

**PERSPECTIVA FISIOLÓGICA EN LA PRODUCCIÓN Y MEJORA DEL EUCALIPTO
(CON ÉNFASIS EN *EUCALYPTUS GLOBULUS* LABILL)**

José A. Pardos

Profesor Emérito, E.T.S. de Ingenieros de Montes, UPM, Madrid

*Autor para la correspondencia: jpardos@montes.upm.es

Boletín del CIDEU 3: 7-55 (2007)
ISSN 1885-5237

Resumen

En la Introducción, en el marco común del género *Eucalyptus*, se subrayan los aspectos más destacables de *E. globulus* en un contexto ecológico, genético y productivo. Bajo un prisma fisiológico, se pasa revista a aspectos concernientes al comportamiento de los eucaliptos, con referencia específica a algunas especies del género *Eucalyptus* y énfasis en *E. globulus*, en relación con la disponibilidad de agua (sequía, y exceso de agua y salinidad), temperaturas extremas, fotosíntesis, sumideros de carbono e incremento de CO₂, nutrición mineral y fertilización, interrelaciones estrés-parásitos, y propagación, biotecnología y genómica. Se enumeran las metodologías usadas y los resultados obtenidos en ambiente semicontrolado y en campo, subrayándose su aplicación en la selección, mejoramiento y obtención de material sobresaliente con fines productivos.

Summary

Physiological perspective in the production and improvement of the eucalyptus (emphatically in *Eucalyptus globulus* Labill)

In the Introduction, the more relevant ecological, genetic and production traits of *E. globulus* is emphasized in the frame of the genus *Eucalyptus*. Afterwards, under a physiological approach, the behaviour of some *Eucalyptus* species, particularly *E. globulus*, is dealt with in relation to water availability (dryness, and flooding and salinity), extreme temperatures, photosynthesis, carbon sinks and increment of CO₂, mineral nutrition and fertilization, stress-parasites relationships and propagation, biotechnology and genomics. Methodologies and results under semicontrolled and field conditions are mentioned. Their application to selection, breeding and mass production of plus material with production aims are emphasized.

1. Introducción: marco botánico, ecológico y productivo del eucalipto

Los eucaliptos, nativos de Australia e islas próximas, así como de Indonesia y Mindanao, comprenden unas 600 especies, con un amplio rango altitudinal (desde el nivel del mar hasta casi los 2000 m) y climático (Eldridge, 1993). *Eucalyptus globulus* (eucalipto blanco en español), hoy taxonómicamente con rango de especie *E. globulus* (Brooker, 2000), se corresponde con *E. globulus sp globulus* (Kirpatrick, 1975) una de las antes consideradas subespecies del "complejo *globulus*", junto con *E. maidenii*, *E. pseudoglobulus* y *E. bicostata*. En dicho conjunto, *E. pseudoglobulus* ocuparía el centro de un triángulo en cuyos vértices se situarían las otras tres especies: *E. globulus*, con poblaciones sometidas a lluvias de primavera y otoño, que alcanzan 500 mm/año; *E. bicostata* con lluvias de invierno y mayor variación térmica y *E. maidenii* con lluvias de verano mas intensas y estabilidad térmica (FAO, 1965). El conjunto, con producciones medias en plantaciones en un rango entre 2 y 50 m³/ha/año y consumo específico de madera de 2,7 a 3,5 m³ /tAD según procedencias.

E. globulus habita en suelos francos de textura arenosa, también en esquistos, pizarras y margas, con preferencia suelos originados sobre material silíceo; soporta mal el encharcamiento y la caliza a no ser lavada de carbonatos. Sus poblaciones naturales ocupan un rango altitudinal desde el nivel del mar hasta 450 m de altitud, con unas precipitaciones medias anuales entre 500 y 1500 mm, una temperatura media anual en torno a 11°C, máximos que llegan a 38°C y mínimos que descienden a -5°C, con un número escaso de días de helada al año. Estas condiciones

de habitación imponen a *E. globulus* unas limitaciones a su implantación: altitudinales, marcadas por las bajas temperaturas, edáficas por la presencia de cal y pluviométricas por la existencia de estíos secos; circunstancia, esta última, que puede propiciar la presencia y virulencia de algunas plagas (La Lama, 1976).

E. globulus es la especie mas extendida en la regiones templadas para producción de pasta de celulosa, con mas de 2 millones de hectáreas (Potts y Dungey, 2004). En el Mediterráneo sus plantaciones se extienden por la península Ibérica (400.000 has en España y 500.000 en Portugal) y pequeñas extensiones en Italia, Marruecos y Chipre. En el continente americano, Chile (70.000 has), Argentina y Uruguay son los países con plantaciones de mayor extensión. En otros países de estos continentes la especie tiene carácter presencial. Bajo buenas condiciones de estación en Galicia y en Portugal supera los 60 m de altura y los 2 m de diámetro, citándose ejemplares de porte y biomasa leñosa mucho mayores, conocidos con nombre propio, posiblemente plantados en los años de su introducción en Galicia, en la última mitad del siglo XIX (Cogolludo, 2005).

Desde los primeros pasos de la mejora genética del eucalipto dados en Portugal y Australia al final de la década de 1960, en muy diferentes países se han ido instalando ensayos de procedencias (Eldridge *et al*, 1993), entre ellos en España (Soria y Borralho, 1997). Su comparación con las razas locales (land races) ha evidenciado la importancia del empleo de los orígenes adecuados para la obtención de grandes ganancias en crecimiento y densidad de la madera (López *et al*, 2001). No sólo la densidad básica, sino también otras propiedades de la madera (longitud de la

fibra, ángulo de las microfibrillas, contenido en celulosa), muestran diferencias intraespecíficas a tener en cuenta en el proceso de selección, si bien no necesariamente guardan una correlación genética con el crecimiento (diámetro normal) como se ha mostrado en un amplio ensayo con 451 familias de polinización abierta (Apiolaza *et al*, 2005).

En clima atlántico de la península Ibérica el crecimiento medio por ha y año es de 10 a 20 m³ en turno de 12 a 15 años, con algunas estaciones en las que se superan los 35 m³; producciones que bajan a 6–12 m³ con turnos de 9-12 años, y densidades de 900 a 1100 pies/ha en zonas de clima mediterráneo del suroeste de España y sur de Portugal. Los resultados obtenidos en plantaciones experimentales clonales con densidades de 900 pies por ha, hacen prever un incremento substancial de estos valores medios dada su mayor supervivencia y crecimiento. Asimismo, las características de su madera, con una alta densidad básica media (peso seco dividido por volumen saturado) de 565 kg. m⁻³, permiten otros usos industriales (tablero contrachapado y madera laminada) junto a los más tradicionales en construcción y carpintería a turnos mayores (Cogolludo, 2005). A turnos más cortos y densidades de plantación mayores cabe su uso para producción de biomasa.

Se han obtenido, y usados comercialmente, algunos híbridos interespecíficos para zonas mediterráneas: *E. camaldulensis* x *E. globulus* (la procedencia Albacutya de *E. camaldulensis* proporciona mayor resistencia a la sequía y a la salinidad) y *E. viminalis* x *E. globulus* (*E. viminalis* proporciona cierta tolerancia a la helada y algunas procedencias resistencia a *Gonipterus scutellatus*), pero las producciones son inferiores a *E. globulus*. Con los cruzamientos *E. globulus* x

gunnii, *E. gunnii* x *E. globulus* *E. nitens* x *E. globulus* se ha pretendido una mayor resistencia al frío, aunque su éxito expresado en porcentaje de cruzamientos conseguidos, número de semillas por flor y supervivencia de las plántulas obtenidas, es sensiblemente menor que el obtenido en los cruzamientos inter e intra procedencias de *E. globulus* x *E. globulus* (Potts *et al*, 2004). Los cruzamientos interespecíficos en el marco del complejo *globulus* y más aún, y con mayor interés, entre individuos seleccionados pertenecientes a procedencias seleccionadas de *E. globulus*, resultan más eficaces y prometedoras en la consecución de incrementos de la ganancia en términos productivos.

2. Relaciones hídricas

2.1. Respuestas al estrés hídrico por sequía. Variación inter e intraespecífica

Una buena capacidad conductora del árbol (elevada conductancia hidráulica) junto a otros componentes estructural-funcionales (p.e alta tasa fotosintética, tolerancia a temperaturas extremas, etc) son necesarias para una alta productividad forestal (Tyree, 2003), que el déficit hídrico limita en gran medida (Pereira & Pallardy, 1989). Ante él, los árboles disponen de estrategias, características de cada especie frente al estrés generado, poniendo en juego mecanismos de evitación, que previenen la tensión producida y/o mecanismos de tolerancia, que permiten soportar el estrés (Levitt, 1980). El desarrollo de raíces profundas que maximicen la absorción de agua y la disminución de su pérdida (control estomático, reducción del tamaño de la hoja o pérdida de las mismas) son estrategias de evitación que permiten a las plantas sobrevivir a la sequía durante varios meses (Ludlow, 1989).

Ante periodos más largos se impone la puesta en juego de mecanismos que permitan mantener la turgencia celular al

disminuir el contenido relativo en agua y el potencial hídrico. El ajuste osmótico, la elasticidad celular, la biosíntesis de proteínas (p.e. dehidrasas), la reducción de la conductividad hidráulica y el aumento de la resistencia a la cavitación forman parte de la estrategia de tolerancia a la deshidratación (Valladares, 2004). Aunque el ajuste osmótico (descenso del potencial osmótico por acumulación de solutos) no puede evitar el descenso en el intercambio de gases y el crecimiento en respuesta a la sequía, permite la continuidad de las actividades fisiológicas y la rápida reanudación del crecimiento cuando desaparece el estrés (Mitchell, 1992).

Las especies pioneras, como los eucaliptos, son consideradas poco resistentes a la sequía, aunque existe un amplio abanico de respuestas entre especies; también entre procedencias, siendo los orígenes de áreas más húmedas más susceptibles a la sequía que los de zonas más secas (Dutkowski, 1995). La evitación de la sequía por acceso de las raíces al agua en zonas más profundas del suelo se evidencia, por ejemplo, en mayor grado en *E. camaldulensis* y *E. saligna*, que muestran mayor sensibilidad al descenso de potencial hídrico al amanecer, que en *E. leucoxylon* y *E. platypus*, especies que, sin embargo, soportan valores más altos de conductancia estomática y más bajos de potencial hídrico ante condiciones ambientales similares. En condiciones controladas se han puesto de manifiesto diferencias entre procedencias de *E. cloeziana* y *E. argophloia* en un rango de climas secos a húmedos en el potencial al amanecer y al mediodía ante la restricción de agua impuesta, con buenas correlaciones con otros parámetros hídricos y con la tasa de fotosíntesis (Ngugi *et al*, 2003, 2004a, 2004b), evidenciando su diferente uso en función del clima del lugar de potencial plantación.

Estas diferentes respuestas ante el déficit hídrico evidencian distintas estrategias en el reparto de biomasa entre especies y entre procedencias. Así, orígenes de *E. camaldulensis* de zonas semiáridas invierten más en raíces y mantienen las hojas ante condiciones de limitación de agua, frente a procedencias de zonas húmedas que tiran las hojas (Gibson *et al*, 1995). En esta misma especie, en una procedencia de alta lluvia monzónica del trópico seco (Katherine) ni el estrés hídrico ni la aplicación de ABA (ácido abscísico) afectaron significativamente los parámetros fisiológicos y morfológicos medidos, mientras que redujeron el intercambio de gases y la capacidad fotosintética en una procedencia del trópico húmedo (Petford), y produjeron primariamente cambios morfológicos (pérdida de crecimiento apical y de peso foliar específico) en la procedencia semiárida de Tennat Creek (Gibson *et al*, 1991). Asimismo, en la misma especie, la permeabilidad en tallo y ramas resultó mayor (40% y 25% respectivamente) y el umbral de potencial hídrico para la iniciación de embolismos fue más bajo (-3.3 MPa frente a -3.0 MPa) en la procedencia semiárida que en la del trópico húmedo, reflejando una mayor adaptación a la sequía de la primera (Franks *et al*, 1995).

En muchas especies del género *Eucalyptus* el ajuste osmótico y/o la elasticidad del tejido se ponen también en juego en términos de tolerancia al déficit hídrico (Ngugi *et al*, 2003). En plantas de *E. microcarpa*, *E. behriana* y *E. polyanthemos* cultivadas en envase y sometidas a sequía se produjo un ajuste osmótico menor (un tercio) que el observado en árboles maduros en campo (Myers & Neales, 1986); el potencial osmótico se redujo respecto a las plantas regadas y lo hizo en mayor grado tras dos ciclos de sequía que después de uno sólo

(-2.02 frente a -1.86 MPa); asimismo, la ratio peso turgente a peso seco fue menor en el primer caso (3.83 frente a 4.05). Aún considerando que el comportamiento de *E. globulus* ante el estrés hídrico refleja su condición de especie que evita la deshidratación, también muestra un cierto ajuste osmótico bajo condiciones de estrés hídrico moderado (Correia *et al*, 1989; White *et al*, 2000; Guarnaschelli *et al*, 2003). Si el estrés se repite en forma de ciclos interrumpidos por un corto periodo de buen suministro de agua, el descenso del potencial osmótico es menor en el segundo ciclo, como han mostrado Pita y Pardos (2001) en plantas jóvenes, lo que sugiere una cierta fatiga en la capacidad de osmoregulación.

Los efectos del déficit hídrico, en términos de reducción de la supervivencia, disminución de las tasas de fotosíntesis y del crecimiento de las hojas al disminuir el potencial hídrico al amanecer, tienen carácter general en los eucaliptos, si bien con diferencias cuantitativas entre taxones en los valores de los parámetros medidos y en la capacidad de recuperación ante un aporte de agua posterior. En *E. globulus* un déficit hídrico conducente a un potencial hídrico al mediodía de -3,0 MPa disminuyó la tasa de producción de hojas y su biomasa, aunque dicha tasa se recuperó con el aporte posterior de agua (Metcalf *et al*, 1990). El ajuste osmótico en *E. marginata* sólo alcanzó valores notables cuando el potencial descendió por debajo de -1,5 MPa, valor que no mejoró el crecimiento aunque aumentó la supervivencia (Stoneman *et al*, 1994).

La disponibilidad de agua condiciona también las propiedades de la madera, por tanto reviste interés su caracterización al someter los árboles a diferentes regímenes hídricos. En *E. nitens* un mayor aporte de

agua dió lugar a un ángulo mayor de las microfibrillas (MFA) de la pared celular en la primera parte del periodo vegetativo y a un ángulo menor al finalizar este. Los árboles sometidos a sequía severa mostraron los valores más bajos de MFA, que aumentaba al liberar los árboles del estrés hídrico. El valor de MFA estuvo correlacionado con las fases de encogimiento y expansión del tronco y positivamente con el periodo y tasas de crecimiento (Wimmer *et al*, 2002). Asimismo, la imposición de periodos de sequía superiores a un mes ocasionaron un aumento (4 a 13 %) de la densidad de la madera en plantas de *E. grandis*, *E. sideroxylon* y *E. occidentalis* (Searson *et al*, 2004b). Dicho aumento era fundamentalmente debido a los extractivos que embeben la pared celular; produciéndose, por otra parte, vasos más abundantes pero de lumen menor, con un coste en términos de conductividad hidráulica. Por otra parte, la variación diurna del potencial hídrico estuvo positivamente correlacionada con la densidad de la madera en plantas con buen suministro de agua, pero no en plantas estresadas, debido al colapso del gradiente de presión entre suelo y hojas.

La comprensión holística de las respuestas a la sequía exige la implicación de herramientas propias de la fisiología (conductividad hidráulica, potencial hídrico, intercambio gaseoso, almacenamiento de reservas), la genética y la biotecnología (uso de plantas transgénicas) que operen desde la percepción de señales químicas (ABA) e hidráulicas de los déficits hídricos, el nivel de planta y órganos al nivel de ecosistema, poniendo en juego nuevas técnicas de genómica y proteómica, isótopos estables (C13, O18) e imágenes térmicas y de fluorescencia (Chaves *et al*, 2003).

2.2. Aclimatación a la sequía

Los efectos de la acción combinada de reducción del agua y nutrientes disponibles han mostrado una mayor adaptación a la sequía en *E. bicostata* que en *E. globulus*, especie que en contraposición mostró tasas de crecimiento más altas. Los estudios sobre los efectos del precondicionamiento (aclimatación) a la sequía sometiendo las plantas a ciclos de reducción del aporte de agua han sido objeto de buen número de trabajos con eucaliptos. En general, y en el caso particular de *E. globulus*, los ciclos de sequía repetidos conducen a cambios significativos en los caracteres morfológicos (p.e. menor tamaño de planta, diámetro del cuello de la raíz y superficie foliar) y fisiológicos (menor potencial osmótico a turgencia plena y a pérdida de turgencia, y ajuste osmótico, al que contribuye el descenso de la ratio peso turgente a peso seco; conductancia estomática y potencial hídrico de base más altos) y mortalidad mas baja respecto a controles no aclimatados; cambios con diferencias entre procedencias en relación con el lugar de origen (Guarnaschelli *et al*, 2003).

Los efectos del déficit hídrico (junto a otros tipos de estrés) sobre la aclimatación y los patrones de reparto de asimilados entre órganos en diferentes especies de eucaliptos se han llevado a cabo bajo muy variadas condiciones de edad de las plantas y diseño experimental, lo que hace difícil establecer conclusiones generales. Así, en *E. globulus*, trabajando con plantas en envase de tres clones bajo diferentes aportes de agua, Osorio *et al* (1998) encontraron que el estrés hídrico conducía a una reducción de la formación de ramas laterales y superficie foliar, con diferencias interclonales en el modelo de reparto de biomasa, achacables a un ajuste osmótico; en contraposición, los resultados de Pita *et*

al (2003) muestran una mayor ramificación en condiciones de estrés moderado. También, Osorio *et al* (1998) concluyeron que a pesar de que el control genético de la ratio raíz/ tallo es muy fuerte en algunas especies del género, *E. globulus* no muestra una estrategia de optimizar el crecimiento de la raíz asignando más biomasa a las raíces bajo condiciones de sequía, lo que evidencia escasa plasticidad fenotípica. Por otra parte, Costa e Silva *et al* (2004), comparando dos clones de esta especie, uno tolerante y otro sensitivo a la sequía, registraron valores más altos de potencial hídrico, conductancia estomática y mayor tasa de crecimiento sostenido en el clon mas resistente. Dichos autores concluyen que la aclimatación a la sequía puede ser el resultado de diferentes procesos que incluyen cambios en la biomasa de raíces (mayor asignación de biomasa) acoplados con cambios en las propiedades hidráulicas de los sistemas radicales (conductancia hidráulica más alta) que hacen posible una asimilación activa de carbono en periodos de estrés hídrico en los clones menos susceptibles; lo cual, en parte, evidencia una plasticidad fenotípica que no se deduce de los resultados precedentemente mostrados. Cabe, por tanto, resaltar la especial importancia que en *E. globulus* tienen estos estudios a nivel clonal con vistas a la utilización de clones tolerantes a los periodos de escasez de agua tan prolongados e intensos en climas mediterráneos (Pita *et al*, 2005).

A nivel bioquímico, Chaves *et al* (2006) han mostrado que al imponer un régimen de déficit hídrico a dos clones de *E. globulus* con diferente sensibilidad a la misma, se ponen en juego tanto componentes osmóticos (aumento de azúcares y prolina) con un descenso del potencial osmótico, en mayor grado en raíces, como, a su vez, se activa un sistema de protección antioxidante (aumento de

pigmentos foliares). También se activa la enzima glutation-reductasa en raíces en ambos clones en plantas estresadas, lo que hace sugerir a los autores que esta enzima juega un papel protector en las raíces durante el estrés hídrico, protegiendo del estrés oxidativo o retrasando su senescencia.

2.3. Eficiencia en el uso del agua

Si bien los mecanismos que subyacen en la discriminación de las plantas al ^{13}C están bien sustentados (Farquhar *et al.*, 1989), se han venido realizando mediciones de la composición isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ en diferentes especies de eucaliptos en investigaciones sobre reparto de asimilados entre órganos y, también, con fines de caracterización de material vegetal (procedencias y clones) resistente a sequía (Le Roux *et al.*, 1996). La alta variación genética de la discriminación isotópica del carbono (Δ) y la probada relación (en ocasiones, sin embargo, controvertida) de la composición isotópica del carbono $\delta^{13}\text{C}$ medida en hojas y tallos (también en el tronco) con la eficiencia en el uso del agua (EUA) ha conducido a usar este parámetro en programas de mejora con fines de selección de taxones capaces de mantener una alta productividad bajo moderados déficits de agua (Pita *et al.*, 2001).

La eficiencia en el uso del agua (EUA) ha sido explorada en relación al ambiente. Hubick & Gibson (1993) mostraron que las procedencias de *E. camaldulensis* de lugares más secos tenían los valores más altos de Δ . Para Pita *et al.* (2001) en una plantación adulta de *E. globulus* la procedencia con mayor crecimiento y supervivencia bajo las condiciones xéricas mediterráneas mostraba los mayores valores de Δ , parámetro cuyo valor disminuía con la edad del rodal y aumentaba al reducirse la competencia de los árboles próximos, lo que evidenciaba su

valor como índice de la disponibilidad de agua durante el periodo de crecimiento activo anual. Comparando especies de origen xérico (*E. syderoxyton* y *E. occidentalis*) frente a otras de condición mélica (*E. grandis*) se ha puesto de manifiesto que el mayor grosor de las hojas, propio de la condición xérica, y la mayor concentración en nitrógeno por superficie van ligados a una mayor conductancia estomática y capacidad fotosintética y a un menor valor de EUA, tanto con limitación del aporte de agua como con buen suministro, aunque no se encontró diferencia entre especies en la eficiencia en el uso del nitrógeno (Searson *et al.*, 2004a). En *E. microtheca* las diferencias entre procedencias en parámetros morfológicos y fisiológicos estaban muy correlacionadas con la lluvia del trimestre más seco del año y fueron más acusadas bajo condiciones de estrés hídrico, el cual provocó el aumento de los ratio biomasa de raíces a superficie foliar y superficie foliar a sección del tallo y de los valores de EUA y composición isotópica del ^{13}C , mientras que disminuyó la biomasa total, el área foliar específica, la transpiración y la altura, lo que supone menor longitud de la vía hidráulica y posiblemente menor gradiente de potencial hídrico de raíces a hojas (Li *et al.*, 2000).

