

PLASTICIDAD FENOTÍPICA EN PLANTAS DE *LIPPIA DULCIS* (VERBENACEAE) SOMETIDAS A DÉFICIT HÍDRICO

Phenotypic Plasticity in Plants of *Lippia dulcis* (Verbenaceae) Subjected to Water Deficit

JAVIER MAURICIO VILLAMIZAR CÚJAR¹, Biólogo; NELSON FACUNDO RODRÍGUEZ LÓPEZ², M.Sc.; WILMER TEZARA FERNÁNDEZ³, Ph. D.

¹ Universidad Industrial de Santander - UIS.

² Universidade Federal de Viçosa, UFV, Brasil. Profesor Asociado, Universidad Industrial de Santander - UIS, Colombia. Director del Grupo Nacional de Investigación en Ecofisiología y Metabolismo Vegetal Tropical - GIEFIVET. A.A 678, Bucaramanga, Colombia.

³ Profesor Asociado, UCV, Venezuela. Laboratorio de Ecofisiología de Xerófitas, IBE - UCV. Apartado 47829, Caracas 1041A, Venezuela.

Autor para correspondencia: Universidad Industrial de Santander, Escuela de Biología, Carrera 27, Calle 9, Campus Central, A.A. 678, Bucaramanga, Santander (Colombia). javiercujar@gmail.com, javiercujar@hotmail.com

Presentado el 9 de febrero de 2012, aceptado el 8 de mayo de 2012, correcciones el 10 de mayo de 2012.

RESUMEN

La plasticidad fenotípica (PF) es un mecanismo mediante el cual las plantas pueden responder a la heterogeneidad ambiental con ajustes morfológicos y fisiológicos. En este estudio se cuantificó la PF de plantas de *Lippia dulcis* en respuesta a la disponibilidad hídrica en el suelo (baja, moderada y alta), en caracteres morfológicos y de asignación de biomasa, durante la ontogenia vegetativa (días 39, 45, 59 y 66). Nuestra hipótesis planteó que como respuesta a la disponibilidad hídrica, debería esperarse una mayor PF en caracteres morfológicos en comparación con caracteres de asignación de biomasa. La fracción de masa foliar, la razón del área foliar, la longitud de ramas, el número de hojas, así como la razón biomasa de la raíz/biomasa foliar, presentaron la mayor capacidad de ajuste plástico en las plantas de *L. dulcis* al déficit hídrico, mientras que el área foliar específica representó el carácter con menor PF a lo largo de la ontogenia vegetativa. La magnitud y patrón de la PF variaron dependiendo del carácter, agua disponible y desarrollo ontogénico. Contrario a nuestra hipótesis, el grupo de caracteres morfológicos y de asignación de biomasa; exhibieron una PF equivalente. Los modelos de asignación óptima y forrajeo óptimo no son mutuamente excluyentes bajo condiciones de déficit hídrico. *L. dulcis* alteró su patrón de asignación de biomasa, la morfología foliar y la radicular, y como beneficio adaptativo optimizó el balance entre los órganos encargados de la absorción y el uso de agua. *L. dulcis* exhibió una notable capacidad para evadir el déficit hídrico.



Palabras clave: *Lippia dulcis*, plasticidad fenotípica, asignación de biomasa, déficit hídrico, ontogenia.

ABSTRACT

Phenotypic plasticity (FP) is one of the mechanisms by which plants can respond to environmental heterogeneity by adjusting their morphology and physiology. This study tested and quantified the FP of *Lippia dulcis* plants in response to water availability in soil (low, medium and high), on morphologic and biomass allocation traits during the vegetative ontogeny (days 39, 45, 59 and 66). We hypothesized that in response to water availability, a higher FP should be expected in morphological compared to biomass allocation traits. The leaf mass fraction, leaf area ratio, branch length, number of leaves and root mass/leaf mass ratio, showed the largest capacity of plastic adjustment in the *L. dulcis* plants to water deficit, whereas the specific leaf area represented the trait with the lowest FP along vegetative ontogeny. The magnitude and pattern of FP changed depending on trait, water availability and ontogenic development. Contrary to our hypothesis the morphological traits and biomass allocation traits showed equivalent FP. The models of optimum allocation and optimum foraging are not mutually exclusive under water deficit. *L. dulcis* changed its pattern of biomass allocation, leaf and root morphology and as an adaptive advantage optimized the balance between organs involved in water acquisition and use. *L. dulcis* showed a remarkable ability to avoid water deficit.

