



UNIVERSIDAD  
DE LOS ANDES



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES  
FACULTAD DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA  
INSTITUTO DE CIENCIAS AMBIENTALES Y ECOLOGICAS

**TRABAJO ESPECIAL DE GRADO**

**Dinámica de la aclimatación del aparato fotosintético a cambios en el ambiente de luz en individuos juveniles de especies arbóreas de la sucesión temprana en la Selva Nublada Andina.**

**Estudiante:**

Br. Jean Carlos Jaimes Correa

**Tutor:**

Dr. Carlos García-Núñez

**Co-tutora:**

Dra. Ana Mercedes Quevedo R

Mérida, Diciembre 2015.



**C I E N C I A S**  
UNIVERSIDAD DE LOS ANDES  
MÉRIDA VENEZUELA

**INFORME DEL JURADO NOMBRADO POR EL CONSEJO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA UNIVERSIDAD DE LOS ANDES PARA CONSIDERAR EL TRABAJO ESPECIAL DE GRADO DEL BACHILLER**

**JEAN CARLOS JAIMES CORREA**

En Mérida a los 11 días del mes de diciembre del año 2015, a las 09:00 a.m. se reunieron los Profesores: Carlos García Núñez (Tutor), Ana Quevedo (Cotutora), Fermín Rada y Luz Thais Castro, de la Facultad de Ciencias, miembros del jurado nombrado por el Consejo de la Facultad de Ciencias, para revisar el Trabajo Especial de Grado sobre el tema: "Dinámica de la aclimatación del aparato fotosintético a cambios en el ambiente de luz en individuos juveniles de especies arbóreas de la sucesión temprana en la Selva Nublada Andina", presentó el Bachiller: Jean Carlos Jaimes Correa, titular de la Cédula de Identidad N° V018578889, para optar al título de:

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

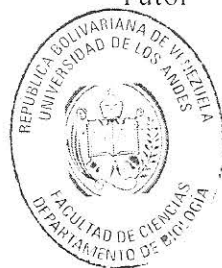
en la Facultad de Ciencias de la Universidad de Los Andes. Acto seguido se procedió a oír la exposición que sobre el tema arriba mencionado realizó el Bachiller: Jean Carlos Jaimes Correa.

Después del correspondiente interrogatorio, el Jurado procedió a deliberar sobre la calificación del trabajo sometido a su consideración.

Finalmente el Jurado lo declaró APROBADO con la Calificación de VEINTE (20) PUNTOS. Y recomendado para su publicación.

Dr. Carlos García Núñez  
Tutor

Dr. Fermín Rada



M.Sc. Luz Thais Castro

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA

## AGRADECIMIENTOS

A mi Madre y Abuela, por sus consejos, apoyo y amor incondicional, las cuales siempre me han guiado para ser una mejor persona.

A mi Padre, por brindarme su apoyo.

A mis familiares, los cuales siempre han estado conmigo en todo momento. En especial a mi hermana y sobrino.

A mi Tutor Dr. Carlos García-Núñez por su enseñanza, paciencia, colaboración, estímulo y orientación que me brindó durante el desarrollo de este trabajo.

A mi Co-tutora Dra. Ana Quevedo por colaborar durante el desarrollo de este trabajo.

Al jurado evaluador de este trabajo: Fermín Rada y Thais Castro por sus sugerencias y aportes en la realización, las cuales permitieron el mejoramiento de este.

Al personal técnico, de investigación y administrativo del ICAE, en especial a Martha, Zulay y William por su colaboración y por estar siempre dispuestos en ayudarme.

A las profesoras Osmari Araque, Francisca Ely y Carlé Valecillos por su ayuda para lograr este trabajo.

A la profesora Anairamiz Aranguren por siempre estar dispuesta en colaborar y aconsejarme.

A Gaby y Geizon, mas que amigos son hermanos que tuve el placer de conocerlos durante mi formación académica y rumbera, gracias por su apoyo en todo momento.

A Indira, Edwuin, Anita, Vannesa, Stefany, Andrea, Mairenis, Alejandra y Luis por brindarme su amistad.

Al FONACIT (Proyecto N° 20130016656. Titulado: Ecofisiología de arboles de la Selva Nublada Andina con fines de restauración ecológica: Posibles consecuencias del cambio climático en su desempeño en fragmentos pequeños y bajo condiciones de plena exposición), por su financiamiento en la realización de este trabajo. Investigador Responsable del Proyecto: Dr. Carlos García Núñez.

Laboratorio de Ecofisiología de cultivos, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (IIAP), Fac. Cs. Forestales y Ambientales, ULA, Osmari Araque, Ramón Jaimez.

Laboratorio de Anatomía Vegetal, Dpto. de Biología, Francisca Ely.

## RESUMEN

Las selvas nubladas andinas son ecosistemas con alta biodiversidad en donde las presiones sobre el ambiente han ocasionado su transformación acelerada, lo que trae como consecuencia remanentes pequeños dominados por pocas especies arbóreas. Estas deberían tener características funcionales de especies pioneras que explicarían su éxito en ambientes expuestos y perturbados. Estas características las hacen especies prometedoras en programas de restauración ecológica. En este trabajo se estudió experimentalmente la capacidad de aclimatación fotosintética de individuos juveniles de *Myrcia acuminata*, *Alchornea triplinervia* y *Tetrorchidium rubrivenium* a incrementos en el ambiente de luz. Estas especies han sido descritas como especies heliófilas propias de ambientes perturbados en la selva nublada andina. Se cultivaron plantas en umbráculos a intensidad lumínica del 20% de la insolación a campo abierto (control) y a los 12 meses se traspasaron al 65 % y a plena exposición (100%). Se evaluaron a 7, 30, 60, 120 y 180 días la capacidad de aclimatación fotosintética mediante la eficiencia cuántica del fotosistema II (Fv/Fm), el área foliar específica, las propiedades ópticas, el contenido de nitrógeno y clorofila y la anatomía foliar. Los resultados muestran en los primeros días (7 y 30) disminuyó el Fv/Fm en los tratamientos de 65% y 100% con respecto al control y a los 180 días todos los tratamientos alcanzaron valores similares al control (20 %) para las tres especies estudiadas. Los cambios en la intensidad lumínica también afectaron las demás características estudiadas, produciéndose en los tratamientos 65 y 100% con respecto al control, una disminución en área foliar específica, absorbancia y contenido de clorofila y a su vez aumentaron el contenido de nitrógeno y las características anatómicas foliares (espesor laminar y densidad estomática) a lo largo del periodo experimental (180 días). Se evidenció para las tres especies estudiadas una alta plasticidad del aparato fotosintético, característico de especies pioneras o de la sucesión temprana capaces de establecerse a plena exposición sin mostrar signos de fotoinhibición crónica.

**Palabras clave:** *Alchornea triplinervia*, *Myrcia acuminata*, *Tetrorchidium rubrivenium*, plasticidad fenotípica, fotoinhibición, anatomía foliar, restauración ecológica.

## INDICE

1. INTRODUCCION	1
2. HIPOTESIS	6
3. OBJETIVOS	6
3.1 Objetivo general	6
3.2 Objetivos específicos	6
4. MATERIALES Y METODOS	6
4.1 Área de estudio	6
4.2 Descripción de las especies estudiadas	7
4.3 Mediciones en el campo	8
4.3.1 Experimento de aclimatación	8
4.3.2 Caracterización microambiental de los umbráculos	8
4.4 Mediciones en el laboratorio	8
4.4.1 Eficiencia cuántica máxima del FSII (Fv/Fm)	8
4.4.2 Propiedades morfológicas y anatómicas de las hojas	9
4.4.3 Propiedades ópticas de las hojas	9
4.4.4 Contenido de nitrógeno y clorofila foliar	9
4.4.5 Anatomía foliar	10
5. ANALISIS DE LOS DATOS	11
6. RESULTADOS	12
6.1 Caracterización microambiental de los umbráculos	12
6.2 Eficiencia cuántica máxima del FSII (Fv/Fm)	13
6.3 Propiedades morfológicas y anatómicas de las hojas	15
6.4 Propiedades ópticas de las hojas	17
6.5 Contenido de nitrógeno y clorofila foliar	19
6.6 Anatomía foliar	29

7. DISCUSION	33
7.1 Eficiencia cuántica máxima del FSII (Fv/Fm)	34
7.2 Propiedades morfológicas y anatómicas de las hojas	36
7.3 Propiedades ópticas de las hojas	38
7.4 Contenido de nitrógeno y clorofila foliar	39
7.5 Anatomía foliar	42
8. CONCLUSIONES	43
9. BIBLIOGRAFIA	44

## Lista de Figuras

### Figuras

1	Curso del Flujo de Fotones Fotosintéticos (FFF) dentro de cada umbráculo y a plena exposición solar	12
2	Temperatura dentro de cada umbráculo y a plena exposición solar	13
3	Eficiencia cuántica máxima del FSII (Fv/Fm) de <i>Myrcia acuminata</i>	14
4	Eficiencia cuántica máxima del FSII (Fv/Fm) de <i>Alchornea triplinervia</i>	14
5	Eficiencia cuántica máxima del FSII (Fv/Fm) de <i>Tetrorchidium rubrivenium</i>	15
6	Área foliar específica de <i>Myrcia acuminata</i>	16
7	Área foliar específica de <i>Alchornea triplinervia</i>	16
8	Área foliar específica de <i>Tetrorchidium rubrivenium</i>	17
9	Absorbancia en porcentaje para <i>Myrcia acuminata</i>	18
10	Absorbancia en porcentaje para <i>Alchornea triplinervia</i>	18
11	Absorbancia en porcentaje para <i>Tetrorchidium rubrivenium</i>	19
12	Contenido de nitrógeno por unidad de peso foliar de <i>Myrcia acuminata</i>	20
13	Contenido de nitrógeno por unidad de área foliar de <i>Myrcia acuminata</i>	20
14	Contenido de nitrógeno por unidad de peso foliar de <i>Alchornea triplinervia</i>	21
15	Contenido de nitrógeno por unidad de área foliar de <i>Alchornea triplinervia</i>	21
16	Contenido de nitrógeno por unidad de peso foliar de <i>Tetrorchidium rubrivenium</i>	22
17	Contenido de nitrógeno por unidad de área foliar de <i>Tetrorchidium rubrivenium</i>	23
18	Contenido de clorofila total por unidad de peso foliar de <i>Myrcia acuminata</i>	23
19	Contenido de clorofila total por unidad de área foliar de <i>Myrcia acuminata</i>	24

20	Contenido de clorofila total por unidad de peso foliar de <i>Alchornea triplinervia</i>	24
21	Contenido de clorofila total por unidad de área foliar de <i>Alchornea triplinervia</i>	25
22	Contenido de clorofila total por unidad de peso foliar de <i>Tetrorchidium rubrivenium</i>	25
23	Contenido de clorofila total por unidad de área foliar de <i>Tetrorchidium rubrivenium</i>	26
24	Microfotografías de cortes transversales de las hojas de <i>Myrcia acuminata</i> (40x).	29
25	Microfotografías de cortes transversales de las hojas de <i>Alchornea triplinervia</i> (40x).	30
26	Microfotografías de cortes transversales de las hojas de <i>Tetrorchidium rubrivenium</i> (40x).	31



## Lista de Tablas

### Tablas

1	Contenido promedio de clorofila <i>a</i> (Cl <sub>a</sub> , mg/g) para cada una de las especies en los distintos tratamientos lumínicos	26
2	Contenido promedio de clorofila <i>b</i> (Cl <sub>b</sub> , mg/g) para cada una de las especies en los distintos tratamientos lumínicos	27
3	Relación promedio de clorofila <i>a/b</i> para cada una de las especies en los distintos tratamientos lumínicos	28
4	Relación clorofila/nitrógeno para cada una de las especies en los distintos tratamientos lumínicos	28
5	Espesor de la lamina foliar (μm) promedio por especie-tratamiento	32
6	Densidad estomática (estomas/mm <sup>2</sup> ) promedio por especie-tratamiento	32

# 1. INTRODUCCIÓN

Las montañas son sistemas ambientales complejos, con una alta diversidad de especies por unidad de área. Se caracterizan por la presencia frecuente de neblina o nieblas orográficas, en forma casi continua durante todo el año, las cuales ejercen un papel fundamental en los procesos que la regulan (Huber, 1986). Estos procesos son de gran importancia en el funcionamiento de los macroecosistemas montañosos, en el mantenimiento de los patrones naturales del flujo de los arroyos y ríos que nacen de ellos, en la estabilización de la calidad de agua y en la hidrología de los ecosistemas de las tierras bajas (Pacheco y Ataroff, 2005).

En las montañas venezolanas existen diversos ecosistemas arbóreos, arbustivos y herbáceos, los cuales se encuentran ordenados en secuencias altitudinales diferentes, dependiendo de las variaciones del ambiente físico en cada sistema montañoso (Ataroff, 2003). Utilizamos los términos selva y bosque para diferenciar dos grupos dentro de los ecosistemas dominados por árboles según la complejidad en estructura, fisionomía y composición en la vegetación: la selva nublada presenta mayor complejidad, con alta diversidad de varios estratos de árboles y dosel de medio a alto, en contraste con el bosque que presenta menor complejidad, con menos diversidad, mínima estratificación y dosel de medio a bajo (Ataroff, 2003).

Un aspecto conflictivo en los estudios de la selva nublada, ha sido la definición de sus límites latitudinales y altitudinales, debido a la gran cantidad de variables involucradas como patrones de precipitación, orientaciones de vientos predominantes, variaciones térmicas diarias, influencia del tamaño y posición de las montañas sobre el fenómeno de condensación, topografía y orientación de las vertientes, interrelación entre latitud y altitud (Vareschi, 1969; Webster, 1995; Ataroff, 2001). Sarmiento et al. (1971) clasifican las selvas nubladas para los Andes Venezolanos en dos tipos: la selva nublada montano baja (1700-2200 msnm) y la selva nublada montano alta (2200-3200 msnm).

Las notables diferencias en la distribución altitudinal de las selvas nubladas en los diferentes sistemas montañosos determinan, en la misma medida, importantes diferencias en las temperaturas medias de cada una de ellas. La selva nublada montano alta de la cordillera de Mérida es la más alta de Venezuela y alcanza 9°C de temperatura media anual en su límite superior, en contacto con el páramo (Ataroff y García-Nuñez, 2013). El extremo más cálido, la selva nublada del cerro Santa Ana de Paraguana, presenta temperaturas medias anuales de hasta 23 °C. Entre estos dos extremos, se ubica el resto de las selvas y bosques nublados: las selvas nubladas montano altas y montano baja de la cordillera de Mérida tienen temperaturas medias anuales de 9 a 14 °C y de 14 a 17 °C, respectivamente (Ataroff y García-Nuñez, 2013).

El análisis del clima de las selvas nubladas en Venezuela se dificulta por la escasez de datos climáticos en este ambiente, en muchos casos solo basados en registros de corta duración (Ataroff y García-Nuñez, 2013). Mediciones en el Bosque Universitario "San Eusebio" (La Carbonera, 2.200 msnm, cordillera de Mérida) muestran que la sombra del piso del bosque y un claro de 100m<sup>2</sup> reciben valores promedio de FFF entre 26  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  (1,12  $\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$ , 2 % de la radiación total medida a campo abierto) y 93  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  (4,02  $\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$ , 7 % de la radiación total medida a campo abierto), respectivamente (García-Nuñez et al. 1995).

La conservación de las selvas nubladas es de gran importancia, por su elevada biodiversidad, presencia de un elevado número de especies endémicas, por su rol en el balance hídrico y prevención de la erosión en cuencas de alta montaña (Webster, 1995; Gentry, 1986; Ataroff, 2001). Para tomar medidas apropiadas para la conservación de estas selvas es necesario conocer y entender sus procesos ecológicos. A pesar de esto figuran entre los ecosistemas más amenazados y que están siendo transformados más rápidamente en el mundo, y se cree que los remanentes actuales ocupan áreas pequeñas o están fragmentados (WCMC 1997; Brown y Kappelle, 2001).

Por ejemplo, se estima que el 90% de los bosques nublados de los Andes se ha perdido debido a impactos humanos (Hamilton, 1995). La principal amenaza es la deforestación y conversión a usos alternativos como cultivos de frutales y vegetales, así como la cría de ganado (Hamilton et al. 1993; Ataroff y Rada, 2000). La deforestación trae como consecuencia la fragmentación del paisaje, que consiste en la interrupción de su continuidad en remanentes o fragmentos de diferentes tamaños y formas, los cuales quedan inmersos en una matriz de hábitats transformados (pastizales, cultivos, plantaciones y carreteras) (Kattan, 2002). Estas intervenciones tienen como efecto el incremento de la distribución ya naturalmente fragmentada de estos ecosistemas (Howorth y Colonnello, 2004).

La regeneración exitosa de las especies arbóreas implica la existencia de mecanismos adaptativos a las limitaciones energéticas impuestas por la baja incidencia de radiación solar que caracteriza estos ecosistemas (Acevedo et al. 2003). Esto se debe a que las selvas nubladas se desarrollan sobre topografías montañosas y accidentadas, y están sujetas a altas precipitaciones y nubosidad, así como a la rápida erosión de los suelos y movimientos de masa por las altas pendiente. Además, en el piso del bosque, el impacto de estos factores sobre la regeneración se ve acentuado por el bajo flujo fotosintético de fotones (FFF).

Entre los factores que afectan a las plantas, la radiación solar es quizás la más heterogénea en el espacio y el tiempo. La radiación solar es la que proporciona energía para la fotosíntesis y esta a su vez sirve como señales en la fotorregulación del crecimiento y desarrollo de la planta (Valladares et al. 2012). La radiación que llega al sotobosque es particularmente variable a lo largo del día como resultado del movimiento aparente del sol y la distribución de las aperturas grandes y pequeñas que siempre existen en un dosel y por las que puede penetrar la radiación solar directa generando lo que se conoce como "sunflecks" o destellos de sol (Chazdon, 1988).

La formación de claros en las selvas nubladas, es uno de los factores que acentúa la heterogeneidad espacial en las condiciones ambientales y a su vez el proceso de creación y regeneración de los mismos domina la dinámica de la selva y juega un papel importante en la evolución de las características de la historia de vida de las poblaciones de plantas y en la distribución de los individuos dentro de la selva (Bazzaz, 1984). La ocurrencia de un claro causa abruptos cambios en la composición y estructura de la vegetación y en la disponibilidad de recursos para las plantas: aumenta los niveles de radiación, la temperatura del aire y del suelo y las interacciones bióticas (Denslow, 1980).

Las especies que crecen en el sotobosque reciben luz que ha pasado por dos filtros: el primero la frecuente capa de nubes bajas características de estas selvas y el segundo, el dosel que la luz debe atravesar antes de llegar al estrato inferior (Acevedo et al. 2001). En el piso del bosque, la alta cobertura y compleja estratificación donde estas selvas impone un filtro que puede reducir la luminosidad en el bosque hasta 1,75% en comparación a la luz sobre el dosel, disminución que puede llegar hasta 0,3% durante eventos de neblina (Vareschi, 1992). La supervivencia de las plantas en condiciones de poca luz depende en gran medida a la maximización de la intercepción de la luz para la fijación de carbono, junto con una minimización de carbono a través de pérdidas por la respiración (Valladares y Niinemets, 2007). Evidencias indican que en diversas especies vegetales las variaciones en la disponibilidad de estos recursos pueden ocasionar cambios morfológicos y alteraciones en la asignación de biomasa (Valladares et al. 2002).

La luz es un factor que limita la supervivencia y crecimiento de las plantas en muchas especies de árboles tropicales ya que, a pesar de que un incremento en la absorción de la radiación fotosintéticamente activa puede incrementar el crecimiento y la supervivencia, la alta intensidad de luz puede ser una fuente de estrés para las plantas, provocando una limitación en su crecimiento y efectos negativos de fotoinhibición por exceso de luz, causando una disminución en la supervivencia (Dávila, 2009). Estas características hacen que los ambientes de alta montaña sean muy estresantes y propicios para un desbalance energético, provocando fotoinhibición y/o fotodaño en las plantas (Streb et al. 2003). Debido al desacople entre procesos biofísicos y bioquímicos, las plantas captarían

más energía de la que pueden utilizar fotosintéticamente, provocando dicho desbalance energético (Osmond, 1994).

El término fotoinhibición (PI) fue definido originalmente por Kok en 1956 (Yordanov y Veleikova, 2000). La fotoinhibición se define como una reducción de la fotosíntesis por un exceso de radiación, es un tipo de estrés que al igual que la sombra afecta de modo importante el rendimiento de las plantas (Adir et al. 2003). La fotoinhibición puede ser reversible, en cuyo caso se habla de fotoinhibición dinámica, la cual juega un papel de protección del aparato fotosintético; o irreversible, en cuyo caso se habla de fotoinhibición crónica y es generalmente el resultado de un daño sufrido en el aparato fotosintético (Werner et al. 1999; Adir et al. 2003). En la mayoría de los casos, las respuestas de fotoprotección son rápidas, como los aumentos en las concentraciones foliares de carotenoides y  $\alpha$ -tocoferol pocas horas después de la exposición a alta intensidad de luz (Matsubara et al. 2009).

La capacidad de aclimatación de un fenotipo (o genotipo ya expresado) es un componente importante de la tolerancia de una especie al estrés lumínico, ya sea causado por poca o por demasiada luz (Sultan, 2000; Yordanov et al. 2002). Una fase crítica para las especies arbóreas es la juvenil, en la cual la capacidad de aclimatarse para aprovechar cambios bruscos en el ambiente de luz del piso del bosque (formación de claros) podría determinar su sobrevivencia u oportunidad de alcanzar los estratos más altos, lo cual a su vez determinaría la estructura del bosque y la diversidad de especies (Acevedo et al. 2001). En general, las plantas más tardías de la sucesión se establecen en la sombra debido a tanto factores externos (e.g. dispersión de semillas) como internos (tolerancia a la sombra, intolerancia a la radiación intensa). Esto ha sido fundamentalmente observado en bosques templados y bosque tropicales (Bazzaz y Pickett, 1980). De esta forma, se ha observado que la plasticidad a la luz en rasgos morfológicos es mayor en especies tolerantes de sombra, mientras que la plasticidad en rasgos fisiológicos es mayor en especies propias de zonas bien iluminadas (Vallares et al. 2002; Niinemets y Vallares, 2004). Esto guarda relación con el hecho de que el área foliar específica (AFE) es el principal determinante de las diferencias interespecíficas en el crecimiento a la sombra, mientras que la tasa fotosintética por unidad foliar (ULR) lo es para las plantas de sol (Kitajima y Bolker, 2003).

Las plantas tienen la capacidad de responder a diferentes niveles de exposición a la luz con cambios en la estructura interna del tejido fotosintético, como cantidad y distribución del parénquima en empalizada y esponjoso, así como de su estructura externa (Nobel, 1995; Tanaka et al. 2008). La hoja es el órgano de la planta más sensible a las condiciones ambientales, por lo cual refleja alteraciones morfológicas como una forma de adaptación a los efectos del estrés (Toral et al. 2010). Las hojas poseen características fotosintéticas particulares las cuales se adaptan notablemente a la irradiancia (Evans, 1989) y, en general, las hojas que se han desarrollado a una alta exposición de irradiancia poseen una mayor capacidad fotosintética por unidad de área en comparación con las hojas de sombra (Niinemets y Tenhunen, 1997). En la sombra, las plantas están más limitadas por la capacidad de captación de la luz (mayor inversión del nitrógeno en pigmentos), encontrándose que los cambios (plasticidad) en la morfología de la hoja hacia una mayor expansión foliar (mayor área foliar específica) son importantes para la sobrevivencia en el piso del bosque (García-Núñez et al. 1995). Tradicionalmente se ha mantenido la idea de una mayor plasticidad frente a la luz en aquellas especies sucesionalmente tempranas (Bazzaz, 1979).

La capacidad de respuesta a un incremento abrupto en los niveles de luz, como el que se da en la apertura de un claro, está determinada por la formación de nuevas hojas adaptadas a las nuevas condiciones lumínicas o bien por la aclimatación de las preexistentes (Tognetti et al. 1997). Entre las plantas tropicales, las especies pioneras son más resistentes a la fotoinhibición que las especies tolerantes a la sombra (Castro et al. 1995). En general, las plantas de la sucesión temprana tienen puntos de compensación lumínica altos, así como tasas máximas de fotosíntesis altas, y bajas eficiencias cuánticas: presentan alta conductancia estomática, alto contenido foliar de RUBISCO, baja resistencia al transporte de agua a través del sistema vascular y altas tasas de transpiración con

relación a las plantas sucesionales intermedias y tardías. En contraste, las hojas de la parte interior de la copa, las plántulas del sotobosque y las especies de la sucesión tardía, presentan puntos de compensación y saturación bajos y altas eficiencias cuánticas, su capacidad fotosintética es menor, su crecimiento más lento y su madera más dura y pesada. Las altas tasas de regeneración y crecimiento de las especies pioneras tienden a coincidir con altas capacidades fotosintéticas. Además, las tasas de fotosíntesis y respiración por unidad de área foliar, así como la relación fotosíntesis/respiración, generalmente disminuyen a medida que avanza la sucesión (Bazzaz y Pickett, 1980; Bazzaz, 1996).

El proceso fotosintético se inicia cuando la luz es absorbida por los pigmentos fotosintéticos (básicamente clorofila *a*, *b* y carotenoides) de los complejos antena de la membrana fotosintética (Moreno et al. 2008). Parte de la energía absorbida es transferida como energía de excitación y atrapada por el centro de reacción, en donde es utilizada para hacer trabajo químicamente útil lo que conocemos como fotosíntesis. El papel principal de la fotosíntesis es capturar la energía lumínica para transformarla en formas que puedan ser utilizadas en la biosíntesis. Esta energía es atrapada por los cloroplastos y la incorporación de CO<sub>2</sub> se realiza a través de los estomas y una vez dentro de la hoja el CO<sub>2</sub> difunde desde los espacios intracelulares a los sitios de carboxilación en los cloroplastos, estructuras en las cuales ocurren los procesos primarios de la fotosíntesis y que en la mayoría de las plantas están localizadas en las células del mesófilo (Azocar y Rada, 2006). La otra parte de la energía que no es utilizada por la fotosíntesis es disipada principalmente como calor y en menor grado re-emitida como energía luminosa de menor energía lo que se conoce como fluorescencia (Moreno et al. 2008). Esta distribución de la energía en los tres procesos ocurre simultáneamente, de tal forma que el incremento en la eficiencia de uno de ellos, resultará en la disminución de los otros dos. Por lo tanto, a través de la medición del rendimiento de la fluorescencia de la clorofila se puede obtener información de la eficiencia fotoquímica y la disipación térmica de la energía absorbida (Maxwell y Johnson, 2000). La fluorescencia de la clorofila es una herramienta útil para estudiar los efectos del estrés ambiental sobre las plantas, como déficit de agua, niveles extremos de temperatura, niveles extremos de incidencia de luz, contaminantes, ataques de patógeno, y otras (Long et al. 1994). El parámetro más usado en la emisión de la fluorescencia es el rendimiento cuántico máximo para la fotoquímica primaria cuando todos los centros de reacción del PSII están oxidados o "abiertos" (Fv/Fm) (Moreno et al. 2008).