2.4. Sequía y selección clonal

La adaptación a la sequía corre en paralelo con una mayor supervivencia, pero se cuestiona la posibilidad de mejorar la resistencia a la sequía sin que disminuya el crecimiento. En todo caso, el objetivo sería seleccionar los taxones (especialmente genotipos) con mayor crecimiento en condiciones de restricción de agua. La medición y cálculo de diversos parámetros, en especial la conductancia estomática, la eficiencia en el uso del agua, el ajuste osmótico, la conductancia hidráulica y la discriminación isotópica, son aplicados con

finde de selección precoz en material clonal previamente seleccionado con fines productivos.

El cierre estomático se considera la primera respuesta de la planta a la señal de alerta de sequía edáfica (Taiz & Zeiger, 2002). La buena correlación existente entre conductancia estomática y parámetros de fotosíntesis permite usarla como referencia para evaluar el estrés hídrico (Medrano *et al*, 2002; Pita *et al*, 2005) y, en consecuencia, evaluar los efectos de la mejora en la resistencia a la sequía sobre el crecimiento (Wikberg & Ögren, 2004).

En clones de *E. globulus* sometidos a diferentes regímenes hídricos, Osorio y Pereira (1994) mostraron reducción de la tasa de crecimiento, menor transpiración y mayor EUA bajo déficit de agua moderado, con diferencias interclonales no sólo en la biomasa total y el área foliar, sino en la EUA, que mostró una correlación positiva con $\delta^{13}C$. Este último parámetro estaba también positivamente relacionado con la cantidad de carbono por unidad de área foliar y negativamente relacionado con variables positivamente relacionadas con el crecimiento (p.e. área foliar específica). Asimismo Pita *et al* (2005) han mostrado la buena relación existente entre Δ y la permeabilidad máxima en clones de *E. globulus* cultivados en invernadero, lo que añade la posibilidad de integrar la permeabilidad como índice de selección frente al estrés hídrico.

El papel del sistema vascular en el control del movimiento del agua en los árboles se suma e incluso cuestiona el papel primario asignado a los estomas en el proceso. De ahí la importancia de la medición de la conductancia hidráulica y su relación con la superficie foliar, condicionante mayor de la transpiración de los árboles. Aunque tradicionalmente (Pipe Model Theory) la ratio superficie de albura a superficie foliar

decrece al aumentar la altura del árbol, en *E. delegatensis*, entre otras especies, se ha postulado que la capacidad del tronco de suministrar agua a las hojas debe aumentar al crecer el árbol para compensar el mayor camino recorrido (Mokany *et al*, 2003). En cualquier caso, el tema reviste importancia y resalta el papel de las mediciones de conductancia hidráulica y el análisis de su base teórica.

Se ha encontrado una aceptable relación positiva ($R^2 = 0.51-0.52$) entre la conductancia estomática y la conductancia hidráulica en *E. globulus* bajo estrés hídrico moderado, con diferencias interclonales (Pita *et al*, 2005), lo que posibilita su uso con fines de selección temprana de genotipos. Asimismo, las curvas de vulnerabilidad (pérdida de conductividad versus potencial hídrico), que reflejan patrones de comportamiento muy diferentes entre especies (Panmenter *et al*, 1998; Vilagrosa *et al*, 2003) constituyen otra vía prometedora que requiere ser más explorada con fines de selección de genotipos de eucalipto frente a la sequía (Pita *et al*, 2003).

2.5. Relaciones hídricas y factores ambientales. Poblaciones y plantaciones

Las relaciones hídricas en plantaciones de *E. globulus* en Galicia han sido estudiadas por Gras (1993) bajo una perspectiva hidrológica; al igual que se han analizado los efectos sobre el flujo de agua de la conversión de pastizales naturales en plantaciones de *E. globulus* en Nilgiri (Samraj, 1986); o, en sentido inverso, los derivados del cambio de un eucaliptar por una plantación de *Pinus radiata* (Putuhena, 2000). También, y con mayor interés fisiológico, la sustitución, por corta, de un eucaliptal maduro por los chirpiales del rebrote de las cepas, puede repercutir en el agua disponible de la cuenca. Los valores del agua consumida (transpirada) calculada

por la estimación de la velocidad de la savia, junto con la medición de la superficie de la albura y el índice de área foliar (LAI) de árboles de diferente diámetro y edad, han servido para concluir que, al igual que sucede en *E. regnans*, en zonas con altas precipitaciones, en bosques esclerófilos secos de *E. siebiri*, donde la superficie de la albura y la transpiración disminuyen con la edad, dicha sustitución conducía a un aumento del agua disponible (Roberts *et al*, 2001).

El uso de lisímetros de pesada, cubriendo un grupo de árboles con una gran bolsa de polietileno, se ha utilizado para evaluar la fotosíntesis y la transpiración a nivel de rodal en árboles de 10 m de altura de diversas especies de *Eucalyptus*, poniéndose de manifiesto el aumento de radiación requerido para saturar la fotosíntesis al aumentar la presión parcial del CO₂ en el interior de la bolsa, con un incremento del 50% en la tasa de fotosíntesis, y un descenso del 30% en la de transpiración, al elevar la presión parcial de CO₂ a 680 µbar; asimismo, la conductancia del dosel se reducía al aumentar el déficit de la presión de vapor hoja- ambiente (Wong & Dunin, 1987).

El agua usada (en la práctica, el agua transpirada) en plantaciones de diversas especies de eucaliptos se ha cuantificado mediante la medición de la velocidad de la savia por la técnica de impulsos de calor, poniéndose de manifiesto la validación de la técnica en *E. marginata* (Blevy *et al*, 2004). Se ha analizado la influencia de la edad de los árboles en el agua transpirada en *E. regnans* (Dunn & Connor, 1993) y en *E. nitens*, especie en la que el diámetro del tronco explicaba el 98% de la variación en la albura, resultando ser un buen parámetro para "escalar" el uso del agua del nivel árbol al de rodal (Hunt & Beadle, 1998). También se ha aplicado esta técnica

para analizar el efecto de las claras en el uso del agua. Así, en una plantación de 8 años de *E. nitens*, la reducción del número de pies por ha (de 1250 a 600, 250 y 100), dio lugar a un aumento de la conductividad hidráulica de la albura y del agua transpirada, determinado éste por cambios en la demanda evaporativa y por el aumento del potencial hídrico del suelo (mas agua disponible), aunque cabe presumir que el incremento en las tasas de transpiración decline con el tiempo, cuando se recupere el cierre del dosel en el rodal. La aplicación de la ecuación de Penman-Monteith para la predicción de las tasas diarias de transpiración, incorporando a la ecuación un factor de fracción del dosel, resulta prometedor para predecir la transpiración en rodales aclarados (Medhurst *et al*, 2002).

La posición del árbol en una plantación ha sido objeto de investigación en términos hídricos. En un estudio sobre la influencia del efecto borde en una plantación de *E. globulus* se ha puesto de manifiesto el mayor uso del agua por unidad de albura de los árboles de la línea perimetral en comparación con los del interior, explicable por las diferencias en la conductancia del dosel, a su vez probablemente debidas al mayor acceso de agua de que disponen. Asimismo, por advección de la energía del viento, y de la mayor iluminación, se incrementó significativamente la transpiración de los árboles de borde en comparación con los situados mas interiormente, en mayor grado si la disponibilidad de agua era grande (Taylor *et al*, 2001).

En *E. globulus*, el cambio ontogénico de hojas juveniles (sésiles, glaucas, dorsiventrales e hipostomáticas, con alta área foliar específica) a hojas adultas (pecioladas, verdes, isobilaterales y anfistomáticas) va también acompañado de

un cambio de su posición desde una orientación sub-horizontal a una mas vertical, con lo que soportan en mayor grado el efecto de sombreado mutuo de las hojas y, en consecuencia, las pérdidas transpiratorias, especialmente en el azimut, son menores (James & Bell, 2000a). Este comportamiento de evitación ante el estrés hídrico en las hojas adultas puede conferir ventajas para las plantaciones clonales, muy precoces en la formación de hojas adultas.

El índice de área foliar (LAI) es parámetro de suma utilidad en estudios predictivos de producción de biomasa. La conversión mediante una curva de calibración de los valores del índice de superficie de planta de *E. nitens* en valores de LAI se ha aplicado para calcular la productividad primaria neta en plantaciones de *E. nitens* y *E. globulus* bajo diferentes condiciones de estrés hídrico y temperatura. Se ha puesto de manifiesto que en ambas especies LAI disminuye linealmente con el estrés hídrico, mientras que el efecto de las temperaturas subóptimas sobre LAI en los sitios fríos fue mas acusado en *E. nitens* (Battaglia *et al*, 1998)

La distribución espacial de las raíces en relación con parámetros edáficos y disponibilidad de agua ha sido objeto de estudios diversos en condiciones controladas (rizotrones) con plantas jóvenes sometidas a regímenes de riego diferentes (Pita *et al*, 2003) y aportaciones de agua distintas entre zonas del sustrato según profundidad (Phillips & Riha, 1994). También, en plantaciones mediante la observación del sistema radical in situ (ENCE). En una plantación clonal de *E. alba* en un suelo arenoso profundo se ha mostrado una anisotropía tanto vertical como horizontal de las raíces finas, cuya densidad decrece bruscamente con la profundidad (a 3 m el mayor volumen de

suelo no tiene raíces finas) y aumenta con la distancia al árbol, con una relación estrecha entre contenido en agua y “fuerza del suelo” expresada en unidades de presión y medida con un penetrómetro (Laclau *et al*, 2001).

A nivel fisiológico, valores de potencial hídrico en el rango -0.5 MPa a -1.5 MPa con descensos a valores de -1.8MPa y -2.7 MPa para el inicio y máximo de la cavitación respectivamente se han registrado en *E. regnans* (Legge y Conner, 1985) y las respuestas a la limitación de agua a nivel poblacional se han estudiado en *E. microtheca* por Li y Wang (2003). Mediciones de potencial hídrico en *E. pauciflora* en alta montaña, en el sureste de Australia, han mostrado que el gradiente altitudinal no se refleja en un gradiente de potencial y que los valores mas bajos de potencial se midieron con temperaturas del aire por encima de cero. Esto sugiere que la absorción de agua del suelo y su pérdida por transpiración son afectadas de forma diferente y que la mortandad observada con las bajas temperaturas invernales no está causada por bajos valores de potencial hídrico (Cohrane & Slatyer, 1988).

La medición en el campo, bajo un rango de temperaturas, humedades, irradiancias y fracciones molares de CO₂ de la conductancia estomática, la asimilación de CO₂ y la fracción molar del CO₂ intercelular ha dado lugar a la elaboración de un modelo del comportamiento de los estomas bajo distintas condiciones ambientales (Leuning, 1990). También en *E. globulus* se ha desarrollado un modelo fenomenológico para estimar la conductancia estomática del dosel en el que se consideran los efectos de la temperatura del aire, el deficit de la presión de vapor, la radiación solar y el estrés hídrico (White *et al*, 1999).

3. Anegamiento y salinidad

Las especies del género *Eucalyptus* presentan muy diferente sensibilidad a la acumulación edáfica de agua. En principio, cabe pensar en una mayor resistencia al anegamiento del suelo de aquellas que mayoritariamente habitan en cenagales y márgenes de aguas, en muchas ocasiones salinas, proclives a la inundación, (p.e. *E. robusta*), frente a otras que viven en suelos mejor drenados (p.e. *E. grandis* y *E. saligna*). Sin embargo, dentro de la misma especie las respuestas al agua encharcada pueden ser muy diferentes en función de la procedencia, de tal modo que especies tenidas por poco resistentes muestren mayor resistencia al encharcamiento que especies consideradas resistentes. Así lo evidencian Clemens, Kirk y Mills (1978) al comparar en un experimento controlado plantas de *E. robusta*, *E. saligna* y *E. grandis* sometidas a anegación y a la acción de ácido cloroetilfosfónico (generador de etileno) y encontrar en *E. grandis* síntomas de mayor resistencia (mas raíces adventicias de nueva formación) que en *E. robusta*. Ello reviste especial importancia en la búsqueda de procedencias resistentes al exceso de agua en el suelo.

El anegamiento del suelo reduce, y llega a impedir, el intercambio gaseoso entre la planta y el suelo, situación que prolongada puede conducir a la muerte del sistema radical por falta de oxígeno. La intensidad de los daños producidos varían en función de la especie, edad, época del año, duración y periodicidad de la acción (Kozlowski y Pallardy, 1997).

Los síntomas de respuestas al anegamiento del suelo se han relacionado profusamente con el aumento en la concentración de etileno en planta (Kawase, 1972, entre muchos otros), cierre de estomas e hiponastia en hojas. La formación de

lenticelas superdesarrolladas en el tallo y la de tejido de aerénquima (de preferencia en raíces), al facilitar, respectivamente, la entrada y la acumulación de aire en la planta, así como la formación de raíces adventicias por encima de la zona de encharcamiento, constituyen respuestas indicativas de resistencia al encharcamiento en términos de evitación (Kozlowski, 1984). La reducción de la tasa metabólica y el uso de carbohidratos de reserva (almidón y sacarosa) en periodos de latencia y la substitución de la glicólisis por la vía alternativa de las fosfatopentosas son estrategias de tolerancia a suelos inundados. Por otra parte, las especies tolerantes están protegidas mediante la acumulación de antioxidantes (p.e. ácido ascórbico, glutatión, compuestos fenólicos reducidos) de los daños a nivel de membrana que en tejidos sometidos temporalmente a anegación produce la posterior exposición al oxígeno por formación de radicales superóxido (Armstrong *et al*, 1994). Estructuras “tipo lenticelas”, a modo de protuberancias, no patogénicas (intumescencias) se han descrito en hojas de plantas de *E. globulus* y *E. nitens* sometidas a una alta humedad atmosférica en conjunción con temperaturas también altas (Pinkard *et al*, 2006), las cuales afectan las funciones foliares, particularmente la fotosíntesis.

Las poblaciones naturales de *E. globulus* habitan en suelos drenados y las plantaciones de la especie han sido realizadas en suelos sin especiales problemas de encharcamiento. Sin embargo, la posibilidad de extender las plantaciones a lugares proclives a inundaciones periódicas y, sobre todo, donde la presencia de una capa freática a un nivel casi superficial durante periodos prolongados plantea problemas de hipoxia radicular, hace pertinente pasar revista al comportamiento de la especie y a la posible

variación de respuestas a nivel clonal en condiciones de exceso de agua en el suelo y, con menor interés, también, en el caso de que a dicha circunstancia se una salinidad elevada.

En un estudio comparativo con plántulas de seis semanas de *E. globulus* y *E. camaldulensis* sometidas a encharcamiento del suelo durante 40 días, ya a los diez días en ambas especies se produjeron los síntomas de hipertrofia del tallo, formación de aerénquima y de gruesas raíces adventicias, epinastia y reducción progresiva en el número y tamaño de las hojas, así como del incremento en peso seco de sus órganos, mayormente de los tallos. En *E. globulus* el rápido cierre de los estomas tras el encharcamiento, al reducirse la absorción de CO₂, dió lugar a una mayor reducción del peso seco que en *E. camaldulensis* especie considerada mas resistente al exceso de agua (Sena Gomes y Kozlowski, 1980). En otro trabajo con *E. camaldulensis*, *E. globulus* y *E. obliqua* sometidas a encharcamiento (Blake & Reid, 1981), el cierre estomático se produjo tempranamente en las tres especies y el potencial hídrico no descendió en ninguna de ellas; sin embargo la hipertrofia basal de los tallos, al igual que la producción de etileno, siguió el siguiente orden: en *E. camaldulensis* mayor que en *E. globulus*, y en este mayor que en *E. obliqua*, interpretándose que dicha hipertrofia al favorecer el transporte de oxígeno a las raíces genera una cierta resistencia al encharcamiento, ante el cual se considera *E. camaldulensis* la especie mas resistente, seguida de *E. globulus*. Reviste también interés el estudio comparativo del encharcamiento con agua estancada (en la que se producen sustancias tóxicas para las raíces), frente al suministro continuo de abundante agua, pero perdida por percolación, y cuyos efectos sobre el crecimiento cabe achacar directamente a la

producción de etileno, que se detecta en abundancia en la porción basal del tallo (Pita, comunicación personal).

Las especies no halófitas toleran bajos niveles de salinidad en el suelo, que afecta en mayor grado a las hojas que a las raíces (Mus & Termaaat, 1986). En algunos habitats naturales concurren el encharcamiento y la salinidad; y, también, la salinidad y la sequía, circunstancias que han conducido a contemplar conjuntamente ambos factores- agua en exceso o en defecto- y salinidad, con vistas a la extensión de las plantaciones de eucaliptos a zonas en las que inciden ambas restricciones edáficas (Barret *et al*, 2005). En condiciones de estrés de salinidad se produce en *Eucalyptus spathulata* un descenso del potencial osmótico, en mayor grado que bajo déficit hídrico, acompañado de un aumento de polioles (ciclitol y quercitol) en el citoplasma, lo que permite equilibrar el potencial osmótico a través del tonoplasto y equilibrar los iones inorgánicos acumulados en la vacuola (Merchant & Adams, 2005).

Se ha mostrado que la mayor resistencia a la anegación del suelo en *E. camaldulensis* en comparación con otras cinco especies de eucalipto guarda un cierto paralelismo con una mayor resistencia a la salinidad (van der Moezel *et al*, 1988). En dicha especie, el anegamiento indujo cierre de estomas, que se abrieron al cabo de cinco semanas, tiempo en el que se produjeron raíces adventicias que le permitieron soportar la hipoxia radicular, respuesta que no se produjo en *E. lesouefii*, especie más afectada por el anegamiento. Sin embargo, la concurrencia de anegación y salinidad afectó en términos de crecimiento en altura, conductancia estomática y fotosíntesis a ambas especies de forma semejante (van der Moezel *et al*, 1989). Otros trabajos (p.e. Marcar, 1993) han mostrado que la

anegación del suelo en conjunción con la adición de cloruro sódico (100 y 150 mol.m^{-3}) reducía el crecimiento y afectaba también significativamente a la conductancia estomática y al uso del agua por las plantas e incrementaba las concentraciones de Na^+ y Cl^- en todas las especies ensayadas (*E. globulus*, *E. camaldulensis*, *E. tereticornis* y *E. obliqua*), si bien el tratamiento salino o el exceso de agua por separado sólo afectaron a *E. robusta*. En comparación con *E. camaldulensis* (la especie más resistente a la salinidad), tanto respecto al doble tratamiento como a los dos por separado, *E. globulus* mostró el peor comportamiento para anegamiento x salinidad. Sin embargo, un pretratamiento de riego en exceso dió lugar a la mejor respuesta de crecimiento y a una reducción de la concentración de Cl y Na en *E. globulus* si se sometían después al doble tratamiento de exceso de agua y salinidad, lo que refleja una cierta capacidad de adaptación inducida a ambos factores.

En *E. camaldulensis*, especie considerada moderadamente tolerante a la salinidad, existen diferencias entre procedencias en el peso seco, pero no en la altura; cuando se exponen a concentraciones elevadas de NaCl (15 mol.m^{-3}) y pH alto (7.0 a 9.5); y mientras algunas procedencias (p.e. Albacutya -N) son muy tolerantes a ambos agentes de estrés, otras (p.e. Albacutya-S), muestran escasa tolerancia a los mismos; respuestas que se adecuan a los ambientes salinos en que viven las procedencias (Marcar *et al*, 2002).

Las respuestas al exceso y a la falta de agua en el mismo material clonal de *E. camaldulensis* han puesto de manifiesto escasas diferencias entre líneas clonales respecto a conductancia estomática, intercambio gaseoso y reparto de nutrientes. Los clones con mayor número de hojas

tenían hojas con menor peso específico y a la inversa. Asimismo, los clones con mayor superficie foliar tenían mayor peso de raíces. La comparación en el uso del agua produjo escasas diferencias y solamente el clon con mayor número de hojas y mayor superficie foliar también fue el que consumió más agua tanto con exceso como con déficit de agua (Farrell *et al*, 1996a). Los mismos autores (1996 b) mostraron la existencia de diferencias clonales en la respuesta a la salinidad, elevada alcalinidad y anegamiento del suelo en términos de producción de biomasa, área foliar, peso seco de raíces, conductancia estomática y uso del agua de seis líneas clonales pertenecientes a cinco procedencias. Estos resultados abren las puertas al uso de genotipos seleccionados para la recuperación de tierras dañadas por explotación agrícola y minera.

En plantas de *E. camaldulensis* sometidas a un progresivo incremento de salinidad en el agua de riego se produce una disminución de la discriminación isotópica del carbono (Δ) evaluada en hojas y tejidos leñosos, por lo que dadas las estrechas relaciones entre peso fresco, área foliar y eficiencia en la transpiración y Δ , se ha sugerido el uso de este parámetro para evaluar la tolerancia a la sal en eucaliptos y también la respuesta al estrés por boro (Poss *et al*, 2000). También se ha empleado agua marcada con isótopos ^2H and ^{18}O para poder distinguir entre anegamiento y salinidad como causas del diferente descenso en el potencial hídrico y la mortandad derivada del mismo en dos estirpes de eucalipto sometidas a aumento de salinidad del agua edáfica y a la reducción de los anegamientos, al permitir mostrar la implicación de la fuente de agua a la que acceden las raíces en relación a la profundidad que alcanzan (Zubrinich *et al*, 2000). Los parámetros de fluorescencia de la clorofila se han

mostrado útiles para evaluar la tolerancia a la salinidad en *E. camaldulensis* e híbridos de *E. urophylla x grandis* a nivel de procedencia y poder aplicarse para una detección temprana de la misma (Corney *et al*, 2003).