Key words: *Lippia dulcis*, phenotypic plasticity, biomass allocation, water deficit, ontogeny.

INTRODUCCIÓN

La plasticidad fenotípica (PF) es la capacidad que posee un genotipo particular de expresar diferentes fenotipos frente a la variación ambiental, mediante la alteración de su morfología y fisiología (Pigliucci, 2001; González y Gianoli, 2004). La cuantificación de la PF no es solo valiosa frente al conocimiento ecológico de las especies, también es necesaria para elaborar modelos que permitan predecir las respuestas de las especies frente al cambio climático global (Valladares *et al.*, 2006). El cambio ambiental y la consecuente alteración de la disponibilidad hídrica, validan como tema de interés la evaluación del efecto del déficit hídrico, porque bajo dicha condición en las plantas se limitará la tasa fotosintética (Lawlor y Cornic, 2002; Lawlor y Tezara, 2009) y el crecimiento, reduciéndose el área foliar y la productividad (Passioura, 1994).

Se han propuesto dos teorías fundamentales para explicar cómo las plantas maximizan la captura de recursos a través de PF: la teoría de asignación óptima (TAO) (Bloom *et al.*, 1985; Dewar, 1993), y la teoría de forrajeo óptimo (TFO) (Campbell *et al.*, 1991; Cain *et al.*, 1996). La TAO; señala que las plantas frente a la variabilidad en la disponibilidad de recursos como la luz, el dióxido de carbono (CO₂), agua o nutrientes responden con plasticidad en la asignación de biomasa, redistribuyendo la biomasa hacia el órgano involucrado en la captura del recurso deficiente, maximizando así la tasa de crecimiento (Bloom *et al.*, 1985; Dewar, 1993). Por ejemplo, las plantas pueden distribuir



proporcionalmente más biomasa hacia la raíz en ambientes pobres en nutrientes y agua, y pueden distribuir una mayor biomasa hacia el vástago en ambientes con limitación lumínica (Aerts, 1999). Alternativamente a la alteración en la asignación de biomasa y validando la TFO, las plantas pueden incrementar la capacidad de responder a la variabilidad en la disponibilidad de los recursos locales mediante ajustes en la forma de crecimiento (i.e. plasticidad morfológica; Bazzaz, 1991; Cain *et al.*, 1996). Por ejemplo, las plantas pueden modificar su sistema radicular alterando su densidad, diámetro y disposición de acuerdo a la disponibilidad y ubicación de la fuente hídrica (Wright y McConnaughay, 2002). Estas dos teorías al parecer no son mutuamente excluyentes, porque además de alterar el patrón de asignación de biomasa hacia un órgano particular, las plantas pueden al mismo tiempo alterar la morfología y disposición de los órganos de forrajeo con el fin de maximizar la captura de los recursos distribuidos heterogéneamente (Cain *et al.*, 1996). La plasticidad morfológica ha sido citada en varias ocasiones como una alternativa que utilizan las plantas para regular la captura de recursos que no requieren ajustes en la asignación de biomasa (Khurana y Singh, 2000; Wright y McConnaughay, 2002).

La PF se puede evaluar mediante la construcción de normas de reacción (NR) que consisten en graficar los cambios de la variable ambiental en el eje de la abscisa y los valores de expresión de un carácter fenotípico en el eje de la ordenada (Pigliucci y Schlichting, 1995; Dewitt y Scheiner, 2004). Una segunda manera de evaluar la PF es cuantificándola mediante índices de plasticidad (IP) (Valladares *et al.*, 2000). Debido a que muchos caracteres varían dramáticamente en el transcurso del desarrollo y crecimiento de las plantas, la variación de los caracteres inducida ambientalmente puede identificarse comparando plantas a un tamaño y punto común en la ontogenia, en lugar de realizarlo a una misma edad (Evans, 1972). No obstante, en esos trabajos no hay una cuantificación apropiada de la PF, solo se limitan a encontrar diferencias en las trayectorias ontogenéticas en diferentes ambientes (Camargo y Rodríguez, 2006). Una alternativa para la cuantificación apropiada de la PF ha sido formulada por Valladares *et al.*, 2006; estos autores proponen un IP de distancias relativas (RDPI) para cuantificar la PF, que permite la comparación estadística entre grupos (i.e. especies o puntos en la ontogenia de una misma especie) expuestos a diferentes ambientes. Está basada en un índice establecido en un intervalo de cero a uno y calculado por medio de las distancias fenotípicas absolutas (abs) entre los individuos de un mismo genotipo y diferentes ambientes, dividido por uno de los dos valores fenotípicos, en el cual el RDPI sería la sumatoria de: $[\text{abs} (a-b) / (a+b)] / n$; en donde abs es el valor absoluto; a y b, dos individuos de una misma especie en dos tratamientos diferentes; y n, el número de distancias entre pares de individuos (a y b).