Las primeras evidencias de la relación entre las reacciones primarias de la fotosíntesis y la emisión de fluorescencia de la clorofila del PSII se tuvieron al exponer a la luz, hojas adaptadas a la oscuridad. La curva de inducción de fluorescencia (conocida como "cinética de Kautsky", en honor a quien la describió) mostró una fase de incremento rápido de fluorescencia en el primer segundo de iluminación seguida de una fase lenta de declive de fluorescencia durante varios minutos. La "fase rápida", está relacionada principalmente con eventos primarios del PSII. Por otro lado, la "fase lenta", está asociada con interacciones entre procesos de las membranas de los tilacoides y procesos metabólicos en el estroma del cloroplasto, relacionados con un incremento en la asimilación de CO<sub>2</sub> (Moreno et al. 2008). El aumento de fluorescencia en la "fase rápida" se ha explicado como una consecuencia de la reducción (ganancia de electrones) del total de aceptores de electrones en el PSII, particularmente la quinona A (QA) y la plastoquinona (PQ). Una vez que el PSII absorbe luz y QA ha aceptado un electrón, no es capaz de aceptar otro hasta que el primero ha pasado al siguiente acarreador de electrones, la quinona B (QB). Durante este periodo, el centro de reacción está "cerrado" porque está totalmente reducido. En cualquier punto en el tiempo, la presencia de una proporción de centros de reacción reducidos "cerrados", conduce a una disminución en la eficiencia fotoquímica, con un correspondiente incremento en la fluorescencia (Krause y Weis, 1991). Después de esto el nivel de fluorescencia empieza a decaer en el transcurso de minutos. Aunque muchos factores pueden modificar la fluorescencia de las membranas tilacoides, son principalmente dos los que hacen la mayor contribución al nivel de fluorescencia; el primero es el estado redox de QA y el segundo, la magnitud del gradiente de potencial electroquímico protónico ( $\Delta pH$ ) que existe a través de las membranas tilacoides. Los cambios en el estado redox de QA ocurren como resultado de cambios en la velocidad de transporte de electrones no cíclico y el incremento en el consumo de

NADPH por el metabolismo del carbono lo que resulta en un incremento en la velocidad de transporte de electrones y oxidación de QA (Roháček y Barták, 1999). El decaimiento de fluorescencia debido a la oxidación de QA se ha denominado "decaimiento fotoquímico"  $qP$ , mientras que, el debido a cambios en la magnitud del gradiente de potencial electroquímico protónico transtilacoidal se denomina "decaimiento nofotoquímico" ( $qNP$ ). La magnitud del coeficiente de decaimiento no fotoquímico ( $qNP$ ) refleja además de los cambios en el gradiente de pH, inactivación de centros de reacción (fotoinhibición), cambios conformacionales dentro de los complejos de pigmentos en la membrana tilacoide, desconexión de complejos cosechadores de luz móviles del PSII, formación de zeaxantina, disminución del rendimiento cuántico efectivo de la fotoquímica del PSII ( $\Phi_{PSII}$ ) y la velocidad de transporte de electrones fotosintético (ETR) (Moreno et al. 2008).

El contenido de clorofila y la cantidad de enzimas involucradas en la fijación y reducción de  $CO_2$  (RUBISCO principalmente), es otro de los factores que varía de acuerdo al ambiente de luz donde se desarrollan las plantas (García-Nuñez, 1992). En la clorofila, las mayores cantidades de clorofila (a+b) por unidad de peso seco las contiene las plantas de sombra, que las crecen en plena luz, lográndose utilizar la relación clorofila/nitrógeno para caracterizar las plantas de sombra (Bjorkman, 1981). Las concentraciones de clorofila usualmente decrecen en respuesta al aumento de las condiciones de luz (Givnish, 1988), reflejando en parte cambios en la asignación del nitrógeno para favorecer las enzimas de la fase oscura tales como la ribulosa carboxilasa/oxigenasa (Rubisco). Este fenómeno se ha tratado de explicar atribuyéndolo a una mayor inversión de N en los complejos cosechadores de luz a expensas del transporte de electrones y de la capacidad de ciclo de Calvin en el caso de plantas que están aclimatadas a la sombra (Evans, 1989).

Las propiedades ópticas de las hojas de las plantas como la absorbancia (A), transmitancia (T) y reflectancia (R) de la radiación solar son fuertemente dependientes de la concentración de la clorofila (Cabello-Pasini y Macías-Carranza, 2011). Así, la aclimatación a alta irradiación frecuentemente resulta en incrementos del espesor de la cutícula, cuya función principal es evitar la pérdida de agua. Tales cambios cuticulares también pueden alterar los patrones de reflectancia de la superficie foliar (Grant et al., 1993). Por lo tanto, si la reflectancia se incrementa con la luz, esta respuesta podría ser atribuida parcialmente a cambios cuticulares (Baltzer y Thomas, 2005). Otros estudios han sugerido, que en ausencia de estructuras que alteren la reflectancia de la hoja (ejemplo: ceras y tricomas), la absorbancia de la hoja está relacionada principalmente al contenido de clorofila por unidad de área foliar (Evans y Poorter, 2001).

También se ha encontrado que las modificaciones anatómicas y morfológicas desarrolladas por las plantas a través de su evolución y de la presión de selección, han contribuido a su protección contra los efectos negativos del exceso de radiación solar (Casierra-Posada, 2007). En estas características de las hojas, un incremento en los niveles de luz da como resultado un incremento global del espesor foliar, peso foliar específico y densidad de estomas. Las plantas cultivadas en luz alta generalmente tienen hojas gruesas con una baja área foliar específica (Bjorkman, 1981). Se produce un aumento de la epidermis, de los sistemas vasculares y del parénquima. En las hojas típicas de las plantas  $C_3$ , el mesófilo está caracterizado por la presencia de un parénquima en empalizada bien desarrollado con una alta proporción de células alargadas columnares. Esto aumenta el número de cloroplastos y la cantidad de enzimas fotosintéticas y por lo tanto aumenta la capacidad fotosintética por unidad de área foliar (Evans y Poorter, 2001). En las hojas típicas de sombra, las células del mesófilo tienden a ser redondeadas o de forma muy irregular y el número total de células a través de la sección foliar es a menudo menor que en las hojas de sol (García-Nuñez, 1992).

Asimismo, dependiendo del ambiente de luz en que se desarrollen las plantas, éstas mostrarán respuestas diferentes en las características morfológicas (forma y tamaño de la hoja, área foliar y peso foliar), anatómicas (densidad y tamaño de los estomas), ópticas (absorbancia, transmitancia y reflectancia) y bioquímicas (cantidad de clorofila y nitrógeno foliar). Dichas características suelen estar interrelacionadas y varios estudios han encontrado patrones de variación producto del desarrollo y aclimatación de las hojas al ambiente lumínico. Sí estos grupos tienen diferentes

características fotosintéticas (Strauss-Debenedetti y Bazzaz, 1996), se espera que estas diferencias se manifiesten en individuos en estado juvenil cuando estos sean cultivados bajo condiciones experimentales de luz.

## **2. HIPÓTESIS**

En el caso de las comunidades forestales, se esperaría que las especies arbóreas de la sucesión temprana tengan una alta plasticidad a cambios en el ambiente de luz que se manifiestan en las propiedades morfo-anatómicas de las hojas y en el aparato fotosintético de tal modo que un incremento repentino en la intensidad de luz podría ser soportado por individuos juveniles de estas especies sin mostrar signos de fotoinhibición crónica.

## **3. OBJETIVO**

### **3.1 General**

Estudiar algunas respuestas ecofisiológicas relacionadas con la capacidad de aclimatación del aparato fotosintético a incrementos repentinos en la disponibilidad de luz en individuos juveniles de tres especies de árboles de la sucesión temprana de una selva nublada andina.

### **3.2 Específicos**

- Caracterizar las condiciones microclimáticas en cuanto a temperatura del aire y flujo fotosintético de fotones (FFF) en cada uno de los tratamientos experimentales de disponibilidad de luz.
- Evaluar en el tiempo el efecto de incrementos súbitos en la FFF a través de la medición de la eficiencia cuántica máxima del fotosistema dos (FS II) con el fin de determinar si ocurre fotoinhibición crónica en las especies estudiadas.
- Determinar la capacidad de aclimatación a incrementos súbitos en la FFF a través de la medición de parámetros morfológicos (área foliar específica), anatómicos (espesor de la lámina foliar y densidad de estomas) y propiedades espectrales (absorbancia) de las hojas.
- Determinar la capacidad de aclimatación del aparato fotosintético a través de la medición de clorofila a, clorofila b, relación clorofila a/b y la relación clorofila/nitrógeno foliar.

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1 Área de estudio**

El Bosque Universitario San Eusebio (BUSE), se encuentra situado en la Sierra del Norte, Cordillera de los Andes, entre los 8°37'40'' y 8°37'10'' de latitud Norte y las longitudes 71°21'00' y 71°22'10'' Oeste, sobre la vertiente norte del pico Tambor en la cuenca del río Capaz, que drena sus aguas hacia la cuenca del Lago de Maracaibo (Valcárcel, 1982; Rangel, 2004). Políticamente se encuentra situada en el Municipio Zerpa del Distrito Andrés Bello del Estado Mérida, Venezuela, a una altura entre 2.200 y 2.500 msnm. Su superficie total es de aproximadamente 368 ha (Quevedo, 2014).

La temperatura media anual es de 14.9 °C, las máximas medias no sobrepasan los 20 °C y las mínimas medias no descienden de 8.5 °C. El clima del área se puede resumir como húmedo estacional de montaña mesotérmico, con isoterminia anual, alta humedad y neblinas durante todo el año (Sarmiento et al. 1971).

Se observa mayormente en las primeras horas de la tarde la formación de neblina y nubes, fenómeno que se debe a la condensación del aire saturado con agua que sube de la cuenca del Lago de Maracaibo (García-Núñez, 1992). Por estar el área situada a una altitud entre 2200 y 2500 msnm, y con permanente nubosidad, conforma un ecosistema de bosque nublado montano, siempreverde, mixto, irregular y densamente cerrado, muy rico en especies y casi siempre los árboles están colonizados por numerosas epífitas, musgos, líquenes (Quevedo, 2014). En la zona se presenta un relieve típico de colinas redondeadas, con pendientes variables desde muy suaves a fuertes y la topografía es muy irregular (Márquez, 1990).

El área que contiene a la Estación Experimental San Eusebio presenta los únicos bosques mixtos perennifolios de cierta extensión en Venezuela, ya que están compuestos por coníferas y latifoliadas (Lamprecht y Veillón, 1967). Las familias más abundantes son Lauraceae, Melastomataceae, Guttiferae, Euphorbiaceae, Myrtaceae y Podocarpaceae. Existen alrededor de 40 a 60 especies diferentes de árboles, entre los que predominan *Retrophyllum rospigliosii*, *Weinmannia jahnii*, *Eschweilera monosperma*, *Myrcia acuminata*, *Alchornea triplinervia*, *Causía spp* y varias especies de la familia Lauraceae de los géneros *Ocotea*, *Nectandra* y *Beilschmiedia* (Ataroff, 2001).

La estructura del dosel del bosque alto denso nublado permite distinguir tres estratos relativamente bien diferenciados: un estrato superior entre los 25 y 30 m de altura, con árboles emergentes que pueden alcanzar 40 m de altura; un estrato intermedio, en el que se encuentran los individuos de desarrollo mediano, entre 20 y 25 m altura, generalmente con especies de los géneros *Nectandra* y *Ocotea* y un estrato inferior donde se encuentran individuos arbóreos, cuyas alturas están comprendidas entre los 10 y 15 m (Quevedo, 2014). El sotobosque está compuesto de herbáceas, palmas, arbustos y árboles jóvenes de las especies presentes en los estratos superiores. Se halla frecuentemente el helecho arborescente *Cyathea spp*, el cual alcanza hasta 12 ó más metros de altura, así como también un bambú (*Chusquea spp.*) invasor de claros dentro del bosque, en donde forma espesos matorrales (Schwarzkopf, 2003; Ramos y Plonczak, 2007).

## 4.2 Descripción de las especies estudiadas

### ***Myrcia acuminata* (Kunth) DC**

Pertenece a la familia Myrtaceae, es una especie arbórea característica de la sucesión temprana en la selva nublada. En el sitio de estudio se encuentran plántulas e individuos adultos. Presenta hojas simples, opuestas, coriáceas, margen entero, sin estipulas. Flores pequeñas, subsésiles, hermafroditas. Cáliz persistente, 4 - 5 lobulado, lóbulos imbricados. Pétalos 4 - 5 libres, imbricados. Estambres numerosos, filamentos libres, anteras ovales. Ovario ínfero 2 - 4 locular, placentación basal, estilo uniforme, estigma pequeño (Dávila, 2009). El fruto es una baya elipsoidal o subglobosa, umbilicada, contiene de 1 - 3 semillas. Semillas pequeñas de 5 - 8 mm de largo y 2 - 5 mm de ancho, ovadas, de color verdosas a casi - 15 grisáceos (León y Zambrano, 2004).

### ***Alchornea triplinervia* (Spreng.) Muell. Arg.**

Pertenece a la familia Euphorbiaceae, es una especie arbórea característica de la sucesión temprana en la selva nublada (García et al. 1995). En el sitio de estudio se encuentran plántulas e individuos de hasta 30 m de altura. Presenta hojas simples, coriáceas, mayormente de 2 - 7 cm de largo, margen denticulado, ápice agudo, basinervadas, con tres a cuatro venas laterales principales, con 3 a 4 glándulas foliares basales, sépalos pistilados menores de 2 mm de largo, espigas pistiladas principalmente caulifloras y menores de 25 cm de largo, estilos de 5 - 20 mm de largo y relativamente delgados (Webster y Huft, 1988). Fruto esquizocarpo formado por dos cocos, de 8,0 - 9,8 mm de largo y 7,6 - 8,3 mm de ancho. Presenta dos semillas por fruto, de 6,2 - 7,7 mm de largo y 4,3 - 5,5 mm de ancho, ovoides, glabras, color rojo vivo, brillantes, con carúncula (Durán, 2004).



## ***Tetrorchidium rubrivenium* Poepp.**

Pertenece a la familia Euphorbiaceae, es una especie arbórea característica de la sucesión temprana en la selva nublada con juveniles e individuos adultos que no sobrepasan los 20 m (Murillo, 2009). Árboles o arbustos dioicos, rara vez monoicos; glabros o con tricomas simples; exudado presente. Hojas alternas, simples, generalmente enteras; nervadura pinnada; peciolo presente, glándulas acropetiolares, estipitadas; estipulas presentes, deciduas o persistentes, generalmente con margen glandular. Inflorescencias axilares, en racimos, algunas veces en panículas, flores estaminadas usualmente 3-8, en glomérulos sésiles, pequeñas, subsésiles; brácteas pequeñas, biglandulares. Flor estaminada sésil o subsésil; lóbulos del cáliz 3 (-5); pétalos ausentes; disco ausente; estambres 3, filamentos libres, cortos; pistilodio pequeño y reducido. Fruto una capsula; columela persistente. Semillas globosas o elipsoides; carúncula ausente, ocasionalmente presente; arilo presente, carnosos (Gordillo et al. 2002).

### **4.3 Mediciones en el campo**

#### **4.3.1 Experimento de aclimatación**

En la estación experimental San Eusebio - ULA, se estableció un vivero para la producción de las especies arbóreas que se utilizaron en los experimentos de aclimatación. Se utilizó sombra artificial con malla de 80 % de absorbancia. Las plantas se obtuvieron del piso del bosque (plántulas y/o juveniles de reciente germinación); se sembraron en bolsas de polietileno (volumen= 0.0182 m<sup>3</sup> de capacidad) en una mezcla de suelo de la selva y arena; se les mantuvo en buena condición hídrica (riego inter diario). Las plantas fueron sembradas en las bolsas de polietileno alrededor de 10 meses antes de empezar el experimento de aclimatación mismo tiempo en la que permanecieron en el tratamiento control (20%). Para el experimento de aclimatación a cambios repentinos en el ambiente de luz se utilizó como control las plantas crecidas en umbráculos con 20 % de la FFF recibida a campo abierto y como tratamientos se colocaron plantas a 65 % y 100 % de FFF. Para cada tratamiento se colocaron 15 individuos juveniles/especie con una altura promedio de 20 a 60 cm. Estas mediciones fueron realizadas durante un tiempo comprendido entre octubre 2014 y Marzo 2015. Los datos fueron tomados en los lapsos de 0, 7, 30, 60, 120 y 180 días. Un aspecto de gran importancia en nuestro estudio es que estas respuestas fueron realizadas en hojas completamente expandidas y que se formaron en el tratamiento control (20%), posteriormente al ser traspasadas a los tratamientos (65% y plena exposición (100%)) se registró la dinámica del Fv/Fm en esas hojas hasta los 120 días, y una vez finalizado el experimento a los 180 días, corresponde a hojas nuevas, que se formaron en el nuevo ambiente "aclimatadas" en cuanto a su eficiencia cuántica máxima, esto indica que en estas especies ocurren cambios a mediano plazo (6 meses) a nivel del aparato fotoquímico de la fotosíntesis que le permite a estas especies aprovechar incrementos súbitos de luz y que esta capacidad debería reflejarse en capacidad fotosintética de la planta, es decir, que debería en teoría traducirse en mayores tasas de fotosíntesis en el nuevo ambiente de luz (65% y 100%).

#### **4.3.2 Caracterización microambiental de los umbráculos**

Se midió la DFFF en  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  dentro de cada umbráculo con sensores cuánticos HOBO S-LIB-M003 conectados a un micro-estación H21-002 (HOBO); también se conectaron sensores de temperatura S-TMB- M002 de 12 Bits.

### **4.4 Mediciones en el laboratorio**

#### **4.4.1 Eficiencia cuántica máxima del FSII (Fv/Fm)**

Para medir la posible fotoinhibición de las plantas se utilizó un fluorómetro portátil PAM- 2100 (Heinz Walz GmbH 2003) con una pinza (2030-B, Walz, Effeltrich, Germany) para ajustar la fibra óptica en un ángulo de 60° y a una distancia fija de la hoja. La pinza tiene un microsensors para monitorear la

FFF y una termocupla para medir la temperatura del envés de la hoja. Se tomaron mediciones de hojas adaptadas a la oscuridad (por 24 horas). Se utilizaron por cada especie 3 individuos/tratamiento. Para medir la fluorescencia modulada se utiliza un fluorómetro que consiste básicamente de 4 fuentes de luz cualitativa y cuantitativamente diferentes: a) luz roja modulada de baja intensidad ( $2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 583 nm), b) pulsos de luz actínica de alta intensidad ( $5000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), c) luz actínica blanca continua de 300-600  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , d) luz roja lejana ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , de 735 nm) y un detector de fluorescencia que registra solamente la fluorescencia emitida en la frecuencia y la fase de luz modulada. La hoja se expone a la luz modulada de baja intensidad para determinar  $F_o$ , luego se sobrepone un pulso de luz de alta intensidad para determinar  $F_m$ . El parámetro que fue utilizado para evaluar la actividad fotoquímica fue la eficiencia cuántica potencial [ $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$ ] (Genty et al. 1989). Este parámetro fue medido a lo largo de todo el experimento (0, 7, 30, 60, 120 y 180 días) ya que nos sirvió para verificar si esta ocurriendo fotoinhibición crónica en las especies estudiadas.

#### 4.4.2 Propiedades morfológicas y anatómicas de las hojas

Se determinó el área foliar específica para los 0, 60, 120 y 180 días, calculando dicha área en hojas completamente expandidas ( $n= 3$  hojas por especie/tratamiento). Se determinó el área foliar inmediatamente después que fueron cortadas de la planta para evitar cambios en su tamaño debido a la deshidratación. Cada hoja fue escaneada mediante un integrador de área foliar (Área Meter, mod. LI- 3100) obteniéndose valores en  $\text{cm}^2$ . Posteriormente las hojas se colocaron en la estufa durante 72 horas a  $57^\circ\text{C}$  y se determinó el peso seco foliar (g) con una balanza electrónica de precisión. El área foliar específico (AFE) resultó de dividir el área foliar ( $\text{cm}^2$ ) entre el peso seco foliar (g).

#### 4.4.3 Propiedades ópticas de las hojas

Se midieron los parámetros ópticos para los 0, 30, 60 y 180 días ( $n =3$  hojas por especie/tratamiento) usando una esfera de integración (Li-Cor 1800-12), con la cual se determinaron los porcentajes de reflectancia y transmitancia de las hojas con las siguientes ecuaciones:

$$\text{Reflectancia: } \frac{(I_s - I_d) * R_r}{(I_r - I_d)} \qquad \text{Transmitancia: } \frac{I_s * R_r}{I_r}$$

Por último la absorbancia fue calculada como:  
*Absorbancia= (1-reflectancia-transmitancia).*

#### 4.4.4 Contenido de nitrógeno y clorofila foliar

Con el material foliar correspondiente a los individuos juveniles de las especies estudiadas y colocadas en los tres tratamientos de luminosidad (20%, 65% y 100%), se realizaron determinaciones del contenido de nitrógeno total durante el transcurso del experimento (0, 120 y 180 días) para lo cual se utilizó el método de Kjeldahl, que comprende tres etapas: digestión, destilación y titulación con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (Acevedo, 1994).

Las cantidades medidas se expresan en mg de nitrógeno total/g de peso seco de muestra, posteriormente fueron expresados estos resultados por unidad de área foliar ( $\text{mmol/m}^2$ ).

1. Etapa de digestión: en este primer paso se colocó la muestra en contacto con la solución digestora más calor, para que ocurriera la descomposición (oxidación) de la materia orgánica y la transformación del nitrógeno en sulfato de amonio.

2. Etapa de destilación: es la etapa donde se produce la liberación del amoníaco que está en la sal de sulfato de amonio. Para que esto ocurra es necesario neutralizar el medio ácido usando una base fuerte como hidróxido de sodio.

3. Etapa de titulación: la medición del nitrógeno de la muestra se obtiene realizando una titulación de destilado, con ácido sulfúrico diluido con la finalidad de restablecer el pH original del ácido bórico (5,31). El volumen de ácido sulfúrico utilizado es el dato empleado para calcular los miligramos de nitrógeno existentes en la muestra.

Para determinar el contenido de clorofila se siguió la metodología propuesta por Arnon (1949). Se cortaron discos cerca de la nervadura media de las hojas de 0,5 cm<sup>2</sup> hasta alcanzar una cantidad de material de aproximadamente 25 mg (cinco a seis discos para *A. triplinervia* y *T. rubrivenium*) y (12 a 15 discos para *M. acuminata*). Los discos fueron colocados en acetona al 80% (v/v), luego de haber homogenizado los tejidos a través de la maceración con la ayuda de un mortero de cerámica, se procedió a filtrar el material extraído y luego se enrasó hasta 25 ml con acetona al 80% en matraces aforados. Una vez terminado el filtrado se procedió a determinar la densidad óptica de la sustancia utilizando un espectrofotómetro (Spectronic 20 Milton Roy) en dos longitudes de ondas distintas 645nm y 663 nm. Para determinar las concentraciones de clorofila se utilizaron las ecuaciones desarrolladas por Arnon (1949).

Las ecuaciones utilizadas para calcular el contenido de clorofila (mg/litro) son:

$$Ct = 20.2 D645 + 8.02 D663$$

$$Ca = 12.7 D663 - 2.69 D645$$

$$Cb = 22.0 D645 - 4.68 D663$$

Donde: Ct, Ca, y Cb son el contenido de clorofila total, a y b en mg/litro respectivamente, y D son los valores de absorbancia a las respectivas longitudes de onda obtenidas en el espectrofotómetro. Posteriormente obteniendo los valores de clorofila fue necesario expresar estos valores en mg/g de peso seco utilizando el peso seco de las hojas (discos) del mismo tamaño que los utilizados para la extracción. Por último, todos estos valores fueron expresados por unidad de área foliar ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ ).

#### 4.4.5 Anatomía foliar

Se tomaron mediciones de algunas características morfológicas y anatómicas con las muestras del material foliar de las tres especies durante los 0 y 120 días en los distintos tratamientos de disponibilidad de luz.

Se realizaron cortes a mano alzada y se utilizó el método de tinción simple, utilizando safranina 7:3 y (Alciam blue 0,5% + Acido tartico 1%) como colorante. Las muestras se fijaron en solución de Glicerina 3:1 y Alcohol 70%.

Se realizaron cortes transversales con una hojilla, tomando muestras de la parte media de la lámina. Posteriormente fueron aclarados en solución de cloro comercial por 8 min, se colocaron en ácido acético al 10% por 1 min, luego en alcohol etílico al 30% por 1 min y teñidos con safranina + alciam blue por 15 min. En cada uno de los procedimientos realizados fue necesario posteriormente ser lavados con agua. Las observaciones fueron realizadas con un microscopio óptico (Modelo LEICA CME). Las observaciones del espesor de la lámina foliar fueron hechas con objetivo 40 x 10 x 1,25.

Para la determinación de la densidad de estomas se tomaron impresiones tanto de la cara adaxial como abaxial en una hoja por cada especie-tratamiento-tiempo. El método consistió en la aplicación de barniz para uñas transparente en ambas caras de la hoja, después que el barniz se secó (aproximadamente 90 s), la capa del barniz fue removida con cinta transparente y montada en un

portaobjeto. Una vez obtenida la impresión, se usó el microscopio (Modelo LEICA CME). Se utilizó un objetivo de 40x para contar el número de estomas por campo y se calculó la densidad por mm<sup>2</sup>.

## **5. ANÁLISIS DE LOS DATOS**

Para analizar las diferencias entre los promedios de las diferentes variables ecofisiológicas medidas en los distintos tratamientos de luz en los períodos de tiempo, se utilizó un análisis de varianza (dos vías); pruebas a  $P < 0.05$  (PRIMER 6.1.15 & PERMANOVA 1.0.5 software).

Factor 1: Radiación (Fijo con 3 niveles: 20 %, 65 %, 100 % de luz)

Factor 2: Tiempo (Fijo con 6 niveles: 0,7, 30, 60, 120 y 180 días)

Debido al bajo número de réplicas utilizadas ( $n = 3$ ), en algunos casos hubo una alta variabilidad que se evidencia en el error estándar, por lo cual se consideraron como diferencias significativas estadísticamente ( $P < 0,098$ ) para resaltar el sentido biológico de lo que está sucediendo en el experimento.

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Caracterización microambiental de los umbráculos

Se obtuvieron resultados del Flujo de Fotones Fotosintéticos (FFF) y temperatura dentro de cada umbráculo que se utilizó para el experimento de régimen de luz. Para el umbráculo de 20% el valor máximo de FFF se alcanzó entre las 11:00 am y 12:00 pm con  $250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  con una temperatura de  $19.7 \text{ }^\circ\text{C}$ . En el caso del umbráculo de 65% el valor máximo de FFF y temperatura se alcanzó alrededor de los 12:00 pm con  $590 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y  $20,4 \text{ }^\circ\text{C}$ . Por último, en plena exposición solar también se aprecia los valores máximos de FFF y temperatura a las 12:00 pm alcanzando un aproximado de  $1190 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y  $17,4 \text{ }^\circ\text{C}$ .