Cabe concluir que las respuestas fisiológicas al agua acumulada en el suelo, que afectan a algunos de los parámetros hídricos y de intercambio gaseoso (p.e. disminución de la conductancia estomática e, incluso cierre total de los estomas, reducción de las de fotosíntesis) son de naturaleza semejante a las que se generan ante condiciones de estrés hídrico.

4. Temperaturas extremas

La determinación precisa de los límites térmicos, especialmente las temperaturas mínimas que toleran las especies del género *Eucalyptus* de uso en plantaciones para uso industrial, es importante dada la expansión de las mismas. En términos generales los eucaliptos no se consideran resistentes a heladas fuertes y las temperaturas mínimas determinan en buena parte la existencia de las poblaciones naturales de las distintas especies (Tibbits & Reid, 1987). Algunas especies (*E. nitens*, *E. gunnii*, *E. dalrympleana*, *E. viminalis* entre otras) toleran hasta -12°C, si bien para otras, entre las que se encuentran las especies que configuraban el antiguo "complejo *E. globulus*", el límite térmico viene marcado por el rango -5 a -7°C, con variaciones entre ellas (Eldridge *et al*, 1993); aunque dicho rango no se alcanza si las plantas no han experimentado un previo endurecimiento (Valentini & Scarascia Mugnozza, 1986). El rango óptimo de temperaturas para plantaciones de *E. globulus* dado por Battaglia *et al* (1998) es $14 \pm 4^\circ\text{C}$.

Las investigaciones sobre los efectos de las temperaturas bajas evidencian una diferente resistencia y una variada heredabilidad

según la especie y las condiciones de los ensayos. Por ejemplo, familias de polinización abierta de *E. nitens* fueron más tolerantes al frío (sin daños a -8.5°C) que *E. globulus* (hasta -7,5°C) según Volker *et al*, (1994). Frente a valores de heredabilidad de 0.29-0.50 en *E. globulus* dados por dichos autores, se han estimado valores hasta de 0.6 para *E. nitens* (Tibbits & Reid, 1987). Las diferencias entre procedencias son también acusadas, como se ha mostrado con *E. nitens*: en parcelas de campo, la relación negativa entre resistencia a la helada y el área basimétrica indica que el daño a la helada está asociado a un crecimiento y supervivencia bajos, relacionados a su vez con el origen de la semilla empleada (Tibbits & Hodge, 2003).

En algunas especies del género, utilizando cámaras climáticas, se han elaborado las curvas de respuesta de la tasa fotosintética a las temperaturas de poblaciones procedentes de diferentes rangos altitudinales (Slatyer & Ferrar, 1977a; Slatyer, & Ferrar, 1977 b, Slatyer, 1977c). Se evidencia (respuesta común con otras frondosas) una correspondencia entre altitudes bajas y tasas de fotosíntesis mayores a temperaturas altas, y entre altitudes altas (más frías) y tasas más altas a temperaturas bajas, con valores máximos de las tasas fotosintéticas más altos en el primer caso; y con caídas más rápidas, al alejarse de la temperatura óptima, en el segundo. También se han estudiado los efectos sobre el patrón fotosintético de la aclimatación en plantas establecidas en diferentes altitudes en el campo y transferidas después a un ambiente controlado. La aclimatación se produce más rápidamente en las plantas que habían crecido en una altitud menor y, en ambos casos, las temperaturas óptimas convergían con las de sus respectivos controles; lo que interpretan los autores en el sentido de que cada población tiene una temperatura

"preferida", pero que puede modificarse, dando lugar a óptimos diferentes en ambientes térmicos diferentes (Slatyer & Ferrar, 1977b)

A nivel fisiológico reviste interés el estudio de la fotoinhibición inducida por las bajas temperaturas y su relación con los efectos de los daños producidos por las mismas, ya que ambos pueden contribuir a la distribución natural de las especies de eucalipto y, asimismo, limitar la superficie para plantaciones. En *E. nitens* (Close *et al.*, 2001) la variación diurna y estacional en los parámetros de fluorescencia de la clorofila no se reflejan en el ciclo de la xantófilas durante el periodo de fotoinhibición más intenso, lo que indica que los complejos proteicos xantófilas-clorofila se forman en las hojas de plantas aclimatadas, como se había mostrado sucede en *E. pauciflora*. De hecho, la fotoinhibición por helada y la fotodecoloración son factores mayores causantes del shock de trasplante y restricción de las plantaciones de *E. globulus* y *E. nitens* (Close *et al.*, 2000). En este sentido, estos autores han formulado la hipótesis de que la adaptación a la fotoinhibición por frío contribuye a la mejor adaptación a altitudes elevadas de *E. nitens* frente, por ejemplo, a *E. globulus*. Heladas consecutivas tienen un efecto acumulativo en la reducción de la fotosíntesis máxima (mayor en *E. globulus* que en *E. nitens*) siendo el momento de las heladas determinante en la recuperación de los valores iniciales (Davidson *et al.*, 2004). Asimismo, en *E. nitens* y *E. pauciflora* se ha puesto de manifiesto que, a temperaturas bajas, las plantas endurecidas previamente muestran una mayor tasa de transporte electrónico y una menor tasa de disipación de calor. También, la densidad de flujo de fotones fotosintéticos (PPFD) a la cual la tasa de disipación de calor excede a la tasa de transporte electrónico, disminuye al

descender la temperatura y siempre resultó menor en plantas endurecidas (Hovenden & Warren, 1998).

Para abordar experimentalmente los efectos de los choques térmicos de frío, junto a mediciones en campo, frecuentemente se realizan ensayos en condiciones controladas en cámaras climáticas con un gradiente de descenso térmico hasta la temperatura mínima deseada y posible control y variación del fotoperiodo. Para mayor facilidad de manejo y testado de un mayor número de muestras se utilizan directamente discos foliares que se someten a los choques térmicos deseados en un congelador (Hallam y Tibbits, 1988); o, mejor, en tubos suspendidos en baños de etilenglicol a distintas concentraciones para conseguir el rango de temperaturas mínimas deseadas (Raymond *et al.*, 1992). Tras un periodo de recuperación post-helada se evalúa la tolerancia a la helada midiendo la conductancia eléctrica de los eluidos de las muestras y comparando el valor absoluto con los de una escala de daños arbitraria (Owen & Raymond, 1987).

La implicación de carbohidratos solubles en los mecanismos celulares y moleculares de resistencia a heladas se ha investigado en plantas y cultivos de células en suspensión de clones de *E. globulus* y sus híbridos con *E. gunnii* y *E. cephallocarpa*. Se ha puesto de manifiesto la mejor aclimatación de *E. gunnii* x *E. globulus* y la correlación entre la concentración de fructosa, sacarosa y rafinosa y el nivel de tolerancia a las bajas temperaturas durante la aclimatación, así como el mayor contenido en almidón en los clones más sensibles. El nivel de tolerancia al frío en los cultivos celulares aumentó tras la incubación con los azúcares mencionados y manitol tanto en los genotipos sensibles como en los resistentes, evidenciándose que la tolerancia es independiente de la

osmolaridad y del contenido en azúcares (Pereira, 1998).

El grado de endurecimiento de las plantas es factor determinante de su capacidad de tolerancia al frío y, asimismo, está relacionado con los parámetros hídricos. La observación de que el potencial osmótico a turgencia y en el punto de pérdida de turgencia experimentan durante el endurecimiento una reducción mayor en especies más resistentes a heladas (p.e. *E. viminalis* y *E. dalrympleana*) que otras más sensibles (p.e. *E. x tributii*) ha conducido a formular un índice de deshidratación en la helada (pérdida de agua expresada como fracción del volumen de agua osmótico (simplasto) cuando las células inicialmente en el punto de pérdida de turgencia alcanzan el equilibrio con el hielo extraplasmático. La relación de dicho índice (calculado a partir de las curvas presión-volumen) con la temperatura puede utilizarse para comparar especies y procedencias respecto a su resistencia a las heladas (Valentini *et al*, 1990).

La radiación luminosa, la concentración de nutrientes en planta y la de de CO₂ atmosférico condicionan las respuestas a las temperaturas. Un suministro de nutrientes restringido (especialmente nitrógeno) y un sombreado (Close *et al*, 2002) son prácticas viverísticas que proveen un cierto grado de aclimatación de las plantas de *E. globulus* a bajas temperaturas al inducir la síntesis de antocianinas en las hojas y atenuar así la luz bajo condiciones de fotoinhibición dependiente de las heladas. Sin embargo, la limitación de nutrientes limita la tasa (Amax) y la eficiencia fotosintética (Fv/Fm), que sólo se recuperan meses después del trasplante; el sombreado alivia parcialmente la fotoinhibición y maximiza el crecimiento durante el invierno, pero lo

limita al aumentar la temperatura en primavera (Close & Beadle, 2003)

Las diferencias entre clones suelen ser muy pequeñas en valor absoluto, pero detectables y estadísticamente significativas. En ensayos preliminares efectuados en ENCE (Fernández, documento interno, 2006) con *E. globulus*, usando planta clonal de 5-7 meses y 2 años de edad, sometida a un ciclo (14-16 horas) de descenso progresivo de temperatura, partiendo de 15°C hasta temperaturas mínimas entre -2 y -8°C y posterior recuperación gradual, se han detectado daños en hojas, tanto en plantas de vivero, como en plantación. Los daños, visualmente observados y bien correlacionados con las medidas de fluorescencia y el contenido de azúcares solubles, se inician a temperaturas de -5°C y alcanzan mortandades del 100% cuando se superan los -8°C, con clara influencia del endurecimiento previo natural sufrido por las plantas. Este endurecimiento puede estar influenciado tanto por la temperatura como por el estado nutricional de las plantas.

También se han investigado los efectos de temperaturas elevadas dependientes tanto de la temperatura alcanzada como del tiempo de duración. En *E. obliqua* la supervivencia se ve afectada a temperaturas por encima de 40°C, en mayor medida cuanto más dura el tiempo de exposición, advirtiéndose un descenso térmico en el interior del tallo tras la aplicación de calor, atribuido al ascenso de agua desde las raíces, lo que puede explicar la mayor capacidad de supervivencia de la especie, que soporta hasta 80°C (Moore *et al*, 1977). En cualquier caso, temperaturas del orden de 38-40 °C parecen suponer un límite superior para *E. globulus* y *E. nitens* puesto que en dicho umbral de temperatura tiene lugar el cierre total de los estomas (0-

4 °C como límite inferior), disminuyendo drásticamente su actividad de intercambio gaseoso (Battaglia *et al.*, 1996; White *et al.*, 1999) y reduciendo con ello sus posibilidades de supervivencia si esa situación se prolonga en el tiempo. Comportamiento no muy distinto se observó en procedencias de *E. cloeziana* y *E. argophloia* (Ngugi *et al.*, 2004).

5. Radiación luminosa

El ambiente luminoso y la intercepción de la radiación son los factores primarios que determinan el crecimiento de las plantas. La estructura de sus hojas, el dosel de copas y su dinámica constituyen elementos básicos del conjunto de procesos metabólicos que, a partir de la fotosíntesis y fijación del carbono, conducen al crecimiento y desarrollo vegetal, en conjunción e interacción con el régimen térmico y disponibilidad de agua y nutrientes.

La investigación fisiológica de la influencia de la radiación luminosa en eucaliptos se ha centrado, por una parte, en la evaluación de la tasa fotosintética en función de la especie, su variación intraespecífica y, en su caso clonal, en condiciones controladas y bajo distintas intensidades luminosas. Reviste especial importancia la eficiencia del uso de la luz en la producción de madera, la cual aumenta al hacerlo aquella, como se muestra en un estudio con *E. nitens* en cuatro localidades, en las que la madera producida por unidad de LAI aumenta al incrementarse el índice de área foliar- LAI- (en suma la superficie que absorbe la radiación fotosintéticamente activa) de 2 a 10, con el mayor incremento para LAI=4, consecuencia del aumento en la asignación de carbohidratos fotosintéticos a la madera; efectos de la luz a los que acompañan también los derivados de la eficiencia en el uso de nitrógeno y, en menor grado, del agua (Binkley *et al.*,

2004). A este respecto, también en *E. nitens* se ha estudiado los efectos que el incremento de luz derivado de una clara intensa produce sobre la fotosíntesis (aumenta, especialmente en las zonas media y baja de las copas), las concentraciones de fósforo y nitrógeno(aumentan) y el área foliar específica (disminuye) (Medhurst & Beadle, 2005). La aplicación paramétrica del modelo 3-PG de Landsberg y Waring (1997) a plantaciones de *E. grandis x urophylla* en Brasil, integrando las precipitaciones, ha conducido a Stape *et al* (2004) a concluir que cada aumento de 100 mm en las precipitaciones supone un incremento del 5 % en la eficiencia en el uso de la luz.

Con estos resultados se evidencia la importancia de los tratamientos selvícolas como vía para un aprovechamiento óptimo de los recursos en forma de madera producida.

Los efectos fotoinhibitorios sobre la fotosíntesis en seis especies de eucaliptos se ha investigado midiendo la fluorescencia de la clorofila, poniéndose de manifiesto la influencia en la fotoinhibición de la posición de la hoja (mayor en horizontal) y la temperatura (Ogren & Evans, 1992). Reviste también interés el análisis de la plasticidad fenotípica, no sólo frente a la luz, sino en conjunción con la disponibilidad de agua; también los efectos de la radiación luminosa sobre la regeneración natural de eucaliptares. Especial atención ha merecido el estudio de la influencia de la luz recibida sobre la estructura de las hojas (juveniles frente a maduras) y el cambio de fase juvenil a madurez. La mayor temperatura de las hojas juveniles es el resultado de una mayor intercepción de la luz, mayormente a mediodía, que se asocia con una mayor tasa de crecimiento, lo que les confiere ventajas en la regeneración natural;

mientras que las hojas adultas interceptan menos luz a mediodía (aunque por igual por ambas caras (James & Bell, 2000a). En un estudio posterior con dos procedencias de *E. globulus* la reducción de luz al 10% condujo a una significativa disminución del crecimiento, biomasa y área foliar, con mínimas diferencias entre las procedencias. En las hojas juveniles, para cualquier irradiancia los estomas eran mas pequeños que en las hojas maduras y en ambos casos las irradiaciones bajas condujeron a hojas en posición horizontal con una reducción de la anfiestomía. Se concluye, también, que aunque las hojas maduras mostraban caracteres xeromórficos y en las juveniles estos eran mas mesomórficos, diversos caracteres estructurales sugieren una mayor adaptabilidad al sol de las hojas juveniles (James *et al*, 2004b).

La radiación luminosa, en conjunción con el grado de estrés hídrico juega también un papel importante en el reparto de biomasa en la planta. En *E. grandis* la disminución de luz afecta poco el reparto de biomasa aunque su utilización en hojas y tallo con mayor área foliar específica (Doley, 1978).

6. Incremento de CO₂, fotosíntesis y secuestro de carbono

El cambio climático global (que los modelos de simulación sustentan y el aumento de temperatura va confirmando) consecuencia de la emisiones de los gases de efecto invernadero (mayoritariamente CO₂) tiene implicaciones ecológicas muy importantes (IPCC, 2001; Gitay *et al*, 2002). Ha dado lugar a una profusión de investigaciones, estudios, predicciones y conjeturas que, aún no plenamente resueltas, resaltan el papel de los ecosistemas terrestres como sumideros del carbono atmosférico, si bien los bosques y las plantaciones forestales pueden convertirse en una fuente de carbono cuando sufren alteraciones (Eamus, 1996).

En todo caso, los bosques juegan un papel primordial en el ciclo de carbono, que se almacena en el ecosistema (árboles y vegetación subsidiaria, en los que representa del 40 al 50% de la materia seca, y suelo). Además, las plantaciones monoespecíficas de especies de crecimiento rápido, con material seleccionado, con crecimientos medios entre 10 y 20 m.c./ha/año, permiten que el 5% de bosque que suponen las plantaciones en el sur de Europa, cubra el 30% de demanda de madera en rollo (Barreiro, 2003). A dicho beneficio de protección de los bosques naturales se une el derivado del secuestro de carbono (Hoen & Solberg, 1994). Este se prolonga durante la vida útil de los productos manufacturados con madera y otras materias primas forestales (Cannell & Dewar, 1995).

La biosfera terrestre absorbe alrededor de un tercio de la entrada anual de CO₂ a la atmósfera (Keeling *et al*, 1996), una parte significativa de la misma en los ecosistemas forestales de latitudes medias del hemisferio Norte, siendo la vegetación, y mayoritariamente las reservas de materia orgánica del suelo, los mayores sumideros de CO₂. La ordenación de la tierra, incrementando las áreas forestales y la densidad de las existencias de carbono, los pertinentes tratamientos selvícolas y la ordenación de los montes, pueden contribuir a compensar las emisiones (APPS, 2003). Asimismo, un aumento de la concentración atmosférica de CO₂ podría, en principio, tener un efecto fertilizante sobre las masas forestales, aumentar el crecimiento y, en consecuencia, incrementarse el secuestro de carbono. Los expertos se preguntan, sin embargo, si se mantendrían dichos incrementos, pues con el tiempo los árboles pueden aclimatarse y producirse una regulación a la baja que pudiera conducir a falta de efectos positivos en el crecimiento a largo plazo. Estas y

otras cuestiones no resueltas evidencian el papel de la ecofisiología como componente de los estudios sobre las respuestas de los bosques al cambio global (Buchmann, 2002).

La regulación de la fotosíntesis a la baja en brinzales de corta edad se manifiesta en especies de zonas templadas tanto frondosas (p.e cerezo, abedul, castaño, chopo) como resinosas (varias especies de *Picea*); es achacable a la reducción en la cantidad o actividad del enzima rubisco, al aumento de almidón y, también, a un desequilibrio entre fuente y sumidero debido a una restricción en la disponibilidad de nutrientes o a restricciones en el desarrollo de la raíz (Saxe *et al*, 1998). Sin embargo, no ocurre de forma consistente, y los cambios en la regulación de la fotosíntesis están relacionadas con la ontogenia, la fenología y las condiciones impuestas en el crecimiento (nutrición, tamaño de envases en brinzales jóvenes); también la respuesta al incremento de CO₂ en la respiración es problemática y el balance entre suministro de C y N tiene efectos importantes (Saxe *et al*, 1998). Asimismo, un aumento de la concentración de CO₂ atmosférico podría conducir a la disminución de las tasas transpiratorias al reducirse la conductancia estomática y tendría como resultado una mejora en la eficiencia en el uso del agua; pero ello no necesariamente implica mayor tolerancia a la sequía, ya que esta depende de un conjunto de factores (entre otros la conductancia hidráulica) que afectan al equilibrio entre la demanda y el suministro de agua; además, la conductancia estomática en la mayoría de los casos no se altera. Por otra parte, el incremento del crecimiento relativo al aumentar el CO₂ es favorecido por el aumento de temperatura, ya que éste actúa atenuando la declinación de la fotosíntesis provocada por temperaturas altas. Sin embargo, el

endurecimiento frente a heladas no parece esté influenciado por el incremento de CO₂. También, al existir una mayor disponibilidad de carbohidratos puede repercutir favorablemente en las asociaciones micorrícicas (Saxe *et al*, 1998). Asimismo, los cambios que se produzcan en las cualidades defensivas de los árboles en respuesta al incremento de CO₂ pueden modificar la incidencia de plagas y enfermedades (Percy *et al*, 2002).

En cualquier caso, el impacto del aumento de CO₂ y la temperatura sobre el crecimiento y fisiología de los árboles evidencian un amplio rango de respuestas. Un buen número de trabajos, particularmente en una primera época, han sido hechos con brinzales de poca edad, cultivados en envases que restringen el desarrollo del sistema radical, en ambientes controlados, con un rango de condiciones ambientales limitado, en periodos de tiempo cortos y, además, con caracteres morfológicos muy influenciados por su condición juvenil, todo lo cual no permite extrapolar los resultados obtenidos a árboles maduros y menos a periodos prolongados de tiempo. Incluso, aún trabajando con árboles de 3-4 m de altura en cámaras abiertas, los resultados muestran gran diversidad de respuestas. Los resultados obtenidos con 30 especies en 28 experimentos controlados ofrecen rangos de incremento de biomasa de 0.5 a 4, con media de 1.32 al doblar la concentración de CO₂ (Jarvis, 1995). En el proyecto ECOGRAFT se registró un aumento de la superficie y biomasa foliar con dicho incremento. La fenología quedó afectada, acortándose el periodo de crecimiento, aunque con diferencias entre especies respecto a su influencia en el adelanto o retraso del comienzo y finalización del periodo vegetativo; resultaron también marcadas las diferencias entre estados juvenil y adulto, con respuestas mas

acusadas en plantas jóvenes y a veces contrarias a las registradas en el estado adulto (Jarvis, 1998).

En ensayos a corto plazo, en plantas en envase o en plantaciones experimentales en campo, en todo caso de corta duración, el incremento de la concentración atmosférica de CO₂ conduce a aumentos substanciales de biomasa. Por ejemplo, en clones de híbridos de *Populus* sp (también de otras frondosas) la fotosíntesis aumentó 2 a 3 veces al pasar la concentración de CO₂ de 350 a 700 ppm lo que podría traducirse en un substancial aumento del crecimiento y de la biomasa producida. (Jarvis, 1995). También en *Populus*, a espaciamientos reducidos (1 m x 1 m), con concentraciones de CO₂ de 550 ppm se han medido incrementos de biomasa aérea entre 15 y 27 % en alguna especie (p.e. *P. x euroamericana*) y de 22 a 38 % de biomasa radical en otras (Cafalpietra *et al.*, 2003). Cabe mencionar como acción indirecta y beneficiosa del incremento de CO₂ la protección que se ha mostrado ejerce en ciertos híbridos de *Populus* frente a los efectos tóxicos del ozono y cuya posible extensión a los eucaliptos supondría un valor añadido a sus plantaciones (Gardner *et al.*, 2005).