Lippia dulcis Trevir (Verbenaceae), es una planta aromática, caracterizada por ser intensamente dulce debido a la presencia de (+) - hernandulcina, compuesto no calórico 1.000 veces más dulce que la sacarosa, característica que le confiere un gran potencial en la agroindustria (Compadre *et al.*, 1985; Souto *et al.*, 1997). Es una hierba endémica de América tropical, distribuida del sur de México hasta Panamá y Colombia, con una distribución ecológica asociada a un elevado requerimiento hídrico, matorrales y bosques húmedos tropicales (Orellana *et al.*, 2000). El objetivo del trabajo fue evaluar y comparar la PF de caracteres morfológicos y de asignación de biomasa a través de la ontogenia



vegetativa en clones de *L. dulcis* en respuesta al déficit hídrico. Para lo cual, planteamos las siguientes preguntas: ¿Existen diferencias en la magnitud de la PF en *L. dulcis* con la alteración de la disponibilidad hídrica?, ¿La magnitud de la PF se ve alterada a lo largo de la ontogenia vegetativa de *L. dulcis*? y ¿Es mayor la PF de los caracteres morfológicos? Nuestra hipótesis considera que la PF podría ser mayor en los caracteres morfológicos que en caracteres de asignación de biomasa, en respuesta al déficit hídrico.

MATERIALES Y MÉTODOS

TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

El experimento fue realizado en el área experimental del Laboratorio de Ecofisiología Vegetal de la Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia. Se utilizó una población de *L. dulcis* como unidad de muestreo. Se compararon las respuestas fenotípicas de 72 clones, provenientes de 12 plantas madre (seis estacas por planta madre) durante su ontogenia vegetativa. Se homogeneizaron los clones mediante estacas en un peso promedio de $0,75 \pm 0,25$ g y una longitud de 20 cm. Para la propagación las estacas se trataron con el enraizador ácido indolbutírico (AIB). Los clones se plantaron en bolsas plásticas de 2 kg, utilizando como sustrato un suelo franco - arcilloso - arenoso cuya composición fue 3:1:1 (suelo, arena y materia orgánica). Las plantas fueron regadas diariamente hasta el momento de la aplicación de los tratamientos, mantenidas bajo plena exposición solar y a temperaturas máximas/mínimas de $30/14 \pm 1$ °C. Cuando las dos primeras hojas se expandieron completamente (22 días después de la propagación realizada a partir del surgimiento de las raíces), los 72 clones se asignaron aleatoriamente a tres tratamientos (24 plantas/tratamiento), diferenciados en el contenido relativo de humedad en el suelo (CRH) (porcentaje de retención de humedad en el suelo, estimado a partir de la capacidad de campo): 1) W20: 20 % (bajo); 2) W60: 60 % (moderado); 3) W80: 80 % (alto). La humedad del suelo fue establecida y monitoreada a diario en los intervalos $W20 \pm 1$; $W60 \pm 1$; $W80 \pm 1$, empleando un higrómetro analítico (MOISTURE METER SOIL, Lincoln, NE 68505). El agua consumida se repuso mediante adición de 500 mL de agua, cada 24 horas para el tratamiento W80, cada 48 horas para el tratamiento W60, y cada 72 horas para el tratamiento W20.