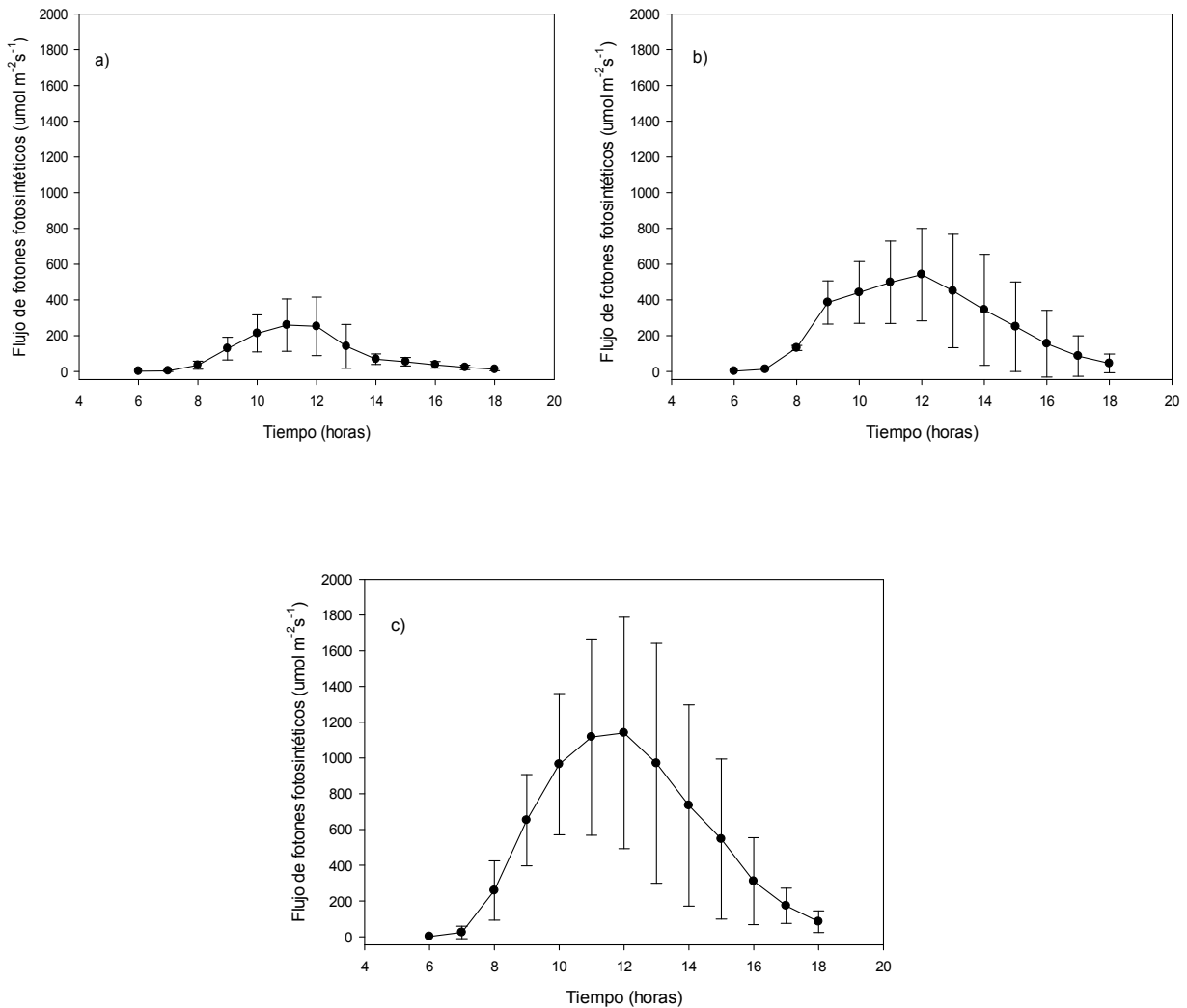


Figura 1. Curso del Flujo de Fotones Fotosintéticos (FFF) dentro de cada umbráculo y a plena exposición solar para el período octubre 2014-Marzo 2015. a) FFF umbráculo de 20% b) FFF umbráculo de 65%, c) FFF a plena exposición solar. Las barras verticales representan los errores estándar.

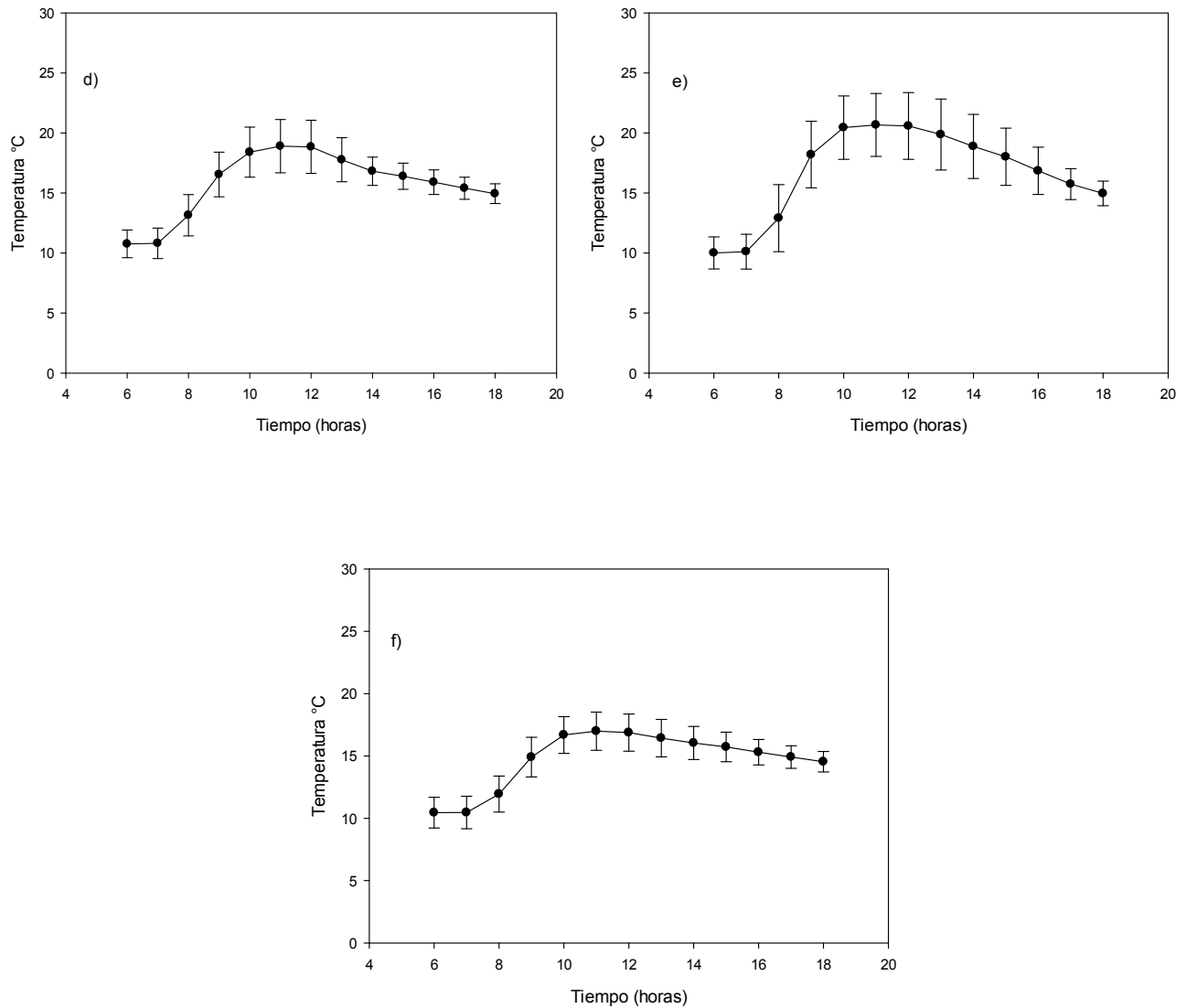


Figura 2. Temperatura dentro de cada umbráculo y a plena exposición solar para el período octubre 2014-marzo 2015. d) Temperatura en umbráculo 20%, e) Temperatura en umbráculo 65%, f) Temperatura a plena exposición solar. Las barras verticales representan los errores estándar.

## 6.2 Eficiencia cuántica máxima del PSII (Fv/Fm)

La eficiencia cuántica máxima (Fv/Fm) para la especie *Myrcia acuminata* (Figura 3) presentó variación entre los tratamientos de intensidad lumínica. Hubo diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en los primeros días de la medición (7, 30 y 60 días). En el 7mo día se aprecia como es la caída drástica del (Fv/Fm), donde los valores disminuyen en los tratamientos de plena exposición 100% y 65% al compararlo con el control (0,546, 0,601 y 0,741, respectivamente). A los 180 días no hubo diferencias entre los tratamientos.

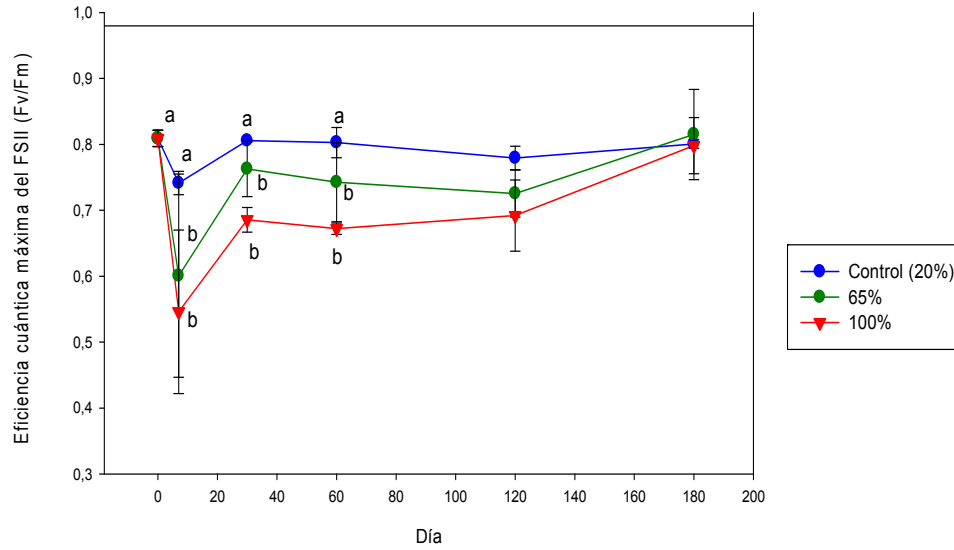


Figura 3. Eficiencia cuántica máxima del FSII (Fv/Fm) de *Myrcia acuminata*. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Barras verticales indican errores estándar.

Para la especie *Alchornea triplinervia* la eficiencia cuántica máxima (Fv/Fm) (Figura 4) presentó diferencias significativas ( $p < 0,098$ ) entre los tratamientos de intensidad lumínica. Es evidente la caída de (Fv/Fm) a los 7 días mostrando diferencias para el tratamiento de plena exposición solar 100% con respecto con el control (0,646 y 0,835, respectivamente), en comparación con el 65% donde los valores son muy similares al control (0,789 y 0,835, respectivamente). A los 60 días existe diferencias entre control y 100% (0,801 y 0,745, respectivamente). Por último a los 180 días no hubo diferencias entre los tratamientos.

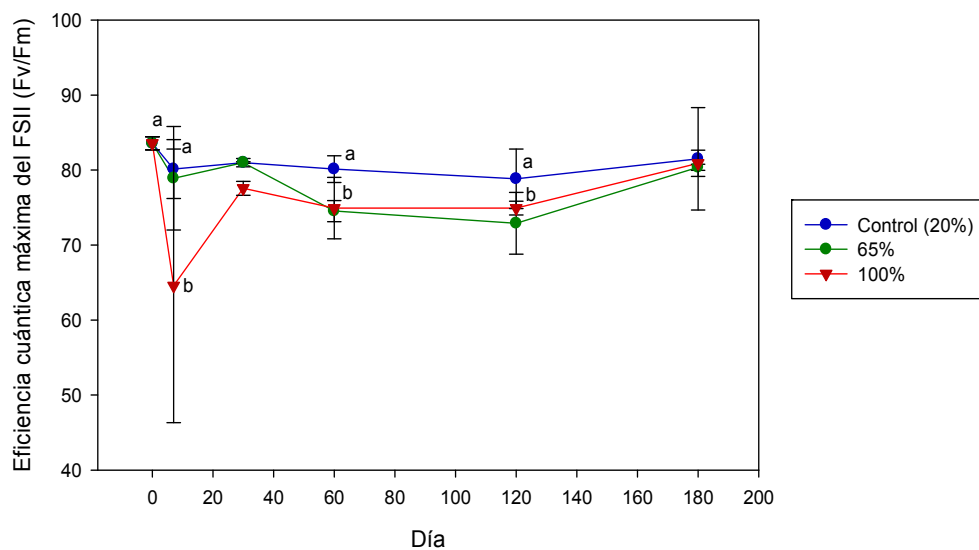


Figura 4. Eficiencia cuántica máxima del FSII (Fv/Fm) de *Alchornea triplinervia*. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,098$ ). Barras verticales indican errores estándar.

En cuanto a la eficiencia cuántica máxima (Fv/Fm), *Tetrorchidium rubrivenium* (Figura 5) presentó diferencias significativas ( $p < 0,098$ ) entre los tratamientos de intensidad lumínica a lo largo de la medición. En comparación con *M. acuminata* y *A. triplinervia* los valores más bajos de Fv/Fm se obtuvieron a los 30 días con diferencias significativas, donde el tratamiento de plena exposición disminuyó en comparación con el control (0,647 y 0,793, respectivamente), de la misma manera ocurre a los 60 días para estos mismos tratamientos (control y 100%). A los 180 días no hubo diferencias para ninguno de los tratamientos.

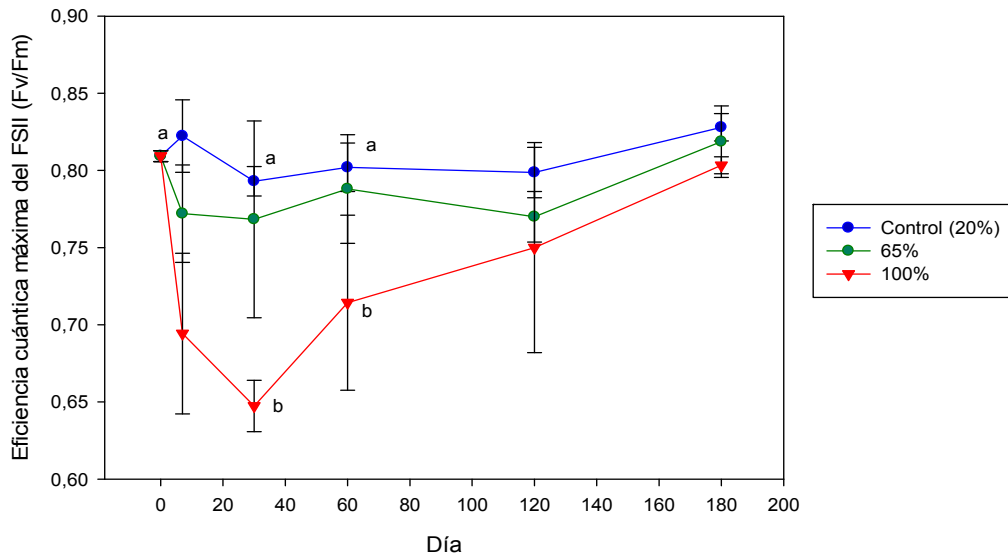


Figura 5. Eficiencia cuántica máxima del FSII (Fv/Fm) de *Tetrorchidium rubrivenium*. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,098$ ). Barras verticales indican errores estándar.

### 6.3 Propiedades morfológicas y anatómicas de las hojas

En relación al área foliar específica promedio de *Myrcia acuminata* (Figura 6), no se registraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) para los tratamientos de diferente intensidad lumínica a lo largo de la medición. Se observa una disminución a los 60 días (corto plazo) al pasarlas a plena exposición 100% y 65% de luz cuando son comparadas con el control ( $101,32 \text{ cm}^2\text{g}^{-1}$ ,  $110,99 \text{ cm}^2\text{g}^{-1}$  y  $129,36 \text{ cm}^2\text{g}^{-1}$ , respectivamente). A los 180 días en hojas nuevas formadas en el tratamiento, se observa una reducción del AFE para el tratamiento 65% con respecto al control ( $112,15 \text{ cm}^2\text{g}^{-1}$  y  $131,93 \text{ cm}^2\text{g}^{-1}$ ). De manera general *M. acuminata* presenta los valores más bajos en cuanto a AFE.



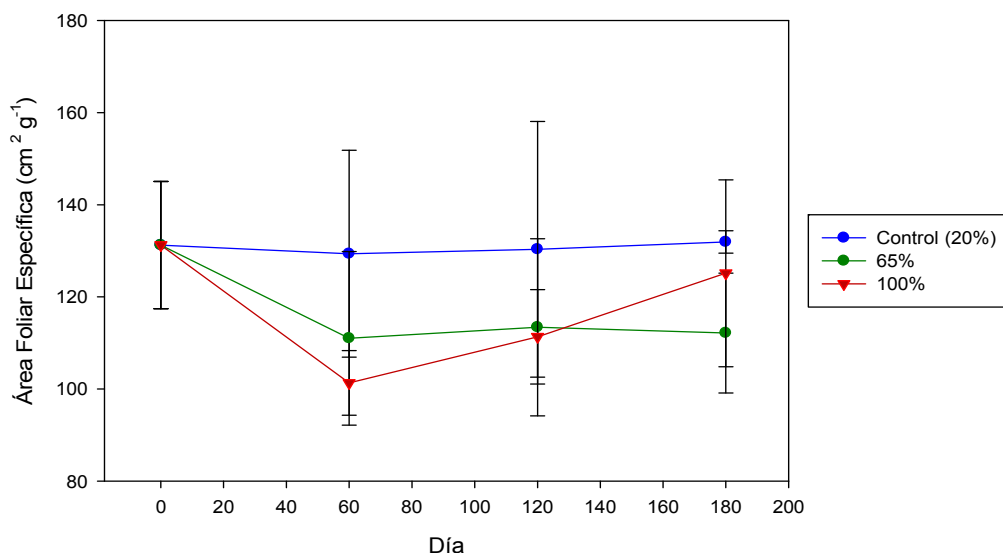


Figura 6. Área foliar específica de *Myrcia acuminata*. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Barras verticales indican errores estándar.

Para el caso de *Alchornea triplinervia* (Figura 7), el área foliar específica promedio no registra diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los tratamientos a las distintas intensidad lumínica a lo largo de las mediciones. Se observa una disminución a los 60 días (corto plazo) para el tratamiento de plena exposición 100% y poca para el tratamiento 65% en comparación con el control (130,47  $\text{cm}^2\text{g}^{-1}$ , 165,71  $\text{cm}^2\text{g}^{-1}$  y 175,08  $\text{cm}^2\text{g}^{-1}$ , respectivamente). A los 180 días no hubo diferencias entre los tratamientos.

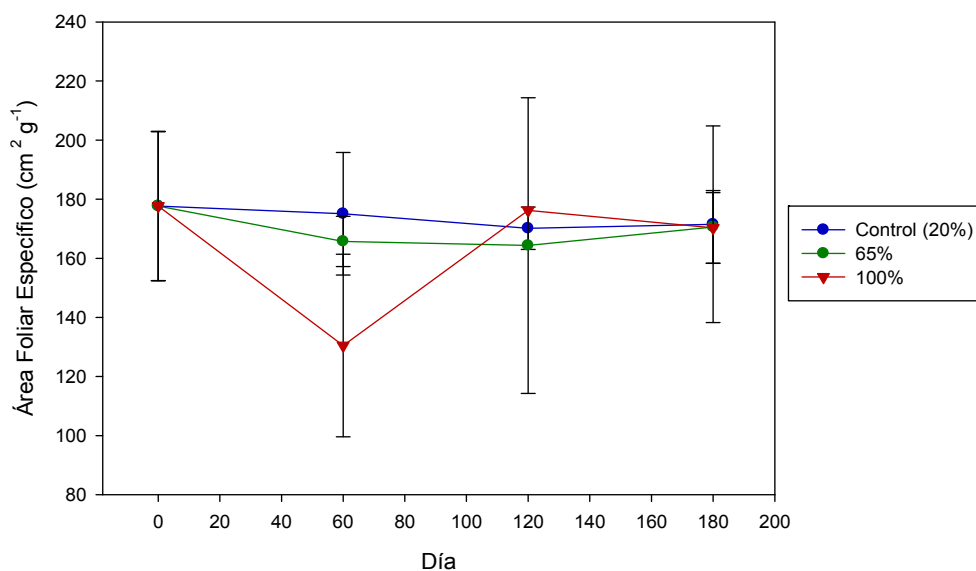


Figura 7. Área foliar específica de *Alchornea triplinervia*. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Barras verticales indican errores estándar.

*Tetrorchidium rubrivenium* presentó diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en el área foliar específica (Figura 8) para los tratamientos que recibieron mayor intensidad lumínica en comparación con el control a lo largo de las mediciones (60, 120 y 180 días). Se observó una reducción significativa del AFE en las hojas que se formaron a los 180 días en el tratamiento de plena exposición al compararla con el control ( $173,96 \text{ cm}^2\text{g}^{-1}$  y  $223,76 \text{ cm}^2\text{g}^{-1}$ , respectivamente), también se observó que el tratamiento de 65% a los 180 días obtuvo valores mayores que el control ( $237,03 \text{ cm}^2\text{g}^{-1}$  y  $223,76 \text{ cm}^2\text{g}^{-1}$ , respectivamente). *T. rubrivenium* mostró valores mayores de AFE en comparación a *M. acuminata* y *A. triplinervia*.

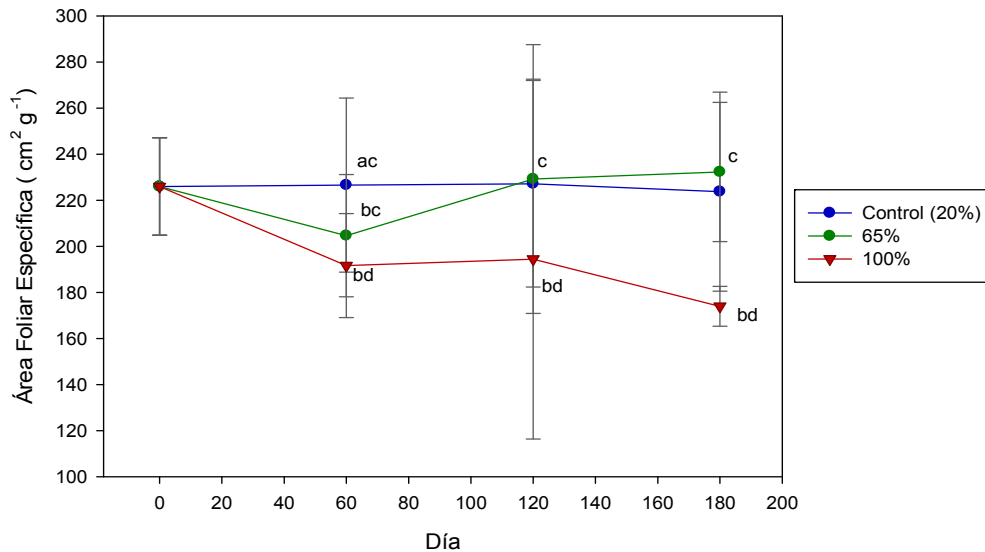


Figura 8. Área foliar específica de *Tetrorchidium rubrivenium*. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Barras verticales indican errores estándar.

#### 6.4 Propiedades ópticas de las hojas

En cuanto a las propiedades espectrales en *Myrcia acuminata* específicamente los valores promedios de absorbancia (Figura 9), se observó diferencias significativas ( $p < 0,098$ ). El tratamiento de 65% disminuyó a lo largo de todo el tiempo de medición con diferencias significativas a los 180 días (81,86%) con respecto al control (87,43%). Por último, para el tratamiento de plena intensidad lumínica (100%), la absorbancia aumentó al finalizar el experimento pasando de (83,48%, en los 60 días) a (86,59%, a los 180 días), donde se aproxima a los valores del control.

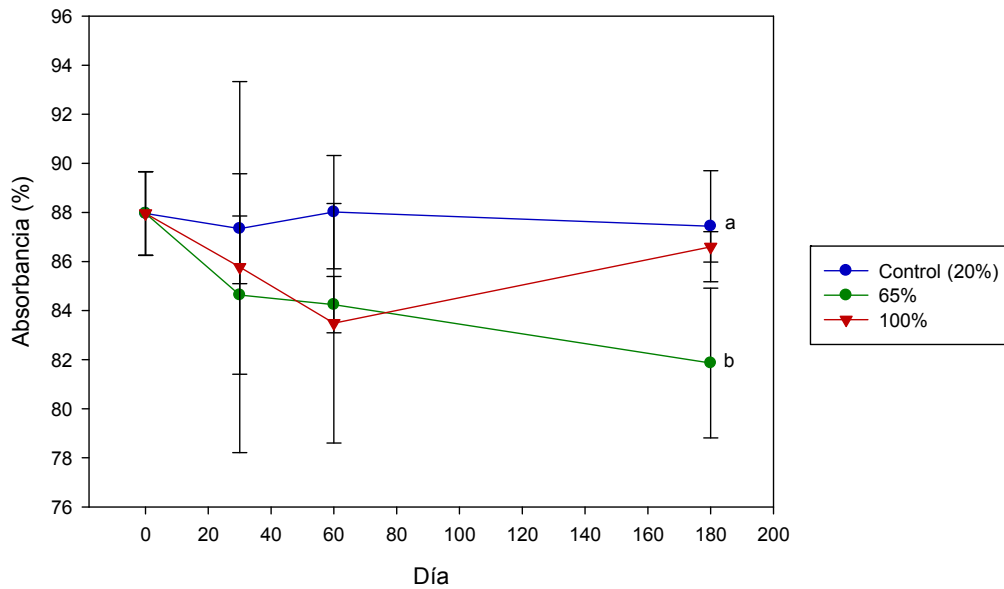


Figura 9. Absorbancia en porcentaje para *Myrcia acuminata*. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,098$ ). Barras verticales indican errores estándar.

En *Alchornea triplinervia* la absorbancia (Figura 10) los valores promedios se encontró diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,098$ ) entre los tratamientos a lo largo de la medición. Para los 60 días observamos diferencias en el tratamiento de 65% con respecto al control (79,17% y 87,70%, respectivamente), al comparar el tratamiento de 100% con el control se aprecia una disminución (78,18% y 87,70%, respectivamente), aunque sin diferencias significativas. A los 180 días hubo diferencias en los tiempos entre los tratamientos 65% y 100% los días (0-60, 0-180 y 0,30-0,60, 0-180, respectivamente).

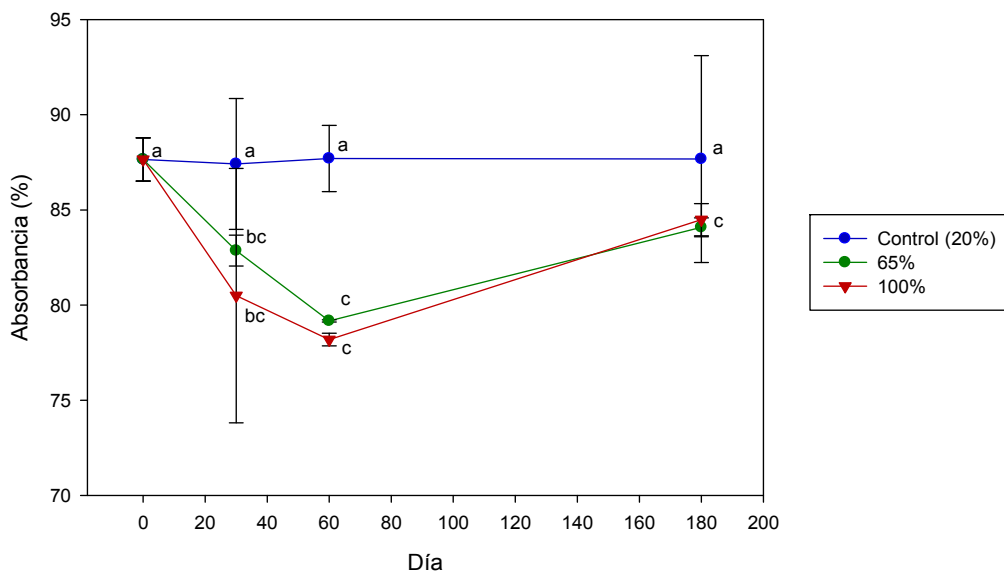


Figura 10. Absorbancia en porcentaje para *Alchornea triplinervia*. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,098$ ). Barras verticales indican errores estándar.