A nivel de bosque las consecuencias del cambio global son complejas y no bien entendidas, pues procesos adicionales a los efectos directos del incremento de CO₂ pueden dar lugar a retroalimentaciones negativas. Así, un aumento de temperatura puede favorecer la mineralización de N y la respiración y ocasionar ganancias negativas de C, aunque la retroalimentación negativa puede estabilizar el sistema (Jarvis, 1998). Por otra parte, el incremento de CO₂ podría alterar las tasas transpiratorias del dosel y conducir al agotamiento del agua en el suelo con

repercusión importante en el clima local y ciclo hidrológico (Saxe *et al.*, 1998).

La respuesta combinada a las variaciones de CO₂, agua y nutrientes se ha estudiado con el modelo CenW de crecimiento genérico. Se deduce que no hay una sensibilidad única de la productividad de las plantas al aumento de temperatura y concentración de CO₂ y que las respuestas dependen de las circunstancias, desde ser negativas hasta obtenerse incrementos del 50% en respuesta a doblar la concentración de CO₂. En suma, el conocimiento de los procesos que suceden en los ecosistemas no es suficiente para hacer predicciones futuras comprometidas (Kirschbaum, 2000).

Los modelos predictivos tratan de integrar los procesos e ir progresando en la escala espacial desde los efectos a nivel de hoja a región. El modelo MAESTRO predice la absorción de radiación, la fotosíntesis y la transpiración en la copa de un individuo y dadas las características de la población de árboles predecir estas variables por hectárea. Se ha aplicado a varias especies forestales midiendo los flujos gaseosos por el método de "eddy covariance". La validación del modelo, hecha para algunos bosques, ha dado buenos resultados. La condición de especies de crecimiento rápido o lento y los usos de la madera producida determinan en buena parte su eficacia en el secuestro de carbono. Los restos de las cortas se reoxidan in situ durante 10 o más años, se produce CO₂, lo que también sucede a corto plazo si la madera se utiliza en la fabricación de productos como el papel. A largo plazo, si en el sistema global de uso de energía el CO₂ liberado se reasimilase en el crecimiento de nuevas plantaciones, los bosques templados podrían jugar un papel importante en la política energética (Jarvis, 1998).

En un estudio en que se han comparado las respuestas obtenidas en buen número de especies, la existencia de un compromiso entre la existencia de una respuesta sostenida en el tiempo y una respuesta significativa pero de corta duración ha conducido a defender la respuesta a largo plazo, sin dejar cerradas las especulaciones a la posibilidad de una regulación a la baja de la fotosíntesis, que acabe anulando a largo plazo el efecto fertilizante del enriquecimiento atmosférico de CO₂ frente a algún grado de su mantenimiento (Sherwood, 1999).

Los modelos elaborados para estimar el carbono almacenado en plantaciones forestales tienen en cuenta la especie, el turno, el rendimiento (posibilidad en m³.ha⁻¹.año⁻¹) y el régimen de claras. En el modelo de Dewar (1993) el carbono fijado viene representado por el aumento de biomasa de los materiales leñosos y no leñosos durante un periodo correspondiente al turno de corta, a la que hay que restar la porción que se incorpora al suelo por el desfronde y residuos de cortas durante y al final del turno, así como en las claras; biomasa que en el suelo se incorpora a la materia orgánica y en parte forma CO₂. Se ha asumido (Cannell *et al.*, 1995) que los periodos de vida de los productos forestales obtenidos son equiparables a los turnos de corta; y de hecho, al reducir a la mitad o doblar dichos tiempos respecto al turno, apenas se obtienen diferencias, ya que el carbono almacenado en los productos de la madera sólo representa el 16% del total de carbono usando valores estándar. Así, dichos autores concluyen que si el objetivo es almacenar carbono a corto plazo y mantenerlo a plazo largo, las plantaciones de *Populus*, a espaciamientos pequeños (2.7 m) y turnos de 26 años en suelos fértiles, constituyen la mejor opción. En ningún caso se recomiendan las plantaciones de turno muy corto (<10 años). En última

instancia, el uso de la vegetación como sumidero de carbono se ha propugnado en términos de que permite “comprar tiempo”, jugando un papel puente hasta que estén disponibles nuevas tecnologías limpias con las que se reduzcan o anulen las emisiones de CO₂ (Kirschbaum, 2003).

Existen abundantes trabajos sobre fotosíntesis y fijación de carbono, y su relación con el comportamiento estomático, transpiración y, capacidad de ajuste osmótico ante sequía (Stoneman *et al.*, 1994); y con el crecimiento, en diferentes especies y procedencias de eucaliptos: Moreshet (1981) con *E.camaldulensis*; Pereira *et al* (1992) con *E. globulus*, Wong y Dunin (1987), Leuning (1990) con *E. grandis*; entre otros. Pereira *et al* (1987) dan valores de 7 μmol.s⁻¹.m⁻² para la capacidad fotosintética media de *E. globulus* en condiciones de campo en Portugal y en la recopilación hecha por Ceulemans y Sugier (1991) para cultivares e híbridos seleccionados de *Eucalyptus ssp* eleva esta cifra al doble. Por otra parte, Wong *et al* (1987) trabajando con plantas en un lisímetro de 10 m² analizan las relaciones entre fotosíntesis y transpiración bajo diferentes condiciones ambientales y dan un valor de 28 μmol/s/m² de superficie de suelo para la tasa de fotosíntesis, que se satura con una radiación mitad de la medida a mediodía a plena luz solar. Por otra parte, en *E. pauciflora* se ha mostrado que los daños del aparato fotosintético (eficiencia cuántica) por efecto de las temperaturas bajas (medidos por fluorescencia de la clorofila, Fv/Fm) son mayores al elevar la concentración de CO₂ (ambiente +350 ppm). La regulación a la baja de la fotosíntesis en respuesta a limitaciones estacionales no es vencida por el aumento de CO₂, pero superadas las bajas temperaturas invernales este incrementa el crecimiento, respuesta atribuible al aumento de las tasas

fotosintéticas, sin efecto sobre el reparto de asimilados (Roden *et al*, 1999).

Asimismo, el modelo PROMOD que predice el crecimiento anual al cierre del dosel arbóreo, se ha aplicado a *E. globulus* incorporando factores de lugar, índice de área foliar, evapotranspiración y eficiencia en el uso del agua. (Battaglia & Sands, 1997).

Las consideraciones y resultados anteriormente expuestos referidos a otras especies y condiciones son difícilmente extrapolables a las plantaciones de eucaliptos a turno corto (9-10 años) para producción de pasta de celulosa, aunque pueden utilizarse como referentes para posible pautas a seguir. Una investigación ecofisiológica en la que se evalúan las tasas de secuestro de carbono por las plantaciones mediante la medición de flujos de carbono por la técnica de "eddy covariance", resulta muy recomendable para una mejor comprensión de la vulnerabilidad del balance de carbono y para validar modelos ante el cambio climático, tal como se ha venido desarrollando por el consorcio EUROFLUX para diferentes especies y masas forestales en Europa (Valentini, 2003).

En plantaciones de *E. globulus* en Galicia (NO de la península Ibérica) se ha aplicado el modelo CO₂ FIX version 3.0 desarrollado por Nabuurs *et al* en el marco del proyecto CASFOR (Valero y Picos, 2003). Resultados preliminares concernientes a una plantación de *E. globulus* de 16 has, ordenada con turno de corta de 16 años y sometida a tratamiento selvícola, dan un valor de potencial de fijación neta de carbono de 112,58 Tm.ha⁻¹ al término del turno, lo que supone un incremento medio de 7,04 Tm.ha⁻¹.año⁻¹ (Valero, 2004). En dicho trabajo, se pone asimismo de manifiesto una mayor rapidez,

aunque menor estabilidad, en la acumulación de carbono en la biomasa que en el suelo, y una disminución del valor medio de carbono fijado anualmente al aumentar el turno; y se recomienda la menor agresividad posible en la preparación del terreno previa a la plantación con el fin de evitar pérdidas de carbono edáfico.

Algunas especies de eucalipto se han venido utilizando en plantaciones a turnos muy cortos y marcos de plantación reducidos para la producción de biomasa, a cuyo objetivo se une el interés de su condición adicional de sumideros de carbono ante el aumento de su concentración atmosférica. En Grecia se ha estudiado el efecto de la densidad de plantación (de 12500 a 40000 plantas por ha) y el turno de corta (tres ciclos de uno y dos años) en conjunción con las condiciones edáficas (fertilidad y disponibilidad de agua) en la producción de biomasa de *E. globulus* y *E. camaldulensis*: Se ha puesto de manifiesto la mayor producción de *E. camaldulensis* bajo condiciones de sequía, la mejor respuesta de *E. globulus* a la fertilidad del suelo y la mejor adaptación de *E. camaldulensis* a densidades altas. Asimismo, un turno de dos años resultó favorable a *E. globulus* y dos turnos de un año a *E. camaldulensis*, con reducción del número de brotes por m² al tercer año. El reparto de biomasa fue dependiente de los factores puestos en juego y de la densidad de plantación, no afectó significativamente a los parámetros de calidad de la madera, que resultó con mayor densidad, longitud y cantidad de fibras en *E. globulus* (Dalianis, 1998).

7. Nutrición, micorrizas y fertilización

Los eucaliptos están adaptados a suelos pobres en nutrientes minerales. Su demostrada capacidad de reciclaje y almacenamiento de nutrientes en el interior de la planta contribuye a esa adaptación.

(Grove *et al*, 1996). La abundante experimentación llevada a cabo con diversas especies del género ha puesto de manifiesto la variación en concentraciones de nutrientes entre especies, tejidos, edad de la planta y época del año. En plantaciones fértiles, o abonadas artificialmente y en cultivos hidropónicos experimentales se alcanzan concentraciones en hojas muy altas comparativamente con las registradas en coníferas y otras frondosas, hasta de 3 % para N y K, mas de 5 % en Ca y casi de 1 % para P (Judd *et al*, 1996a, entre otros). Estos valores se reducen drásticamente en suelos pobres de algunas poblaciones naturales, llegando a manifestarse síntomas visuales de deficiencia mineral en hojas, bien descritos en la bibliografía (Marcos de Lanuza y Marzo, 1970; Dell, 1995, y 1996). Entre los micronutrientes, la deficiencia de boro no es inusual, pero la adición de tetraborato sódico (15% en boro) al suelo evita los síntomas de pérdida de ápice terminal que muestran los árboles en plantación (Coutinho & Bento, 1995). Síntomas vinculados a las limitaciones en la síntesis de la pared celular, transporte de carbohidratos y metabolismo auxínico, derivadas de la carencia de boro (Cakmak & Römheld 1997), cuya esencialidad se ha relacionado también en eucaliptos con la brotación (De Arruda *et al*, 2000).

Contenidos foliares en macro y micronutrientes en plantaciones de nueve especies de eucaliptos en el NO de la península Ibérica han sido cuantificados por Español *et al* (2000). La nutrición mineral y su relación con el crecimiento (Merino *et al*, 2003) y el contenido en nutrientes y su distribución en plantación (Brañas *et al*, 2000) han sido también objeto de estudio en plantaciones de *E. globulus* en Galicia. A este región geográfica se refieren también los trabajos de Bará (1970, 1985) con *E. globulus* y de Calvo (1992), si bien tiene

una mayor incidencia en aspectos edafológicos y medioambientales, respectivamente, aunque con ciertas implicaciones ecofisiológicas y nutricionales.

El nitrógeno (al ser el elemento mineral con mayor contenido y concentración en planta) y el fósforo (por su limitada accesibilidad en el suelo) son los nutrientes que mas frecuentemente pueden limitar la productividad en eucalipto. En plantas jóvenes de *E. globulus* fertilizadas se ha evidenciado (Judd *et al*, 1996b) una buena correlación entre el incremento de crecimiento y la concentración en hojas de N y P, cuyo ratio aumenta con la edad, lo que indica un mayor requerimiento de P a edad temprana. En cualquier caso, las respuestas a la fertilización, insisten estos autores, son específicas del lugar, al estar muy condicionadas por la textura del suelo y el agua disponible.

En *Eucalyptus globulus*, la reducción del nitrógeno disponible da lugar al descenso de la superficie foliar, ratio de tallo a raíz y eficiencia intrínseca en el uso del agua; también incrementa la dominancia apical y reduce el número de ramas secundarias. Esto sugiere según Mac Farlane *et al* (2005) que la reducción en la productividad primaria por efecto de carencia de nitrógeno es debida a que disminuye el tamaño de los sumideros más que su actividad, ya que dicha carencia no tiene efecto sobre la relación entre crecimiento y respiración; y que la dominancia apical puede ser un importante mecanismo para mantener un valor adecuado de la eficiencia de la conversión de carbono (ratio de productividad neta a bruta).

El cultivo aeropónico se ha utilizado también para estudios nutricionales en especies de eucalipto. La adición por nebulización de soluciones nutritivas con dosis exponencialmente crecientes de

fósforo acordes con la tasa de crecimiento puso de manifiesto en *E. grandis* una buena correlación con la tasa de asimilación de carbono (de 11.7 a 23,1 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ al pasar del estatus de fósforo máximo al mínimo), tanto por unidad de área foliar como de masa foliar, mientras que para el nitrógeno la correlación con la tasa de asimilación sólo se produjo por unidad de peso foliar, evidenciando que la tasa de asimilación de carbono y la tasa de crecimiento foliar relativo eran de los procesos más sensibles a la nutrición con fósforo (Kirshbaum & Tomkins, 1990). Por otra parte, el aumento de fósforo tenía un efecto pequeño sobre el peso de la planta (el aumento en materia seca del tallo al hacerlo el tamaño de las plantas era independiente de la concentración de fósforo en planta), y provocaba un descenso de la ratio de pesos secos raíces/hojas (Kirshbaum *et al*, 1992).

En cultivos hidropónicos de *E. globulus* la asimilación de carbono y la conductancia resultaron relacionadas linealmente y positivamente asociadas con la concentración de nitrógeno foliar, con una mejor relación referido este a peso que a superficie. La eficiencia en el uso del nitrógeno no afectó a la eficiencia (instantánea) en el uso del agua, aumentó con la concentración de nitrógeno (a nivel de hoja) pero no a nivel de planta (Sheriff & Nambiar, 1991). La evaluación de parámetros tales como reparto de biomasa, eficiencia instantánea en el uso del agua y del nitrógeno en relación con el contenido foliar en N, en respuesta a la nutrición nitrogenada, ha dado lugar a un modelo sencillo que puede predecir el crecimiento (Sheriff, 1992). Se han propuesto, también, modelos de respuesta a diferentes tasas de adición de varios nutrientes relacionando la concentración de nutrientes (N y P) en hojas con el reparto de biomasa, área foliar específica y asimilación de carbono: en

plantas deficientes en N, los cambios en el crecimiento derivados de la mejora nutricional transcurren a través de sus efectos sobre el reparto de asimilados y la tasa de asimilación a la luz a saturación, mientras que en el caso del fósforo los cambios se ejercen a través de sus efectos sobre la asimilación. Si el estatus nutricional de N fuera bueno, los cambios en el crecimiento actuarían a través de sus efectos sobre el área foliar específica, mientras que para el fósforo lo harían por ambas vías (Sands *et al*, 1992). El modelo de crecimiento CABALA integra carbono, nitrógeno y agua y, validado en *E. globulus*, proporciona un soporte en la toma de decisiones selvícolas (Battaglia *et al*, 2004).

La retraslocación de nutrientes ha sido también objeto de estudio usando una técnica de sombreado artificialmente provocado para simular el efecto del sombreado natural que afecta a una proporción significativa de las hojas en las zonas más bajas de la copa en árboles de crecimiento rápido. En *E. globulus* se mostró su asociación con la senescencia, la reducción de biomasa foliar y la retraslocación de N, P y K; con una buena correlación positiva entre su contenido inicial y la cantidad retraslocada, así como entre esta y el aumento de crecimiento del área basimétrica (Saur *et al*, 2000).

La capacidad fotosintética no se ha mostrado diferente al comparar plantas de *E. globulus* fertilizadas y regadas frente a controles sin fertilización ni riego, con diferencias mínimas en el contenido en nitrógeno en hojas, aunque las tasas de fijación de carbono sí resultó ser menor en las segundas durante el seco periodo estival y el crecimiento fue mayor en las primeras (Pereira *et al*, 1992). Asimismo, estos autores encuentran diferencias en la capacidad fotosintética de las hojas adultas

y juveniles, que explican por la menor área foliar específica de las hojas adultas.

Siendo el nitrógeno uno de los factores más limitantes para el crecimiento en buena parte de las plantaciones de eucalipto tiene interés conocer la productividad del nitrógeno expresada por la tasa de fotosíntesis por unidad de nitrógeno (PNUE). En un estudio con nueve especies de eucaliptos de condición métrica (1800 mm/año a semiárida (300 mm/año), cultivadas en invernadero, con buen suministro nutricional, se mostró, con carácter general, una alta asignación de nitrógeno al enzoma rubisco y un valor de PNUE ($172\text{-}335 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) superior al observado comúnmente en especies arbóreas, lo que puede relacionarse con su crecimiento rápido. PNUE se mostró sensible a las diferencias existentes entre especies en la asignación de N a rubisco y a la tasa máxima de carboxilación; estas diferencias y las observadas en el reparto de nitrógeno, aunque significativas entre especies, apenas se relacionaban con el origen de las especies (Warren *et al*, 2004). También es interesante subrayar que con carácter general, a lo largo de un gradiente de producción forestal el incremento en la producción de madera es mayor que el de producción foliar y que existe una linealidad entre el incremento de biomasa y el de nitrógeno (Gonçalves *et al*, 1997), lo que indica una tasa constante de producción de madera por unidad de nitrógeno en madera, derivada de un aumento en la eficiencia global en el uso de nitrógeno por los árboles. Ello podría indicar que la eficiencia en el uso de nitrógeno no declina necesariamente al aumentar su suministro (Binkely *et al*, 2004), subrayándose la importancia de la fertilización nitrogenada en la producción de madera.

Se ha estudiado el efecto de la disponibilidad de fósforo sobre la densidad

de la madera. Esta muestra un incremento (mayor grosor de la pared secundaria de las células) al disminuir el suministro de fósforo; y dado que el diámetro de las fibras es independiente del fósforo en el suelo, el incremento en la densidad se ha asociado con la inhibición de la actividad cambial, con una alteración del reparto de biomasa en el tronco a favor del mayor engrosamiento de la pared celular secundaria derivado de una mayor proporción de fotoasimilados disponibles (Thomas *et al*, 2006).

La formación de micorrizas ectotróficas constituye elemento esencial en la capacidad adaptativa que han desarrollado los eucaliptos para vivir en suelos pobres en nutrientes, en especial en fósforo. En este sentido, se ha mostrado en plantas de *E. pilularis* que no sólo las ectomicorrizas favorecen la absorción de fósforo en condiciones muy deficitarias en el suelo, sino que el fósforo se puede almacenar en las hojas si su suministro persiste, lo que se interpreta como una flexibilidad de la especie en su capacidad de competir con éxito en un rango de habitats de variable estatus nutricional (Mulligan & Patrick, 1985). Incluso, trabajando con esta y otras especies (*E. grandis* y *E. gummifera*) en un estudio posterior, al someter las plantas a una reducción drástica del suministro de fósforo, apenas se redujo la fotosíntesis y el crecimiento, incluso aumentó la tasa fotosintética en una de las especies, efecto asociado con un incremento de N foliar; resultados que hicieron sugerir al autor (Mulligan, 1989) que la fotosíntesis no está limitada por las concentraciones de fósforo en hojas típicamente encontradas en suelos deficientes en este elemento; circunstancia que se asoció con la presencia de las micorrizas.

Diversas cepas de hongos micorrizógenos aisladas de plantaciones de eucaliptos se

han usado para inocular plantas de vivero con fines de repoblación. Así, entre otras muchas, se han generado ectomicorrizas de *Pisolithus tinctorius* asociadas con *E. tereticornis* y de *Scleroderma cepa* con *E. camaldulensis* (Sudhakara y Satyanarayana, 1998). Se ha estudiado también los efectos de la inoculación con esporas con diferentes cepas de los hongos citados en *E. globulus* y *E. urophylla* (Chen & Dell, 2004). Sin embargo, la inoculación con micorrizas reviste especial interés para su aplicación a plantas obtenidas *in vitro*, ya que las vitroplantas micorrizadas pueden aumentar el crecimiento (Oliveira *et al*, 2001) y la supervivencia al transferirse a condiciones de vivero, si bien se requiere la elección de una cepa de la especie de hongo micorrízico compatible con el hospedante (Malajczuk y Hartney, 1986).

La fertilización se practica en plantaciones forestales de *Populus*, *Eucalyptus*, *Platanus*, *Pinus radiata* entre otras especies arbóreas, con el objetivo de incrementar la producción de madera con fines industriales. En el caso del eucalipto se usan abonos comerciales de sales minerales, que incorporan macro- y micronutrientes, aplicados puntualmente en la implantación, y sucesivas veces en superficie a lo largo del turno y hasta un año antes de la corta, p.e. con urea o nitrato amónico- cálcico (Toval, 1999). En *E. globulus*, la práctica de las fertilizaciones en plantaciones llevada a cabo por ENCE en cada una de las áreas de actuación obedece a una estrategia experimental basada en ensayos factoriales llevados a cabo para situación particular (tipo de suelo) lo que permite la optimización de respuestas ante posibles interacciones genotipo ambiente (Ruiz *et al*, 1997; Ruiz *et al*, 2001; Basurco *et al*, 2001; Gonzalez *et al*, 2003). Si se perciben anomalías en el crecimiento y en el análisis foliar se detecta alguna deficiencia, se añade un

fertilizante supletorio que la corrija, como sucede con el boro en plantaciones de *E. globulus* en el SO español peninsular, donde la aplicación de tetraborato sódico añadido al nitrato amónico-cálcico está dando muy buenos resultados (Toval, 2004).

