson & A.E. Zanne.** 2009. Towards a worldwide wood economics spectrum. *Ecology Letters* 12:351–366.
- Drew D.M., G. M. Downes, A. P. O’Grady, J. Read & D. Worledge.** 2009. High resolution temporal variation in wood properties in irrigated and non-irrigated *Eucalyptus globulus*. *Ann. For. Sci.* 66: 406.
- Fernandes, A., J. Lousada, J. Morais, J. Xavier, J. Pereira & P. Melo-Pinto.** 2013. Measurement of intraring wood density by means of imaging VIS/NIR spectroscopy (hyperspectral imaging). *Holzforchung* 67(1):59-65.
- Franklin, G.** 1945. Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. *Nature* 155:51–51.
- Fujiwara, S., K. Sameshima, K. Kuroda & N. Takamura.** 1991. Anatomy and properties of Japanese hardwoods. I. Variation of fibre dimensions and tissue proportions and their relation to basic density. *IAWA Bulletin* ns 12:419–424.
- Hacke, U.G., J.S. Sperry, W.T. Pockman, S.D. Davis & K.A. McCulloh.** 2001. Trends in wood density and structure are linked to prevention of xylem implosion by negative pressure. *Oecologia* 126(4): 457-461.
- Jacobsen, A.L., F. W. Ewers, R. B. Pratt, W.A. Paddock III & S. D. Davis.** 2005. Do Xylem Fibers Affect Vessel Cavitation Resistance?. *Plant Physiology* 139: 546–556.
- Jacobsen, A. L., L. Agenbag, K. J. Esler, R.B. Pratt, F. W. Ewers & S. D. Davis.** 2007. Xylem density,

biomechanics and anatomical traits correlate with water stress in 17 evergreen shrub species of the Mediterranean-type climate region of South Africa. *Journal of Ecology* 95, 171–183.

Lachenbruch, B. & K. A. McCulloh. 2014. Traits, properties, and performance: how woody plants combine hydraulic and mechanical functions in a cell, tissue, or whole plant. *New Phytologist* 204: 747–764.

Martínez-Cabrera, H.I., C. S. Jones, S. Espino & H. J. Schenk. 2009. Wood anatomy and wood density in shrubs: responses to varying aridity along transcontinental transects. *American Journal of Botany* 96(8): 1388–1398.

Martínez-Cabrera, H.I., H.J. Schenk, R.S. Cevallos-Ferriz & C.S. Jones. 2011. Integration of vessel traits, wood density, and height in angiosperm shrubs and trees. *American Journal of Botany* 98: 915–922.

Martínez Meier, A., L. Sánchez, M. Pastorino, L. Gallo & P. Rozenberg. 2008. What is hot in tree rings? The wood density of surviving Douglas-firs to the 2003 drought and heat wave. *For. Ecol. Manage.* 256 (4): 837–843.

Meinzer, F.C., S. A. James, G. Goldstein & D.R. Woodruff. 2003. Whole-tree water transport scales with sapwood capacitance in tropical forest canopy trees. *Plant Cell Environ* 26:1147–1155.

Novak, K., M. A. Saz Sánchez, K. Čufar, J. Raventós & M. de Luis. 2013. Age, climate and intra-annual density fluctuations in *Pinus halepensis* in Spain. *IAWA Journal* 34 (4): 459–474.

Poorter I., I. McDonald, A. Alarcón, E. Fichtler, J.C. Licona, M. Peña-Claros, F. Sterck, Z. Villegas & U. Sass-Klaassen. 2010. The importance of wood traits and hydraulic conductance for the performance and life history strategies of 42 rainforest tree species. *New Phytologist* 185: 481–492.

Preston, K.A., W.K. Cornwell & J.L. DeNoyer. 2006.

Wood density and vessel traits as distinct correlates of ecological strategy in 51 California coast range angiosperms. *New Phytol.* 170(4): 807–818.

Searson, M.J., D. S. Thomas, K. D. Montagu & J.P. Conroy. 2004. Wood density and anatomy of water-limited eucalypts. *Tree Physiology* 24: 1295–1302.

TAPPI 401 om-93. 1993. Fiber analysis of paper and paperboard. Technical Association of Pulp and Paper Industry.

Thomas, D.S., K. D. Montagu & J. P. Conroy. 2004. Changes in wood density of *Eucalyptus camaldulensis* due to temperature—the physiological link between water viscosity and wood anatomy. *Forest Ecology and Management* 193:157–165.

Thomas, D.S., K. D. Montagu & J. P. Conroy. 2006. Why does phosphorus limitation increase wood density in *Eucalyptus grandis* seedlings? *Tree Physiology* 26 (1) : 35–42.

Thomas, D.S., K. D. Montagu & J. P. Conroy. 2007. Temperature effects on wood anatomy, wood density, photosynthesis and biomass partitioning of *Eucalyptus grandis* seedlings. *Tree Physiology* 27: 251–260.

Zanne A.E., M. Westoby, D. S. Falster, D. D. Ackerly, S. R. Loarie, S. E. J. Arnold & D.I A. Coomes. 2010. Angiosperm wood structure: global patterns in vessel anatomy and their relation to wood density and potential conductivity. *American Journal of Botany* 97(2): 207–215.

Zheng J. & H. I. Martínez-Cabrera. 2013. Wood anatomical correlates with theoretical conductivity and wood density across China: evolutionary evidence of the functional differentiation of axial and radial parenchyma. *Annals of Botany* 112: 927–935.

Ziemińska K., D. W. Butler, S. M. Gleason, I. J. Wright & M. Westoby. 2013. Fibre wall and lumen fractions drive wood density variation across 24 Australian angiosperms. *AoB PLANTS* www.aobplants.oxfordjournals.org.