La absorbancia de *Tetrorchidium rubrivenium* (Figura 11) se encontró que hubo diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), para los tratamientos que recibieron mayor intensidad lumínica en comparación con el control, en los primeros días de la medición (30 y 60 días). Donde la absorbancia tiende a disminuir a los 30 días en el tratamiento de 65% con un valor promedio (79,42%) mientras para el tratamiento de 100% esta disminución llega hasta los 60 días con un valor promedio (76,17%). Posteriormente las absorbancia de las hojas medidas entre los distintos tratamientos tienden a aumentar hasta a ver finalizado el experimento (180 días), donde dichos valores promedio no muestran diferencias significativas, obteniéndose valores muy similares al control (20%). Sin embargo para el tratamiento de plena exposición existe diferencias significativas entre los tiempos 60 y 180 días.

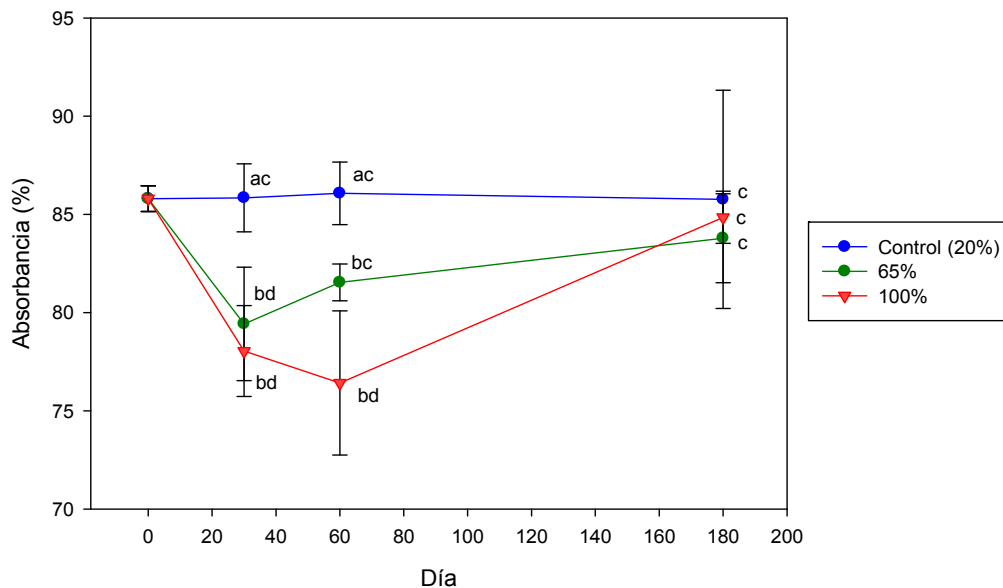


Figura 11. Absorbancia en porcentaje para *Tetrorchidium rubrivenium*. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Barras verticales indican errores estándar.

## 6.5 Contenido de nitrógeno y clorofila foliar

En cuanto al contenido de nitrógeno por unidad de peso foliar ( $\text{mg/g}$ ) de *Myrcia acuminata* (Figura 12), se observaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) para los tratamientos que recibieron mayor intensidad lumínica en comparación con el control. A los 120 días se observaron diferencias significativas en el control y 100% en comparación con el tratamiento de 65% ( $14,75 \text{ mg g}^{-1}$ ,  $14,37 \text{ mg g}^{-1}$  y  $9,96 \text{ mg g}^{-1}$ , respectivamente). A los 180 días se observó en el tratamiento de 65% sigue presentando el menor valor promedio de nitrógeno foliar en los 180 días ( $10,83 \text{ mg g}^{-1}$ ), mientras para el tratamiento de 100% esta presenta mayor contenido de nitrógeno ( $15,52 \text{ mg g}^{-1}$ ). *M. acuminata* presenta los valores más bajos de concentración de nitrógeno total por unidad de peso foliar ( $\text{mg/g}$ ) al compararla con *A. triplinervia* y *T. rubrivenium*.

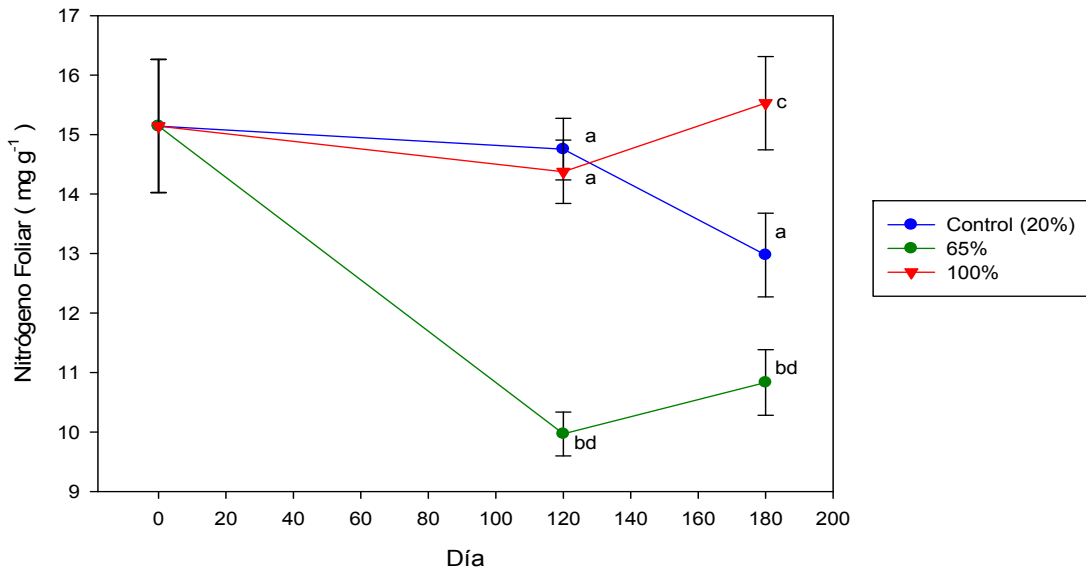


Figura 12. Contenido de nitrógeno por unidad de peso foliar ( $\text{mg/g}$ ) de *Myrcia acuminata*. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Barras verticales indican errores estándar.

En cuanto al contenido de nitrógeno promedio por unidad área foliar ( $\text{mmol/m}^2$ ) de *Myrcia acuminata* (Figura 13), se observó diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), entre los tratamientos de intensidad lumínica, donde se aprecia un aumento significativo (tendencia contraria a la encontrada para la clorofila) en hojas formadas a los 180 días a mayor intensidad de luz en el tratamiento de plena exposición 100% en comparación con el control ( $89,15 \text{ mmol/m}^2$  y  $70,20 \text{ mmol/m}^2$ , respectivamente). En contraste el tratamiento de 65% presentó los valores más bajos a los 120 días ( $64,26 \text{ mmol/m}^2$ ), aunque finalizado el experimento a los 180 días tiende a tener valores muy similares al control ( $69,42 \text{ mmol/m}^2$  y  $70,20 \text{ mmol/m}^2$  respectivamente). *M. acuminata* presenta los valores más bajos de concentración de nitrógeno total por unidad de área foliar ( $\text{mmol/m}^2$ ) al compararlas con *A. triplinervia* y *T. rubrivenium*.

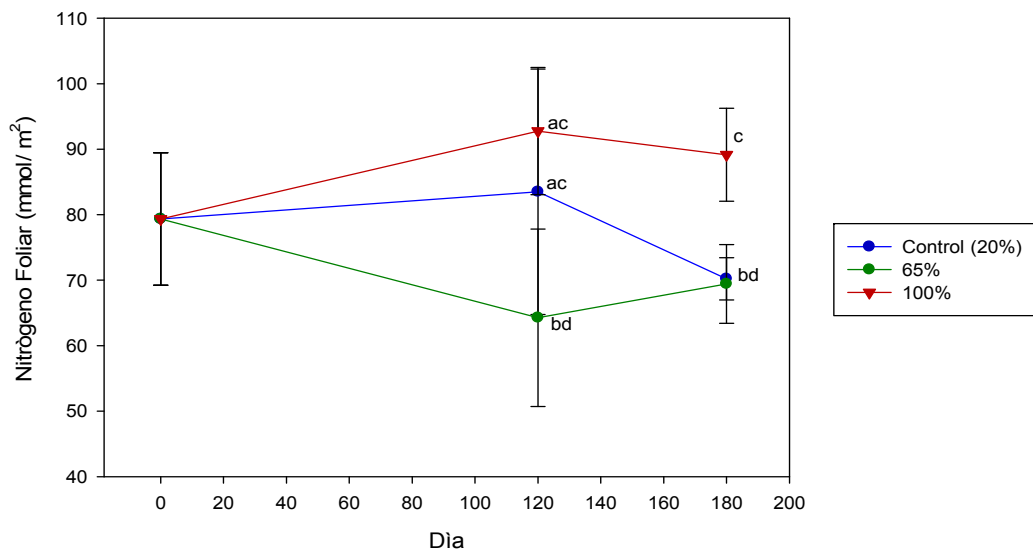


Figura 13. Contenido de nitrógeno por unidad de área foliar ( $\text{mmol/m}^2$ ) de *Myrcia acuminata*. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Barras verticales indican errores estándar.

Para *Alchornea triplinervia* el contenido de nitrógeno por unidad de peso foliar (mg/g) (Figura 14), alcanzo valores promedios mas altos en los tratamientos de mayor intensidad lumínica (100% y 65%) respectivamente, observándose un aumento significativo ( $p < 0,05$ ) en el tratamiento de 100% con respecto al control y 65% a los 120 días (24,10 mg g<sup>-1</sup> y 18,84 mg g<sup>-1</sup> y 19,73 mg g<sup>-1</sup>). A los 180 días hubo diferencias significativas en el tratamiento de 100% y 65% con respecto al control.

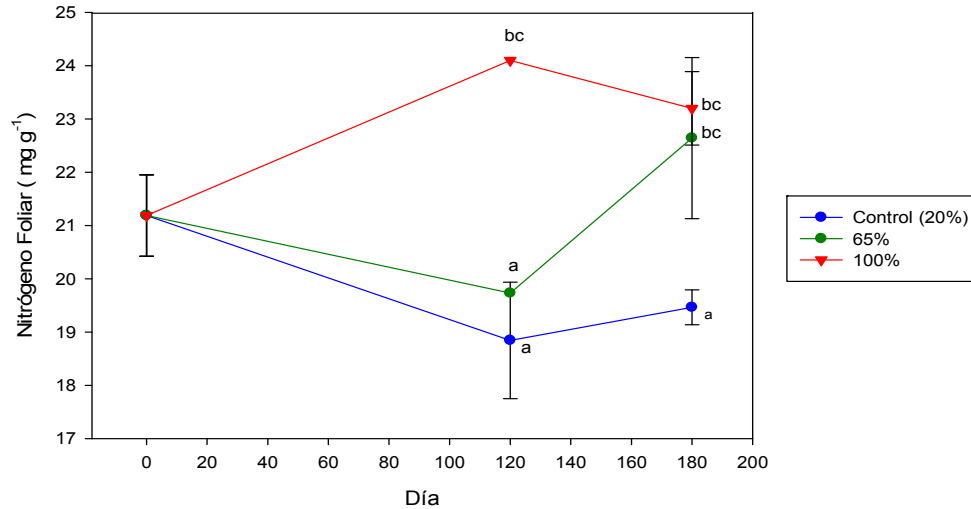


Figura 14. Contenido de nitrógeno por unidad de peso foliar (mg/g) de *Alchornea triplinervia*. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Barras verticales indican errores estándar.

Para *Alchornea triplinervia* el contenido de nitrógeno por unidad de área foliar (mmol/m<sup>2</sup>) (Figura 15), alcanzo valores promedios mas altos en los tratamientos de mayor intensidad lumínica a lo largo de la medición, obteniéndose diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en cada uno de los tratamientos a los 120 días (79,19 mmol/m<sup>2</sup>, 88,52mmol/m<sup>2</sup> y 97,64mmol/m<sup>2</sup>, para los tratamientos control, 65 y 100%, respectivamente). A 180 días se encontró diferencias significativas en los tratamientos de plena exposición 100% y 65% en comparación con el control a los (97,71 mmol/m<sup>2</sup>, 94,76 mmol/m<sup>2</sup> y 82,16 mmol/m<sup>2</sup>, respectivamente), donde eran hojas formadas en el nuevo ambiente de luz.

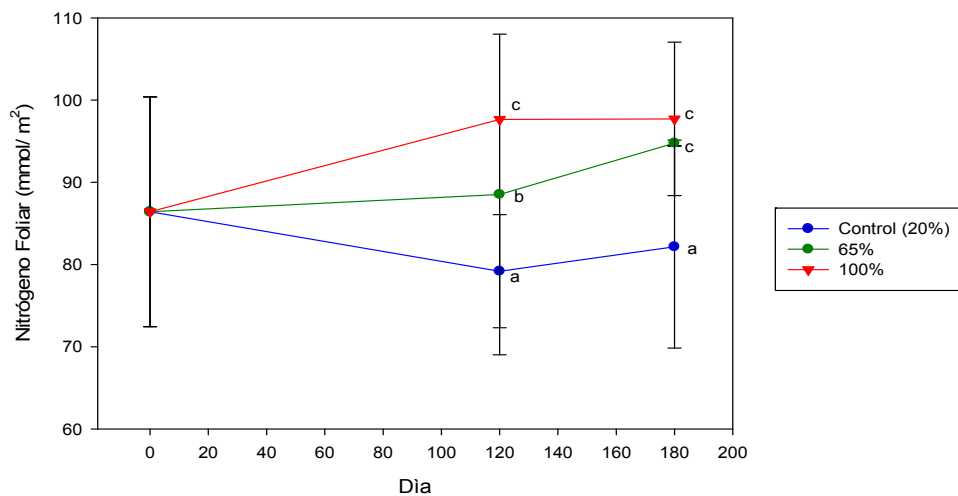


Figura 15. Contenido de nitrógeno por unidad de área foliar (mmol/m<sup>2</sup>) de *Alchornea triplinervia*. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Barras verticales indican errores estándar.

Los valores promedios del contenido de nitrógeno por unidad de peso foliar (mg/g) en *Tetrorchidium rubrivenium* (Figura 16), presento diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los tratamientos de intensidad lumínica a lo largo de la medición. A los 120 días los tratamientos de control y 65% presentan diferencias significativas en cuanto al tratamiento de plena exposición. A los 180 se aprecia el aumento de la concentración de nitrógeno por unidad de peso foliar (mg/g) para los tratamientos de 100% y 65% en comparación con el control ( $37,14 \text{ mg g}^{-1}$ ,  $35,47 \text{ mg g}^{-1}$  y  $30,85 \text{ mg g}^{-1}$  respectivamente). Observamos como el tratamiento de 65% hubo diferencias significativas entre los tiempos (120 y 180 días).

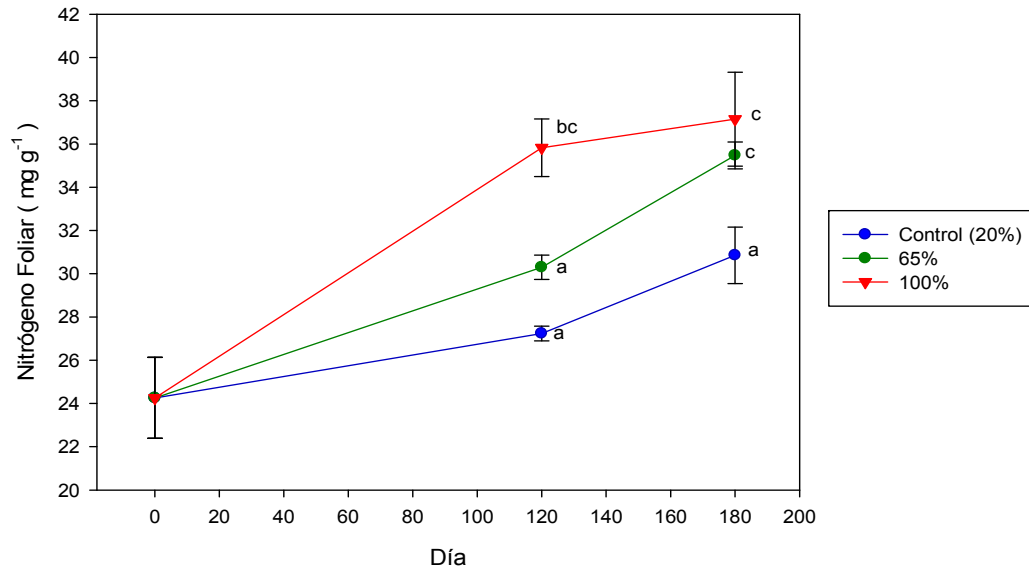


Figura 16. Contenido de nitrógeno por unidad de peso foliar (mg/g) de *Tetrorchidium rubrivenium*. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Barras verticales indican errores estándar.

Los valores promedios del contenido de nitrógeno por unidad de área foliar ( $\text{mmol/m}^2$ ) en *Tetrorchidium rubrivenium* (Figura 17), presento diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), para el tratamiento de plena exposición solar (100%) con respecto al control y 65%. A los 180 días se observa como alcanza los valores mas altos de concentración de nitrógeno en el tratamiento de plena exposición al compararlo con el control y 65% ( $152,42 \text{ mmol/m}^2$  y  $100,02 \text{ mmol/m}^2$  y  $107,73 \text{ mmol/m}^2$ , respectivamente), donde eran hojas formadas en el nuevo ambiente de luz. *T. rubrivenium* presento los valores mas elevados en cuanto concentración de nitrógeno total por unidad de área foliar ( $\text{mmol/m}^2$ ) al compararlas con *M. acuminata* y *A. triplinervia*, mostrando características típicas de especies pioneras de sol.

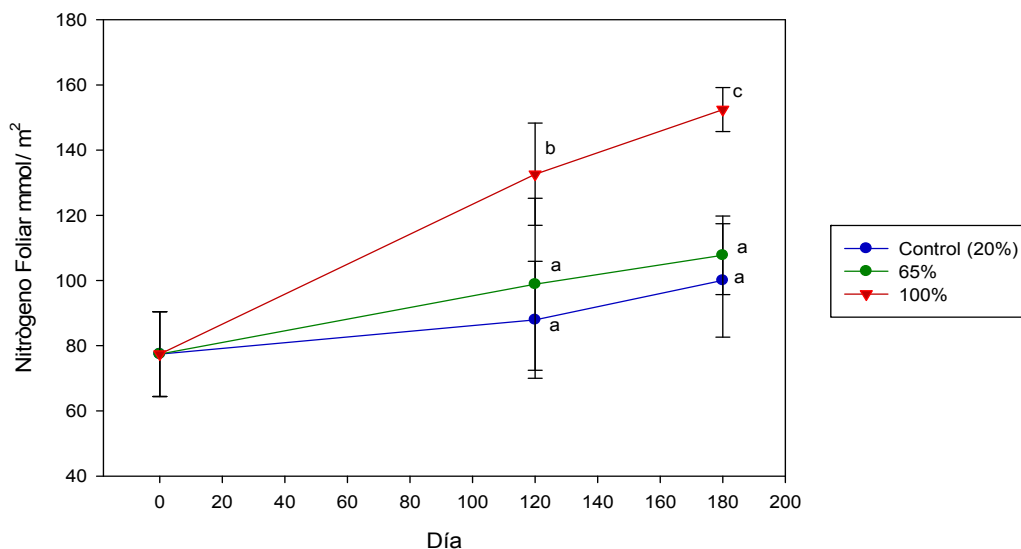


Figura 17. Contenido de nitrógeno por unidad de área foliar ( $\text{mmol/m}^2$ ) de *Tetrorchidium rubrivenium*. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Barras verticales indican errores estándar.

En el contenido de clorofila total promedio de *Myrcia acuminata* (Figura 18 y 19), no presentaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los tratamientos a lo largo de la medición. En cuanto a la concentración de clorofila medida en ( $\text{mg/g}$ ) se observa los valores mas altos para el control ( $5,67 \text{ mg/g}$  a los 180 días). Mientras en los tratamientos de mayor intensidad lumínica es decir 65% y plena exposición 100% a los 180 días se obtuvo los valores mas bajos ( $3,05 \text{ mg/g}$  y  $2,46 \text{ mg/g}$ , respectivamente). Al comparar los resultados de clorofila por unidad de área foliar ( $\mu\text{mol/m}^2$ ) se aprecia el mismo comportamiento obteniéndose los valores mas elevados para el control, 65% y plena exposición 100% ( $475,05 \mu\text{mol/m}^2$ ,  $306,89 \mu\text{mol/m}^2$  y  $215,06 \mu\text{mol/m}^2$  respectivamente) a los 180 días. *M. acuminata* presenta los valores mas altos en cuanto a concentración de clorofila por unidad de área foliar en comparación con *A. triplinervia* y *T. rubrivenium*.

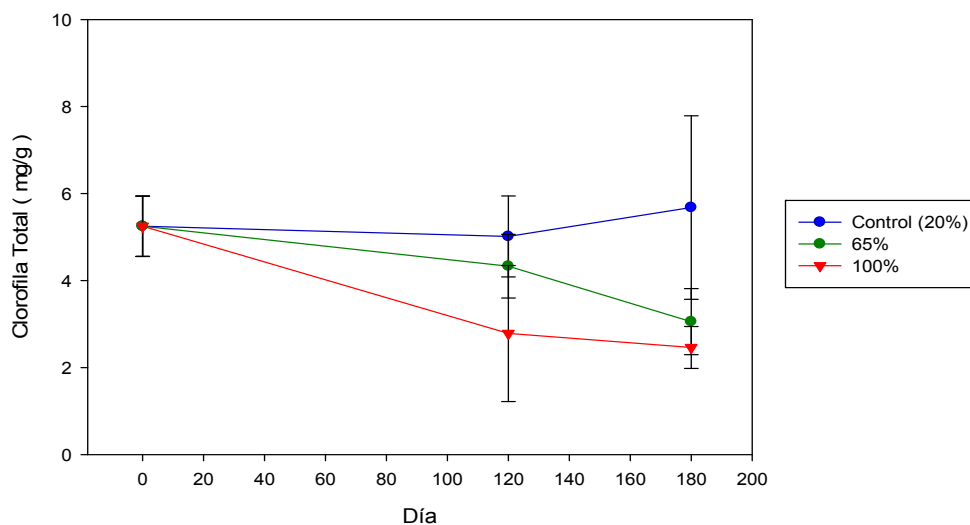


Figura 18. Contenido de clorofila total por unidad de peso foliar ( $\text{mg/g}$ ) de *Myrcia acuminata*. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,098$ ). Barras verticales indican errores estándar.



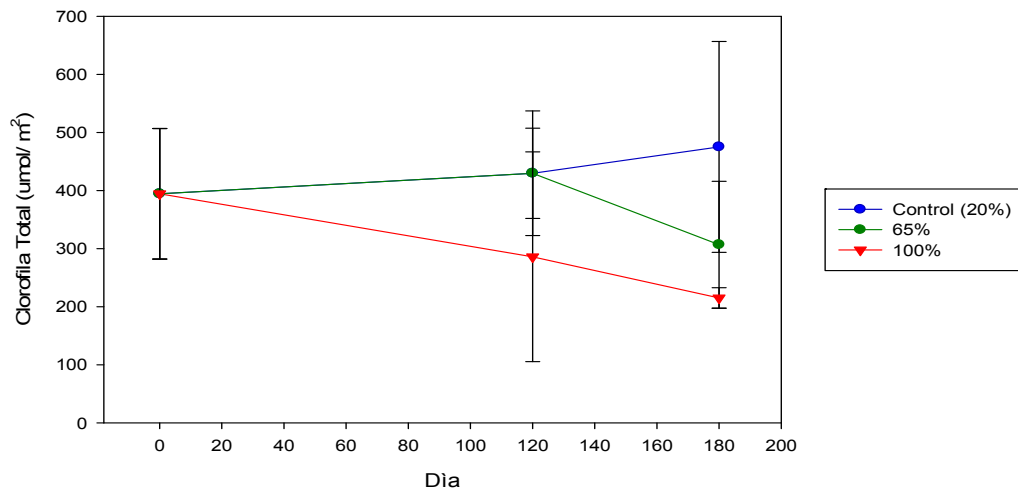


Figura 19. Contenido de clorofila total por unidad de área foliar ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ ) de *Myrcia acuminata*. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Barras verticales indican errores estándar.

Los valores promedio del contenido de clorofila total de *Alchornea triplinervia* (Figura 20 y 21) presentaron diferencias significativas ( $p < 0,098$ ) entre los tratamientos a lo largo de la medición. A los 120 días se observa valores bajos en cuanto a la concentración de clorofila ( $\text{mg}/\text{g}$ ) para el tratamiento de plena exposición 100%, 65% y control (3,69  $\text{mg}/\text{g}$ , 2,71  $\text{mg}/\text{g}$  y 2,24  $\text{mg}/\text{g}$ , respectivamente), aunque es muy importante aclarar que a los 120 días *A. triplinervia* presentaba muy pocas hojas para hacer una buena medición, es por ello que realizaron muy pocas replicas en algunos casos ( $n=1$ ) y no esta reflejando valores normal de esta especie. Sin embargo a los 180 días en los tratamientos de plena exposición 100% y 65% los resultados obtenidos fueron muy similares al control. En cuanto la concentración de clorofila por unidad de área foliar ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ ) se observaron las mismas tendencias que al expresarlas por unidad de peso ( $\text{mg}/\text{g}$ ), donde a los 120 días se observa valores bajos en cuanto a la concentración de clorofila ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ ) para el tratamiento de plena exposición 100%, 65% y control (230,44  $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ , 182,82  $\mu\text{mol}/\text{m}^2$  y 145,17  $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ , respectivamente). A los 180 días no hubo diferencias entre los tratamientos.

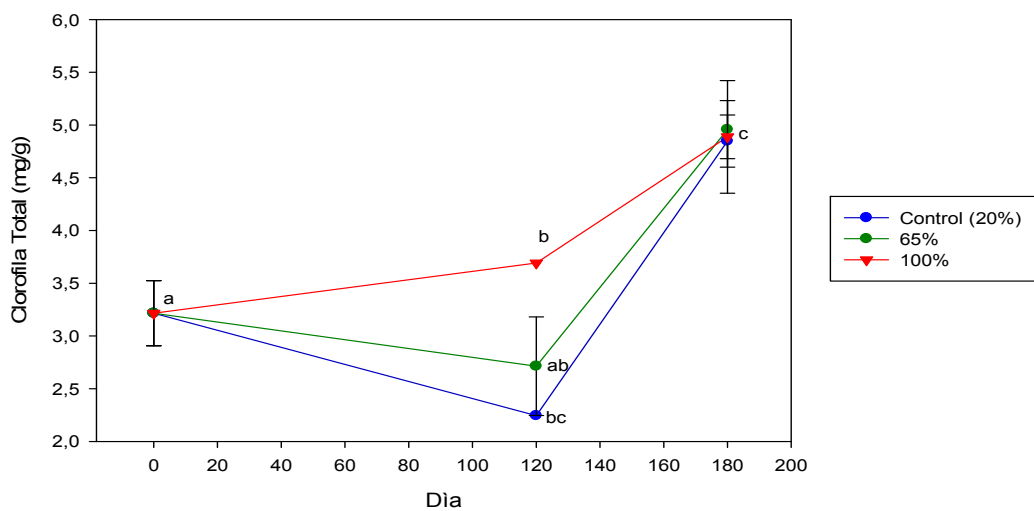


Figura 20. Contenido de clorofila total por unidad de peso foliar ( $\text{mg}/\text{g}$ ) de *Alchornea triplinervia*. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,098$ ). Barras verticales indican errores estándar.