Si bien, con carácter general, se obtiene un incremento en el crecimiento en respuesta a la fertilización, también se han evidenciado buenas correlaciones entre concentración foliar en nutrientes y fertilización. Los efectos del suministro de nutrientes sobre la productividad de *E. globulus* en plantaciones en Portugal ha sido analizado por Pereira *et al* (1994). Asimismo Madeira *et al* (1995) evaluaron la cantidad y proporción de nutrientes en la hojarasca en descomposición y su evolución estacional en una plantación de *E. globulus* en Portugal a los seis años de la aplicación de tratamientos combinados de fertilización y riego, poniéndose de manifiesto que los tratamientos de fertilización y riego dieron lugar a una mayor masa de hojarasca y de contenido en ella de N y P; y el descenso de C/N, lo que sugiere una mejora de la calidad de la hojarasca, si bien el reciclado de N resultó más eficiente en los tratamientos sin fertilización. También revisten interés los análisis alométricos y la elaboración de modelos de regresión para la estimación de la superficie foliar en función de mediciones dendrométricas bajo diferentes condiciones de fertilidad, como desarrollaron Pereira *et al* (1997) en plantaciones de *E. globulus* en Portugal.

Reviste especial interés el estudio de los efectos de la fertilización en conjunción con las claras. En *E. marginata* la fertilización incrementó la eficiencia en el crecimiento (crecimiento por unidad del índice de área foliar, LAI) y el crecimiento del rodal, en rodales aclarados y no aclarados, pero en estos últimos también

provocó un menor potencial de base, en suma mas estrés hídrico, lo que limitó el aumento de LAI en comparación con el medido en los rodales aclarados.

Asimismo, las bases fisiológicas implicadas en la traslocación de nutrientes entre órganos en relación con la fenología y en los efectos sobre el estatus nutritivo a largo plazo de la fertilización y otras prácticas selvícolas (p.e. podas, eliminación del matorral), a nivel de individuo y de plantación, están necesitadas de estudios experimentales en los que se pongan en juego también variables de lugar y tiempo.

El estudio de los efectos de la fertilización sobre las propiedades de la madera constituye otra línea de interés, aunque los resultados obtenidos no son claramente positivos, con diferencias acusadas según la propiedad medida, la especie y, para una misma especie, en función de las características del lugar. Así, en *E. globulus* para Cromer y Hansen (1972) el abonado no produjo cambios en la densidad básica, Farrington *et al* (1977) observaron un pequeño descenso en la misma y ningún cambio en las propiedades de la pasta kraft, y para Pereira *et al* (1994) la fertilización con fósforo incrementó su concentración en el tallo de plantas jóvenes, aunque este aumento es predeciblemente temporal al producirse su retraslocación con las formación del duramen. La aplicación independiente y conjunta de urea y superfosfato (hasta 40 g por árbol de N y P, en el momento de la plantación) tuvo escaso efecto en los lugares más húmedos (encharcados) y dió lugar a un incremento de diámetro, volumen y concentración de N y P en la madera en el tratamiento combinado N-P y a cambios en la densidad (de diferente condición según el lugar y el fertilizante aplicado), producción de fibras más cortas y ligera disminución del rendimiento en pasta en los lugares mas

secos (con una precipitación de 620 mm anuales). Los autores, Raymond & Muneri (2000) destacan la falta de relación entre los cambios en las propiedades de la madera y el crecimiento; subrayan que los efectos sobre ambos dependen del lugar y sugieren que la adición de fertilizante puede ser perjudicial par algunas propiedades de la madera en lugares secos, sin efectos mayores en los húmedos.

8. Parasitismo y medioambiente

Los factores ambientales, por limitación o exceso con posible efectos tóxicos, conducen a situaciones de estrés en los árboles que alteran su fisiología (Levitt, 1980) y propician la acción de hongos e insectos (Hain, 1987). Cabe, también, que los efectos del estrés desencadenen la síntesis de metabolitos secundarios implicados en mecanismos de defensa, tal como se ha mostrado sucede en *E. cladocalyx*, especie en la que la sequía induce la formación de glicósidos cianogénicos de probada toxicidad ante posibles predadores (Gleadow & Woodrow, 2002).

El hongo *Mycosphaerella* y los insectos *Phoracantha* (*P. semipunctata* y *P. recurva*, han sido citadas en la Península Ibérica) y *Gonipterus scutellatus*, así como *Ctenarytaina eucalypti* (primer insecto con nivel de plaga citado en la Península Ibérica y *C. spatulata* (recientemente detectado en el NO peninsular, (Mansilla *et al*, 2004) son parásitos que causan daños de consideración en *Eucalyptus globulus*. Se han identificado varias especies de *Mycosphaerella* (Crous *et al*, 2004) algunas descritas en la Península Ibérica, que parasitan a *E. globulus*, especie que muestra una susceptibilidad intermedia entre *E. bicostata* (mayor) y *E. maidenii* (menor), especies antes consideradas subespecies del complejo *E. globulus*. En todo caso, existe una significativa variación entre

procedencias y entre familias que permite una selección de las más resistentes (Carnegie *et al*, 1994, Dungey *et al* 1997). Las lluvias de verano favorecen la enfermedad, especialmente en las procedencias de lugares con veranos secos, mientras que las procedencias de lugares con lluvias de verano experimentan una selección natural más intensa y son más resistentes al hongo (Park 1988). El mayor daño, con defoliación severa y reducción del crecimiento, es causado en follaje juvenil por *M. nubilosa*, mientras que *M. cryptica*, aunque con daños menos intensos, sigue afectando al follaje adulto. La buena correlación genética entre la enfermedad en el follaje adulto y juvenil, con valores para r_G de 0.67 y 0.33 en procedencias y familias respectivamente posibilita llevar a cabo la selección de resistencia a *M. cryptica* en plantas de 2 a 3 años (Carnegie y Ades, 2005).

El coleóptero curculiónido *Gonipterus scutellatus*, originario del sudeste australiano, introducido en España en 1991, se ha extendido por las plantaciones de *E. globulus* del norte peninsular (Mansilla, 1992). Tanto en fase de larva como de imago se alimenta del limbo foliar, incluso de brotes terminales y yemas florales, dando lugar a defoliaciones, incluso totales, con las consiguientes pérdidas de crecimiento (Muñoz *et al*, 2003). Su control biológico con *Anaphes nitens* es muy prometedor (Mansilla *et al*, 1998); sin embargo, existe un gran desconocimiento sobre la etología de *Gonipterus* y no se ha podido dar una explicación a la agrupación de sus poblaciones en determinados rodales de las plantaciones (Ruiz, comunicación personal).

El coleóptero cerambícido *Phoracantha semipunctata*, originario de Australia, introducido en Europa al final de la década de los 60 del siglo pasado, llega a la

Península Ibérica varios lustros después (Cadañia, 1981). Causa daños importantes en las plantaciones de clima mediterráneo, con veranos secos y prolongados, en las que los pies afectados muestran exudación de kino sobre la corteza y las hojas secas consecuencia del anillamiento del tronco por las galerías producidas por las larvas, sucesos que reducen la supervivencia de forma apreciable hasta 50 % de árboles muertos (Lencart y Silva, 1994). La muerte del árbol no ocurre de forma inmediata, y sobreviene después de reiterados ataques en ciclos o años sucesivos que acaban debilitando el árbol por completo, y que se ponen de manifiesto por la formación de anillos de kino, oscuros y concéntricos, visibles en una sección transversal del tronco (Ruiz, 2004).

En un estudio experimental realizado en Huelva (precipitaciones anuales de 500 mm y temperatura media anual de 17.5 °C) la "raza local" mostró una heredabilidad de la resistencia al ataque de *Phoracantha* baja ($h^2 = 0.19$), con una resistencia no mejor que la media de un conjunto de razas australianas ensayadas. Sin embargo, dos clones de la raza local, seleccionados fenotípicamente por su buen estado sanitario y crecimiento, mostraron una resistencia al parásito del 81%, lo que supone una considerable mejora respecto al 57% en las plantas comerciales y también mayor que la más alta (67%) de las razas australianas más resistentes (Soria y Borralho, 1997). Aunque dicha mejora fue unida a un incremento del 15% en diámetro respecto a la semilla comercial, dada la baja correlación que parece existir entre resistencia al parásito y crecimiento, los autores concluyen que no es esperable una mejora en la resistencia a *Phoracantha* derivada de los programas de selección basados sólo en el crecimiento.

Al inicial tratamiento químico con lindano y la colocación de cebos como método de lucha contra el insecto ha sucedido la mas prometedor lucha biológica con la ayuda de *Avetianella longoi*, que parasita los huevos de *Phoracantha* con alto porcentaje de parasitación y que viene siendo objeto de experimentación y puesta a punto para su aplicación masiva por el grupo de investigación de la Estación Fitopatológica de Aeeiro, Excma Diputación Provincial de Pontevedra, a través de un convenio suscrito con ENCE (Mansilla *et al*, 1999, Ruiz, 2004).

Un factor crítico en el ataque de *Phoracantha* es el grado de estrés hídrico al que se encuentra sometido el árbol (Hanks *et al*, 1991 y 1999. Existe evidencia de la relación entre la diferente sensibilidad al ataque de los árboles parasitados y algunos parámetros hídricos (Campbell *et al*, 1999); hecho ratificado al comprobar la gran mortalidad de las larvas del insecto introducidas en árboles sometidos a escasez de agua, que mostraron un potencial hídrico de base en progresiva disminución estacional, en comparación con la mortalidad de las larvas en árboles regados, con mayor constancia del potencial hídrico (Caldeira *et al*, 2002). En el marco de esta línea, en plantaciones experimentales de ENCE en Huelva, se ha estudiado la relación entre la disponibilidad de agua edáfica (árboles regados y no regados durante el periodo vegetativo), expresada en términos de potencial hídrico en el árbol, porcentaje de humedad en peridermis-floema y otros parámetros fisiológicos y el grado de resistencia en clones con diferente grado de ataque por *Phoracantha* (Arias, 2002). Los árboles no regados mostraron, en conjunto, un contenido de humedad en corteza significativamente menor frente a los regados, alcanzando los primeros, en época estival, niveles de humedad en peridermis-

floema por debajo del umbral de resistencia al ataque del insecto (50%). Al comparar la virulencia del ataque con el contenido en humedad en peridermis y floema (tejidos que actúan como barreras para la realización de las puestas y primeros estadios de desarrollo de las larvas) se ha mostrado la relación existente entre contenido en humedad (mas elevada en la peridermis) y el grado de ataque, tanto menor cuanto mas alta es la humedad en ambos tejidos. Ello abre la posibilidad de elaborar un test que permita una selección de clones resistentes en función de la humedad medida en dichos tejidos, dadas las significativas diferencias interclonales que se expresan en determinado momento del periodo vegetativo (Fernández, 2006); aunque también podrían influir, además de la humedad, otros factores como respuesta al ataque, por ejemplo la defensa química de fenoles, flavonoides y terpenos sintetizados por el árbol (Mohammed *et al*, 2004).

9. Propagación, biotecnología y genómica

Tradicionalmente la mejora genética del eucalipto en general, y de *E. globulus* en particular, ha seguido cauces estándar de ensayos de evaluación y selección de procedencias y de progenies, selección recurrente, cruzamientos inter e intra específicos controlados, instalación de huertos semilleros para la producción intensiva de semilla mejorada y propagación asexual de parentales seleccionados. Las principales implicaciones fisiológicas en los procesos biológicos inherentes a estas acciones atañen a los procesos de floración y fructificación, la germinación de las semillas y la propagación asexual.

La aplicación, generalmente en el substrato de cultivo, de un factor de crecimiento, el paclobutrazol (cultar), que inhibe la síntesis de giberelinas, favorece una floración

abundante, lo que unido a su condición de antigiberelina produce el acortamiento de los entrenudos y formación de brotes epicórmicos (Griffin *et al*, 1993). Ello facilita por partida doble la polinización controlada y hace posible a gran escala los cruzamientos interclonales (Cañas & Toval, 1997). El examen minucioso de la biología floral ha conducido al desarrollo de una técnica de polinización controlada en huertos semilleros de aplicación muy ventajosa (Harbard *et al*, 1999).

La germinación, y de forma especial en *E. globulus*, en términos generales no presenta especiales barreras de dormancia y la potencia germinativa suele ser elevada salvo que existan problemas sanitarios, de envejecimiento de las semillas o de incompatibilidad genética para la formación de híbridos. Tampoco son destacables especiales problemas fisiológicos en los primeros estadios de desarrollo de los brinzales, otros de los que pudieran derivarse de un cultivo inadecuado. Sí cabe mencionar, bajo una perspectiva mas bien genética, los efectos maternos sobre la dormancia y germinación y, en especial, los que pueden persistir en etapas posteriores del desarrollo de las plantas (carryover effects), los cuales pueden exagerar las estimas de crecimiento de los análisis genéticos (López *et al*, 2003). En un contexto fisiológico, se ha contemplado la medición de parámetros respiratorios (tasa de calor en la respiración y temperatura dependiente de la misma y tasa de producción de CO₂) en plantaciones de familias de polinización abierta de diversos orígenes de *E. camaldulensis*, bajo diferentes regímenes térmico y pluviométrico, con objeto de evaluar su uso potencial en la selección de fuentes de semilla (Criddle *et al*, 2000). Crecimiento y respiración mostraron una alta variación genética en cada plantación. La relación crecimiento a respiración difirió para cada

carácter medido, lo que sugiere un patrón diferente para cada uno, con una correlación significativa y muy negativa entre los rankings para crecimiento y respiración.

La reproducción asexual es el proceso biológico en el que se ha producido una profusa línea de investigación fisiológica y aplicación biotecnológica conducente a la propagación vegetativa de material vegetal genéticamente sobresaliente y plus, de las especies de eucalipto de mayor interés comercial con vistas a su uso masivo en las plantaciones destinadas a la producción de pasta de celulosa. Paso previo a la propagación es la selección masal en poblaciones naturales, plantaciones (comerciales, ensayos de procedencias y progenies) aplicando criterios de evaluación de árboles sobresalientes a través de un riguroso proceso de selección que aboca a la propagación clonal (Cañas, 1992). Se aplican algunas de las técnicas convencionales de macropropagación (estaquillado, injerto) y de micropropagación, con el fin de aprovechar la ganancia genética no aditiva derivada de la misma. Las técnicas de micropropagación por organogénesis y embriogénesis somática son además de utilidad para el análisis del comportamiento de genotipos frente a condiciones de salinidad y otros posibles agentes nocivos.

La genómica será herramienta de primer orden para la conservación y sostenibilidad forestal a largo plazo. Permitirá entender a los fisiólogos como los genes y sus productos (p.e. proteómica) determinan la forma en que funcionan las células, éstas forman los organismos y estos responden al ambiente (Wullschleger *et al*, 2002). El esclarecimiento del genoma del eucalipto permitirá sentar las bases genéticas de los mecanismos fisiológicos que controlan el desarrollo (p.e. fotosíntesis y respiración,

metabolismo del carbono y nitrógeno, reguladores del crecimiento, formación de la madera y su calidad), la identificación de genes que codifican caracteres de enraizamiento (Bhalerao, 2002), así como otros determinantes de sus respuestas a agentes bióticos y abióticos (p.e. resistencia a sequía) e identificación de loci asociados a la variación adaptativa y la caracterización de sus efectos fenotípicos. Ello acortará sustancialmente los tiempos requeridos para el mejoramiento genético de árboles, hará posible la selección de los individuos mejor adaptados a ambientes específicos, de especial significación ante estreses como la polución y el cambio climático; y la información obtenida podrá ser usada para desarrollar diagnósticos precisos para el seguimiento del estado sanitario y productividad forestal. En conjunción con la biotecnología de la micropropagación se podrá abordar la regeneración de plantas transgénicas y su producción masiva, procesos en los que deberá tenerse muy en cuenta el estudio de la expresión de los genes insertos y, en general, la validación de estudios de genómica.

El injerto tiene un uso limitado a la multiplicación de genotipos sobresalientes para la instalación de huertos semilleros clonales y bancos clonales y podría aplicarse para multiplicar genotipos de excepcional calidad que no se pudieran propagar por estaquillado. Se han utilizado diversas técnicas (p.e. púa, injerto inglés). Las mayores limitaciones han sido las referentes al estado fisiológico de púa y patrón, a la aplicación correcta de la técnica y, también, a problemas de rechazo por incompatibilidad entre púa y patrón. Pero es el estaquillado el procedimiento mas extendido para la propagación clonal, partiendo del material producido en cultivo intensivo en vivero de pies madre donantes de las estaquillas. En *E. globulus* se han

detectado niveles significativos de variación genética aditiva en el proceso de enraizamiento de estaquillas, tanto en su supervivencia (cuya evaluación según Borralho y Wilson, (1994) debe practicarse con independencia) como en la propia formación de raíces ($h^2=0.54$, en Lemos *et al* (1997) y 0.16-0.27 (in vitro), en Ruaud *et al* (1999), aunque con baja capacidad de combinación específica; ello permite la obtención de ganancias por selección directa de padres buenos enraizadores. La formación de brotes vigorosos en los pies madre depende de una buena fertilización (Soria, comunicación personal). Cabe también pensar que su número dependerá también de las reservas de carbohidratos (Walters *et al*, 2005). En el proceso de rizogénesis las auxinas actúan induciendo la formación de raíces adventicias (aumentan su número y reducen el tiempo de formación), mientras que la luz puede, o no, tener un efecto inhibitorio; todo ello, en función de la especie y edad del donante (Fett- Neto, 2001). En la práctica, el enraizamiento a gran escala se practica en invernadero o tunel de plástico, con macroestaquillas (con dos pares de hojas) o miniestaquillas, con un riguroso control de temperatura, aporte de agua, humedad relativa elevada y prevención de ataques por hongos (Cañas, 1992). En el enraizamiento extensivo de estaquillas de *E. globulus* actualmente se ha prescindido de la convencional aplicación de una auxina en la base de la estaquilla en los clones que muestran buena capacidad rizógena. Así, en ENCE – Huelva (Silvasur) se producen anualmente unos 4 millones de plantas de 15-20 clones selectos. (Toval, comunicación personal). La variabilidad en el crecimiento de clones mostrada en plantaciones experimentales de *E. globulus* se ha relacionado con deformaciones existentes en los sistemas radicales, que pudieran alterar la traslocación de

asimilados, lo que ha planteado la conveniencia de mejorar los sistemas radicales producidos contemplando una selección clonal más intensiva (Sasse & Sand, 1995).

La micropropagación tiene el potencial de proporcionar altas tasas de multiplicación de genotipos selectos con ganancias a corto plazo y, con tal fin, constituye una herramienta importante en los programas de mejoramiento genético de *E. globulus* (Oller *et al*, 2004). Semillas, plantas, tallos, brotes epicórmicos, lignotubérculos y flores se han utilizado como material de partida de más de 30 especies de eucaliptos, si bien en 1991 sólo en una docena se había conseguido la regeneración de plántulas a partir del callo formado (Le Roux & Van Staden, 1991). La edad ontogénica y fisiológica del material con que se preparan los explantes, que concierne a sus características de juvenilidad o capacidad de rejuvenecimiento aplicando técnicas hortícolas, son cruciales para obtener buenas respuestas *in vitro*. Un problema que debe tenerse en cuenta en la obtención de vitroplantas es la posible variación somaclonal como fuente de variación genética de clones seleccionados. En tal sentido, los marcadores RAPD constituyen una herramienta eficiente en el análisis precoz de genotipos de *Eucalyptus* (Laia *et al*, 2000).

En la revisión hecha por Le Roux & Van Staden (1991), se muestra que en el cultivo *in vitro* de *E. globulus* predomina la utilización de porciones de tallos como más frecuentes explantes y la proliferación de yemas y tallos axilares como respuestas más comunes tras la producción de callo sobre los explantes. Fitohormonas de condición auxínica -AIB, ANA y zAIA- (Pelosi *et al*, 1995, entre otros) en la inducción de raíces y con actividad de citoquinina - BA y 2iP- en la de yemas, son

los reguladores de crecimiento usualmente incorporados al medio, sólido, de cultivo, junto con los nutrientes minerales, carbohidratos y algunos cofactores. Trabajos posteriores han mostrado la capacidad de enraizamiento *in vitro* de la especie (Trindade y Pais, 1997, entre otros), la regeneración adventicia de plantas (Oller, 1993; Nugent *et al*, 1995) y la aplicación de las técnicas de micropropagación en programas de mejora de *E. globulus* (Araujo *et al*, 1997). La regeneración organogénica con brotes formados a partir de yemas neoformadas sobre hojas, posterior formación de raíces y aclimatación de las vitroplantas es una vía puesta a punto y aplicada por ENCE en la obtención de plantas madre rejuvenecidas (Toval, 2002). La obtención de estructuras globulares (nódulos) a partir de hipocotilo y hojas (para cuya formación resulta clave la incorporación de leche de coco), y la regeneración de plántulas a partir de los mismos, puede suponer un avance para la producción a gran escala (Trindade & Pais, 2003). También en alguna especie del género (p.e. *E. citriodora*) se han regenerado plántulas por embriogénesis somática (Muralidharan & Mascarenhas, 1995). Cualquiera que sea la técnica aplicada en la producción de vitroplantas, aun considerando la rápida multiplicación que entraña en corto tiempo, no puede olvidarse el tiempo requerido para la aclimatación en vivero, lo que ha conducido a contraponer sus ventajas a la propagación por estacas (Wilson, 1995). Asimismo, las vitroplantas deben ser objeto de ensayos de campo en los que se preste especial atención a una posible maduración precoz, cambios en los patrones de crecimiento y grado de variación somaclonal.