PARÁMETROS EVALUADOS

Se realizaron cuatro muestreos destructivos en las plantas de *L. dulcis* a partir del establecimiento de los tratamientos y durante 4 etapas fenológicas vegetativas (días 39, 45, 59 y 66), muestreando seis plantas por tratamiento. Se estimó el área foliar para cada planta, usando un escáner *Genius ColorPage-Void III V2*. Las imágenes obtenidas fueron procesadas con el programa *Compu Eye, Leaf & Symptom Area Software* (Bakr, 2005). La biomasa seca de las diferentes fracciones de material vegetal (hojas, tallos, ramas y raíces), se obtuvo mediante la separación y secado de las diferentes estructuras a 80 °C durante 72 h, en una estufa de ventilación forzada, y luego pesadas en balanza analítica. Con los datos anteriores se estimaron como caracteres de asignación de biomasa la razón masa de la raíz/masa foliar (R/F: biomasa de la raíz/biomasa de las hojas), la fracción de masa foliar (FMF: biomasa de las hojas/biomasa total) y la frac-



ción de masa de la raíz (FMR: biomasa de la raíz/biomasa total). Se estimaron los caracteres morfológicos número de hojas (NH), longitud de las ramas (LRM: longitud entre el ápice de la rama y el punto de unión de la rama al tallo), longitud de la raíz (LR: longitud de la raíz principal), la razón del área foliar (RAF: área foliar/peso total), el área foliar específica (AFE: área foliar/peso de las hojas) y la longitud específica de la raíz (LER: longitud de la raíz/peso de la raíz) (Tabla 1).

Variable	Abreviatura (Unidades)	Significado	Interpretación y relevancia
Número de hojas	NH	Carácter morfológico cuantitativo	Indicador de la ganancia de estructuras fotosintéticas.
Longitud de las ramas	LRM (cm)	Carácter morfológico cuantitativo	Indicador de cambios en la estructura y morfología de las ramas a la oferta ambiental.
Longitud de la raíz	LR (cm)	Carácter morfológico cuantitativo	Estimador de la alteración de la longitud de la raíz frente a la heterogeneidad del sustrato.
Área foliar específica	AFE (cm ² g ⁻¹)	Relación entre la cantidad de área foliar por peso de la hoja	Parámetro que refleja aspectos funcionales de la morfología de las hojas, tal como la densidad y grosor de la hoja (Poorter y Nagel, 2000).
Razón del área foliar	RAF (cm ² g ⁻¹)	Relación del área foliar y peso total de la planta	Principal determinante de la tasa de crecimiento relativa de las plantas (Villar <i>et al.</i> , 2004).
Longitud específica de la raíz	LER (cm gr ⁻¹)	Relación de la longitud de la raíz y la acumulación de biomasa en la raíz	Carácter morfológico, empleado como estimador de la longitud de la raíz, frente a la alteración del suministro de agua y nutrientes en el suelo, correlacionado directamente con la capacidad de captura de recursos (Derner y Briske, 1999; Paz, 2003).
Fracción de masa de la raíz	FMR (g raíz g ⁻¹ planta)	Relación de biomasa de raíz y la biomasa total de la planta	Parámetro que evalúa la inversión o ganancia de biomasa de la raíz (Villar <i>et al.</i> , 2004).
Fracción de masa foliar	FMF (g hojas g ⁻¹ planta)	Relación de biomasa de hojas y la biomasa total de la planta	Estimador de la inversión o ganancia de biomasa en los órganos fotosintéticos (Villar <i>et al.</i> , 2004).
Razón masa de la raíz/ masa foliar	R/F (g raíz g ⁻¹ hojas)	Relación entre la biomasa de la raíz y la biomasa de las hojas	Estimador de la plasticidad fenotípica en la asignación de biomasa (Camargo y Rodríguez, 2006), y en el cual se contrasta la alteración en la asignación de biomasa de dos órganos de forrajeo frente a la oferta ambiental.

Tabla 1. Definiciones e interpretación correspondiente a cada carácter evaluado.