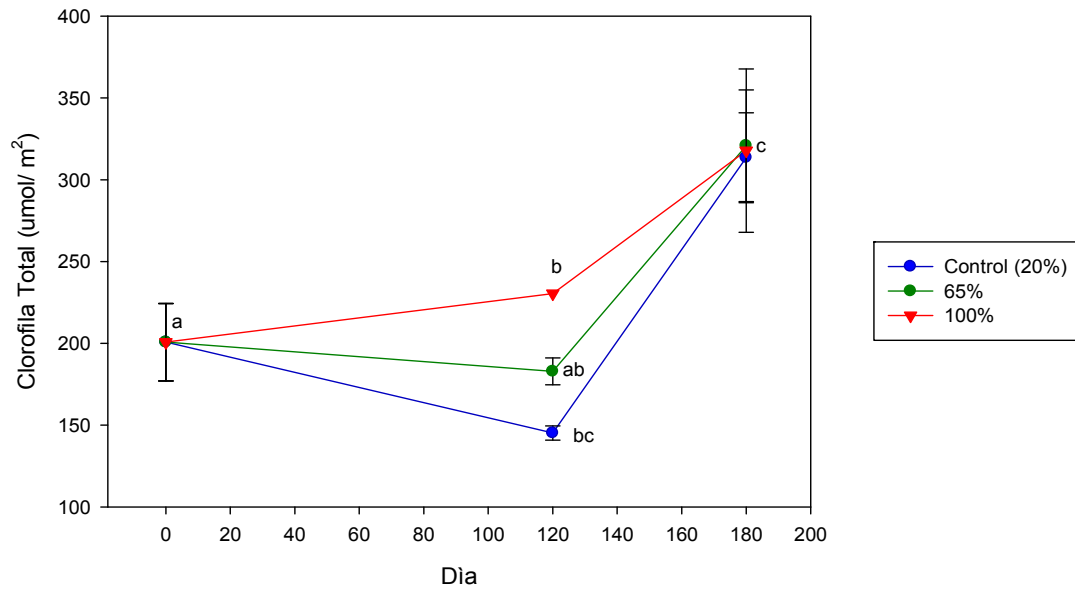


Figura 21. Contenido de clorofila total por unidad de área foliar ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ ) de *Alchornea triplinervia*. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,098$ ). Barras verticales indican errores estándar.

Para *Tetrorchidium rubrivenium* el promedio de los valores de contenido de clorofila total (Figura 22 y 23), se encontró diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,098$ ) entre los tratamientos a lo largo de la medición. A los 180 días hay diferencias significativas entre tratamiento de control y 65 con respecto a 100% (8,17 mg/g y 9,29 mg/g y 3,95 mg/g respectivamente), en cuanto a clorofila por unidad de área foliar ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ ) se obtuvieron los mismo resultados con diferencias significativas apreciándose a los 180 días para los tratamiento de 65% y control con respecto al tratamiento de 100% ( $440,84 \mu\text{mol}/\text{m}^2$  y  $406,41 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ ,  $248,45 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ ).

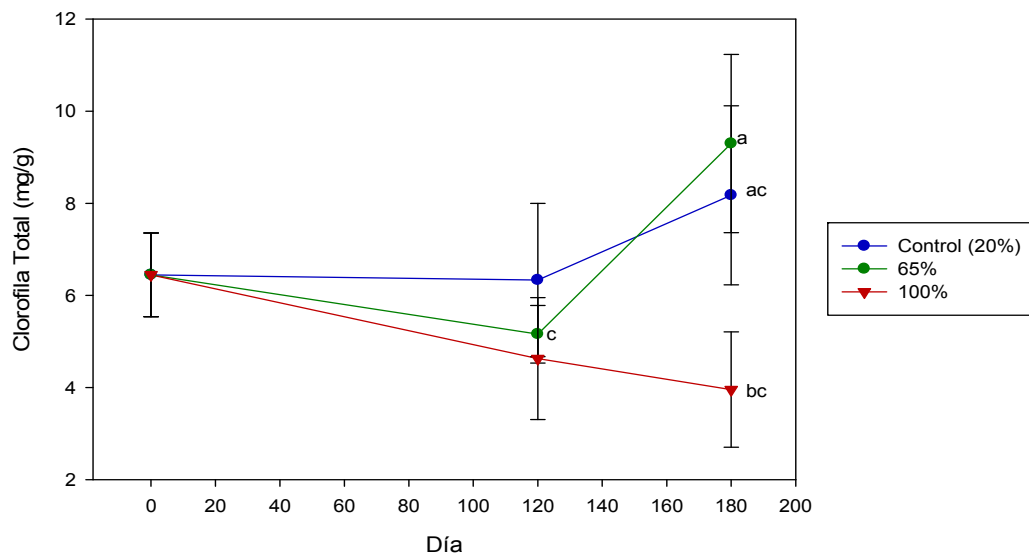


Figura 22. Contenido de clorofila total por unidad de peso foliar (mg/g) de *Tetrorchidium rubrivenium*. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,098$ ). Barras verticales indican errores estándar.

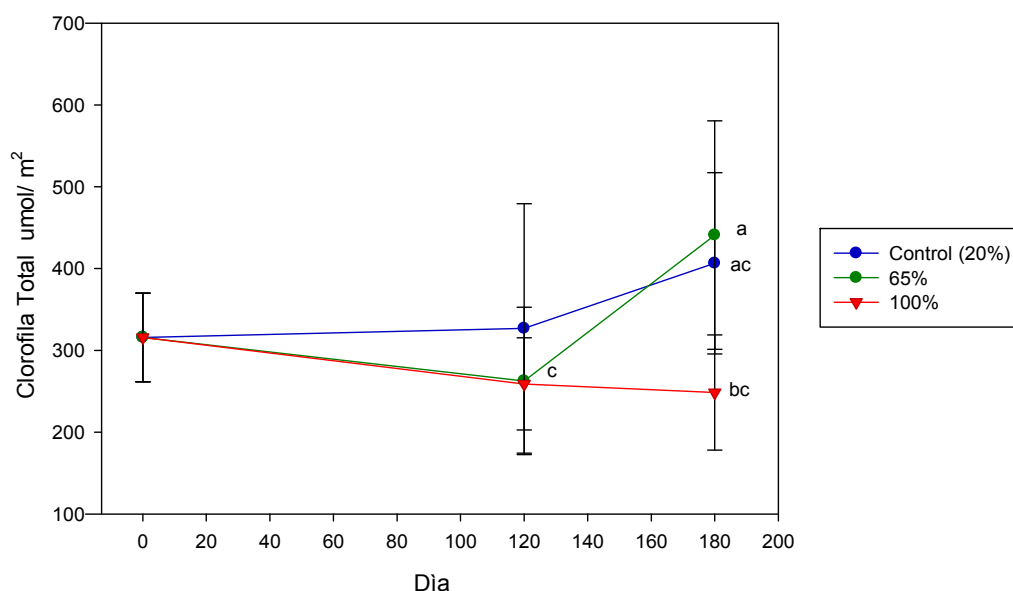


Figura 23. Contenido de clorofila total por unidad de área foliar ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ ) de *Tetrorchidium rubrivenium*. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,098$ ). Barras verticales indican errores estándar.

La concentración de clorofila *a* por unidad de peso foliar (mg/g) fue mayor en el tratamiento control (20%) para todas las especies a lo largo de la medición. No hubo diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los tratamientos de intensidad lumínica en ninguna de las especies estudiadas. *T. rubrivenium* presenta los valores más elevados de clorofila *a* en el tratamiento de 65% en comparación al control a los 180 días (5,97 mg/g y 4,65 mg/g, respectivamente), caso contrario ocurre en el tratamiento de plena exposición donde sigue disminuyendo a los 180 días con respecto al control (2,12 mg/g y 4,65 mg/g, respectivamente). Para *M. acuminata* presenta los valores más bajos en cuanto a la concentración de clorofila *a*, disminuyendo en los tratamientos de mayor intensidad lumínica.

Tabla 1. Contenido promedio de clorofila *a* (Cla, mg/g) para cada una de las especies en los distintos tratamientos lumínicos. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ ). Errores estándar entre paréntesis.

TRATAMIENTOS (% FFF)	Días	<i>M. acuminata</i>	<i>A. triplinervia</i>	<i>T. rubrivenium</i>
<b>Control (20%)</b>	0	1,34 (0,39)	0,55 (0,06)	2,03 (0,15)
	120	2,25 (0,40)	1,07 (-)	3,08 (0,73)
	180	3,52 (1,54)	2,82 (0,51)	4,65 (2,06)
<b>65%</b>	120	2,43 (0,38)	1,57 (0,27)	3,07 (0,17)
	180	1,74 (0,52)	3,22 (0,32)	5,97 (1,61)
<b>100%</b>	120	1,49 (0,24)	2,05 (-)	2,63 (0,81)
	180	1,49 (0,24)	3,12 (0,39)	2,12 (0,61)

La concentración de clorofila *b* por unidad de peso foliar (mg/g) fue mayor en el tratamiento control (20%) para todas las especies a lo largo de la medición. No hubo diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los tratamientos de intensidad lumínica en ninguna de las especies estudiadas. *T. rubrivenium* presenta los valores más elevados en cuanto a clorofila *b* (mg/g) en comparación con *M. acuminata* y *A. triplinervia*. Encontramos de manera general valores inferiores en cuanto a concentración de clorofila *b* (mg/g) en comparación a clorofila *a* (mg/g), en cada uno de las especies entre tratamientos a lo largo de la medición.

Tabla 2. Contenido promedio de clorofila *b* (Clb, mg/g) para cada una de las especies en los distintos tratamientos lumínicos. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ ). Errores estándar entre paréntesis.

TRATAMIENTOS (% FFF)	Días	<i>M. acuminata</i>	<i>A. triplinervia</i>	<i>T. rubrivenium</i>
<b>Control (20%)</b>	0	1,10 (0,32)	0,55 (0,07)	1,97 (0,42)
	120	2,80 (0,49)	1,18 (-)	3,52 (1,04)
	180	2,15 (0,60)	2,03 (0,26)	3,28 (0,34)
<b>65%</b>	120	1,90 (0,35)	1,15 (0,20)	2,28 (0,15)
	180	1,32 (0,25)	1,73 (0,04)	3,33 (0,52)
<b>100%</b>	120	1,31 (0,81)	1,64 (-)	2,00 (0,53)
	180	0,98 (0,24)	1,73 (0,19)	2,48 (0,26)

En cuanto a la relación clorofila *a/b* en *A. triplinervia* presento diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los tratamientos de mayor intensidad lumínica, apreciándose los valores más altos en la relación para los tratamientos de 65% y 100% a los 180 días (1,87 y 1,80) con respecto al control a los 120 días (0,90). *T. rubrivenium* en el tratamiento de 65% encontramos los valores más altos a los 180 días (1,80) observando diferencias significativas con el control a los 120 días (0,89) y con el tratamiento de 100% a los 180 días (0,92). Por último *M. acuminata* no hubo diferencias significativas en cuanto a la relación *cl a/b*.

Tabla 3. Relación promedio de clorofila *a/b* para cada una de las especies en los distintos tratamientos lumínicos. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ). Errores estándar entre paréntesis.

TRATAMIENTOS (% FFF)	Días	<i>M. acuminata</i>	<i>A. triplinervia</i>	<i>T. rubrivenium</i>
<b>Control (20%)</b>	0	1,22 (0,10)	1,00 (0,13)	1,05 (0,13)
	120	0,80 (0,04)	0,90 <sup>a</sup> (-)	0,89 <sup>a</sup> (0,07)
	180	1,59 (0,36)	1,44 (0,44)	1,36 (0,52)
<b>65%</b>	120	1,29 (0,05)	1,39 (0,03)	1,35 (0,04)
	180	1,30 (0,16)	1,87 <sup>b</sup> (0,23)	1,80 <sup>b</sup> (0,39)
<b>100%</b>	120	1,21 (0,23)	1,25 (-)	1,31 (0,12)
	180	1,55 (0,13)	1,80 <sup>b</sup> (0,03)	0,92 <sup>a</sup> (0,31)

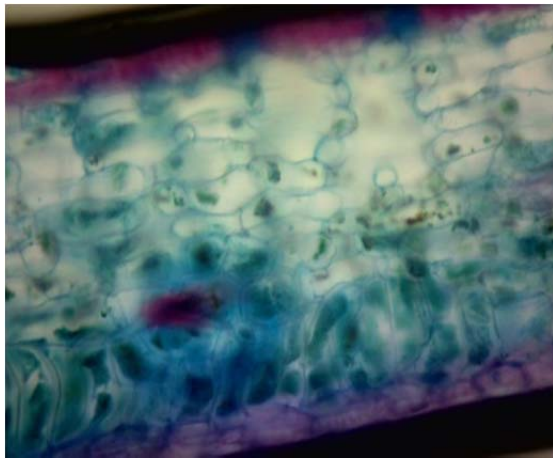
En lo que respecta a la relación clorofila/nitrógeno (Tabla 4) esta presentó diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en *M. acuminata* en el tratamiento de plena exposición 100% con respecto al control (120 y 180 días), se observó el valor más alto en el tratamiento de 65% a los 120 días (0,44). *T. rubrivenium* esta presentó diferencias significativas entre el tratamiento de 100% y 65% al compararlo con el control a lo largo de la medición (120 y 180 días), se aprecia la menor relación en el tratamiento de plena exposición a (100%) a los 180 días (0,11). En cuanto *A. triplinervia* esta no presentó diferencias significativas entre los tratamientos. De manera general para las tres especies estudiadas se observa una mayor relación clorofila/nitrógeno en el tratamiento control (20%).

Tabla 4. Relación Clorofila/Nitrógeno para cada una de las especies en los distintos tratamientos lumínicos. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ ). Errores estándar entre paréntesis.

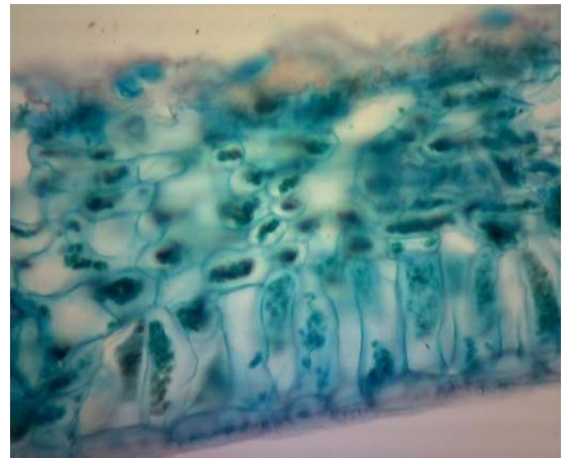
TRATAMIENTOS (% FFF)	Días	<i>M. acuminata</i>	<i>A. triplinervia</i>	<i>T. rubrivenium</i>
<b>Control (20%)</b>	0	0,33 (0,11)	0,15 (0,02)	0,27 <sup>a</sup> (0,04)
	120	0,34 (0,07)	0,12 (0,01)	0,23 (0,06)
	180	0,37 (0,17)	0,25 (0,02)	0,27 <sup>a</sup> (0,07)
<b>65%</b>	120	0,44 <sup>a</sup> (0,09)	0,14 (0,02)	0,17 (0,02)
	180	0,28 (0,08)	0,22 (0,02)	0,26 <sup>a</sup> (0,06)
<b>100%</b>	120	0,19 <sup>b</sup> (0,11)	0,15 (-)	0,13 <sup>b</sup> (0,04)
	180	0,16 <sup>b</sup> (0,03)	0,21 (0,02)	0,11 <sup>b</sup> (0,03)

## 6.6 Anatomía foliar

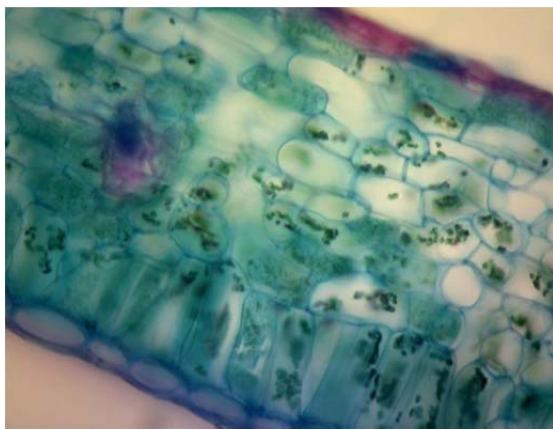
Las hojas de *Myrcia acuminata* son hipoestomáticas, es decir, sólo presentaron estomas en la cara abaxial de las hojas. El mesófilo está formado por 1 capa de parénquima en empalizada. La capa del parénquima en empalizada está compuesta por células rectangulares, atenuadas y verticales; estas poseen un gran número de cloroplastos, lo cual se aprecia en los tratamientos que recibieron mayor intensidad lumínica (Figura 18c, Figura 18d). El parénquima esponjoso se compone de células de forma irregular (redondeadas a poligonal). La superficie adaxial es rica en ceras cuticular.



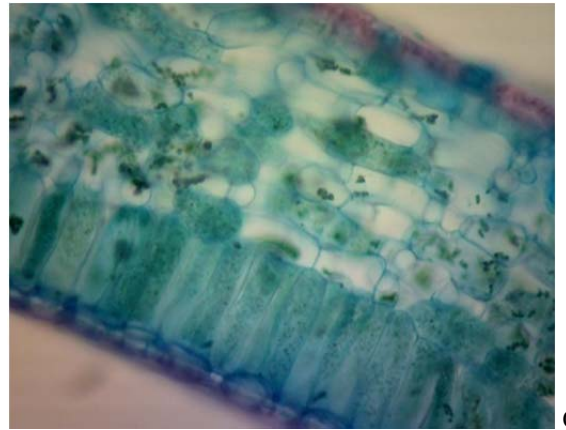
a



b



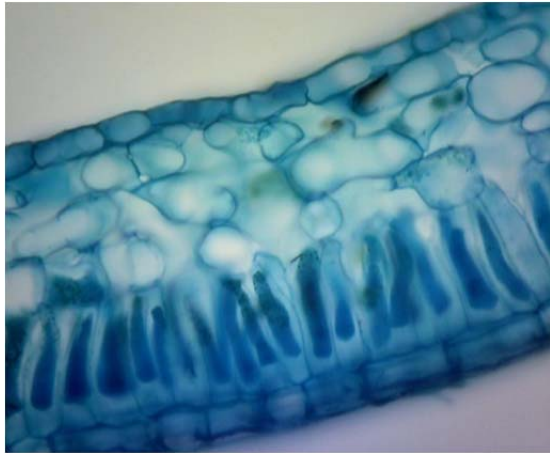
c



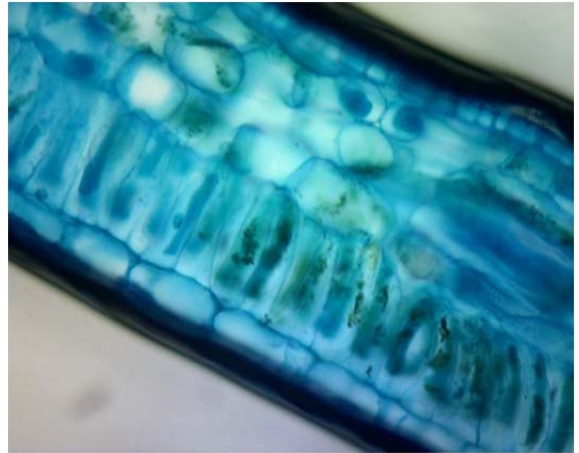
d

Figura 24. Microfotografías de cortes transversales de las hojas de *Myrcia acuminata* (40x). a) Umbráculo 20% a los 0 días, b) Umbráculo 20% a los 120 días, c) Umbráculo 65% a los 120 días, d) Plena exposición solar a los 120 días.

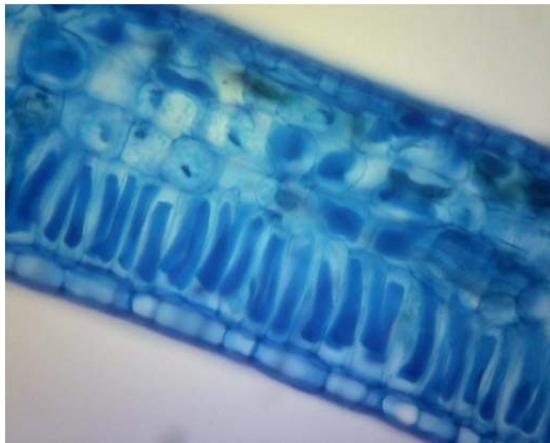
En el caso de *Alchornea triplinervia* tienden a tener características de hojas de sombra, es decir, hojas higromorfas las cuales poseen un limbo delgado y de consistencia mas o menos blanda; epidermis uniestratificada compuestas por células relativamente grandes, posee una sola capa de parénquima en empalizada con células alargadas dispuestas de manera vertical y abundantes cloroplastos. El parénquima esponjoso posee células de formas redondeadas, con cloroplastos pequeños, de manera general existe una reducción del mesófilo es por ello la delgadez de la hoja. Son hipoestomáticas, en donde los estomas se encuentra en un número reducido y con un tamaño grande.



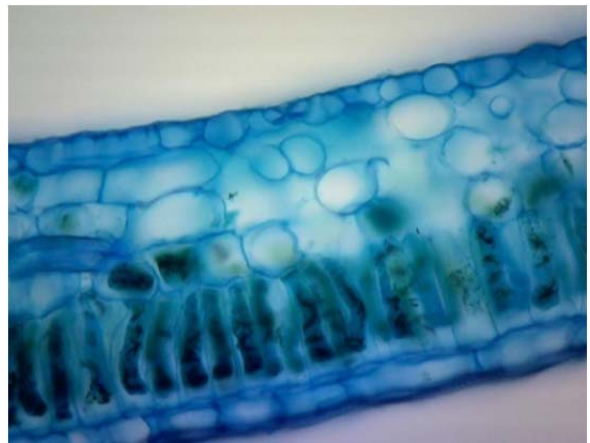
a



b



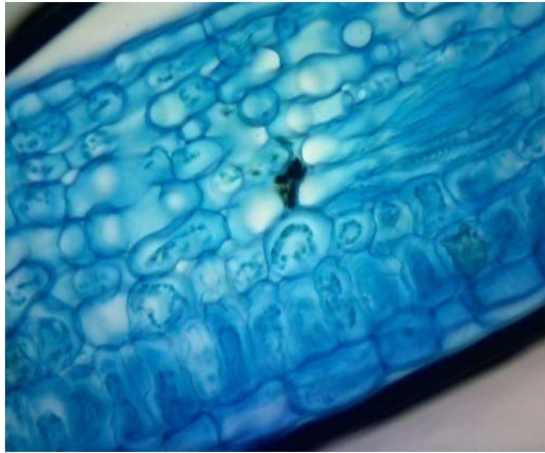
c



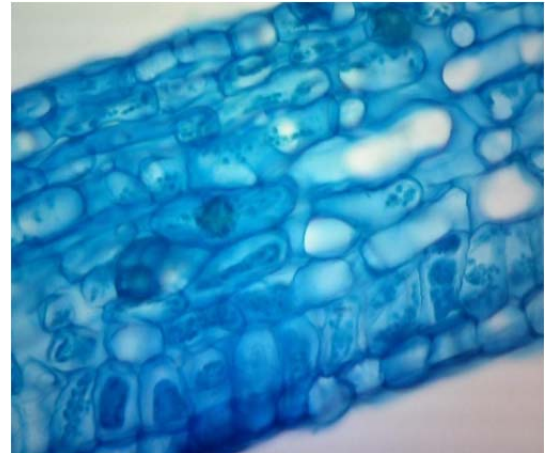
d

Figura 25. Microfotografías de cortes transversales de las hojas de *Alchornea triplinervia* (40x). a) Umbráculo 20% a los 0 días, b) Umbráculo 20% a los 120 días, c) Umbráculo 65% a los 120 días, d) Plena exposición solar a los 120 días.

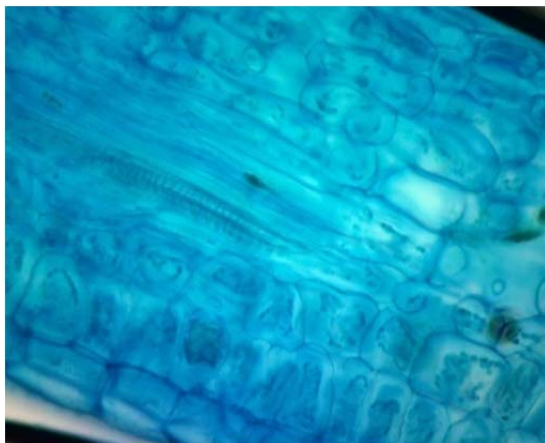
*Tetrorchidium rubrivenium* al igual que para las dos especies mencionadas anteriormente son hipoestomáticas. Poseen características higromorfas con un limbo delgado y consistencia muy blanda, posee una sola capa de parénquima en empalizada de forma poco alargada y rectangular con numerosos cloroplastos de tamaño muy pequeño. Se observa diferencias significativas en los tratamientos que recibieron mayores intensidad lumínica (100% y 65%, respectivamente) al compararla con el control (20%). El parénquima esponjoso al igual que *A. triplinervia* posee células de formas redondeadas, con cloroplastos pequeños, de manera general existe una reducción del mesófilo es por ello la delgadez de la hoja. La cara adaxial no es tan rica de ceras cuticular.



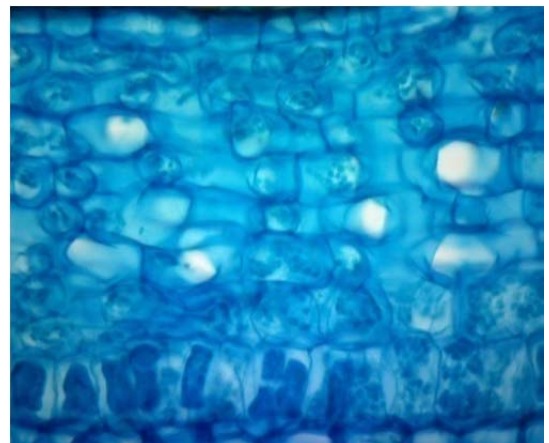
a



b



c



d

Figura 26. Microfotografías de cortes transversales de las hojas de *Tetrorchidium rubrivenium* (40x). a) Umbráculo 20% a los 0 días, b) Umbráculo 20% a los 120 días, c) Umbráculo 65% a los 120 días, d) Plena exposición solar a los 120 días.



Las hojas de las tres especies estudiadas son hipoestomáticas, es decir, solo presentaron estomas en la cara abaxial. Las tres especies estudiadas presentaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos tanto para el espesor de la lamina foliar como para densidad de estomas (Tabla 5 y 6) a lo largo del tiempo (120 días). En lo que respecta al espesor de la lámina foliar, se observó un aumento en todas las especies al ser sometidas a mayores intensidades lumínicas siendo mayores en el tratamiento 100%, 65% y control (20%), respectivamente. A los 120 días de exposición. *T. rubrivenium* presentó los valores más altos en el espesor foliar en comparación con las demás especies (507,76  $\mu\text{m}$ ), mientras para la densidad de estomas también se aprecia dicho aumento cuando las especies son sometidas a altas intensidades de luz obteniéndose los valores más altos en el tratamiento de plena exposición lumínica 100% a los 120. Al igual que el espesor de la lamina foliar *T. rubrivenium* presentó los valores más altos (751,72 estomas/ $\text{mm}^2$ ) lo cual nos indicaría que esta especie es la más plástica en cuanto a sus características anatómicas y por ende ser una especie temprana en la sucesión. Para *M. acuminata* encontramos valores superiores en los 120 días para el tratamiento de mayor intensidad lumínica 100% tanto para el espesor laminar como densidad de estomas (338,44  $\mu\text{m}$  y 302,27 estomas/ $\text{mm}^2$ ). Por último para *A. triplinervia* se observa los valores más bajos en cuanto a espesor laminar y densidad de estomas (168,79  $\mu\text{m}$  y 138,63 estomas/ $\text{mm}^2$ , respectivamente a los 120 días en el tratamiento de plena exposición 100%), aunque tanto el espesor de lámina y la densidad de estomas aumentó en el tratamiento de plena exposición con respecto al control, mostrando diferencias significativas.

Tabla 5. Espesor de la lamina foliar ( $\mu\text{m}$ ) promedio por especie-tratamiento. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Errores estándar entre paréntesis.