En el marco de la embriogénesis somática Nugent y colaboradores (2001) lograron inducir en *E. globulus*, en muy baja

frecuencia (1%), embriones somáticos en callos procedentes de hipocotilos y cotiledones de embriones cigóticos maduros, utilizando picloram e IBA, aunque sin ningún desarrollo ulterior de dichos embriones. Pinto y colaboradores (2002) han obtenido embriones somáticos en callos inducidos en cotiledones aislados y en embriones cigóticos maduros completos utilizando NAA en concentraciones y tiempos de exposición bajos; y han descrito la germinación y conversión en planta de un 21% de los embriones somáticos cuando se transfieren a medio sin hormonas. En un estudio posterior (Pinto *et al.*, 2004), utilizando citometría de flujo para determinar el nivel de ploidía, se puso de manifiesto la estabilidad genética de los embriones obtenidos en estado globular. Toribio *et al* (comunicación personal), en colaboración con ENCE, han constatado la aparición de embriones somáticos, en un proceso aún no bien definido y muy dependiente del genotipo, logrando producir, a partir de embriones cigóticos, embriones somáticos de calidad utilizando la técnica de pulsos con 2,4-D, desarrollada por Canhoto *et al* (1999). Dos cuestiones sin resolver requieren especial investigación (Toribio, comunicación personal): la consecución de crecimiento continuo de líneas embriogénicas mediante embriogénesis secundaria y la formación fiable de embriones somáticos a partir de tejidos no embrionarios (hojas, por ejemplo).

En el ámbito de la transformación genética de plantas, se ha conseguido la transformación balística con partículas de tungsteno y un plásmido que incorporaba el gen GUS de callo crecido a partir de cotiledón e hipocotilo de este mismo híbrido, si bien no se regeneraron tallos transgénicos (Sartoretto *et al.*, 2002). La transformación del híbrido *E. grandis x E. urophylla* con *Agrobacterium* en

combinación con sonicación ha conducido a la obtención de plantas transgénicas que expresan el gen GUS en porcentajes más elevados, aunque en función del material usado (semillas germinadas y plántulas de diferente edad) y del órgano de la plántula, hasta alcanzar 37,45% en plántulas de dos semanas, y con la obtención de cuatro transformantes estables (González *et al.*, 2002). También *Agrobacterium tumefaciens* se ha usado como vector de transformación para la obtención in vitro de plantas transgénicas de *E. globulus* que expresan el gen GUSA de resistencia a la kanamicina aunque con un porcentaje muy bajo, de un 1,2 % (Moralejo *et al.*, 1998). Esta bacteria se ha usado también en investigaciones conducentes a la obtención a partir de protoplastos de plantas transgénicas con menor contenido en lignina (Villar *et al.*, 1999), con el objetivo de facilitar y reducir costes en el proceso industrial de obtención de celulosa

E. globulus se ha convertido en una especie modelo para investigación genética en eucaliptos. El ADN cloroplástico ha sido esencial para estudios poblacionales y de filogeografía, habiéndose argüido que su extensa diferenciación dentro de la especie puede haberse originado a partir de una hibridación y captura de cloroplastos de otras especies del género, hecho que no se manifiesta en caracteres taxonómicos (Jackson *et al.*, 1999). El genoma cloroplástico de *E. globulus* puede representarse como un gran cromosoma circular, con una secuencia de nucleótidos esencialmente colineal con el genoma de otras angiospermas tanto herbáceas (p.e. *Nicotiana tabacum*) como arbóreas (*Populus trichocarpa*); sin embargo, aunque comparten genes con *Pinus* (p.e. *P. thunbergii*), las diferencias son plausibles en el tamaño, disposición y contenido en genes (Steane, 2005). Se ha descrito la secuencia completa de

nucleótidos del genoma de cloroplastos de *E. globulus* y comparado con el de otras especies de frondosas.

En lo referente a los estudios de ADN nuclear, y dada la importancia industrial del género, durante la última década ha habido un aluvión de trabajos gracias al desarrollo de las diferentes técnicas de biología molecular y bioinformática. La investigación en lo que se ha venido a denominar "genómica" puede dividirse en cuatro grandes apartados: Por una parte estarían los estudios encaminados a la construcción de mapas de ligamiento y localización de QTL's; por otra parte los estudios encaminados a la identificación de los genes y clonaje de los mismos, su funcionamiento y estudios de expresión y por último la utilización de la información derivada de marcadores en lo que se ha venido en llamar "genómica poblacional".

La mayoría de los mapas desarrollados pertenece a *E. grandis* y/o híbridos del mismo con otras especies. (*E. globulus*, *E. urophylla*, *E. camaldulensis*) Respecto al primer apartado, la construcción de mapas de ligamiento y posicionamiento de QTL's, los primeros trabajos publicados estuvieron basados en la utilización de marcadores dominantes RAPD's. En esos momentos la aparición de referencias en donde se utilizaban marcadores codominantes de diferentes tipos eran aún escasos (Byrne *et al* 1995). Posteriormente la publicación de las secuencias de microsatélites obtenidas a partir de distintas especies (Brondani Steane; Byrne falta incluir años) y tras comprobar el alto grado de transferibilidad entre ellas, ha permitido la realización de estudios comparativos de la arquitectura de los caracteres a nivel no sólo intra sino también interespecíficos.

El posicionamiento de QTL's en dichos mapas ha estado dirigido mayoritariamente a caracteres vinculados con la calidad de la

madera. Así Thamarus *et al* (2004) identifican la presencia de QTL referidos a densidad básica, rendimiento pulpable y otros caracteres ligados a la calidad de la madera. La identificación de QTL's para densidad básica, crecimiento y forma se estudió por parte de Verhaegen y Plomion (1997) que además estudiaron la estabilidad de la expresión de los mismos. Por otra parte se ha estudiado la producción entendida bien como altura (Grattapaglia 1996), biomasa (Byrne *et al* 1997;) o determinados compuestos como la producción de aceites esenciales (Shepherd *et al* 1999). Dentro de los mecanismos de tolerancia a diferentes tipos de estrés tanto biótico (QTL's para resistencia a "Christmas beetles" Sepherd 1995; QTL de resistencia a *Mycosphaerella* en *E. globulus* (Freeman *et al* 2005) como abiótico, la sequía, el frío (Byrne *et al* 1997;) y la salinidad (Dale *et al* 2000) son los más ampliamente estudiados. Otro aspecto estudiado son los mecanismos ligados a procesos de reproducción tanto vegetativa como sexual aunque con enfoques bien distintos. De hecho los primeros trabajos publicados a este respecto fueron los de Grattapaglia dirigidos a la identificación de QTL's para propagación vegetativa, crecimiento y características de madera. (Grattapaglia *et al* 1994,1995,1996). Posteriormente Marques publica la identificación de QTL para caracteres no solamente implicados en el enraizamiento en sí sino otros con relevancia en el proceso de propagación (Marques *et al* 1999). La existencia de SSR transferibles entre distintas especies permitió realizar estudios de syntenia y conservación de QTL entre cuatro especies de eucalipto (Marques *et al* 2002). Muy profusos han sido también los estudios encaminados a la identificación de los genes y clonaje de los mismos, su funcionamiento y estudios de expresión.

10. Conclusiones

La complejidad y variabilidad de las respuestas a la sequía y, en general a otros factores de habitación, hacen recomendable una comprensión holística de las mismas con implicación de conocimientos y aplicación de metodologías experimentales propias de la fisiología, la genética y la biotecnología.

Los parámetros hídricos, substancialmente la conductancia estomática, la permeabilidad y la conductancia hidráulicas; también la composición isotópica de C y parámetros de intercambio gaseoso (A) y crecimiento (LAI) así como la determinación de ABA son herramientas útiles para comprender las diferencias en el comportamiento de los taxones (especies, híbridos, procedencias, clones) en la eficiencia en el uso del agua frente al estrés hídrico (sequía, anegamiento) y salinidad y con fines de selección.

El análisis morfológico y anatómico de los patrones de desarrollo, en especial en hojas y raíces, es eficaz complemento del enfoque funcional en la interpretación de respuestas a factores ambientales limitantes (p.e. luz, agua, nutrientes).

En la discriminación de clones en su capacidad de endurecimiento y tolerancia a temperaturas bajas, la fluorescencia de la clorofila y la elaboración y aplicación de índices de resistencia a deshidratación por helada deben tenerse presentes

La plasticidad fenotípica, los efectos de las claras y la posición y estructura de las hojas en respuesta a la radiación luminosa provocan variaciones en la tasa fotosintética entre taxones cuyo conocimiento puede utilizarse beneficiosamente en la selvicultura de las plantaciones.

En el estudio del comportamiento funcional de las plantaciones de eucaliptos en respuesta al cambio global tiene especial relevancia la posible regulación fotosintética a la baja y la integración de los factores implicados en el cambio en modelos predictivos de la evolución del secuestro/¿emisión? de carbono y de la productividad a medio/largo plazo.

La consecución de niveles foliares óptimos en nutrientes minerales en todas las fases de producción -pies madre, estaquillado, vivero y especialmente plantación- exige una fertilización a la carta. El ajuste de un modelo de fertilización ya experimentado, las implicaciones de la presencia/ausencia de micorrizas y el efecto de la fertilización en las propiedades de la madera son objetivos atendibles.

En el marco del mejor conocimiento de la influencia de las condiciones de habitación en la susceptibilidad/tolerancia a hongos y de los mecanismos de defensa y control biológico frente a plagas, cobran especial significado las relaciones entre el ataque del coleóptero *Phoracantha* y el estrés hídrico y el desarrollo de un test de detección de tolerancia a nivel clonal. Asimismo, la lucha biológica contra *Gonipterus* con *Anaphes* y de *Phoracantha* con *Aveniatella*.

El control y puesta en práctica extensiva de la organogénesis y de la embriogénesis somática de material elite, en conjunción con la consecución de individuos transgénicos y la aplicación de los conocimientos derivados de las diversas vías de investigación en genómica de *E. globulus* en paralelo con sus características funcionales constituyen caminos muy esperanzadores para la producción y mejora de la especie.

Referencias bibliográficas

- Apiolaza, L.A., Raymond, C.A., Yeo, B.J. 2005 Genetic variation of physical and chemical wood properties of *Eucalyptus globulus*. *Silvae Genetica* 54, 4-5.
- Apps, M.J. 2003 Bosques, el ciclo mundial del carbono y el cambio climático. *Actas XII Congreso Forestal Mundial, Area B*, 145-154.
- Araujo, J.A., Lemos, L., Ramos, A., Ferreira, J.G., Borralho, N.M.G. 1997 The Raiz *Eucalyptus globulus* breeding program: a BLUP rolling-front strategy with a mixed cloning and seedling deployment scheme. *IUFRO Conference on Silviculture and Improvement of Eucalypts*. Salvador, Brasil, pp 371-376.
- Arias, T. 2002 Estudio de parámetros fisiológicos en clones seleccionados de *Eucalyptus globulus* Labill con distinto grado de ataque y resistencia a *Phoracantha semipunctata* F. Proyecto Fin de Carrera, ETSIMontes, Madrid, 74 p.
- Armstrong, W., Brandle, R. & Jackson, M.B. 1994. Mechanisms of flood tolerance in plants. *Acta Bot. Neerl.* 43(4): 307-358.
- Arruda, De, R.L., Norio, E., Sgarbi, F., Fabiano, M.A., Moreira, A. 2000 Crescimiento e estado nutricional de brotações de *Eucalyptus citriodora* sobre doses de boro em solução nutritiva. *Scientia Forestalis* 57: 53-63.
- Bara, S. 1970 Estudio sobre *Eucalyptus globulus*. *IFIE*, 45 p.
- Bara, S. 1985 Efectos ecológicos del *Eucalyptus globulus* en Galicia: estudio comparativo con *Pinus pinaster* y *Quercus robur*. *INIA*, 381 p.
- Barreiro, O. 2003 La gestión forestal sostenible en las especies de crecimiento rápido y su silvicultura. *Actas XII Congreso Forestal Mundial, Area B*, p.354.
- Barret, M.S., Preiss, K.A., Sinclair, R. 2005 Influence of newly imposed salinity and waterlogging on *Eucalyptus gracilis* in South Australia. *Tree Physiol.* 25, 1339-1346.
- Basurco, F.; Noriega, M.; Romeral, L.; Toval, G. 2001 Ensayos de fertilización localizada en masas clonales de *Eucalyptus globulus* en el momento de la plantación en la provincia de A Coruña, in: III Congreso Forestal Español, mesa 3, 2001, pp. 671-675.
- Battaglia, M.; Beadle, C.; Loughhead, S. 1996. Photosynthetic temperature responses of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus nitens*. *Tree Physiol.*, 16: 81-89.
- Battaglia, M. & Sands, P. 1997 Modelling site productivity of *Eucalyptus globulus* in response to climatic and site factors. *Austr. J Plant Physiol.* 24(6):831-850.
- Battaglia, M.; Cherry, M.L.; Beadle, C.L.; Sands, C.L.; Hington, A. 1998 Prediction of leaf area index in eucalypt plantations: effects of water stress and temperature. *Tree Physiol.* 18: 521-528.
- Battaglia, M.; Sands, P., White, D. & Mummery, D. 2004. CABALA: a linked carbon, water and nitrogen model of forest growth for silvicultural decision support. *Forest Ecology and Management*, 193(1-2), 251-282.
- Bhalerao, R., 2002 Genomics in forest biotechnology research. En: *Forest Biotechnology in Europe. Impeding barriers, policy and Implications*. Forum Symposium, Edinburgh
- Binkley, D.; Stape, J.L.; Ryan, M.G. 2004 Thinking about efficiency of resource use in forests. *For. Ecol. Manag.* 193: 5-16.
- Blake, T.J. & Reid, D.M. 1981 Ethylene, water relations and tolerance to waterlogging of three *Eucalyptus* species. *Australian J. Plant Physiology* 8(6): 497-505.

- Blevy, T.M., Burgess, S.S.O., Adams, M.A. 2004 A validation, comparison and error analysis of two heat-pulse methods for measuring sap flow in *Eucalyptus marginata* saplings. *Funct. Plant Biology* 3(6): 645-658.
- Borralho, N.M.G.; Wilson, Ph. J. 1994. Inheritance of initial survival and rooting ability in *Eucalyptus globulus* Labill. Stem cuttings. *Silvae Genet.* 43,4, 238-242.
- Brañas, J.; Gonzalez Rio, F.; Merino, A. 2000 Contenido y distribución de nutrientes en plantaciones de *Eucalyptus globulus* del NO de la península Ibérica. *INIA, Sistemas y Recursos Forestales* 9(2): 317-336.
- Brooker, M.I.H. 2000 A new classification of the genus *Eucalyptus* L'Her (Myrtaceae). *Australian Systematic Botany* 13: 79-148.
- Buchmann, N. 2002 Plant ecophysiology and forest response to global change. *Tree Physiol.* 22, 1177-1184.
- Cadahia, D. 1981 *Phoracantha semipunctata* F. una nueva plaga de los *Eucalyptus* en España. *Agricultura* 592: 845-848.
- Cafalpietra, C.; Gielen, B.; Galema, A.N.J.; Lukak, M.; de Angelis, P.; Moscatelli, M.C., Ceuluemans, R.; Scarascia-Mugnozza, G. 2003 Free-air CO₂ enrichment enhances biomass production in a short-rotation poplar plantation. *Tree Physiol.* 23, 805-814.
- Cakmak, I.; Römeheld, V. 1997 Boron deficiency-induced impairments of cellular functions in plants. En: Dell, B., Roen, P.H., Bell, R.W. (edits.), *Boron in soil and plants: review.* *Plant and Soil* 193, n1-2, pp 71-83.
- Caldeira, M.C.; Fernández, V.; Pereira, J.S., Tome, J. 2002 Positive effect of drought on longicorn borer larval survival and growth on *Eucalyptus* trunks. *Ann For Sci* 59: 99-106.
- Calvo, R. 1992 El eucalipto en Galicia: sus relaciones con el medio natural. *Scio Public.* Universidad de Santiago de Compostela, 215 p.
- Campbell, C.D.; Hanks, L.M., Millar, J.G.; Painte, T.D., Chuch, U.K. 1999 Water relations of host trees and resistance to the phloem-boring beetle *Phoracantha semipunctata* F. *Oecologia* 119: 400-407.
- Cannell, M.G.R. & Dewar. R.C. 1995. The carbon sink provided by plantation forests and their products in Britain. *Forestry*, 68(1): 35-48.
- Canhoto J.M; Lopes M.L; Cruz, G.S (1999) Somatic embryogenesis in myrtaceous plants. En: Jain SM, Gupta PK, Newton RJ (eds.) *Somatic embryogenesis in woody plants.* Volume 4. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. pp. 293-340.
- Cañas, I. 1992 Multiplication and clonal evaluation of outstanding *Eucalyptus globulus* trees in south-west Spain. IUFRO-AFOCEL. En: *Mass production technology for genetically improved fast growing forest tree species.* Bordeaux, pp 401-407.
- Cañas, I. & Toval. G. 1997 Cruzamientos controlados entre clones de *Eucalyptus globulus* ssp. *globulus* tratados con paclobutrazol. I Congreso Forestal Hispano-Luso-II Congreso Forestal español, IRATI'97, pp 105-110.
- Carnegie, A.J.; Keane, P.J.; Ades, P.K., Smith, I.W. 1994 Variation in susceptibility in *Eucalyptus globulus* provenances to *Mycosphaerella* leaf disease. *Can. J For Res* 24:1751- 1757.
- Carnegie, A.J.; Ades, P.K. 2005 Variation in *Eucalyptus globulus* Labill. and *E.nitens* Dean and Maiden in susceptibility of adult foliage to disease caused by *Mycosphaerella cryptica* (Cooke) Hansf. *Silvae genetica* 54, 4-5: 174- 179.

- Cernusak, L.A.; Farquhar, G.D., Pate, J.S. 2005 Environmental and physiological controls over oxygen and carbon isotope composition of Tasmanian blue gum, *Eucalyptus globulus*. *Tree Physiol.* 25, 129-146.
- Ceulemans, R.J. & Saugier, B. 1991 photosynthesis. En: *Physiology of Trees* (Edit.: A.S. Raghavendra), John Wiley & Sons, pp 21-50.
- Clemens, J.; Kirk, A.M., Mills, P.D. 1978 The resistance to water logging of three *Eucalyptus* species. *Oecologia* 34, 125-131.
- Close, D.C.; Beadle, C.L.; Brown, P.H.; Holz, G.K. 2000 Cold-induced photoinhibition affects establishment of *E. nitens* and *E. globulus*. *Trees* 15:32-41.
- Close, D.C.; Beadle, C.L.; Hovenden, M.J. 2001 Cold-induced photoinhibition and foliar pigment dynamics of *Eucalyptus nitens* seedlings during establishment. *Austr. J. Pl. Physiol.* 28(119): 1133-1141).
- Close, D.C.; Beadle, C.L.; Holz, G.K.; Brown P.H. 2002 Effects of shade cloth tree shelters on cold-induced photoinhibition, foliar anthocyanin and growth of *Eucalyptus globulus* and *E. nitens* seedlings during establishment. *Aust. J. Bot.* 50:15-20.
- Close, D.C. & Beadle, C.L. 2003 Chilling-dependent photoinhibition, nutrition and growth analysis of *Eucalyptus nitens* seedlings during establishment. *Tree Physiol.* 23: 217-226.
- Cochrane, P.M & Slatyer, R.O 1988 Water relations of *Eucalyptus pauciflora* near the alpine tree line in winter. *Tree Physiol.* 4, 45-52.
- Cogolludo, M.A. 2005 A la sombra del bosque. ENCE, edic. San Marcos, 205 p.
- Corney, H.J.; Sasse, J.M., ADES, P.K. 2003 Assesment of salt tolerance in eucalypts using chlorophyll fluorescence attributes. *New Forests* 26: 233-246.
- Correia, M.J.; Torres, F.; Pereira, J.S. 1989 Water and nutrient supply regimes and the water relations of juvenile leaves of *Eucalyptus globulus*. *Tree Physiol* 5, 459- 471.
- Costa, E.; Silva ,F., Shvaleva, A.; Maroco, J.P., Almeida, M.H., Chaves, M.M.; Pereira, J.S. 2004 Responses to water stress in two *Eucalyptus globulus* clones differing in drought tolerance. *Tree Physiol.* 24, 1165- 1172.
- Criddle, R.S., Anekonda, T.S.; Tong, S.; Church, J.N.; Ledig, F.T.; Hansen, L.D. 2000. Effects of climate on growth traits of river gum are determined by respiration parameters. *Australian J. Plant Physiol.* 27(5): 435-443.
- Cromer, R.N. & Hansen, N.W. 1972 Growth, nutrient uptake and pulping characteristics of young *E. globulus*. *Appita* 26: 187-190.
- Crous, P.W.; Groenenwald, J. Z.; Mansilla, J.P.; Hunter, G.C.; Wingfield, M.J. 2004 Phylogenetic reassessment of *Mycosphaerella* spp. and their anamorphs occurring on *Eucalyptus*. *Studies in Mycology* 50: 195-214.
- Chaves, M.M.; Maroco, J.P.; Pereira, J.S. 2003 Understanding plant responses to drought- from genes to the whole plant. *Funct. Plant Biol.* 30(3): 239-264.
- Chen, Y.L. & Dell, B. 2004 Optimising mycorrhization of containerised *Eucalyptus globulus* and *E. urophylla* seedlings with *Scleroderma* spores. En Edits.: Borrinho, N.M.G., Pereira, J.S., Marques, C., Coutinho, J., Madeira, M., Tome, M. International IUFRO Coference, Silvicultura and Improvement of *Eucalyptus*, Aveiro (Portugal), pp 500-508.
- Davidson, N.J.; Battaglia, M., Close, D.C. 2004 Photosynthetic responses to overnight frost in *Eucalyptus nitens* and *E. globulus*. *Trees* 18:245-252.
- Dalianis, C. 1998 Improvement of eucalypt management. An integrated approach: breeding, silviculture and economics (Final Summary Report) . Edit.. H. Pereira, EC, Directorate-General XII.