NORMAS DE REACCIÓN E ÍNDICE DE PLASTICIDAD FENOTÍPICA

La PF se evaluó cualitativamente mediante la construcción de normas de reacción para cada uno de los caracteres, comparando visualmente los patrones de plasticidad; una mayor pendiente de la trayectoria fenotípica indica una mayor plasticidad. Para probar la hipótesis planteada, se calculó la PF para cada carácter a través de la ontogenia, debido a la estrecha relación entre esta y la magnitud de plasticidad expresada en cada muestreo (Schlichting y Pigliucci, 1998). Se comparó la PF de los caracteres morfológicos y de asignación de biomasa, al fragmentar la PF expresada por cada variable en



la interacción entre los tratamientos de CRH en el suelo, bajo a moderado y moderado a alto, mediante la estimación del índice de plasticidad de distancias relativas RDPI (Valladares *et al.*, 2006). Una vez calculadas las distancias fenotípicas, se calculó la mediana, correspondiente al índice de plasticidad, y se usó la prueba estadística de Mann-Whitney-U, para establecer diferencias significativas a través de la ontogenia entre caracteres y entre el grupo de caracteres morfológicos (1) y de asignación de biomasa (2) que exhibieron PF significativa.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) de dos vías, empleando como fuentes de variación, la edad ontogenética (cuatro muestreos) y la disponibilidad de agua (W20, W60, W80). Para evaluar el efecto de la ontogenia en los patrones de asignación de biomasa y siguiendo las recomendaciones de Wright y McConnaughay, 2002, para obtener una aproximación funcional de la variación fenotípica de *L. dulcis* a la disponibilidad hídrica, se establecieron comparaciones de plantas con un tamaño y estado fenológico común, usando inicialmente en el análisis estadístico la covariable biomasa total, pero al no hallar diferencias significativas en la expresión de dicho carácter, se excluyó del análisis. Para lograr que todos los caracteres cumplieran con las suposiciones de normalidad y homogeneidad de varianza, los caracteres NH, LRM, LR, R/F, y LER fueron transformados con LN, mientras que los caracteres: RAF, FMR y FMF se transformaron con \sqrt{x} (Zar, 1999) previo a la realización del ANDEVA. Se utilizó el *software* SPSS (versión 13,0 para Windows).

RESULTADOS

TRATAMIENTOS

La disminución del CRH del suelo afectó significativamente la expresión de varios de los caracteres evaluados en los clones de *L. dulcis* (Fig. 1). Las plantas que crecieron con un CRH W20; presentaron hojas pequeñas de márgenes curvos, en respuesta al déficit hídrico. Las plantas de los tratamientos CRH W60, y W80; desarrollaron hojas completamente expandidas y con mayor tamaño. Se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en la expresión de todos los caracteres morfológicos y de asignación de biomasa, excepto en LER y FMR (Tabla 2; Fig. 1). Las normas de reacción indican en general un incremento en los caracteres con la ontogenia vegetativa (Fig. 1). Los caracteres NH, LRM, AFE, RAF y FMF presentaron una mayor expresión en PF en el tratamiento CRH W80, y menor magnitud a medida que el CRH se reduce, acentuándose en el tratamiento CRH W20 (Fig. 1a, b, d, e, f), situación que fue evidenciada claramente en los caracteres foliares (AFE, RAF y FMF; Fig. 1d, e, f). Los caracteres foliares AFE, RAF y FMF, muestran una respuesta plástica significativa tanto para niveles bajos, como moderados de CRH. En contraste, el carácter R/F mostró sus mayores magnitudes en el tratamiento CRH W20, reducción en CRH W60, y la menor expresión en CRH W80 (Fig. 1h). El carácter LR, presentó diferencias significativas para los diferentes tratamientos; exhibió su menor expresión en CRH W60, presentó un incremento moderado y casi invariable en CRH W80, y experimentó su mayor magnitud en CRH W20 (Fig. 1c). Los patrones de plasticidad en la asignación de biomasa, fueron antagónicos, debido a que el carácter foliar FMF, disminuyó con la restricción hídrica,

acentuándose en CRH W20 (Fig. 1f), mientras que el carácter R/F, incrementó con la reducción del CRH, exhibiendo su máxima expresión fenotípica en CRH W20 (Fig. 1h). Entre los caracteres asociados a la captura del recurso agua, la R/F expresó una mayor asignación de biomasa radicular en detrimento de la biomasa foliar en respuesta al déficit hídrico. El carácter LR incrementó su expresión en el tratamiento CRH W20 (Fig. 1c, h). Por el contrario, los caracteres asociados a la captura de la luz (NH, LRM, AFE, RAF, FMF), presentaron una mayor expresión con el incremento en la disponibilidad hídrica (CRH W60 y W80), y limitan su expresión frente al déficit hídrico (Fig. 1a, b, d, e, f).