TRATAMIENTOS (% FFF)	Días	<i>M. acuminata</i>	<i>A. triplinervia</i>	<i>T. rubrivenium</i>
<b>Control (20%)</b>	0	280,52 <sup>a</sup> (8,36)	119,25 <sup>a</sup> (2,16)	413,75 <sup>a</sup> (7,67)
	120	278,22 <sup>a</sup> (4,53)	117,58 <sup>a</sup> (3,69)	393,05 <sup>a</sup> (17,34)
<b>65%</b>	120	309,99 <sup>b</sup> (14,79)	138,62 <sup>b</sup> (6,59)	440,51 <sup>b</sup> (24,56)
<b>100%</b>	120	338,42 <sup>c</sup> (13,34)	161,79 <sup>c</sup> (3,89)	507,76 <sup>c</sup> (12,97)

Tabla 6. Densidad estomática (estomas/ $\text{mm}^2$ ) promedio por especie-tratamiento. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Errores estándar entre paréntesis.

TRATAMIENTOS (% FFF)	Días	<i>M. acuminata</i>	<i>A. triplinervia</i>	<i>T. rubrivenium</i>
<b>Control (20%)</b>	0	236,36 <sup>a</sup> (7,42)	104,55 <sup>a</sup> (15,75)	383,72 <sup>a</sup> (4,21)
	120	229,54 <sup>a</sup> (21,48)	106,81 <sup>a</sup> (25,03)	387,49 <sup>a</sup> (4,55)
<b>65%</b>	120	256,81 <sup>a</sup> (11,44)	118,18 <sup>b</sup> (12,85)	548,71 <sup>b</sup> (23,30)
<b>100%</b>	120	302,27 <sup>b</sup> (17,21)	138,63 <sup>c</sup> (13,63)	751,72 <sup>c</sup> (41,47)

## 7. DISCUSION

En cualquier hábitat la densidad de flujo cuántico varía estacional, diaria y espacialmente, lo cual determina que las plantas que crecen bajo distintos regímenes lumínicos tengan características diferentes en cuanto a su respuesta fotosintética (Bjorkman, 1981). La aclimatación logra aumentar las probabilidades de sobrevivir a las nuevas condiciones ambientales que se generan tras una perturbación natural como la apertura de un claro en el bosque o por el impacto del hombre para el uso de sus tierras (deforestación, uso de las tierras para el cultivo, ganadería entre otras). Son numerosos los estudios que han abordado la relación entre el carácter sucesional de una especie y su aclimatación frente a la luz (Bazzaz y Carlson, 1982; Valladares et al. 2002). Tradicionalmente se ha mantenido la idea de una mayor plasticidad frente a la luz en aquellas especies sucesionalmente tempranas o pioneras (Bazzaz, 1979). Especies tolerantes e intolerantes a la sombra (Whitmore, 1989), se reparten en los distintos ambientes de un bosque o selva. Un conjunto de caracteres morfológicos ha sido identificado como propio para cada uno de estos grupos de especies. Las especies arbóreas intolerantes a la sombra o pioneras producen mayormente semillas pequeñas dispersadas por el viento, mientras que las especies tolerantes, las pocas semillas son grandes y con abundante reserva (Whitmore, 1989). En general, las plantas de la sucesión temprana tienen puntos de compensación lumínica altos, así como tasas máximas de fotosíntesis altas, bajas eficiencias cuánticas, presentan alta conductancia estomática, alto contenido foliar de RUBISCO, baja resistencia al transporte de agua a través del sistema vascular y altas tasas de transpiración con relación a las plantas sucesionales intermedias y tardías (Moreno, 1998).

Evidencia ampliamente documentada durante años apoya la hipótesis de que las plantas de la sucesión temprana son más flexibles que las de la sucesión tardía, debido a que ocupan ambientes más variables (Bazzaz, 1996). Las especies sucesionales tempranas generalmente exhiben una alta plasticidad fotosintética en comparación con las especies características de etapas posteriores de la sucesión forestal (Strauss-Debenedetti y Bazzaz, 1996; Chazdon et al. 1996). Las sucesionales tempranas presentan una marcada reducción (en un factor de dos o más) en la tasa de asimilación a luz de saturación ( $A_{max}$ ) cuando crecen a baja iluminación: La comparación de las curvas de respuesta a la luz de plantas que crecieron a alta y baja iluminación revela un cambio en la forma de la curva con una reducción que actúa en la misma medida en las tasas fotosintéticas y en los puntos de compensación y saturación de la luz en las plantas crecidas en la sombra. Las plantas sucesionales tardías por su parte, exhiben un rango de respuestas fotosintéticas comparativamente estrecho cuando crecen bajo diferentes niveles de luz, y por tanto, su plasticidad es menor. La tasa de asimilación máxima ( $A_{max}$ ) también tiende a disminuir a bajas radiaciones, convergiendo en el rango de  $3-5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , similar al de las especies sucesionales tempranas: pero a alta radiación, raramente supera los  $7 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , el cual, en las pioneras, puede ser de  $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  o más (Strauss-Debenedetti y Bazzaz, 1996). Bazzaz y Carlson (1982), citados por Bazzaz (1996) encontraron que las diferencias entre las curvas de fotosíntesis en función de la luz de individuos que crecieron bajo la sombra del dosel y en áreas abiertas, fueron mucho mayores en las especies de la sucesión temprana que en las de la sucesión tardía; las plantas con una posición sucesional intermedia fueron intermedias (Moreno, 1998).

Existen numerosos estudios que se han desarrollado estudiando el crecimiento y la capacidad que tienen diversas especies tropicales frente a distintos ambientes lumínicos, entre ellos tenemos Flores (1992), García-Núñez (1992), Dávila (2009), Quevedo (2014), Bracho (2014) en especies arbóreas de la selva nublada andina con diferentes estatus sucesional; donde se demostró que los individuos de las especies tolerantes a la sombra y de sucesión tardía establecidos en el sotobosque (los cuales comúnmente carecen de capacidad de adaptación), sufrirían daño en el largo plazo a causa de los cambios en el régimen de luz, producidos por la remoción del dosel, lo cual los pone en desventaja frente a la vegetación colonizadora y otros competidores resistentes que ya existen en el sitio.

## 7.1 Eficiencia cuántica máxima del FSII (Fv/Fm)

La emisión de fluorescencia de la clorofila *a* del fotosistema II (PSII) del aparato fotosintético es utilizada de manera muy frecuente para determinar la eficiencia cuántica máxima del FSII (Fv/Fm) y el grado de fotoinhibición. Los valores numéricos de los parámetros de fluorescencia reflejan la interacción de las plantas con su medio, el metabolismo de cloroplastos, los mecanismos regulatorios en la membrana tilacoide, y la transferencia de energía de excitación (Moreno et al, 2008). Cuando el exceso de luz es extremo, este puede causar daños en los fotosistemas, específicamente en el PSII debido a que este es más inestable en condiciones de iluminación excesiva (Powels, 1984). Plantas que se encuentren sometidas a estrés lumínico debido a altas intensidades de luz, tienden a poseer menores valores de eficiencia cuántica máxima del FSII que las plantas no estresadas (Quevedo, 2014). La adaptación de las condiciones de sombra a las de sol son menos comunes (Moreno, 2008). Las plantas típicas de sombra poseen baja plasticidad y de hecho no pueden exponerse a la luz solar directa, sin que se reduzca sustancialmente la respuesta fotosintética y mueran las hojas más viejas en pocos días: las especies tolerantes a la sombra presentan mayor tendencia a la fotoinhibición que las intolerantes y sufren un daño de mayor magnitud cuando esto ocurre (Kozlowski et al. 1991).

En el presente estudio la eficiencia cuántica máxima del PSII (Fv/Fm) para cada una de las especies estudiadas, disminuyó con diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) para *M. acuminata* y ( $p < 0,098$ ) para *A. triplinervia* y *T. rubrivenium*, respecto al control (20%) de manera inmediata cuando fueron traspasadas a los umbráculos de mayores intensidades lumínicas (65% y plena exposición (100%) respectivamente en los 7 y 30 días), pero posteriormente tendió a aumentar en el transcurso del experimento. Se aprecia una caída del Fv/Fm de manera inmediata es decir a los 7 días para todas las especies (sin embargo, esta caída se observa de manera más pronunciada a los 7 días en *M. acuminata*) y de manera general es mucho más pronunciada a plena exposición (100%) en comparación con el tratamiento de 65%. Aunque es importante acotar que 65% de luz podría considerarse como un exceso de luz para estas especies que se encuentran en un ambiente de sombra, por ejemplo en un día completamente despejado en donde pueden llegar a la superficie del suelo  $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de FFF, el 65% correspondería a  $1300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de PPF, lo cual para especies tolerantes a la sombra es una cantidad de radiación foto inhibitoria. En un estudio sobre la aclimatación fotosintética en individuos juveniles de especies arbóreas de la selva nublada andina se apreció que en especies tolerantes a la sombra como por ejemplo *Aegiphila terniflora*, su eficiencia cuántica máxima dentro de un umbráculo de 65% indicó que la actividad del fotosistema II fue afectado por la alta radiación (Bracho 2014). Esto coinciden con el trabajo realizado por Ribeiro et al. (2005) para *C. legalis* (especie clasificada como sucesional tardía) en un bosque tropical de Brasil, al estudiar y comparar la respuesta de la fluorescencia de la clorofila *a* en varias especies de distintos grupos sucesionales, bajo condiciones contrastantes de luz. En algunas plantas sucesionales tempranas se ha reportado la absorción y uso oportunista de nutrientes, pero no se han realizado investigaciones comparativas sobre esta estrategia; los ajustes fotosintéticos frente a rápidas variaciones en la DFF y la pronta recuperación de las carencias de humedad del suelo, son otras manifestaciones de las respuestas oportunistas de este grupo frente a la variabilidad ambiental (Bazzaz, 1996).

Por otro lado, se han propuesto algunos mecanismos de protección del PSII a la fotoinhibición en los cloroplastos, la vitamina E en conjunto con el ciclo de las xantofilas, lleva a cabo dos funciones diferentes en los dos sitios donde tiene lugar la mayor producción de oxígeno: preservando el PSII de la fotoinactivación y protegiendo los lípidos de la membrana de la fotooxidación (Havaux et al. 2005). El ciclo de las xantofilas puede ser también de gran importancia en el mecanismo de protección contra la fotoinhibición, dado que se han encontrado los metabolitos secundarios de este ciclo en una fracción del PSI. El ciclo del flujo de electrones alrededor del PSI puede disipar la energía lumínica absorbida por este fotosistema, pero el flujo de electrones provenientes del PSII no se disminuye lo suficiente; por tanto, la reducción en la actividad del PSII mediante una regulación baja es necesaria para la protección del PSI de la fotoinhibición (Lee y Thornber, 1995).

La capacidad de establecerse y crecer al 100% de la luz es precisamente lo que diferencia las especies pioneras (muy intolerantes a la sombra) de las especies de etapas sucesionales más avanzadas (con mayor tolerancia a la sombra). Por otra parte, la caída inicial se recupera más rápidamente en *M. acuminata* y *A. triplinervia*, observándose que ya a los 30 días el valor para el tratamiento de plena exposición solar (100%) se recuperó significativamente con respecto al control (20%). Para el caso de *T. rubrivenium* los valores de Fv/Fm a plena exposición solar (100%) permanecen deprimidos por más tiempo observándose que se recuperan de manera significativa a los 120 días. Esta recuperación muy rápida de la eficiencia cuántica máxima en las hojas formadas en la sombra (20%) evidencian cambios a muy corto plazo (“*un mes*”) en el aparato fotoquímico de la fotosíntesis, lo cual implica que sin cambios apreciables en la estructura de la hoja ocurren cambios significativos en la composición de los cloroplastos que envuelven no solo la síntesis “nueva” de componentes de la fotosíntesis, sino su degradación específica (Walters y Horton, 1994; Yang et al. 1998).

En un trabajo realizado de manera simultáneo a este (García-Núñez et al. 2015), se realizaron curvas de luz de la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> a los 120 días para *T. rubrivenium* y 180 días para *M. acuminata* y *A. triplinervia*. Estas muestran que efectivamente *T. rubrivenium* aumenta sus tasas de fotosíntesis por encima del control (20%) en los tratamientos de 65% y plena exposición solar (100%) a los 120 días y para *M. acuminata* a los 180 días evidenciándose por lo tanto aclimatación. En *A. triplinervia*, no se encontró aumento de la tasa de fotosíntesis por encima del control (20%) a los 180 días, es decir, no hubo aclimatación de la fotosíntesis a pesar que la planta mostró un rendimiento cuántico máximo medido a través del Fv/Fm en los tratamientos de alta luminosidad (65 % y 100 %) con valores muy similares al control (20 %) a los 180 días. Este resultado en cuanto a menor plasticidad fotosintética de *A. triplinervia* en comparación con *M. acuminata* y *T. rubrivenium*, es similar a lo encontrado en el experimento de aclimatación a la luz realizado por (García-Núñez et al. 1995) comparando *A. triplinervia* con una especie del dosel de la selva nublada andina tolerante a la sombra en sus estadios juveniles como el Pinolaso (*Decussocarpus rospigliosii*), en la cual se evidencia la poca plasticidad fotosintética de *A. triplinervia* a cambios en el ambiente de luz cuando se trasladan individuos juveniles crecidos en un claro a las condiciones de penumbra del piso del bosque no perturbado. Sin embargo, estudios realizados en el borde e interior de fragmentos pequeños de la selva nublada andina, muestran clara diferenciación de ecotipos de sol y sombra de *A. triplinervia* en ambientes de borde e interior respectivamente, con tasas fotosintéticas significativamente mayores en las plantas juveniles del ambiente mucho más iluminado del borde del fragmento (Dávila, 2009). Es probable que en *A. triplinervia* se necesite más tiempo para que se exprese la capacidad de aclimatación de la tasa de fotosíntesis a incrementos súbitos en el ambiente de luz en cohortes de hojas que se formen después de 180 días de haber ocurrido el incremento repentino en la FFF. Por otra parte, las diferentes especies de plantas tienen límites donde puede ocurrir la aclimatación; por ejemplo, *Arabidopsis* exhibe poca o ningún incremento en la tasa máxima de fotosíntesis a niveles de luz mayores a 600 – 700  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de FFF (Bailey et al. 2004).

Para *A. triplinervia* es importante destacar que las hojas aunque no se encuentren fotoinhibidas con los incrementos de radiación, esta especie no es capaz de traducirlo en mayores tasas de fotosíntesis (García-Núñez et al. 2015), lo cual podría indicar que su estatus sucesional en la selva nublada es diferente a las otras dos. Posiblemente es una especie más tolerante a la sombra y más tardía en la sucesión en comparación con *M. acuminata* y *T. rubrivenium* las cuales dan la impresión de ser especies pioneras o de la sucesión temprana capaces de aprovechar mejor desde el punto de vista de su respuesta fotosintética incrementos súbitos en la cantidad de luz.

Aunque en nuestro trabajo no fue medido el coeficiente de disipación fotoquímica y no fotoquímica, es posible que *M. acuminata* y *T. rubrivenium* gran parte de la energía de excitación se vaya por la vía fotoquímica (aumento del coeficiente de extinción fotoquímico (“photochemical quenching”)) en hojas iluminadas. Esto refleja la capacidad de mantener los centros de reacción abiertos (en estado oxidado: Quinonas A y B en estado oxidado) en las hojas iluminadas, mientras que en *A. triplinervia* esta energía de excitación se va por vías de extinción no fotoquímica (“non photochemical

quenching”), como el ciclo de xantofilas, calor, entre otras, manteniendo protegidos por vías no fotoquímicas (fotoprotección) los centros de reacción. Es decir, produciendo el resultado que *M. acuminata* y *T. rubrivinium* aumenten la tasa de fotosíntesis con el aumento de luz, mientras que *A. triplinervia* no aumente su tasa de asimilación y sin embargo la planta no esta foto inhibida crónicamente. Kato et al. (2003) relacionan la extinción no fotoquímica (qN) con el ciclo de las xantofilas y encontraron que la disipación del exceso de energía en forma térmica está fuertemente relacionada con los cambios en el estado de conversión del ciclo de las xantofilas. Goh et al. (2012) confirman que los cambios qN tienen un rol principal como proceso de disipación de energía en forma de calor en las plantas de especies arbóreas que son sometidas a altas intensidad. Esta transformación de energía es un mecanismo importante para mantener el funcionamiento eficiente del FSII (Ribeiro et al. 2005).

Yin y Johnson (2000) y Walters (2005) señalan que las respuestas de aclimatación interactúan con la fotoprotección, cuyos efectos sobre la fotosíntesis pueden modular señales regulatorias potenciales. De la misma manera, varios estudios han mostrado que las plantas aclimatadas a altos niveles de luz son menos susceptibles al rango de procesos relacionados con la fotoinhibición y foto daño (Park et al. 1996; Savitch et al. 2000). La aclimatación a altos niveles de luz envuelve: a) la síntesis de mayor cantidad de RUBISCO lo cual determina una mayor capacidad de carboxilación (mayores tasas fotosintéticas) que permite reducir desbalances en la tasa de transporte de electrones, y b) una mayor síntesis de complejos proteína-pigmentos (FSII) con antenas (LHC II) mas pequeñas, lo cual actúa como un mecanismo de fotoprotección ya que una menor absorción reduciría la tasa de excitación y separación de cargas de cada centro de reacción (Walters, 2005). Por otra parte, la aclimatación a alta luz involucra una mayor capacidad de transporte de electrones, mayores tasas de fotorrespiración y de reacción de Mehler (la cual consume parte de los electrones de la cadena de transporte de electrones reduciendo oxígeno en agua), procesos que actúan como mecanismos de foto protección (Savitch et al. 2000). Para *T. rubrivinium*, Quevedo (2014) reporta que a los 120 días de pasar individuos juveniles que estaban al 20% de luz al 65%, encontró un aumento en la tasa de asimilación (es decir, “hubo aclimatación”) lo cual fue acompañado por aumentos en el rendimiento cuántico máximo (FV/FM), el rendimiento cuántico en hojas iluminadas, la tasa de transporte de electrones entre el FSII y el FSI y en el coeficiente de extinción fotoquímico, lo cual apoya la hipótesis antes planteada. Algunos estudios (Huner et al. 1998; Pfannschmidt, 2003) apoyan la hipótesis de que la aclimatación opera a través de la detección de uno o mas de los componentes REDOX (por ej. el estado de reducción de las Quinonas A y B) en la cadena de transporte de electrones entre el FSII y el FSI. De cualquier modo, si bien en este punto del presente trabajo nos estamos enfocando al efecto de la luz en la respuesta del aparato fotoquímico de la fotosíntesis, es prudente aclarar que en las plantas superiores, la aclimatación envuelve procesos complejos (por ej. el nivel de carbohidratos, hormonas, nutrientes) a otros niveles que se relacionan con la fisiología y el estado de desarrollo de toda la planta (Walters, 2005).

## 7.2 Propiedades morfológicas y anatómicas de las hojas

El área foliar específica (AFE) mide la relación entre la cantidad de área foliar por unidad de masa , se ha demostrado que está determinado por factores genéticos y ambientales como también por la hoja y la edad de planta, siendo un parámetro clave que contribuye a la plasticidad morfológica (Karavin, 2013). Se ha demostrado que las plantas cultivadas bajo sombra, producen hojas con un AFE mayor, mientras las hojas de sol asignan mas nitrógeno en las hojas, optimizando así la intercepción de luz y asimilación de carbono por unidad de biomasa de hojas (Evans y Pooter, 2001; Lambers et al. 2008). Además, diversos estudios han demostrado que el crecimiento está determinado más por el AFE que por la fotosíntesis, especialmente en condiciones de baja irradianza (Evans y Pooter, 2001; Lambers et al. 2008). El engrosamiento de las hojas se ha atribuido a células en empalizada siendo más alargadas o con un número adicional de capas de células y por lo tanto puede aumentar la capacidad para la fotosíntesis basado en la superficie (Evans y Pooter, 2001). La partición entre el grosor de la hoja y el área de crecimiento, se considera un equilibrio entre las

capacidades para la captura de la luz (Jullien et al. 2009). El aumento en la partición de carbono contribuye para el crecimiento del área foliar mejorando el AFE (Weraduwage et al. 2015). El AFE se reduce en las plantas que están sometidas a mayores intensidades de luz como una estrategia de la planta para reducir la pérdida de agua por transpiración cuando la humedad atmosférica es baja (Xu et al. 2009). Las especies que son tolerantes a la sombra poseen características particulares cuando estas son comparadas con plantas de sol, siendo estas hojas más delgadas y con mayor superficie foliar por unidad de biomasa (Valladares, 2004). Una característica particular de las plantas de sombra es que estas invierten una mayor proporción de energía en la construcción y mantenimiento de la maquinaria de captación de luz que las especies de sol, donde se refleja en la estructura de los cloroplastos mediante el mejoramiento en el desarrollo de la grana y en la disminución aparente del volumen del estroma en relación con el volumen del cloroplasto (Boardman, 1977). De esta forma, se ha observado que la respuesta plástica a la luz en rasgos morfo-anatómicos es mayor en especies tolerantes de sombra, mientras que la plasticidad en rasgos fisiológicos es en especies propias de zonas bien iluminadas (Valladares et al. 2002; Niinemets y Valladares, 2004). Esto guarda relación con el hecho de que el área foliar específica es el principal determinante de las diferencias interespecíficas en el crecimiento a la sombra, mientras que la tasa fotosintética por unidad foliar (ULR) lo es al sol (Kitajima, 1994; Kitajima y Bolker, 2003).

En este estudio, para las tres especies se observa una disminución en el corto plazo del AFE (60 días) al pasarlas a 65 y 100% de luz, es decir, en las mismas hojas que se comenzaron a medir y que se formaron en la sombra (20%) ocurre una disminución de su área foliar con una masa de tejido foliar que debería ser el mismo que al comienzo (suponiendo que no hay cambios anatómicos en el corto plazo que impliquen mayor número de células como más corridas de parénquima en empalizada) lo cual trae como consecuencia la reducción del AFE observada. Esta reducción puede deberse a la deshidratación del tejido foliar expuesto a plena luz (mayor DPV lo cual determina una mayor pérdida de agua por transpiración). En el caso de plantas de sol el aumento en el peso foliar específico puede deberse también al aumento de haces vasculares ya que estas necesitan transportar más agua para transpirar y enfriar la hoja (Rangel, 2014).

El AFE de *M. acuminata* al final del experimento tiende a ser menor en plena luz (100%) como se esperaría en el caso de aclimatación de la morfo-anatomía de la hoja. Sin embargo, aunque los cambios al 100% fueron leves lo cual indicaría poca plasticidad en este parámetro, al 65% se observa una mayor significancia en cuanto a la esperada reducción del AFE al incrementarse la luz. Es probable que sea un error de muestreo lo que estamos observando a plena luz (se escogieron para medir pocas hojas muy jóvenes, aun no completamente expandidas). En caso del *A. triplinervia* el AFE al final del experimento (180 días) no hubo diferencias entre los tratamientos de mayor luz (65 y 100%) con respecto al control. Es decir, esta especie es muy poco plástica en cuanto a su morfo anatomía foliar al ocurrir un incremento súbito de luz. Sin embargo, para individuos de sol y sombra (borde e interior de un fragmento de selva nublada) en la selva nublada se observaron diferencias en el AFE, siendo significativamente mayor en las plantas de sombra (interior) (Dávila 2009). Esto indicaría que los cambios en AFE se expresan en un periodo de tiempo mayor, es decir, en cohortes de hojas formadas con mayor tiempo (> 180 días) de exposición a alta luz (65 y 100%).

En el caso *T. rubrivinium*, al igual que en *M. acuminata* se observa una reducción significativa del AFE en las hojas nuevas formadas a los 180 días en el tratamiento de plena exposición, lo cual indica una mayor plasticidad en cuanto a este carácter comparado con el *A. triplinervia*. Al igual que Quevedo (2014), realizó un trabajo en la selva nublada con especies arbóreas con diferentes estatus sucesional donde *T. rubrivinium* disminuye su AFE medida que aumenta la intensidad lumínica que incide sobre las hojas. Esta mayor plasticidad morfo anatómica debería verse reflejada en el espesor de lamina foliar y densidad estomática.

Estos resultados pueden deberse a las altas tasas de regeneración y crecimiento de las especies pioneras que tienden a coincidir con altas capacidades fotosintéticas. Además, las tasas de fotosíntesis y respiración por unidad de área foliar, así como la relación fotosíntesis/respiración, generalmente disminuyen a medida que avanza la sucesión (Bazzaz y Pickett, 1988; Bazzaz, 1996;

Strauss-Debenedetti y Bazzaz, 1996). En una revisión de la literatura, Walters y Reich (1999) encuentran lo esperado, donde el área foliar específica fue mayor en las especies tolerantes de sombra que en las intolerantes. Sin embargo, en un estudio de 85 especies leñosas en Estonia, Niinemets y Kull (1994) encuentran que AFE sí fue mayor en especies tolerantes de sombra que en las menos tolerantes para un mismo nivel de radiación. Estas discrepancias son, en parte, debidas a que una misma tolerancia a la sombra puede alcanzarse mediante diferentes combinaciones de rasgos. Por ejemplo, *Fagus sylvatica* y *Llex aquifolium*, ambas tolerantes a la sombra, difieren mucho en AFE, con *Fagus sylvatica* conformando el patrón clásico de hojas finas y gran superficie foliar y *Llex aquifolium* con hojas gruesas propias de una tolerancia basada en una larga longevidad foliar (Aranda et al. 2004).

Se ha sugerido que las hojas de las plantas que crecen donde la luz es un recurso limitante incrementan la eficiencia de captura de luz a través de una alta AFE (Evans y Pooter, 2001), lo cual en combinación con un alto contenido de clorofila por unidad de peso, conduce a un contenido similar de clorofila por unidad de área comparado con las hojas de sol (Chazdon et al. 1996). Las hojas de sombra por tanto, realizan una captura de luz similar a las hojas de sol invirtiendo menos biomasa (Lambers et al. 2008). Esto se debe a que en la sombra, las plantas están más limitadas por la capacidad de captación de luz (mayor inversión del nitrógeno en pigmentos), encontrándose que los cambios (plasticidad) en la morfología de la hoja hacia una mayor expansión foliar (mayor área foliar específica) son importantes para la sobrevivencia en el piso del sotobosque (García-Núñez et al. 1995). Según trabajo realizado por (Fetcher et al. 1987) en un bosque lluvioso tropical de Costa Rica, las especies de una sucesión temprana como *Ochroma lagopus* y *Helicarpus appendiculatus*, estas respondieron más rápidamente al aumento de la intensidad lumínica, que *Dipteryx* y las dos especies tolerantes a la sombra (*Carapa guianensis* y *Virola koschnyi*), dando como resultado una alta tasa de producción foliar, debido a que estas especies son capaces de producir hojas nuevas, las cuales a su vez se van ajustar al ambiente prevaleciente donde se encuentran en ese momento. Esto concuerda con nuestros resultados donde la tasa de recambio de la hoja fue acelerada para las especies de *A. triplinervia* y *T. rubrivenium*, siendo a los 120 días hojas totalmente formadas en el nuevo ambiente de luz. En el caso de *M. acuminata*, aun siendo de la sucesión temprana sus hojas son más escleromorfos y su tasa de recambio durante el experimento fue más tardía.