- Davidson, N.J.; Battaglia, M.; Close, D.C. 2004 Photosynthetic responses to overnight frost in *Eucalyptus nitens* and *E. globulus*. *Trees, Structure and Function* 18 (39): 245-252.
- Dell, B.; Malajczuk, N.; Grove, T.S. 1995 Nutrient disorders in plantation eucalypts. ACIAR, Canberra, 104p.
- Dell, B. 1996 Diagnosis deficiencies in eucalypts. En: P.M. Attiwill, & M.A. Adams Edits. *Nutrition of eucalypts*. CSIRO, pp 417- 440.
- Dewar, R.C. 1993 A root-shoot partitionin model based on carbon, nitrogen and water ineractions and Mucnch phloem flow. *Func. Ecol.* 7 : 356- 368.
- Doley, D. 1978 Effects of shade an on gas exchange and growth in seedlings of *Eucalyptus grandis*. *Australian J. Plant Physiol.* 5(6):723-738.
- Dungey, H.S., Potss, B.M., Carnegie, A.J., Ades, P.K. 1997 *Mycosphaerella* leaf disease: genetic variation in damage to *Eucalyptus nitens*, *E. globulus* and their F1 hybrid. *Canad. J. For. Research* 27(5):, p. 750.
- Dunn, G.M. & Connor, D.J. 1993 An analysis of sap flow in mountain ash (*Eucalyptus regnans*) forest of different age. *Tree Physiol* 13, 321-336
- Dutkowski, G.W. 1995 Genetic variation in drought susceptibility of *Eucalyptus globulus* ssp *globulus* in plantations in western Australia. En: B.M. Potts (managing editor), *Eucalypt Plantations: Improving, Fibre Yield and Quality*. CRCTHF-IUFRO, Hobart, Australia, pp 199-203.
- Eamus, D. 1996. Tree responses to CO₂ enrichment: CO₂ and temperature interactions, biomass allocation and stand-scale modelling. *Tree Physiol.* 16:43-47.
- Eldridge, K., Davidson J., Hardwood C., Wyk G., 1993 *Eucalypt domestication and breeding*. Oxford Univ. Press, UK, 288 p.
- FAO, 1965 *Eucalypts for planting*. FAO Forestry and Forest Products Studies, nº 11, 403 p.
- Farquhar, G.D., Ehleringer, J.R., Hubick, K.T. 1989 Carbon isotope discrmination and photosynthesis. *Ann. Review Plant Physiol. & Plant Molec. Biol.* 40:503-537.
- Farrell, R.C.C., Bell, D.T., Akilan, K., Marshall, J.K. 1996a Morphological and physiological comparisons of clonal lines of *Eucalyptus camaldulensis*. I. Responses to drought and waterlogging. *Australian J. Plant Physiology* 23(4): 497-504.
- Farrell, R.C.C., Bell, D.T., Akilan, K., Marshall, J.K. 1996b Morphological and physiological comparisons of clonal lines of *Eucalyptus camaldulensis*. II. Responses to waterlogging/salinity and alkalinity. *Australian J. Plant Physiology* 23(4): 509-518.
- Farrington, A., Hansen, N.W., Nelson, P.F. 1977 Utilisation of young plantations of *Eucalyptus globulus*. *Appita* 30: 313-319.
- Fett-Neto, A. G., Fett, J.P., Goulart, L.W.V., Pasquali, G., Termignoni, R.R., Ferreira, A.G. 2001 Distinct effects of auxin and light on adventitious root development in *Eucalyptus saligna* and *E. globulus*. *Tree Physiol.* 21, 457-464.
- Franks, P.J., Gibson, A., Bachelard, E.P. 1995 Xylem permeability and embolism susceptibility in seedlings of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. From two different climatic zones. *Austral. J. Plant Physiol.* 22(1): 15-21.
- Gardner, S.D., Freer-Smith, P.H., Tucker, J., Taylor, G. 2005 Elevated CO₂ protects poplar (*Populus trichocarpa* x *P. deltoides*) from damage induced by O₃ : identification of mechanisms. *Func. Plant Biol.* , 2005:32, 221-235.
- Gibson, A., Hubick, K.T., Bachelard, E.P. 1991 Effects of abscisic acid on morphological and physiological responses to water stress in *Eucalyptus camaldulensis* seedlings. *Australian J. Plant Physiol.* 18(2): 153-163.

- Gibson, A., Bachelard, E.P. Hubick, K.T. 1995 Relationship between climate and provenance variation in *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. *Australian J. Plant Physiol.* 22(3): 453-460.
- Gitay, H., Suarez, A., Watson, R.T., Dokken, D.J. 2002 Cambio climático y biodiversidad. Documento Técnico V, IPCC, 85 p.
- Gleadow, R.M. & Woodrow, I.E. 2002 Defense chemistry of cyanogenic *Eucalyptus cladocalyx* seedlings is affected by water supply. *Tree Physiol.* 22, 939-945.
- Gonçalves, J.L.M., Nambiar, E.K.S., Novais, R.F. 1997 Soil and stand management for short-rotation plantations. En: Nambiar, e.k.s., Brown, E., edits., *Management of soil, water and nutrients in tropical plantation forest.* ACIAR Monograph 43, Camberra, pp379-417.
- González, A., & G. Algorta 2003 Ensayos Factoriales de Fertilización en Implantación de Masas de *Eucalyptus globulus* Labill. *Proceedings I Simposio Iberoamericano IUFRO de Eucalyptus globulus.* Montevideo, Uruguay. 30-31 Octubre 2003.
- Gonzalez, E.R., Et Al 2002 Production of transgenic *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* using the sonication-assisted *Agrobacterium* transformation (SAAT) system. *Functional Plant Biology* 29(1): 97-102.
- Gras, J.M. 1993 Investigación sobre las relaciones hídricas de las plantaciones de *E. globulus* en Galicia. Tesis Doctoral, ETSIMontes, Madrid, 150 p.
- Griffin, A.R., Whireman, P., Rudge, T., Burguess, I.P., Moncur, M. 1993 Effect of paclobutrazol on flower-bud production and vegetative growth in two species of *Eucalyptus*. *Canad. J. For. rsearcjh* 23(4): p, 640.
- Grove, T.S., Thomson, B.D. & Malajczuk, N. 1996 Nutritional physiology of eucalypts: uptake, distribution and utilization. En: P.M. Attiwil, & M.A. Adams Edits. *Nutrition of eucalypts.* CSIRO, pp 77-108.
- Guarnaschelli A.B., Lemcoff J.H., Prystupa P., Basci, S.O. 2003 Responses to drought preconditioning in *Eucalyptus globulus* Labill. provenances *Trees* 17, 501-509.
- Hain, F.P. 1987 Interactions of insects, trees and air pollution. *Tree Physiolgy* 3, 93-102.
- Hallam. P.M. & Tibbits, W.N. 1988 Determination of frost hardiness of *Eucalyptus* using the electrical conductivity of diffusate in conjunction with a freezing chamber. *Can. J. For. Res.* 18:595-600.
- Hanks, L.M., Millar, J.G., Paine, T.D. 1991 Mechanisms of resistance in *Eucalyptus* against larvae of the longhorned borer. *Entomological Society of America* 20(6): 1583-1587.
- Hanks, L., Paine, T., Millar, J., Campbell, C., Schuch, U. 1999 Water relations of host trees and resistance to the phloem-biring beetle *Phoracantha semipunctata* F. *Oecologia* 119:400-407.
- Harbard, J.L., Griffin, A.R., Espejo, J. 1999 Mass controlled pollination of *Eucalyptus globulus*: a practical reality. *Can. J. For. Res.* 29:1457-1463.
- Hoen, H.F. & Solberg, B., 1994. Potential and economic efficiency of carbon sequestration in forest biomass through silvicultural management. *For Sci.* 30(3): 429- 451.
- Hovenden, M.J & Warren, C.R. 1998 Photochemistry, energy dissipation and cold-hardening in *Eucalyptus nitens* and *E. pauciflora*. *Australian J. Plant Phys.* 25(5): 581-589.
- Hubick, K.T. & Gibson, A. 1993 Diversity in the relationship between carbon isotope discrimination and transpiration efficiency when water is limited. En: Edits.: J.R. Ehrelinger, A.E. Hall, G.D Farquhar. *Academic Press*, pp 311-325.

- Hunt, M.A. & Beadle, C.L. 1998 Whole-tree transpiration and water-use partitioning between *Eucalyptus nitens* and *Acacia dealbata* weeds in a short-rotation plantation in northeastern Tasmania. *Tree Physiol* 18, 557-563.
- IPCC, 1992, 2001 Climatic change reports
- James, S.A. & Bell, D.T. 2000 a Leaf orientation, light interception and stomatal conductance of *Eucalyptus globulus* ssp. *globulus* leaves. *Tree Physiol*. 20, 815-823.
- James, S.A. & Bell, D.T. 2000b Influence of light availability on leaf structure and growth of two *Eucalyptus globulus* ssp *globulus* provenances. *Tree Physiol*. 20, 1007-1018.
- Jarvis, P.G. 1995. The role of temperate trees and forests in CO₂ fixation. *Vegetatio* 121: 157-174.
- Jarvis, P.G. (edit.) 1998 European forests and global change. Cambridge University Press, 380p.
- Jones H.G., 1993. Drought tolerance and water- use efficiency . En: J.A.C. Smith y H. Griffiths, edits., Water deficits. Plant responses from cell to community. Bios Scientific Publishers Ltd pp 193-203.
- Judd, T.S., Bennett, L.T., Weston, C.J., Attiwill, P.M., Whiteman, P.H. 1996b The response of growth and foliar nutrients to fertilizers in young *Eucalyptus globulus* plantations in Gippsland, southeastern Australia. *For. Ecol. Manage.* 82: 87-101.
- Judd, T.S., Attiwill, Adams, M.A. 1996^a Nutrient concentrations in *Eucalyptus*: A synthesis in relation to differences between taxa, sites and components.
En: P.M. Attiwill, & M.A. Adams Edits. Nutrition of eucalypts. CSIRO, pp123-154.
- Kawase, M., 1972. Effect of flooding on ethylene concentration in horticultural plants. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 97: 584- 588.
- Keeling, R.E. et al , 1996 Global and atmospheric CO₂ sinks deduced from changes in atmospheric O₂ concentration. *Nature* 381: 218-221.
- Kirkpatrick, J.B. 1975 Geographical variation in *Eucalyptus globulus* . Forestry and Timber Bureau, Bulletin vol.47. Australian Government Publishing Service, Camberra.
- Kirschbaum, M.U.F. 2003 Can trees buy time? An assesment of the role of vegetation sinks as part of the global carbon cycle. *Climatic Change* 58: 47-71
- Kirschbaum, M.U.F. & Tompkins, D. 1990 Photosynthetic responses to phosphorous nutrition in *Eucalyptus grandis* seedlings. *Austral. J. Plant Physiol.* 17(5): 527-535.
- Kirschbaum, M.U.F, Bellingham, D.W., Cromer, R.N. 1992 Growth analysis of the effect of phosphorous nutrition on seedlings of *Eucalyptus grandis*. *Australian J. Plant Physiol.* 19(1): 55-66.
- Kirschbaum, M.U.F. 2000 Forest growth and species distribution in a changing climate. *Tree Physiol.* 20:309-322
- Kozlowski, T.T. & Pallardy, S.G. 1997 Physiology of woody plants. Academic Press, 411 p.
- Kozlowski, T.T. 1984 Flooding and plant growth. Academic Press, 356 p.
- De La Lama, G. 1976 Atlas del Eucalipto. M^o de Agricultura, Madrid.
- Laclau, J.P., Arnaud, M., Bouillet, J.P., Ranger, J. 2001 Spatial distribution of *Eucalyptus* roots in a deep sandy soil in the Congo: reslationships with the ability of the stand o take up water and nutrients. *Tree Physiol.* 21, 129-136.
- Laia, M.L., Gomes, E.A., Esbrisse, E.J. Et Al 2000 Random amplified polymorphic DNA(RAPD) analysis of genotypic identities in *Eucalyptus* clones.

Silvae Genetica 49(6): 290-292.

Landsberg, J.J. & Waring, R.H. 1997 A generalised model of forest productivity using simplified concepts of radiation-use efficiency, carbon balance and partitioning. For. Ecol. Manag. 95:209-228.

Legge, N.J. & Conner, D.J. 1985 Hydraulic characteristics of mountain ash (*Eucalyptus regnans*) derived from in situ measurements of stem water potential. Austr.J. Plant Physiol. 12, 77-88.

Lemos, L., Carvalho, A., Araujo, J.A., Boralho, N.M.G. 1997 Importance of additive effects and specific combining ability effects for rooting ability of stema cuttings in *Eucalyptus globulus*, *Silvae Genetica* 46, 5(307-308).

Le Roux, J.J. & Van Staden, J. 1991 Micropropagation and tissue culture of *Eucalyptus*-a review. *Tree Physiology* 9, 435-477.

Le Roux, D., Bond W.D., Maphanga, D., 1996. Dry mass allocation, water-use efficiency and $\delta^{13}C$ in clones of *E. grandis*, *E. grandis* x *E. camaldulensis* and *E. grandis* x *E. nitens* grown under two irrigation regimes. *Tree Physiology*. 16, 497-502.

Leuning, R. 1990 Modeling stomata behavior and photosynthesis of *Eucalyptus grandis*. *Australian J. Plant Physiol*. 17(2): 159-175.

Levitt, J. 1980 Responses of plants to environmental stresses. I. Chilling, Freezing and High Temperature Stresses. Academic Press, 496 p.

Li, C., Berninger, F., Koskela, J., Sonninen, E. 2000 Drought responses of *Eucalyptus microtheca* provenances depend on seasonally of rainfall in their place of origin. *Australian J. Plant Physiol*. 27(3): 231-238.

Li, C.; Wang, K., 2003. Differences in drought responses of three contrasting *Eucalyptus microtheca* F. Muell. Populations. *For. Ecol. Manage.* 179, 377-385.

López, G.A., Potts, B.M., Dutkowski, G.W., Rodríguez Traverso, J.M. 2001 Quantitative genetics of *Eucalyptus globulus*: Affinities of land race and native stand localities. *Silva Genetica* 50, 5-6.

López, G.A., Potts, B.M., Vaillancourt, R.E., Apiolaza, L.A. 2003 Maternal and carryover effects on early growth of *Eucalyptus globulus*. *Can. J. For. Res.* 33: 2108-2115.

Ludlow, M.M. 1989 Strategies of response to water stress. En: *Structural and functional responses to environmental stresses*, Edits.: K.H. Krieb, H. Richter, T.M. Hinckley, SPB. Academic Publishing, The Netherlands, pp 269-281.

Mac Farlane, C. Hansen, L.D., Edwards, J., White, D.A. Adams, M.A. 2005 Growth efficiency increases as relative growth rate increases in shoots and roots of *Eucalyptus globulus* deprived of nitrogen or treated with salt. *Tree Physiology*. 25, 571-582.

Madeira, M., Araujo, M.C., Pereira, J.S. 1995 Effects of water and nutrient supply on amount and nutrient concentration of litterfall and forest floor in *Eucalyptus globulus* plantations. *Plant and Soil* 168-169: 287-295.

Malajczuck, N. & Hartney, V.J. 1990 Procedure for inoculation of micropropagated plantlets of *Eucalyptus camaldulensis* with ectomycorrhizal fungi and comparison with seedling inoculation using inoculum contained in a peat/vermiculite carrier. *Aust. For. Res.* 16:199-206.

Mansilla, J.P. 1992 Presencia sobre *Eucalyptus globulus* Labill de *Gonipterus scutellatus* Gyll(Curculioniodae) en Galicia. *Bol. San. Veg. Plagas* 18: 547-554.

- Mansilla, J.P., Perez Otero, R., Salinero, C. 1998 Introducción en la Península Ibérica de *Anaphes nitens* Huber, parásito del defoliador del Eucalipto *Gonipterus scutellatus*. Montes, nº 51: 42-46. 1998
- Mansilla, P., Perez, R., Ruz, F., Salinero, C. 1999 *Avetianella longoi* Siscaro, parásito de huevos de *Phoracantha semipunctata* F.: Primera cita de su presencia en España y bases para la puesta en práctica del control biológico del xilófago. Boletín de Sanidad Vegetal 25(4).
- Mansilla, J.P., Perez, R., Del Estal P., Blond, A. 2004 Detección en España de *Ectenarytaina spatulata* Taylor sobre *Eucalyptus globulus* Labill. Boletín de Sanidad Vegetal- Plagas. Vol 30, nº1.1.1º Trimestre, 57-63.
- Marcar, N.E. 1993 Waterlogging modifies growth, water use and ion concentrations in seedlings of sal-treated *Eucalyptus camaldulensis*, *E. tereticornis*, *E. robusta* and *E. globulus*. Australian J. Plant Physiology 20, 1-13.
- Marcar, N.E., Zohar, Y., Guo, J. & Crawford, D.F. 2002 Effect of NaCl and high pH seedling growth of 15 *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. Provenances. New Forest 23, 193-26.
- Marcos De Lanuza, J. & Marzo, M.T. 1970 Nutrición hidropónica con macroelementos. II. Calcio en *Eucalyptus globulus*. Anales INIA, Recursos Naturales I:129-178.
- Medhurst, J.L., Battaglia, M., Beadle, C.L. 2002 Measured and predicted changes in trees and stand water use following high-intensity thinning of an 8-year old *Eucalyptus nitens* plantation. Tree physiology. 22,775-784.
- Medhurst, J.L. & Beadle, C.L. 2005 Photosynthetic capacity and foliar nitrogen distribution in *Eucalyptus nitens* is altered by high-intensity thinning. Tree Physiology 25, 981-991
- Medrano, H., Bota, J., Abadía, A., Sampol, B., Escalona, J.M., Fkexas, J. 2002 Effects of drought on light-energy dissipation mechanisms in high-light-acclimated field-grown grapevines. Funct. Plant Biol. 29, 1197-1207.
- Merchant, A & Adams, M. 2005 Stable osmolytes in *Eucalyptus spathulata*- responses to salt and water deficit stress. Functional Plant Biology 32(9) 797-85.
- Merino, A., Rodríguez Lopez, A., Brañas, J., Rodríguez Soalleiro, R. 2003 Nutrition and growth in newly established plantations of *Eucalyptus globulus* in northern Spain. Annals of Forest Science 60 (6): 509-517
- Metcalf, J.C., Davies, W.J., Pereira, J.S. 1990 Leaf growth of *Eucalyptus globulus* seedlings under water deficits. Tree Physiology. 6, 221- 227.
- Mohammed, C., Battaglia, M., Pinkard, L., Glen, M., Tommerup, I., Smith, A., Piertrzykowski, L., Barry, K., Eyles, A., Beadle, C. 2004 New tools for cost effective health management in eucalypt plantations. En: Borralho, N.M.G. pereira, J.S., Coutinho, J., Madeira, M., Tomé, M. *Eucalyptus* in a changing world. Proceed. IUFRO Conference, Aveiro, pp 606-613.
- Mokany, K., Mcmurtrie, R.E., Atweel, B.J., Keith, H. 2003 Interaction between sapwood and foliage area in alpine ash (*Eucalyptus delegatensis*) trees of different heights. Tree Physiology 23, 949-957.
- Moore, G.M., Rowan, K.S., Blake, T.J. 1977 Effects of heat on the physiology of seedlings of *Eucalyptus obliqua*. Australian J. Plant Physiology. 4(2): 283-286.
- Moreshet, S. 1981 Physiological activity, in a semiarid environment, of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. from two provenances. Austr. J. Bot. 29, 97-110.
- Mulligan, D.R. & Patrick, J.W. 1985 Phosphorus and carbon economies

- of ectomycorrhizal seedlings of *Eucalyptus pilularis* Smith. *Australian J. Plant Physiol.* 12(6): 669-679.
- Mulligan, D.R. 1989 Leaf phosphorus and nitrogen concentrations and net photosynthesis in *Eucalyptus* seedlings. *Tree Physiol.* 5: 149-157.
- Muñoz, C., Perez Fortea, V., Cobos, P., Hernandez, R., Sanchez, G. 2003 *Sanidad Forestal. Mundi-Prensa* 575 p.
- Mus, R. & Termaat, R. 1986 Whole-Plant response to salinity. *Austral. J. Plant Physiol.* 13(1): 143-160
- Myers, B.A & Neales, T.F. 1986 Osmotic adjustment induced by drought of three *Eucalyptus* species. *Austral. J. Plant Physiol.* 13(5): 597-603.
- Neves, L.O., Majada, J., Araujo, C. 2001 The effectiveness of *Pisolithus tinctorius* in increasing growth and weaning of seedlings and micropropagated clones of *Eucalyptus globulus*, Congreso IUFRO, Mejoramiento y cultivo de *Eucalyptus*, Valdivia (Chile).
- Ngugi, M.R., Doley, D., Hunt, M.A., Dart, P., Ryan, P. 2003 Leaf water relations of *Eucalyptus cloeziana* and *E. argophloia* in response to water deficit. *Tree Physiol.* 23 : 335-343.
- Ngugi, M.R., Hunt, M.A., Doley, D., Ryan, P., Dart, P. 2004a. Selection of species and provenances for low-rainfall areas: physiological responses of *Eucalyptus cloeziana* and *Eucalyptus argophloia* to seasonal conditions in subtropical Queensland. *For. Ecol. Manage.*, 193: 141-156.
- Ngugi, M.R., Hunt, M.A., Doley, D., Ryan, P., Dart, P. 2004b Physiological responses to water stress in *Eucalyptus cloeziana* and *E. argophloia* seedlings. *Trees* 18:381-389.
- Nugent, G., Chandler, S.F., Stevenson, T.W. 1995 Adventitious plantlet regeneration in *Eucalyptus globulus*. En : Boots et al (eds). *Eucalypt plantations: improving fiber yield and quality. Proceedings of the CRC-IUFRO Conference, New Zealand*, pp 452-453.
- Nugent, G., Chandler, S.F., Whitman P., Stevenson, T.W. 2001. Somatic embryogenesis in *Eucalyptus globulus*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 67: 85-88.
- Ogren, E. & Evans, J.R. 1992 Photoinhibition of photosynthesis in situ in six species of *Eucalyptus*. *Australian J. Plant Physiol* 19(3):223-232
- Oliveira, L., Majada, J., Araujo, C. 2001 The effectiveness of *Pisolithus tinctorius* in increasing the growth and weaning of seedlings of micropropagated clones of *Eucalyptus globulus*. IUFRO Congress, Mejoramiento y cultivo de eucaliptos, Valdivia, Chile.
- Oller, J. 1993 Organogenesis of *Eucalyptus globulus* Labill. from seedlings and young tissues of clones. En : *Biotechnology of trees. IUFRO workshop, working party S2.04-07. Valsain (Spain)*, pp51-56.
- Oller, J., Toribio, M., Celestino, C., Toval, G. 2004 The culture of elite adult trees in a genetic improvement programme through *Eucalyptus globulus* Labill. clonal micropropagation. IUFRO Congress, "Eucalyptus in a changing world", Aveiro (Portugal).
- Osorio, J. & Pereira, J.S. 1994 Genotypic differences in water use efficiency and $\delta^{13}C$ discrimination in *Eucalyptus globulus*. *Tree Physiol* 14, 871-872.
- Osorio, J., Osorio, M.L., Chaves, M.M., Pereira, J.S. 1998 Water deficits are more important in delaying growth than in changing patterns of carbon allocation in *Eucalyptus globulus*. *Tree Physiol.* 18, 363-373.