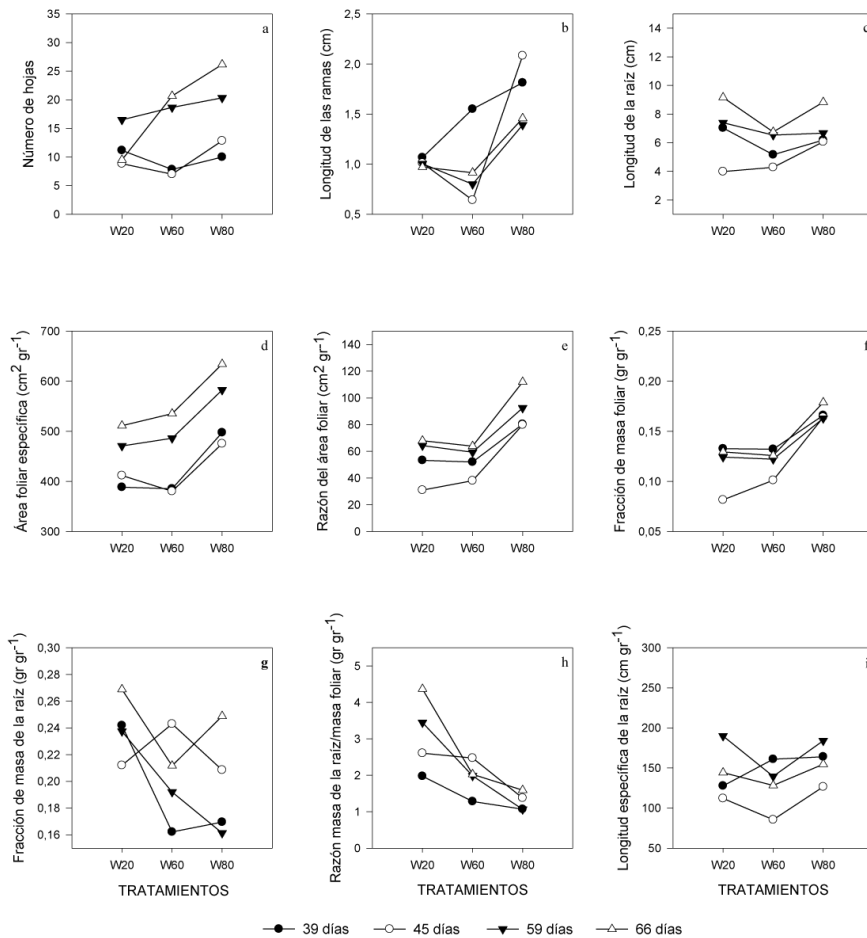


Figura 1. Normas de reacción para caracteres morfológicos, y de asignación de biomasa, en los tratamientos con contenido de humedad del suelo: alto CRH (W80), moderado CRH (W60), y bajo CRH (W20). Las gráficas muestran la respuesta de cada carácter a los tratamientos a través de la ontogenia vegetativa de *L. dulcis*. Los caracteres evaluados fueron: número de hojas (NH), longitud de las ramas (LRM), longitud de la raíz (LR), área foliar específica (AFE), razón del área foliar (RAF), longitud específica de la raíz (LER), fracción de masa de la raíz (FMR), fracción de masa foliar (FMF), y la razón de masa de la raíz / masa foliar (R/F).

Carácter	Fuente de variación	df	F	P
----------	---------------------	----	---	---



Caracteres Morfológicos				
Número de hojas	Tratamientos	2	7,138	***
Longitud de las ramas	Muestruos	4	13,466	***
	TxM	8	2,557	*
	Error	75		
	Tratamientos	2	7,729	***
Longitud de la raíz	Muestruos	4	3,013	*
	TxM	8	0,800	NS
	Error	75		
	Tratamientos	2	2,832	*
Área foliar específica	Muestruos	4	9,564	***
	TxM	8	0,403	NS
	Error	75		
	Tratamientos	2	3,295	*
Razón del área foliar	Muestruos	4	3,641	**
	TxM	8	0,112	NS
	Error	75		
	Tratamientos	2	10,928	***
Longitud específica de la raíz	Muestruos	4	8,449	***
	TxM	8	0,155	NS
	Error	75		
	Tratamientos	2	1,581	NS
Caracteres de Asignación de biomasa	Muestruos	4	3,569	*
	TxM	8	0,252	NS
	Error	75		
	Tratamientos	2		
Fracción de masa de la raíz	Muestruos	4	0,804	NS
	TxM	8	0,419	NS
	Error	75		
	Tratamientos	2	8,421	***
Fracción de masa foliar	Muestruos	4	6,723	***
	TxM	8	0,288	NS
	Error	75		
	Tratamientos	2	6,514	**
Razón masa de la raíz/masa foliar	Muestruos	4	3,638	**
	TxM	8	0,343	NS
	Error	75		
	Tratamientos	2		