### 7.3 Propiedades ópticas de las hojas

Los estudios sobre la aclimatación en plantas en el últimas décadas, se centró en el crecimiento y/o alteración fotosintética presentadas por especies de árboles que difieren en estado sucesional (Pereira y Valiό, 2003). En lo que respecta a las hojas, ajustes a la sombra pueden incluir, entre otras, alteraciones en el espesor de la hoja y el contenido de clorofila (Evans y Poorter, 2001). Estas características de las hojas son importantes en la determinación de las propiedades ópticas de las hojas (Vogelmann, 1993), una tema que ha sido relativamente menos investigados. Algunos estudios no revelaron diferencias marcadas en las propiedades ópticas de las hojas entre grupos de especies de sol y sombra (Lee y Graham, 1986; Knapp y Carter, 1998). Otros estudios, sin embargo, han encontrado que, en especies tolerantes a la sombra, estas presentan un mayor ajuste que puede conducir a una mayor absorbancia de la radiación fotosintéticamente activa (PAR) bajo las condiciones de luz limitada de sotobosque (Poorter et al. 1995). Se considera que un valor aproximadamente de 84 % de los fotones de luz emitidos por el sol es absorbido por los pigmentos de la hoja (especialmente por los cloroplastos); sin embargo, la absorción es específica de la especie y puede variar en función del historial de irradiancia en la planta, los niveles de clorofila y la concentración de nitrógeno en el tejido (Carter y Spiering, 2002). Se conoce que hojas en condiciones de sombra tienen más alta absorbancia que hojas de sol y además que, especies clímax, tienen mayor absorbancia foliar que las especies pioneras, y estas últimas disminuyen la absorbancia para reducir el calor sobre sus hojas (Poorter et al. 2000).

En este trabajo la absorbancia para cada una de las especies que fue estudiada presentó una disminución en los primeros días de medición (7, 30 y 60 días), esto puede deberse a una disminución en el contenido de clorofila (degradación de la clorofila por senescencia de las hojas), y/o por aumento de la reflectancia debido a cambios morfo-anatómicos de la hojas en un corto plazo (ceras, tricomas). De acuerdo a Kramer y Kozlowski (1979), los niveles foliares de clorofila son controlados por la luz, ya que la clorofila esta siendo constantemente sintetizada y destruida (fotooxidación) en presencia de este factor, lo cual influye sobre la senescencia de las hojas; por ello, en alta intensidad lumínica ocurre mayor degradación de clorofila. Los mecanismos implicados en este proceso de senescencia en plantas tolerantes a la sombra en comparación a las intolerantes son todavía poco claras, debido a vías complejas de señalización que parecen estar implicados en la inducción de la senescencia. Sin embargo la fotooxidación, en particular, podrían conducir a menor estrés oxidativo en los cloroplastos, que puede ser un factor crucial en la senescencia en plantas al ser sometida a altas intensidad lumínica (Munné-Bosch y Alegre, 2002). Otro factor que contribuye a la disminución de la absorbancia es el aumento en la reflectancia cuando es sometido a altas intensidades de luz que podría ser atribuida parcialmente a cambios cuticulares (Baltzer y Thomas, 2005). Sin embargo estos cambios es probable que ocurran en un tiempo más prolongado (> 180 días). Se ha documentado en varios estudios donde han proporcionado fuerte evidencia de que las plantas responden al estrés por alta irradiancia aumentando la reflectancia de sus hojas (Baltzer y Thomas, 2005).

Pereira y Valió (2003), estudiaron especies con distintos estatus sucesional, donde demuestran que las especies tolerantes a la sombra como *Esenbeckia*, *Myroxylon* y *Hymenaea*, presentaron los niveles mas altos de absorbancia. Otros estudios han sugerido, que en ausencia de estructuras que alteren la reflectancia de la hoja (Ejemplo: ceras y tricomas), la absorbancia de la hoja está relacionada principalmente al contenido de clorofila por unidad de área foliar (Evans y Poorter 2001). Trabajos realizados por (Quevedo, 2014; Bracho, 2014) obtuvieron datos muy similares en especies de una selva nublada andina donde, se observó una mayor reflectancia y transmitancia en hojas desarrolladas en condiciones de alta radiación comparadas con las que se encontraban en sombra. Estos resultados concuerdan con las hipótesis de que las especies adaptadas a alta irradiancia, pueden reducir el calor sobre sus hojas con el incremento de la reflectancia y la disminución de la absorbancia (Poorter et al. 2000).

#### **7.4 Contenido de nitrógeno y clorofila foliar**

El ambiente lumínico en general, y la intensidad lumínica promedio en particular, es un componente muy importante del nicho de regeneración de las plantas (Canham et al.1994; Kobe, 1999). La radiación desencadena diversos procesos evolutivos en los que entran en juego desde la adaptación a la radiación media disponible, hasta la coevolución entre animales y plantas o parásitos y huéspedes, pasando por la flexibilidad o plasticidad para acomodarse a los cambios espaciales y temporales de la radiación (Valladares, 2001). Especialmente las plantas, van a necesitar la luz para realizar el proceso de fotosíntesis, siendo éste, uno de los factores que limita el establecimiento y desarrollo de las plantas juveniles (Fetcher et al. 1987). Destacan por su importancia, las clorofilas, cuya función es captar energía solar y transformarla en energía química mediante la fotosíntesis (Manrique, 2003). Las plantas necesitan de ciertos elementos nutricionales para su crecimiento y supervivencia, siendo el nitrógeno uno de los mas importantes. El nitrógeno es uno de los elementos mas limitantes para el crecimiento de la mayoría de las plantas en la mayoría de los ecosistemas (Aert y Chapin, 2000), esto se debe a que mas del 50% del nitrógeno es utilizado en el aparato fotosintético (Evans, 1989).

El contenido de nitrógeno foliar total en las hojas, es una de las características que nos indica en cierto punto la capacidad de aclimatación y estatus sucesional. En las tres especies estudiadas presentaron altos valores de contenido de nitrógeno por unidad de área foliar ( $\text{mmol/m}^2$ ) y peso foliar (mg/g) de forma general en los tratamientos de mayor intensidad lumínica (100% y 65%



respectivamente) en contraste con el control (20%) una vez finalizado el experimento a los 180 días. Esto concuerda con la bibliografía consultada donde un menor contenido de nitrógeno en hojas de sombra y especies propias de ambientes no expuestos, se debe a que generalmente las plantas de sombra tiene niveles mas bajos de RUBISCO que las plantas de sol, y se considera que el contenido mas bajo de proteína soluble en las plantas de sombra, les confiere un ahorro importante que no afecta la tasa de fotosíntesis a bajas intensidades de luz (García-Núñez, 1992).

*M. acuminata* presentó los valores más bajos en cuanto a contenido de nitrógeno por unidad de peso foliar (10,83 mg g<sup>-1</sup> 12,97 mg g<sup>-1</sup> y 15,52 mg g<sup>-1</sup>, para los tratamientos de 65%, control (20%) y plena exposición (100%) respectivamente) a los 180 días en comparación con *A. triplinervia* y *T. rubrivenium*. En cuanto a la concentración de nitrógeno por unidad de área foliar se observó la misma tendencia donde los valores fueron menores (66,42 mmol/m<sup>2</sup> – 70,20 mmol/m<sup>2</sup> – 89,14 mmol/m<sup>2</sup> para los tratamientos de 65%, control (20%) y plena exposición (100%) respectivamente). Dávila (2009), obtuvo valores similares a los encontrados con *M. acuminata* donde el menor contenido de nitrógeno por unidad de peso foliar (mg/g) fue en el interior en comparación con el borde (18,42 – 14,33 mg/g, respectivamente) y encontrándose hojas más escleromorfas (mayor peso foliar específico (PFE)), que son características propias de las especies tolerantes a la sombra de crecimiento lento. *A. triplinervia* presentó mayor contenido de nitrógeno foliar total (expresado tanto por unidad de peso como por unidad de área) cuando fue expuesta a una mayor intensidad de luz a medida que el tiempo de exposición fue mayor en cuanto al área foliar (82,16 mmol/m<sup>2</sup> – 94,76 mmol/m<sup>2</sup> – 97,71 mmol/m<sup>2</sup> en los tratamientos control (20%), 65% y plena exposición (100%), respectivamente a los 180 días), de la misma manera ocurrió para la concentración de nitrógeno por unidad peso foliar lo cual indica que hay aclimatación con respecto a este parámetro. Este resultado es acorde con lo encontrado por García-Núñez (1992) y Dávila (2009), quienes la reportan como una especie colonizadora de claros, con alto contenido de nitrógeno, la cual muestra una mayor concentración en condición de claro en el bosque así como en el borde de un fragmento de selva nublada andina. Estos resultados son cónsonos con otros estudios que examinan las consecuencias de la reasignación del nitrógeno dentro de la hoja (Evans 1989; Hikosaka y Terashima, 1996; Hikosaka et al. 1998; Niinemets et al, 1998) y los cambios en el AFE y del contenido de nitrógeno (Evans 1993; Hirose y Werger, 1987; Sims et al. 1994) en la optimización de la fotosíntesis bajo diferentes irradianzas durante el crecimiento. Los contenidos de nitrógeno foliar de las especies estudiadas se encuentran dentro del rango de valores publicados para especies de bosques lluviosos tropicales, siendo en el caso de *A. triplinervia* más aproximados a los encontrados en especies en condiciones eutróficas, mientras que *M. acuminata* tiende a tener un valor intermedio entre condiciones eutróficas y oligotróficas (Mooney et al. 1984). *T. rubrivenium* presento los valores mas altos de contenido de nitrógeno foliar, con respecto a las otras dos especies estudiadas apreciándose una clara respuesta de aclimatación al régimen lumínico a la cual fueron sometidas manifestado por un aumento en el contenido de nitrógeno foliar total a medida que fueron expuestas a mayor intensidad lumínica y con un tiempo de exposición mas prolongado (100,02 mmol/m<sup>2</sup> - 107,73 mmol/m<sup>2</sup> - 152,43 mmol/m<sup>2</sup> en los tratamientos de plena control (20%), 65% y plena exposición (100%), respectivamente a los 180 días). Anten et al. (1996) citado por Ataroff y García-Núñez (2013), realizo un trabajo sobre la capacidad fotosintética y la utilización del nitrógeno en relación al ambiente de luz de *T. rubrivenium*, encontrando que el contenido de nitrógeno foliar fue mayor que el contenido optimo al cual la fotosíntesis por unidad de nitrógeno es maximizada, concluyendo que el crecimiento de esta especie esta mayormente limitado por la disponibilidad de luz. Evans y Pooter (2001), obtuvieron datos donde la concentración de nitrógeno por unidad de masa seca de la hoja en especies de diferentes formas de vida encontrando que no difirió entre los dos tratamientos de luz (alta y baja irradianza).

En consecuencia, cuando AFE cambia, esto altera el contenido de nitrógeno por unidad área foliar. Al mismo tiempo, un cambio en AFE altera la cantidad de luz que puede ser interceptada por unidad de hoja masa seca. Los resultados obtenidos para las tres especies estudiadas corresponde de la misma manera con estudios realizados en especies arbóreas tropicales donde se aprecia una mayor proporción de contenido de nitrógeno foliar en las hojas que expuestas a mayor intensidad lumínica,

esto se debe a que las plantas de sol tienden a poseer niveles más altos de RUBISCO el cual es invertido en el ciclo enzimático de Calvin, resultando una alta tasa de asimilación de carbono por unidad de nitrógeno invertido (Evans, 1989). La relación entre la morfología de la hoja y el contenido del nitrógeno, es un aspecto que está bien documentado, encontrándose que en condiciones de baja disponibilidad de nitrógeno, las plantas tienden a producir hojas más gruesas (mayor PFE), con una mayor acumulación de carbohidratos estructurales y con menores contenidos de nitrógeno por gramo de peso seco (Medina, 1984).

El contenido de clorofila total presentó diferencias significativas ( $p < 0,098$ ) para los tratamientos de mayor intensidad lumínica, encontrándose los valores más bajos cuando estas fueron expuestas a plena exposición (100%) en *A. triplinervia*. Mientras para *T. rubrivenium* esta presenta diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Nuestros resultados se encuentran dentro de lo esperado, debido a que las plantas que crecen en ambientes con baja disponibilidad de radiación solar tienden a presentar mayor cantidad de clorofila total que le permite aumentar su eficiencia en la captación de luz.

Para *M. acuminata* se encontraron los valores más bajos de clorofila total (Ct) por unidad de área foliar ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ ) a medida que se exponían las plantas a mayores intensidad lumínica es decir plena exposición (100%), 65% y control (20%) a los 180 días ( $215,06 \mu\text{mol}/\text{m}^2 - 306,89 \mu\text{mol}/\text{m}^2 - 475,05 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ , respectivamente), encontrándose valores similares para la concentración de clorofila por unidad de peso foliar (mg/g). En el caso de *A. triplinervia* no es muy apropiado hablar de valores significativos, debido a las pocas replicas que se obtuvieron para los 120 días, esto se debió a que en este tiempo las hojas no estaban completamente desarrolladas una vez que se formaron en el nuevo ambiente de luz. Sin embargo es importante acotar que para los tratamientos de mayor intensidad de luz 65% y 100% una vez finalizado el experimento obtuvieron valores muy similares a nuestro control (20%). *T. rubrivenium* presentó los niveles más altos de contenido de clorofila total a los 180 días, en comparación con las otras dos especies estudiadas, y fue mayor en las plantas que se encontraban en menores intensidades de luz, aunque apreciamos que para el tratamiento de 65% es mayor que nuestro control (20%) encontrándose en el tratamiento de plena exposición 100% los valores más bajos ( $440,84 \mu\text{mol}/\text{m}^2 - 406,41 \mu\text{mol}/\text{m}^2 - 248,95 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ , respectivamente), de la misma manera se registraron cambios para la concentración de clorofila por peso foliar siendo mayor en el tratamiento 65% y control con respecto al tratamiento de plena exposición solar. Este resultado podría deberse a errores de muestreo de las hojas en las cuales se realizó el análisis, ya que se contaba con poco material; cambios en la edad de las hojas pueden representar cambios drásticos en el contenido de clorofila. Sin embargo, la aparición de otras alteraciones en la estructura de la hoja, la cual puede contribuir a maximizar la longitud de la trayectoria eficaz de la radiación dentro de la hoja y de ese modo aumentar la probabilidad de su absorción por los pigmentos fotosintéticos, no puede tenerse en cuenta. Probablemente, este fue el caso de *T. rubrivenium*, cuyo aumento de la absorbancia de la hoja no era asociado con un mayor contenido de clorofila. Estos resultados coinciden con los encontrados por Poorter et al. (2000) para especies de sombra, los cuales indican que las hojas tienden a presentar una mayor concentración de clorofila por unidad de peso en comparación con las hojas de sol; esta propiedad les permite obtener y convertir al máximo los escasos fotones disponibles.

Para *T. rubrivenium* con respecto a *M. acuminata* y *A. triplinervia*, observamos una mayor concentración de clorofila en donde a lo largo del tiempo (180 días) tiende a disminuir por unidad de peso debido a una menor asignación hacia la producción de pigmento fotosintéticos, pero por unidad de área foliar la clorofila tiende a aumentar en el sol debido a la disminución del AFE (hay mayor número de capas de células por unidad de área lo cual aumenta el contenido de clorofila por unidad de área, aunque no se aprecia diferencias significativas).

En cuanto a la relación a los distintos tipos de clorofila, la clorofila *a* es relativamente más abundante en los centros de reacción química de la luz; en cambio, la clorofila *b*, es más abundante en las "antenas de captura" donde se absorbe la luz. Esto sugiere en general, que las plantas tolerantes a la sombra tienen, relativamente más clorofila *b* que clorofila *a* (Hogan y Machado, 2002). En nuestro estudio esta relación de clorofila *a/b* fue más baja en las hojas de sombra que en las hojas de sol de

acuerdo a lo esperado. Portes et al. (2010) al estudiar dos especies de diferentes grupos sucesionales bajo ambientes contrastantes de luz en Brasil, encontraron un decrecimiento en la relación de clorofila *a/b* en hojas de sombra en relación a la encontrada en hojas de sol. La mayor razón de clorofila *a/b* en hojas de sol, refleja un mayor número de complejos del centro de reacción del PSII y menor número de complejos cosechadores de luz que contienen mayoritariamente clorofila *b* (Evans y Poorter, 2001).

En lo que respecta a la relación clorofila/ nitrógeno para las tres especies estudiadas fue mayor en las plantas que se encontraban en nuestro tratamiento control (20%). Estos resultados concuerdan con varios estudios realizados en bosques tropicales, donde las hojas de sombra poseen altos valores de la relación clorofila/nitrógeno, indicando que una mayor proporción del nitrógeno foliar fue invertido en clorofila para la captura de luz a expensas de inversión en RUBISCO para la fijación de carbono (Evans, 1989; Chazdon et al. 1996; Poorter et al. 2000).

## 7.5 Anatomía foliar

La capacidad de aclimatación a una determinada intensidad lumínica es variable entre especies, entre poblaciones de una misma especie, e incluso entre clones lo cual refleja aspectos genéticos involucrados (Valladares et al. 2002), pero también es el resultado del ambiente lumínico prevaleciente en el hábitat natural donde la planta está creciendo (Tognetti et al. 1997). Las plantas que crecen en ambientes sombreados tienen mayor área foliar, lo cual les permite aumentar la intercepción de luz (James y Bell, 2000) y sus hojas son generalmente más delgadas que las expuestas al sol. El menor espesor de la lámina foliar se debe a que el parénquima en empalizada tiene células más pequeñas y/o menor número de capas de células (Lambers et al. 1998). También para Rundel et al. (1998) las plantas de sol invierten más en clorénquima especialmente desarrollan más parénquima de empalizada y producen una reducción del parénquima esponjoso para mejorar la difusión del CO<sub>2</sub> ya que las plantas de sol presentan una alta superficie interna de mesófilo. Es importante destacar que las características anatómicas de las hojas están estrechamente relacionadas con la ganancia de carbono, la pérdida de agua y la dureza por lo cual, si bien son muy importantes para aclimatarse a ambientes con baja irradiancia, pueden representar una desventaja frente a otros factores de estrés (Guarnaschelli et al. 2009). Según Rubino et al. (1989), la disminución de la cantidad de estomas por mm<sup>2</sup> incrementa la resistencia estomática de la planta, de esta manera evita un exceso en la transpiración. Sin embargo, tanto la densidad como el índice estomático son tan variables que están fuertemente influenciados por diversas condiciones estresantes, como son las sequías y las altas intensidad lumínica (Rubino et al. 1989; Salas et al. 2001).

En nuestro trabajo se esperaba que las células del parénquima en empalizada tuvieran una mayor longitud o mayor número de capas, en las hojas que fueron expuestas a mayores intensidades lumínicas, debido a que las plantas que se aclimatan al sol van a poseer estas características con respecto a las plantas de sombra, ya que estas le sirven para cosechar de manera más efectiva los recursos fotosintéticos provenientes de la luz solar. Esto se observó para las tres especies estudiadas siendo más notorio para *T. rubrivenium*, *M. acuminata* y *A. triplinervia*, respectivamente, en los tratamientos de mayores intensidad de luz. Asimismo, la presencia de más de dos capas de células en el parénquima en empalizada y las características observadas en éstas, largas y estrechas son caracteres vinculados con hojas expuestas a alta radiación solar (Lindorf, 1992). Kozlowski y Pallardy (1997), reportaron datos muy similares donde en condiciones de baja irradiancia las hojas presentaron menor espesor, esto implica una estrategia para adaptarse a la sombra. La reducción en el espesor foliar se debió principalmente con la disminución en el espesor del parénquima en empalizada. Estas respuestas son similares a las observadas también por Hanba et al. (2002), quienes detectaron disminución en el espesor del parénquima en empalizada al aumentar el nivel de sombreado, particularmente en especies del género *Acer* no tolerantes a la sombra. En contraste, las hojas de las plantas que crecieron a pleno sol presentaron capas de parénquima en empalizada más

gruesas (Lambers et al. 1998). Cuando el parénquima en empalizada muestra una disposición más compacta, generalmente aumenta la resistencia a la difusión del vapor de agua. Esto permite regular la pérdida de agua en ambientes soleados, donde la demanda transpiratoria es más elevada, por lo tanto implicaría una mejor adaptación a tales condiciones ambientales (James y Bell, 1995). La presencia de células en empalizada verticales y delgadas en el mesófilo, como los encontrados en este estudio, podría estar relacionado con la evolución de las plantas en los espacios abiertos, como matorrales (Chatelet et al. 2013).

No fueron observados estomas en la superficie adaxial a pesar de las altas intensidades de luz a la que están sometidas estas láminas foliares y que era de esperarse de acuerdo a lo indicado por Mott et al. (1982); sin embargo, esos autores indicaron también, que no todas las especies sometidas a alta radiación son anfiestomáticas, pero que en esos casos las plantas muestran tasas fotosintéticas bajas y crecimiento lento, tal como ocurre en *Quercus* (Jáuregui y Torres, 2014). Los resultados obtenidos en cuanto a la densidad de estomas, se obtuvo datos de acuerdo a lo esperado, es decir, que las plantas que se encontraban a menor intensidad de luz (Control 20%) presentaron una menor densidad de estomas en comparación con las que recibían mayores intensidad lumínica (100% y 65%, respectivamente). Esta mayor densidad de estomas en las plantas de las tres especies estudiadas en el tratamiento de plena exposición solar en comparación con nuestro control, concuerda con varios estudios donde se reporta la influencia de los niveles de luz en la estructura de la hoja, donde se encuentran que se diferencia mayor número de células estomáticas en las hojas expuestas a mayores intensidades de luz (Boardman, 1977). Datos similares fueron encontrados por (Quevedo, 2014) por especies consideradas como intolerantes a la sombra *M. meridensis* y *T. rubrivenium*, lo que sugiere un mecanismo de aclimatación a altos niveles de irradiancia.

## 8. CONCLUSIONES

- ✓ Los resultados indican que las tres especies tienen la capacidad de responder a cambios del ambiente lumínico, mostrando en mayor o menor medida una alta plasticidad fenotípica manifestada por su capacidad de aclimatación del aparato fotosintético a aumentos repentinos en la radiación lumínica. *M. acuminata* y *T. rubrivenium* fueron las que mostraron mayor plasticidad en las propiedades morfo anatómicas y fisiológicas evaluadas lo cual es típico de las especies pioneras, mientras que *A. triplinervia* aunque presenta características propias de una especie heliófila, su menor plasticidad sugiere un estatus sucesional más avanzado, es decir, seguramente es una especie colonizadora de claros con mayor tolerancia a la sombra
- ✓ Estas especies arbóreas en individuos juveniles son capaces de aclimatarse a incrementos súbitos en el ambiente de luz a lo largo del tiempo, sin mostrar signos de fotoinhibición crónica, demostrando una recuperación en el corto plazo (menos de 60 días) de la eficiencia cuántica máxima del FSII. Esta capacidad de recuperarse de la fotoinhibición es la que permite a estas especies colonizar sitios abiertos.
- ✓ Las hojas desarrolladas en condiciones de baja irradiación de luz presentan una mayor absorbancia que las que están expuestas a alta irradiación. La disminución de la absorbancia al exponer a las plantas a mayor exposición de luz trae como consecuencia el aumento de la reflectancia y transmitancia en las hojas.
- ✓ El contenido de Nitrógeno Foliar (por unidad peso y área) fue mayor en las especies de *A. triplinervia* y *T. rubrivenium*, lo cual indica un mejor estatus nutricional que está relacionado con especies de rápido crecimiento de la sucesión temprana, mientras que para *M. acuminata* el contenido de N fue significativamente menor, con valores propios de especies de crecimiento lento tolerantes a la sombra.

- ✓ Para *M. acuminata*, *A. triplinervia* y *T. rubrivenium*, estas presentaron mayor cantidad de clorofila total (por unidad de peso y área) en el tratamiento (20%) lo que demandó una mayor utilización de nitrógeno para la síntesis de complejos proteína-pigmentos. En cuanto a la relación clorofila/nitrógeno esta disminuyó en los tratamientos de mayor intensidad lumínica en cada una de las especies estudiadas.
- ✓ La radiación solar en alta intensidad lumínica, afecta algunas características en lo que respecta a la anatomía foliar en *M. acuminata*, *A. triplinervia* y *T. rubrivenium*, el espesor laminar aumento en condiciones de mayor intensidad lumínica, lo cual permite aumentar las tasa fotosintéticas por unidad de área. En cuanto a la densidad estomática esta también aumento en cada especie estudiada al recibir mayor intensidad lumínica, lo cual ayudaría a tener mayores tasas de fotosíntesis y mayores tasas de transpiración si hay disponibilidad de agua lo cual en una selva nublada seguramente no representa una limitante. Estas mayores tasas de transpiración permite enfriar las hojas expuestas a través de las pérdidas de calor latente por evaporación.
- ✓ Con la información derivada de este trabajo logramos saber que en un período de 6 meses en vivero, los individuos juveniles de estas especies producen hojas nuevas aclimatadas al sol (65 % y 100% de la radiación solar) sin signos de fotoinhibición, lo cual indica que este es el período mínimo que deben permanecer en el vivero antes de ser trasplantadas a campo abierto. Por otra parte, *M. acuminata* y *T. rubrivenium* soportaron mejor el tratamiento “choque” de luz, lo cual nos sugiere que al plantarlas a campo abierto probablemente tengan un mejor éxito en cuanto a la tasa de supervivencia y crecimiento, mientras que probablemente *A. triplinervia* convenga plantarla bajo un dosel abierto.

## 9. BIBLIOGRAFIA

- Acevedo D. (1994). Taller - seminario: Metodologías para la determinación del nitrógeno en materiales ecológicos. Postgrado de Ecología Tropical. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas. Universidad de Los Andes. Pp. 3-13.
- Acevedo M., Ataroff M., Monteleone S., Estrada C. (2003). Heterogeneidad estructural y lumínica del sotobosque de una selva nublada andina de Venezuela. *Interciencia* 28 (7):394 – 403.
- Acevedo M., Monteleone S., Ataroff M., Estrada C. (2001). Aberturas del dosel y espectro de la luz en el sotobosque de una selva nublada andina de Venezuela. *Ciencia* 9(2). Maracaibo, Venezuela. Pp. 165-183.
- Adir N., Zer H., Shochat S., Ohad I. (2003). Photoinhibition a historical perspective. *Photosynthesis Research* 76: 343-370.
- Aerts R., Chapin F. (2000). The mineral nutrition of wild plant revisited: a re-evaluation of processes and patterns. *Adv. Ecol. Res.* 30: 1-67.
- Anten N., Hernández R., Medina E. (1996). The photosynthetic capacity and leaf nitrogen concentration as related to light regime in shade leaves of a montane tropical forest tree, *Tetrorchidium rubrivenium*. *Functional Ecology* 10:491-500.
- Aranda I., Gil L., Pardos J. (2004). Improvement of growth conditions and gas exchange of *Fagussylvatica* L. seedlings planted below a recently thinned *Pinus sylvestris* L. stand. *Trees* 162: 153-164.