- Owen, J.V. & Raymond, C.A. 1987 Laboratory techniques for frost experiments with eucalypts. DFR User Series Report 11. CSIRO Division of Forest Research., Canberra.
- Panmenter, N.W., Vander Willigen, C.A. 1998 A mathematical and statistical analysis of the curves illustrating vulnerability of xylem to cavitation. *Tree Physiol.* 18, 589-593.
- Pelosi, A., Lee, M.C.S., Chandler, S.F., Hamill, J.D. 1995 Hormonal control of root primordia differentiation and root formation in cultured explants of *Eucalyptus globulus* seedlings. *Australian J. Plant Physiol.* 22(3): 409-415.
- Percy et al, 2002 . Altered performance of forest pests under atmospheres enriched by CO₂ and O₃. *Nature* , vol 420, 403-407.
- Pereira, J.S., Tenhunen, J.D., Lange, O.L. 1987 Stomatal control of photosynthesis of *Eucalyptus globulus* Labill. Trees under field conditions in Portugal. 38, 1678-1688.
- Pereira, J.S., Pallardy, S. 1989. Water stress limitations to tree productivity. En: J.S. Pereira y J.J. Landsberg, edits., Biomass production by fast growing trees. NATO Series. Kluwer Academic Publishers , pp 37-57.
- Pereira, J.S., Chaves, M.M., Fonseca, F., Araujo, M.C., Torres, F. 1992 Photosynthetic capacity of leaves of *Eucalyptus globulus* (Labill.) growing in the field with different nutrient and water supplies. *Tree Physiol.* 11, 381-389.
- Pereira, J.S., Madeira, M.V., Linder, S., Ericsson, T., Tome, M., Araujo, M.C. 1994 Biomass production with optimised nutrition in *E. globulus* plantations. En: *Eucalyptus for biomass production* (edit.. J.S. Pereira y H. Pereira). Workshop Proceedings,, CEC.
- Pereira, J.M.C., Tomé, M., et al 1997 Leaf area estimation from tree allometrics in *Eucalyptus globulus* plantations. *Can. J. For. Res.* 27: 166-173.
- Pereira, H. (Edit.) 1998 Improvement of eucalypt management. An integrated approach: breeding, silviculture and economics (Final Summary Report). EC, Directorate-General XII
- Phillips, J.G., & Riha, S.J. 1994 Root growth, water uptake and canopy development in *Eucalyptus viminalis* seedlings. *Australian J. Plant Physiology* 21(1): 69-78.
- Pinkard, E., Gill, W., Mohammed, C. 2006 Physiology and anatomy of lenticel-like structures on leaves of *E. nitens* and *E. globulus* seedlings. *Tree Physiol.* 26: 989-999.
- Pinto, G., Santo, C., Neves, L., Araujo, C. 2002 Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Eucalyptus globulus* Labill. *Plant Cell Reports*, 21: 208-213.
- Pinto, G., Loureiro, J., Lopes, T., Santos, C. 2004 Analysis of the genetic stability of *Eucalyptus globulus* Labill. somatic embryos by flow cytometry. *TAG 109*: 580-587.
- Pita P., Pardos J.A. 2001 Growth, leaf morphology, water use and tissue water relations of *Eucalyptus globulus* clones in response to water deficit. *Tree Physiol.* 21, 599-607.
- Pita P., Soria F., Cañas, I., Toval, G., Paros J.A. 2001 Carbon isotope discrimination and its relationship to drought resistance under field conditions in genotypes of *Eucalyptus globulus* Labill. *For. Ecol. Manage.* 141, 211-221.
- Pita P., Gascó A., Pardos, J.A. 2003 Xylem cavitation, leaf growth and leaf water potential in *Eucalyptus globulus* clones under well-watered and drought conditions. *Funct. Plant Biol.* 30, 891-899.
- Pita P., Cañas I., Soria F., Toval G., 2005. Use of physiological traits in tree breeding for improved yield in drought-prone environments. The case of *Eucalyptus globulus*. *Invest Agrar: Sist Recur For* 14(3), 383-393.

- Poss, J.A., Grattan, S.R., Suarez, D.L. & Grieve, C.M. 2000 Stable carbon isotope discrimination: an indicator of cumulative salinity and boron stress in *Eucalyptus camaldulensis*. *Tree Physiol* 20, 1121-1127.
- Potts, B.M., Dungey, H.S. 2004 Interspecific hybridization of *Eucalyptus*: key issues for breeders and geneticists. *New Forests* 27: 115-138.
- Putuhena, W.M., Cordey, I. 2000 Some hydrological effects of changing forest cover from eucalypts to *Pinus radiata*. *Agric. For. Meteorology* 100:59-72.
- Raymond, C.A., Owen J.V., Eldridge, K.G., Hardwood, C.E. 1992 Screening eucalypts for frost tolerance in breeding programs. *Can. J. For. Res.* 22: 1271-1277.
- Raymond, C.A. & Muneri, A. 2000 Effect of fertilizer on wood properties of *Eucalyptus globulus*. *Can. J. For. Res.* 30: 136-144.
- Roberts, S., Vertessy, R., Grayson, R. 2001 Transpiration from *Eucalyptus siebiri* (L. Johnson) forest of different age. *For. Ecol Manag.* 143: 153-161.
- Roden, J.S., Egerton, J.J.G., Ball, M.C. 1999 Effect of elevated CO₂ on photosynthesis and growth of snow gum (*Eucalyptus pauciflora*) seedlings during winter and spring. *Australian J. Plant Physiol.* 26(1): 37-46.
- Ruaud, J.N., Lawrence, N., Pepper, S., Potts, B.M., Borralho, N.M.G. 1999 Genetic variation of in vitro rooting ability with time in *Eucalyptus globulus*. *Silvae Genetica* 48, 1, 4-7.
- Ruiz, F. 2004 *Phoracantha semipunctata* F. Fichas de plagas forestales. Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía, 8p.
- Ruiz Fernández, F., Soria Pastor, F. Y Toval Hernández, G. 1997. Ensayos de fertilización localizada de masas clonales de *Eucalyptus globulus* en el momento de la plantación en la provincia de Huelva. I Congreso Forestal Hispano-Luso. II Congreso Forestal Español. Libro de Actas. Mesa 3, p.585-590. Pamplona.
- Ruiz F., Soria F. Pardo M. And Toval G. 2001 Ensayos factoriales de fertilización en masas de *Eucalyptus globulus* (Labill.) de mediana edad. Análisis de rentabilidad de inversión por fertilización. Actas de Congreso Internacional IUFRO "Desarrollando el Eucalipto del Futuro". IUFRO Unidad 2.08.03. Mejoramiento y Cultivo de Eucaliptos. 10-15 Septiembre 2001 Valdivia, Chile. Proc. IUFRO Conference "Developing the eucalypt of the future".
- Samraj, P., Sharda, V.N., Chinnamani, S., Lakshamanan, V., Haldorai, B. 1988 Hydrological behaviour of the Nilgiri Sub-Watersheds as affected by bulégum plantations. Part I. The annual water balance. *J. Hidrol.* 103,335-345.
- Sands, P.J., Cromer, R.N., Kirschbaum, M.U.F. 1992 A model of nutrient response in *Eucalyptus grandis* seedlings. *Australian J. Plan Physiol.* 19(5):459-470.
- Sartoretto, L.M., Barreto, L.P., Miranda, A.C. 2002 Biolistic transformation of *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* callus. *Functional Plant Biology* 29(8): 917-924.
- Sasse, J. & Sands, R. 1995 Root system development in cuttings of *Eucalyptus globulus*. En: B.M. Potts (managing editor), *Eucalypt Plantations: Improving, Fibre Yield and Quality*. CRCTHF-IUFRO, Hobart, Australia, pp 299-303.
- Saur, E., Nambiar, E.K.S., Fife, D.N. Foliar nutrient retranslocation in *Eucalyptus globulus*. *Tree Physiol.* 20: 1105-1110.
- Saxe, H., Ellsworth, D.S., Heath, J., 1998. Tree and forest functioning in an enriched CO₂. *New Phytol*(1998): 395-436.

- Searson, M.J., Thomas, D.S., Montagu, K.D., Conroy, J.P. 2004a Leaf water use efficiency between *Eucalyptus* seedlings from contrasting rainfall environments. *Funct. Plant Biol.* 31(5): 441-450.
- Searson, M.J., Thomas, D.S., Montagu, K.D., Conroy, J.P. 2004b Wood density and anatomy of water-limited eucalypts. *Tree Physiol.* 24, 1295-1302
- Sena Gomes, A.R. & Kozlowski, T.T. 1980 Effects of flooding on *Eucalyptus camaldulensis* and *Eucalyptus globulus* seedlings. *Oecologia* 46, 139-142.
- Shvaleyeva, A.L., Costa, F., Silva, E., Breia, E., Jouve, J., Hausman, J.F., Almeida, M.H., Maroco, J.P., Rodrigues, M.L., Pereira, J.S., Chaves, M.M. 2006 metabolic responses to water deficit in two *Eucalyptus globulus* clones with contrasting drought sensitivity. *Tree Physiol.* 26: 239-248.
- Sheriff, D.W. 1992 Roles of carbon gain and allocation in growth at different nitrogen nutrition in *Eucalyptus camaldulensis* and *Eucalyptus globulus* seedlings. *Australian J. Plant Phys.* 19(6): 637-652.
- Sheriff, D.W. & Nambiar, E.K.S. 1991 Nitrogen nutrition, Growth and Gas exchange in *Eucalyptus globulus* Labill. seedlings. *Australian J. Plant Physiol* 18(1):37-52.
- Sherwood, B. 1999 The long-term responses of trees to atmospheric CO₂ enrichment. *Global Change Biology* 5: 493-495
- Slatyer, R.O. 1977 Altitudinal variation in the photosynthetic characteristics of snow gum, *Eucalyptus pauciflora*. III. Temperature response of material grown under contrasting thermal environments. *Australian J. Plant Physiol.* 4(2): 301-312.
- Slatyer, R.O. & Ferrar, P.J. 1977a Altitudinal variation in the photosynthetic characteristics of snow gum, *Eucalyptus pauciflora*. II. Effects of growth temperature under controlled conditions. *Australian J. Plant Physiol.* 4(2): 289-299.
- Slatyer, R.O. & Ferrar, P.J. 1977b Altitudinal variation in the photosynthetic characteristics of snow gum, *Eucalyptus pauciflora*. V. Rate of acclimation to an altered growth environment. *Australian J. Plant Physiol.* 4(4): 595-609.
- Soria, F. & Borralho, N.M.G. 1997 The genetics of resistance to *Phoracantha semipunctata* Attack in *Eucalyptus globulus* in Spain. *Silva genetica* 46, 6: 365-369.
- Stape, J.L., Binkley, D., Ryan, M.G., Gomes, A.N. 2004 Water, light and nitrogen-use efficiency in clonal *Eucalyptus grandis* x *urophylla* plantations using a climatic gradient in north-eastern Brazil. *For. Ecol. Manag.* 193:
- Steane, D.A., Viallancourt, R.E., Rusell, J., Powell, W., Marshall, D., Potts, B.M. 2001 Development and characterization of microsatellite loci in *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae). *Silvae Genetica* 50, 2:89-91.
- Stoneman, G.L., Turner, N.C., Dell, B. 1994 Leaf growth photosynthesis and tissue water relations of greenhouse-grown *Eucalyptus marginata* seedlings in response to water deficits. *Tree Physiol* 14, 633-646.
- Stoneman, G.L., Crombie, D.S., Whitford, K., Hingston, F.J., Giles, R., Portlock, C.C., Galbraith, J.H., Dimmock, G.M. 1996 Growth and water relations of *Eucalyptus marginata* (jarrah) stands in response to thinning and fertilization. *Tree Physiology* 16: 267-274.
- Sudhakara, M. & Sayanaraya, T. 1998 Inoculation of micropropagated plantlets of *Eucalyptus tereticornis* with ectomycorrhizal fungi. *New Forests* 16: 273-279.
- Taiz, L. & Zeiger, E. 2002 *Plant Physiology*. 3rd edit. Sinauer Assoc., Inc., 690 p.

- Taylor, P.J., Nuberg, I., Hatton, T.J. 2001 Enhanced transpiration in response to wind effects at the edge of a blue gum (*Eucalyptus globulus*) plantation. *Tree Physiol.* 21, 403-408.
- Thomas, D.S., Montagu, K.D., Conroy, J.P. 2006 Why does phosphorus limitation increase wood density in *Eucalyptus grandis* seedlings? *Tree Physiol.* 26:35-42.
- Tibbits, W.N. & Reid, J.B. 1987 Frost resistance in *E. nitens*. Genetic and seasonal aspects of variation. *Australian For. Res.* 17:29-37.
- Tibbits, W.N. & Hodge, G.R. 2003 Genetic parameters for cold hardiness in *E. nitens* (Deane & Maiden) Maiden. *Silvae geneticae.* 52, 3-4, 89-92.
- Toval, G. 1999. En: *Ciencias y Técnicas Forestales. 150 años de aportaciones de los Ingenieros de Montes.* Madrigal A (Coord.). Fundación Conde del Valle de Salazar. ETSI Montes Madrid: 313-339.
- Toval, G. 2004. en: Borralho, N.M.G.; Pereira, J.S.; Marques, C.; Countinho, J.; Madeira, M. & Tome, M. (Eds). *Proceedings of the International IUFRO Conference of the WP2.08.03 on Silviculture and Improvement of Eucalyptus.* 11-15 October, 2004. Aveiro, Portugal. pp. 70-78.
- Trindade, H. & Pais, M.S. 1997 In vitro studies on *Eucalyptus globulus* rooting ability. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* 33:1-5.
- Trindade, H. & Pais, M.S. 2003 Meristematic nodule culture: a new pathway for in vitro propagation of *Eucalyptus globulus*. *Trees* 17: 38-315.
- Tyree M.T. 2003 Hydraulic limits on tree performance: transpiration, carbon gain and growth of trees. *Trees* 17, 95-100.
- Valentini, R. & Scarascia Mugnozza, G. 1986 Osservazioni sperimentali sulla formazione di ghiaccio negli eucalitti. *Ital. For. Mont.* 41: 151-163.
- Valentini, R., Scarascia Mugnozza, G., Giordano, E., Kuzminsky, E. 1990 Influence of cold hardening on water relation of three *Eucalyptus* species. *Tree Physiol.* 6, 1-10.
- Valentini, R. (edit), 2003 Fluxes of carbon, water and energy of European forests. *Ecological Studies* 163, Springer, 270 pp.
- Valero, E. & Picos, J. 2003 Silviculture and products manufacturing influence in Galician *Eucalyptus* plantation carbon balance using CO₂ fix model. *Actas 5ª Asamblea Plenaria COST E21 Contribution of forests and forestry to mitigate greenhouse effects.* Thessaloniki, nov. 2003.
- Valero, E. 2004 Sumideros de CO₂ en plantaciones de crecimiento rápido. *Jornadas sobre cambio climático. Colegio Ingenieros de Montes. Documento interno.*
- Valladares, F., Vilagrosa, A., Peñuelas, J., Ogaya, R., Camarero, J.J., Corcuera, L., Sisó, S., Gil-Pelegrin, E. 2004 Estrés hídrico: ecofisiología y escalas de la sequía. En: *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*, F. Valladares edit., Mº de Medio Ambiente, Naturaleza y Parques Nacionales, 163-190 pp.
- Van Der Moezel, P.G., Watson Bell, D.T. Wong S.C., Dunin, F.X. 1987 Photosynthesis and transpiration of trees in an eucalypt forest stand : CO₂, light and humidity. *Aust. J. Plant Physiol.* 14, 619-632.
- Van Der Moezel, P.G., Watson, L.E., Pearce-Pinto, G.V.N., Bell, D.T. 1988 The response of six *Eucalyptus* species and *Casuarina obesa* to the combined effect of salinity and waterlogging. *Australian J. Plant Physiology* 15(3): 465-474.
- Van Der MOEZEL, P.G., WATSON, BELL, D.T. 1989 Gas exchange responses of two *Eucalyptus* species to salinity and water logging. *Tree Physiology* 5, 251-257.

- Van Der Willigen C., Pammenter N.W. 1998 Relationship between growth and xylem hydraulic characteristics of clones of *Eucalyptus* ssp. at contrasting sites. *Tree Physiol.* 18, 595-600.
- Vilagrosa, A., Bellot, J., Vallejo, V.R., Gil-Pelegrin, E. 2003 Cavitation, stomatal conductance and leaf die-back in seedlings of two-occurring Mediterranean shrubs during an intense drought. *J. Exp. Bot.* 54(390): 2015-2024.
- Villar, B., Oller, J., Tuelieres, C., Boudet, A.M., Gallego, P.P. 1999 Transformation of adult clones of *Eucalyptus globulus* using an hypervirulent *Agrobacterium tumefaciens* strain. En *Proceedings of Applications of Biotechnology to Forest Genetics (Biofor-99)*, Vitoria, Spain.
- Volker, P.W., Owen, J.V., Borralho, M.G. 1994 Genetic variances and covariances for frost tolerance in *Eucalyptus globulus* and *E. nitens*. *Silvae Genet.* 43 (5/6): 366-372.
- Walters, J.R. Bell, T.L., Read, S. 2005 Intra-specific variation in carbohydrates reserves and sprouting ability in *Eucalyptus obliqua* seedlings. *Austr. J. Bot.* 53(3): 195-203.
- Wang, D., Bachelard, E.P., Banks, C.G. 1988 Growth and water relations of seedlings of two subspecies of *Eucalyptus globulus*. *Tree Physiol* 4, 129-138.
- Warren, C.R. & Adams, M.A. 2004 What determines rates of photosynthesis per unit nitrogen in *Eucalyptus* seedlings? *Funct. Plant Biol.* 31(2): 1169-1178.
- White, D.A., Beadle, C.I., Wordledge, D. 1996 Leaf water relations of *Eucalyptus globulus* and *E. nitens*: seasonal, drought and species effect. *Tree Physiol.* 16: 469-476.
- White, D.A., Beadle, C.L., Sands, P.J., Wordledge, D., Honeysett, J.L. 1999 Quantifying the effect of cumulative water stress on stomatal conductance of *E. globulus* and *E. nitens*: a phenomenological approach. *Australian J. Plant Physiol.* 26: 17-27.
- White, D.A., Turner, N.C., Gakbraith, J.H. 2000 Leaf water relations and stomatal behaviour of four allopatric *Eucalyptus* species planted in Mediterranean southwestern Australia. *Tree Physiol.* 20: 1157-1165.
- Wicberg, J. & Ogren, E. 2004 Interrelationships between water use and growth traits in biomass-production willows. *Trees* 18, 70-76.
- Wilson, P.J. 1995 Multiplication rates in vitro and by stem cutting propagation and the development of seedling-origin clones of *Eucalyptus globulus*. En: B.M. Potts (managing editor), *Eucalypt Plantations: Improving, Fibre Yield and Quality*. CRCTHF-IUFRO, Hobart, Australia, pp 304-307.
- Wimmer, R., Downes, G.M., Evans, R. 2002 Temporal variation of microfibril angle in *Eucalyptus nitens* grown in different irrigation regimes. *Tree Physiol.* 22, 449-457.
- Wong, S.C. & Dunin, F.X. 1987 Photosynthesis and transpiration of trees in a eucalypt forest stand: CO₂, light and humidity responses. *Austral. J. Plant Physiol.* 14(6): 619-632.
- Wullschleger, S.D., Tuskan, G.A., Difazio, S.P. 2002 Genomics and the tree physiologist. *Tree Physiol.* 22, 1273-1276
- Zubrinich T.M., Loveys, B., Gallasch, S., Ssekamp, J.V. & Tyerman, S.D. 2000 Tolerance of salinized floodplain conditions in a naturally occurring *Eucalyptus* hybrid related to lowered plant water potential. *Tree Physiol* 2, 953-963.