Tabla 2. ANDEVA de dos vías para el rango de efecto de la disponibilidad hídrica sobre los caracteres estudiados: número de hojas, longitud de las ramas, longitud de la raíz, área foliar específica, razón del área foliar, longitud específica de la raíz, fracción de masa de la raíz, fracción de masa de las hojas, y la razón masa de la raíz / masa folia. * $P < 0,050$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$. NS: No significativo.



EFFECTO DE LA ONTOGENIA E INTERACCIÓN

La ontogenia vegetativa ejerció un efecto significativo en la expresión de los caracteres morfológicos NH, LRM, LR, AFE, RAF y LER, así, como en los caracteres de asignación FMF y R/F (Tabla 2; Fig. 1a, b, c, d, e, f, i). El NH, fue el único carácter cuya expresión fue significativa en la interacción tratamiento x muestreo (T x M) (Tabla 2; Fig. 1a).

CUANTIFICACIÓN DE LA PLASTICIDAD

Se observó un constante cambio en el patrón y magnitud de la PF a lo largo de la ontogenia vegetativa de *L. dulcis*, en la interacción W20 - W60 y W60 - W80 (Fig. 2). La comparación de la PF expresada entre los grupos de caracteres morfológicos (grupo 1) y de asignación de biomasa (grupo 2) evaluada con la prueba de U, resultó no significativa (datos no presentados), pero sí en la expresión individual de la mayoría de dichos

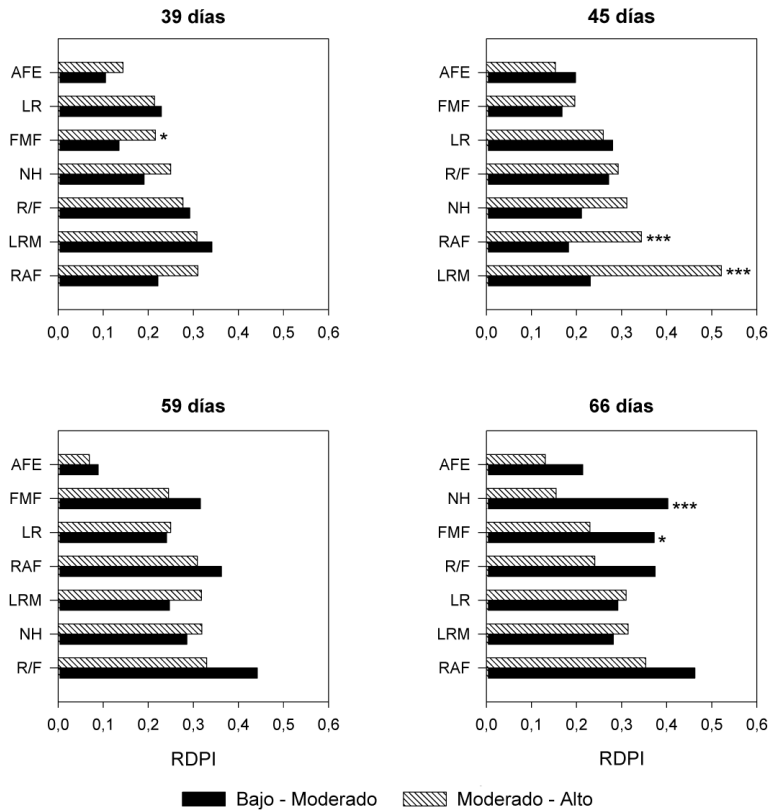


Figura 2. Índice de plasticidad de distancias fenotípicas relativas (RDPI). Las gráficas exhiben el RDPI correspondiente para cada carácter en cada una de las cuatro edades ontogénicas, frente a las interacciones de los tratamientos, bajo-moderado (B-M), y moderado-alto (M-A). Los asteriscos indican las diferencias significativas (Mann-Whitney U, $p < 0,05$). Caracteres morfológicos: número de hojas (NH), longitud de las ramas (LRM), longitud de la raíz (LR), área foliar específica (AFE), y la razón del área foliar (RAF); caracteres de asignación de biomasa: fracción de masa foliar (FMF), y razón masa de la raíz / masa foliar (R/F).