- Arnon D. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenoxidase in beta vulgaris. *Plant physiology* 24: 1-15.
- Ataroff M., Garcia-Nuñez C. (2013). Selvas y bosques nublados de Venezuela. En: Medina E, Huber O, Nassar J., Navarro P(Eds.). *Recorriendo el paisaje vegetal de Venezuela*. Ediciones IVIC, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC). Caracas, Venezuela. Pp. 125-155.
- Ataroff M. (2003). Selvas y bosques de montaña. En: Aguilera M., Azócar A., González-Jiménez E. (Eds): *Biodiversidad en Venezuela*. Tomo II. FONACIT-Fundación Polar, Caracas, Pp. 762-810.
- Ataroff M. (2001). Los bosques nublados de Venezuela. En: Kapelle M., Brown A (eds) *Bosques nublados del neotropico*. Instituto Nacional de Biodiverisdad INBio. Costa Rica, Pp. 397-442.
- Ataroff M., Rada F. (2000). Deforestation impact on water dynamics in a Venezuelan Andean cloud forest. *Ambio* 29(7): 440-444.
- Azocar A., Rada F. (2006). *Ecofisiología de plantas de páramo*. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecologicas (ICAE). Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. Pp. 129-136.
- Bailey S., Horton P., Walters R. (2004). Acclimation of *Arabidopsis thaliana* to the light environment: the relationship between photosynthetic function and chloroplast composition. *Plant* 218, 793–802.
- Baltzer J., Thomas S. (2005) Leaf optical responses to light and soil nutrient availability in temperate deciduous trees. *American Journal of Botany* 92: 214-223.
- Bazzaz F. (1996). Plants in changing environments. En: Moreno F. (1998). *Adaptación de onces especies arbóreas de los bosques altoandinos a condiciones contrastantes de luz*. Universidad Nacional de Colombia. Trabajo de Investigación. Medellín. Pp 1-12.
- Bazzaz F. (1984). Dynamics of wet tropical forest and their species strategies. En : Medina E., Mooney H., Vazquez-Yanes C. (Eds). *Physiological Ecology of Plants of the Wet Tropics*. The Hague. Bostonj. Lancaster. Pp. 223-243.
- Bazzaz F., Carlson R. (1982). Photosynthetic acclimation to variability in the light environment of early and late successional plants. *Oecologia (Berlin)* 54: 313-316.
- Bazzaz F., Pickett S. (1980). Physiological ecology of tropical succession: a comparative review. *Annual Review of Ecology and Systematics* 11: 287-310.
- Bazzaz F. (1979). The physiological ecology of plant succession. *Ann. Rev. Ecol. System.* 10:351-371.
- Bjorkman O. (1981). Response to different quant flux densites. In: Lange O., Nobel P., Osmond C., Ziegler H (Eds). *Physiology Plant Ecology I. Encyclopedia of the Plant physiology*. Vol. 12A, SpringerVerlag, Berlib-Heilderbeg-New York. Pp.57-107.
- Boardman N. (1977). Comparative photosynthesis of sun and shade plants, En: Moreno F. (1998). *Adaptación de onces especies arbóreas de los bisques altoandinos a condiciones contrastantes de luz*. Universidad Nacional de Colombia. Trabajo de Investigación. Medellín. Pp 1-12.

- Bracho J. (2014). Respuestas ecofisiológicas de arboles juveniles a diferentes regimenes de luz en el bosque nublado San Eusebio, Estado Merida. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecologicas (ICAE). Universidad de Los Andes, Mérida. Venezuela.
- Brown A., Kappelle M. (2001). Introducción a los bosques nublados del neotrópico: una síntesis regional. INBio, Costa Rica. Pp. 25-40.
- Cabello-Pasini A., Macías-Carranza V. (2011). Propiedades ópticas de las hojas de vid: reflectancia, transmitancia, absorptancia y concentración de clorofila. *Agrociencia* 45: 943-957. 2011.
- Canham C., Finzi A., Pacala S., Burbank D. (1994). Causes and consequences of resource heterogeneity in forests - interspecific variation in light transmission by canopy trees. *Canadian Journal of Forest Research- Journal Canadiens de La Recherche Forestiere* 24: 337-349.
- Carter A., Spiering B. (2002). Optical properties of intact leaves for estimating chlorophyll concentration. *J. Environ. Qual.* 31: 1424-1432.
- Casierra-Posada F. (2007) . Fotoinhibición: Respuesta fisiológica de los vegetales al estrés por exceso de luz. Una revisión. *Revista colombiana de ciencias hortícolas - vol. 1 - no.1 - Pp. 114-123.*
- Castro Y., Fetcher N., Fernández D. (1995). Chronic photoinhibition in seedlings of tropical trees. *Physiologia Plantarum* 94: 560-565.
- Chatelet D., Clement W., Sack L., Donoghue M., Edwards E. (2013). The evolution of photosynthetic anatomy in viburnum (adoxaceae). *Int. J. Plant Sci.* 174(9):1277–1291.
- Chazdon R., Pearcy R., Lee D., Fetcher N. (1996) Photosynthetic responses of tropical forest plants to contrasting light environments, in: S. Mulkey, *et al.* (Eds.), *Tropical Forest Plant Ecophysiology*, Chapman & Hall, New York. pp. 5–55.
- Chazdon R. (1988). Sunflecks and their importance to forest understory plants. *Advances in Ecological Research* 18: 1-63.
- Dávila Y. (2009). Efecto borde y respuestas funcionales en el establecimiento de *Alchornea triplinervia* y *Myrcia acuminata* en un fragmento de selva nublada andina. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecologicas (ICAE). Universidad de Los Andes, Mérida. Venezuela. Pp.5-6.
- Denslow J. (1980). Gap partitioning among tropical rainforest trees. *Biotropica* 12:47-55.
- Durán H. (2004). Estudio de características morfológicas y reproductivas de 5 especies en tres sectores del bosque nublado andino. En: Dávila Y. (2009). Efecto borde y respuestas funcionales en el establecimiento de *Alchornea triplinervia* y *Myrcia acuminata* en un fragmento de selva nublada andina. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecologicas (ICAE). Universidad de Los Andes, Mérida. Venezuela. Pp. 14.
- Evans J., Poorter H. (2001). Photosynthetic acclimation of plants to growth irradiance: the relative importance of specific leaf area and nitrogen partitioning in maximizing carbon gain. *Plant, Cell & Environment* 24:755-767.
- Evans J. (1993). Photosynthetic acclimation and nitrogen partitioning within a lucerne canopy. II. Stability through time and comparison with a theoretical optimum. *Australian Journal of Plant Physiology* 20, 69–82.

- Evans J. (1989). Partitioning of nitrogen between and within leaves grow under irradiance .- Aust. Plant Physiol. 16: 533-548, 1989.
- Fetcher N., Oberbauer S., Rojas G., Strain B. (1987). Efectos del regimen de luz sobre la fotosíntesis y el crecimiento en plántulas de árboles de un bosque lluvioso tropical de Costa Rica. Rev. Biol. Trop., 35 (Supl 1). 97-100.
- Flores S. (1992). Growth and seasonality of seedling and juveniles of primary species of a cloud forest in norther Venezuela. Journal of tropical Ecology 8:299-305.
- García-Núñez C., Jaimes J., Araque O., Ramírez M., Jaimez R., Ely F., Rada F., Quevedo A. (2015). Dinámica de la aclimatación fotosintética a la luz en especies arbóreas de la sucesión temprana de la Selva Nublada Andina. Ponencia para el Congreso de Ecología Venezolano.
- García-Núñez C., Azocar A., Rada F. (1995). Photosynthetic acclimation to light in juveniles of two cloud forest tree species. Tress 10:114-124.
- García-Núñez C. (1992). Efectos del ambiente de luz en la respuesta fotosintética, anatomía foliar y relaciones hídricas en plántulas de dos especies arbóreas de la selva nublada de la Carbonera. Tesis de maestría. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. Pp. 1-19.
- Gentry A. (1986). Endemism in tropical versus temperate plant communities. En: Soulé M. (Ed.), Conservation Biology: The science of scarcity and diversity. Sinauer Associates Inc., Sunderland, Mass. Pp. 153-181.
- Genty B., Briantais J., Baker N. (1989). The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence Biochemical et Biophysica. Acta 990:87-92.
- Givnish T. (1988) Adaptation to sun and shade: a whole plant perspective. Australian Journal of Plant Physiology 15:63-92.
- Goh C., Ko S., Koh S., Kim Y., Bae H. (2012). Photosynthesis and environments: photoinhibition and repair mechanisms in plants. Journal of Plant Biology. 55: 93-101.
- Gordillo M., Jiménez J., Cruz R., Juárez E., García R., Mejías R. (2002). Los géneros de la familia Euphorbiaceae en México. Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Botánica 73(2): 155-281.
- Grant L., Daughtry C., Vanderbilt V. (1993). Polarized and specular reflectance variation with leaf surface features. En: Quevedo A. (2014). Distribución y Respuesta fotosintética en individuos juveniles de especies arbóreas en relación al ambiente de luz en una selva nublada andina. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas (ICAE), Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. Pp.50-52.
- Guarnaschelli A., Mantese A., Battaglia A. (2009). Cambios anatómicos y morfológicos en plántulas de eucalyptus sp. en respuesta a diferentes niveles de luz . Soc. Argent. Bot. 44 (3-4). 274.
- Hanba Y., Kogami H., Terashima I. (2002). The effect of growth irradiance on leaf anatomy and photosynthesis in *Acer* species differing in light demand. *Plant Cell Environ.* 25: 1021-1030.
- Hamilton L. (1995). Una Campaña por Bosques Nublados - Ecosistemas únicos y valiosos en peligro. IUCN, Gland, Switzerland. Pp.22.



- Hamilton L., Juvik J., Scatena F. (1993). The Puerto Rico Tropical Cloud Forest Symposium: Introduction and Workshop Synthesis.. En: Hamilton L., Juvik J., Scatena F (Eds.), Tropical Montane Cloud Forests - Proceedings of an International Symposium. East-West Center, Honolulu Pp. 1-12.
- Havaux M., Eymery F., Porfirova S., Rey P., Doermann P. (2005). Vitamin E protects against photoinhibition and photooxidative stress in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* 17 3451–3469.
- Hikosaka K., Hanba Y., Hirose T., Terashima I. (1998). Photosynthetic nitrogen-use efficiency in leaves of woody and herbaceous species. *Functional Ecology* 12, 896–905.
- Hikosaka K., Terashima I. (1996) Nitrogen partitioning among photosynthetic components and its consequence in sun and shade plants. *Functional Ecology* 10, 335–343.
- Hirose T., Werger M. (1987) Maximizing daily canopy photosynthesis with respect to the leaf nitrogen allocation pattern in the canopy. *Oecologia* 72, 520–526.
- Hogan K., Machado J. (2002). La luz solar: consecuencias biológicas y su medición en: Guariguata M.R., Kattan G.H. (Eds.), *Ecología y Conservación de Bosques Neotropicales*, Cartago, Costa Rica. pp. 119-143.
- Howorth R., Colonnello G. (2004). Memoria de la Fundación La Salle de Ciencias Naturales 2005. 161-162: 137-165.
- Huber O. (1986). Las selvas nubladas de Rancho Grande: Observaciones sobre su fisionomía, estructura y fenología. En: Linares A., (2008). *Análisis Florístico y Estructural de la vegetación de una selva nublada en un gradiente altitudinal, en la Mucuy, estado Mérida*. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas (ICAE). Universidad de Los Andes, Mérida. Venezuela, Pp. 1-3.
- Huner N., Oquist G., Sarhan F. (1998). Energy balance and acclimation to light and cold. *Trends in Plant Science* 3, 224–230.
- James S., Bell D. (2000). Influence of light availability on leaf structure and growth of two *Eucalyptus globulus* ssp. *globulus* provenances. *Tree Physiol.* 20: 1007-1018.
- James S., Bell D. (1995). Morphology and Anatomy of Leaves of *Eucalyptus camaldulensis* clones: Variation between geographically separated locations. *Aust. J. Bot.* 43: 415-433.
- Jáuregui D., Torres S. (2014). Anatomía de la lámina foliar de especies arbóreas predominantes en la estación experimental Nicolasito, estado Guárico, Venezuela. *Saber*, Universidad de Oriente, Venezuela. Vol. 26 N° 4: 373-384.
- Jullien A., Allirand J., Mathieu A., Andrieu B., Ney B. (2009). Variations in leaf mass per area according to N nutrition, plant age, and leaf position reflect ontogenetic plasticity in winter oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Field Crop Res.* 114, 188–197.
- Karavin N. (2013). Effects of leaf and plant age on specific leaf area in deciduous tree species *Quercus cerris* L. var. *cerris*. *Bangladesh J. Bot.* 42, 301–306.

- Kato M., Kouki H., Naoki H., Amane M., Tadaki H. (2003). The excess light energy that is neither utilized in photosynthesis nor dissipated by photoprotective mechanisms determines the rate of photoinactivation in photosystem II. *Plant and Cell Physiology*.44: 318–325.
- Kattan G. (2002). Fragmentación: patrones y mecanismos de extinción de especies. En: *Ecología y conservación de bosques neotropicales*.Guariguata M., Kattan G (Eds.). Libro Universitario Regional, Cartago. Pp. 561-590.
- Kitajima K., Bolker B. (2003). Testing performance rank reversals among coexisting species: crossover point irradiance analysis by Sack & Grubb (2001) and alternatives. *Functional Ecology* 17: 276-287.
- Kitajima K. (1994). Relative importance of photosynthetic traits and allocation patterns as correlates of seedling shade tolerance of 13 tropical trees. *Oecologia* 98: 419-428.
- Knapp A., Carter G. (1998). Variability in leaf optical properties among 26 species from a broad range of habitats. *Am. J. Bot.* 85:940-946.
- Kobe R. (1999). Light gradient partitioning among tropical tree species through differential seedling mortality and growth. *Ecology* 80: 187-201.
- Kozlowski T., Pallardy S. (1997). *Physiology of woody plants*.Second edition. Academic Press, San Diego. Pp. 411.
- Kozlowski T., Kramer P., Pallardy S. (1991). *The Physiological Ecology woody plants*. San Diego, California: Academic Press. Pp. 657.
- Kramer P., Kozlowski T. (1979). *Physiology of woody plants*. Academic Press, Orlando, Florida. Pp. 811.
- Krause G., Weis E. (1991). Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 42: 313–349.
- Lambers F., Chapin I., Pons T. (2008). *Plant Physiological Ecology*, 2 Ed. New York, NY: Springer.
- Lambers F., Chapin I., Pons T. (1998). *Plant Physiological Ecology*. Springer-Verlag, New York. Pp.540.
- Lamprecht H., Veillón J. (1967). La Carbonera. *El Farol*: 17-24.
- Lee A., Thornber J. (1995). Analysis of the pigment-protein complexes from barley (*Hordeum vulgare*): the xanthophyll cycle intermediates occur mainly in the light-harvesting complexes of photosystem I and II. *Plant Physiology* 107: 565–574.
- Lee D, Graham R. (1986). Leaf optical properties of rainforest sun and extreme shade plants. *Amer. J. Bot.* 73:1100-1108.
- León S., Zambrano S. (2004). Características morfológicas y reproductivas de seis especies de la selva nublada andina. En: Linares A., (2008). *Análisis Florístico y Estructural de la vegetación de una selva nublada en un gradiente altitudinal, en la Mucuy, estado Mérida*. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas (ICAE). Universidad de Los Andes, Mérida. Venezuela, Pp. 13.

- Lindorf H. (1992). Anatomía foliar de especies de un bosque húmedo en el territorio Federal Amazonas, Venezuela. Mem.Soc.Cien..Nat La Salle. Tomo LII, numero.137. Caracas.venezuela. Pp 18-24.
- Long S., Humphries S., Falkowski P. (1994). Photoinhibition of photosynthesis in nature. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 45: 633-662.
- Manrique E. (2003). Los pigmentos fotosintéticos, algo más que la captación de luz. Ecosistemas.
- Márquez O. (1990) Génesis de una secuencia de suelos en el Bosque Experimental San Eusebio, La Carbonera. Estado Mérida. Revista Forestal Venezolana 32:133-150.
- Matsubara S., Krause G., Aranda J., Virgo A., Beisel K., Jahns P., Winter K. (2009). Sun-shade patterns of leaf carotenoid composition in 86 species of neotropical forest plants. Functional Plant Biology 36:20-36.
- Maxwell K., Johnson G. (2000) Chlorophyll fluorescence. A practical guide. J Exp Bot 51: 659-668.
- Medina E. (1984). Nutrient balance and physiological processes at leaf level. En: Medina, E. Mooney HA., Vazquez-Yanes C (Eds) Physiology of Plants of the Wet Tropics. W. Junk. The Hague.Pp. 139-154.
- Mooney H., Field C., Vazquez-Yanes C. (1984). Photosynthetic characteristics of wet tropical forest plants.. En García-Núñez C., Azocar A., Rada F. (1995). Photosynthetic acclimation to light in juveniles of two cloud forest tree species. Tress 10:114-124.
- Moreno S., Perales H., Salcedo M. (2008). La fluorescencia de la clorofila a como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. REB 27(4): 119-129.
- Moreno F. (1998). Adaptación de once especies arbóreas de los bosques altoandinos a condiciones contrastante de luz. Universidad Nacional de Medellín. Trabajo de Investigación. Pp. 1-19.
- Mott K., Gibson A., Oleary J. (1982). The adaptative significance of amphistomatic leaves. Pl. Cell Environ. 5(6):455-460.
- Munne-Bosch S., Alegre L. (2002). Plant aging increases oxidative stress in chloroplasts. Planta 214: 608–615
- Murillo J. (2009). The genus *Tetrorchidium* (Euphorbiaceae) from Colombia and Ecuador. Calsida 31(2) 213-225.
- Niinemets U., Valladares F. (2004). Photosynthetic acclimation to simultaneous and interacting environmental stresses along natural light gradients: optimality and constraints. Plant Biology 6: 254-268.
- Niinemets Ü., Kull O., Tenhunen J. (1998). An analysis of light effects on foliar morphology, physiology, and light interception in temperate deciduous woody species of contrasting shade tolerance. *Tree Physiology* 18, 681–696.
- Niinemets U., Tenhunen J. (1997). A model separating structural and physiological effects on carbon gain along light gradients for the shade-tolerant species *Acer saccharum*.- Plant Cell Environ. 20: 845 – 866, 1997.
- Niinemets Ü., Kull K. (1994). Leaf weight per area and leaf size of 85 Estonian woody

- species in relation to shade tolerance and light availability. *Forest Ecology and Management* 70: 1-10.
- Nobel P. (1995). Environmental biology. En: Barbera G., Inglese P. y Pimienta-Barrios E. Eds. *Agro-Ecology, Cultivation and Uses of Cactus Pear*. Plant Production and Protection Paper 132. Publication Division, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma. Pp. 36-57.
- Osmond C. (1994). What is photoinhibition? Some insights from comparisons of shade and sun plants. In: N.R. Baker & J.R. Bowyer (eds.), *Photoinhibition of photosynthesis: from molecular mechanisms to the field*: 1-24. BIOS Scientific Publishers Limited, Oxford, United Kingdom.
- Pacheco E., Ataroff M. (2005). Dinámica ecohidrológicas en una selva nublada andina venezolana. En: Ataroff M. (eds). *Dinámica hídrica en sistemas neotropicales*. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas (ICAE). Universidad de Los Andes, Mérida. Venezuela, Pp. 25-30.
- Park Y., Chow W., Anderson J., Hurry V. (1996). Differential susceptibility of Photosystem II to light stress in light-acclimated pea leaves depends on the capacity for photochemical and nonradioactive dissipation of light. *Plant Science* 115, 137–149.
- Pereira R., Válio I. (2003). Leaf optical properties as affected by shade in saplings of six tropical tree species differing in successional status. *Braz. J. Plant Physiol.*, 15(1):49-54.
- Pfannschmidt T. (2003). Chloroplast redox signals: how photosynthesis controls its own genes. *Trends in Plant Science* 8, 33–41.
- Portes M., Damineli D., Ribeiro R., Monteiro J., Souza G. (2010). Evidence of higher photosynthetic plasticity in the early successional *Guazuma ulmifolia* Lam. compared to the late successional *Hymenaeacourbaril* L. grown in contrasting light environments. *Brazilian Journal of Biology*. 70:75-83.
- Poorter L., Hernández R., Medina R., Werger M. (2000). Leaf optical properties in Venezuela cloud forest trees. *Tree Physiology* 20:519-526.
- Poorter L., Oberbauer S., Clark D. (1995) Leaf optical properties along a vertical gradient in tropical rain forest canopy in Costa Rica. *American Journal of Botany* 82:1257-1265.
- Powels S. (1984). Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 35, 14-44.
- Quevedo A. (2014). Distribución y Respuesta fotosintética en individuos juveniles de especies arbóreas en relación al ambiente de luz en una selva nublada andina. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas (ICAE), Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- Ramos M., Plonczak M. (2007). Dinámica sucesional del componente arbóreo luego de un estudio destructivo de biomasa en el Bosque Universitario San Eusebio, Mérida Venezuela. *Rev. Forest. Venez.* 1:35-46.
- Rangel S. (2014). Efecto del régimen lumínico en la respuesta fotosintética y características morfoanatómicas de *Heliconia bihai*. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas (ICAE), Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. Pp. 94.
- Rangel C. (2004). Mapa de Vegetación Escala 1:5000 y Visualización tridimensional de la Estación Experimental San Eusebio por medio de sistema de Información Geográfica y Animaciones

Virtuales. Centro de Estudios Forestales de Posgrado. Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales, ULA. Mérida, Venezuela. Pp. 51.

- Ribeiro R., Souza G., Oliveira R., Machado E. (2005). Photosynthetic responses of tropical tree species from different successional groups under contrasting irradiance conditions. *Revista Brasileira de Botânica*. 28: 149-161.
- Roháček K., Barták M. (1999). Technique of the modulated chlorophyll fluorescence: basic concepts, useful parameters, and some applications. *Photosynthetic* 37:339- 363.
- Rubino P., Tarantino E., Rega F. (1989). Relationship between soil water status and stomatal resistance of tomatoes. *Irrig.Dren.*36: 95- 98.
- Rundel P., Rasoul M., Gibson A., Esler K. (1998). Structural and physiological adaptation to light environments in Neotropical Heliconia (HELICONACEAE). *Journal of Tropical Ecology*. 14: 789-801.
- Salas J., Sanabria M., Pire R. (2001). Variación en el índice y densidad estomática en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum Mill.*) sometidas a tratamientos salinos. *Bioagro* 13: 99- 104.
- Sarmiento G., Monasterio A., Castellanos E., Silva J. (1971). Vegetación natural. Estudio integral de la cuenca de los ríos Chama y Capazón. Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias Forestales, Instituto de Geografía. Mérida.
- Savitch L., Massacci A., Gray G., Huner N. (2000). Acclimation to low temperature or high light mitigates sensitivity to photoinhibition: roles of the Calvin cycle and the Mehler reaction. *Australian Journal of Plant Physiology* 27, 253–264.
- Schwarzkopf T. (2003). Biophysical characterization of cloud forest vegetation in the Venezuelan Andes, Cornell University. Pp. 173.
- Sims D., Gebauer R., Pearcy R. (1994). Scaling sun and shade photosynthetic acclimation of *Alocasiamacrorrhizato* whole-plant performance – II. Simulation of carbon balance and growth at different photon flux densities. *Plant, Cell and Environment* 17, 889–900.
- Streb P., Aubert S., Gout E., Bligny R. (2003). Cold- and light- induced changes of metabolite and antioxidant levels in two high mountain plant species *Soldanella alpina* and *Ranunculus glacialis* and a lowland species *Pisum sativum*. *Physiologia Plantarum* 118: 96-104.
- Strauss-DeBenedetti S., Bazzaz F. (1996) Photosynthetic characteristics of tropical trees along successional gradients. En: Quevedo A. (2014). Distribución y Respuesta fotosintética en individuos juveniles de especies arbóreas en relación al ambiente de luz en una selva nublada andina. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas (ICAE), Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- Sultan S. (2000). Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Science* 5: 537-542.
- Tanaka Y., Sasaki N., Ohmiya A. (2008). Biosynthesis of plants pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. *The Plant Journal* 54:733-749.
- Tognetti R., Johnson J., Michelozzi M. (1997). Ecophysiological responses of *Fagus sylvatica* seedlings to changing light conditions .1. Interactions between photosynthetic acclimation and photoinhibition during simulated canopy gap formation. *Physiologia Plantarum* 101: 115-123.

- Toral M., Manríquez A., Navarrocerrillo R., Ters D., Naulin I. (2010). Características de los estomas, densidad e índice estomático en secuoya (*Sequoia sempervirens*) y su variación en diferentes plantaciones de Chile. *Bosque* 31: 157-164.
- Valcárcel R. (1982). Clasificación y Mapeo de Sitios en la estación Experimental San Eusebio basada en criterios Físico-Hidrológicos del Suelo. Tesis M.Sc; Centro de Estudios Forestales de Posgrado. Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales, ULA. Mérida, Venezuela. Pp.120.
- Valladares F., Garcia-Plazaola J., Morales F., Niinemets U. (2012). Photosynthetic responses to radiation :Terrestrial Photosynthesis. In: .Flexas J., Loreto F., Medrano H. (ed).A Changing Environment: A Molecular, Physiological, and Ecological Approach, Published by Cambridge University Press. Cambridge University Press 2012.
- Valladares F., Niinemets Ü. (2007). The architecture of plant crowns: from design rules to light capture and performance. In: Pugnaire F., Valladares F (eds). *Functional Plant Ecology*. CRC Publishers, Boca Raton FL. Pp. 49-101.
- Valladares F. (2004). Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante. Ministerio de Medio Ambiente, EGRAF, S. A., Madrid. ISBN: 84-8014-552-8. Pp. 335-369
- Valladares F., Chico J., Aranda I., Balaguer L., Dizengremel P., Manrique E., Dreyer E. (2002). Greater high light seedling tolerance of *Quercus robur* over *Fagus sylvatica* is linked to a greater physiological plasticity. *Trees, structure and function* 16: 395-403.
- Valladares F. (2001). Luz y evolución vegetal. *Investigación y Ciencia* 303: 73-79.
- Vareschi V. (1992). Ecología de la vegetación tropical. Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales. Caracas. Pp.306.
- Vareschi V. (1969). Comparación entre selvas neotropicales y paleotropicales en la base de su aspecto de biotipos. *Acta Bot Ven.* No 3.
- Vogelmann T. (1993). Plant tissue optics. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 44:231-251.
- Walters R. (2005). Towards an understanding of photosynthetic acclimation. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 56, No. 411, 435–447.
- Walters R., Reich P. (1999). Low-light carbon balance and shade tolerance in the seedlings of woody plants: do winter deciduous and broad-leaved evergreen species differ? *New Phytologist* 143: 143-154.
- Walters R., Horton P. (1994). Acclimation of *Arabidopsis thaliana* to the light environment: changes in composition of the photosynthetic apparatus. *Plant* 195, 248–256.
- Webster G. (1995). The panorama of neotropical cloud forest. En Linares, *Análisis Florístico y Estructural de la vegetación de una selva nublada en un gradiente altitudinal, en la Mucuy, estado Mérida*. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas (ICAE). Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela, Pp. 1-3.
- Webster G., Huff D. (1988). Revised synopsis of Panamanian Euphorbiaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 75(3): 1100-1103.

- Weraduwege S., Chen J., Anozie F., Morales A., Weise S., Sharkey T. (2015). The relationship between leaf area growth and biomass accumulation in *Arabidopsis thaliana*. *Front Plant.* 6:167.
- Werner C., Correia O., Beyschlag W. (1999). Two different strategies of Mediterranean macchia plants to avoid photoinhibitory damage by excessive radiation levels during summer drought. *Acta Oecologica* 20: 15-23.
- Whitmore T. (1989). Canopy gaps and the two major groups of forest trees. *Ecology* 70:536-538.
- World Conservation Monitoring Centre (WCMC). (1997). Tropical Montane Cloud Forests: An Urgent Priority for Conservation. WCMC Biodiversity Bulletin No. 2. Cambridge, UK: WCMC.
- Xu, F., Guo G., Xu W, Wei Y., Wang R. (2009). Leaf morphology correlates with water and light availability: what consequences for simple and compound leaves? *Progress in Natural Science* 19:1798-1798.
- Yang D., Webster J., Adam Z., Lindahl M., Anderson B. (1998). Induction of acclimative proteolysis of the light-harvesting chlorophyll a/b protein of photosystem II in response to elevated light intensities. *Plant Physiology* 118, 827–834.
- Yin Z., Johnson G. (2000). Photosynthetic acclimation of higher plants to growth in fluctuating light environments. *Photosynthesis Research* 63, 97–107.
- Yordanov I., Velikova V., Tsonev A. (2002). Plant responses to drought, acclimation, and stress tolerance. *Photosynthetica* 38: 171-186.
- Yordanov I., Velikova V. (2000). Photoinhibition of photosystem I. *Bulg. J. Plant Physiol.* 26(1-2), 70-92.