caracteres a lo largo de la ontogenia vegetativa de *L. dulcis* (Fig. 2). En general la magnitud de la PF evaluada con el RDPI de los diferentes caracteres incrementó con la ontogenia vegetativa (Fig. 2). La evaluación estadística de la PF para cada cosecha; evidenció diferencias significativas en los caracteres FMF a los 39 días, RAF y LRM a los 45 días, y NH y FMF a los 66 días (Fig. 2). Los caracteres con una mayor PF a partir de los valores de RDPI fueron, para la interacción W20 - W60: LRM y R/F (39 días); LR y R/F (45 días); R/F y RAF (59 días); RAF, NH, FMF y R/F (66 días), y para la interacción W60 - W80: RAF y LRM (39 días); LRM y RAF (45 días); R/F, NH y LRM (59 días); RAF, LRM, LR (66 días). Por el contrario, y de forma constante tanto para las interacciones W20 - W60 y W60 - W80 el AFE fue el carácter con menor magnitud en PF (Fig. 2).

DISCUSIÓN

PLASTICIDAD FENOTÍPICA Y CONSECUENCIAS ECOLÓGICAS

L. dulcis mostró una considerable y significativa en la expresión de sus caracteres morfológicos y de asignación de biomasa como respuesta al déficit hídrico, respuestas que corresponden con los resultados de Camargo y Rodríguez, 2008, para plantas de *Lippia alba* y *Lippia origanoides* sometidas a un gradiente de disponibilidad de agua en el suelo. En condiciones de déficit hídrico (CRH W20), dentro de los caracteres asociados a la captura del agua, se incrementó la LR, respuesta similar al incremento en la longitud y proporción de biomasa de las raíces de plantas de *Polygonum persicaria* cuando se cultivaron en suelos con baja disponibilidad hídrica (Bell y Sultan, 1999). Bajo condiciones de déficit hídrico, la plasticidad morfológica permite reducir el diámetro de las raíces, incrementando la longitud y el área de superficie radicular por gramo de tejido invertido para la adquisición de los recursos (Ryser y Eek, 2000), cuyos resultados y estrategia que validan la TFO porque maximiza la adquisición de los recursos (Espeleta y Donovan, 2002) con el incremento evaluado en la LR. La PF le permite a las plantas tolerar la heterogeneidad espacial y temporal del suelo (Callaway *et al.*, 2003; Hodge, 2006), y actúa como un mecanismo adaptativo para lograr un balance entre los costos de construcción y mantenimiento de la raíz vs los beneficios de la eficiencia de exploración y transporte de los recursos (Ryser y Eek, 2000). El incremento en LR en el tratamiento CRH W80, evidenció que *L. dulcis* es una especie cuyo crecimiento es positivo en ambientes húmedos en concordancia con la caracterización realizada por Orellana *et al.*, 2000, en la cual describe a *L. dulcis* como una especie de hábitats altamente húmedos. La expresión de la plasticidad morfológica y fisiológica de la raíz, está influenciada por la forma de crecimiento (Caldwell *et al.*, 1991), y por las características del hábitat (Cain *et al.*, 1996). Por lo tanto, la capacidad de alterar la morfología radicular en *L. dulcis*, es congruente con su hábito de crecimiento estolonífero y decumbente, con una importante capacidad de anclaje y exploración a medida que crece extendiéndose sobre el sustrato en los ambientes altamente húmedos que habita (Orellana *et al.*, 2000), mecanismo que provee eficiencia en la adquisición de agua y minerales.

Los resultados evaluados en los caracteres de asignación de biomasa, y particularmente de la R/F, validan las predicciones de la TAO, como importante mecanismo adaptativo que permite la adquisición de un recurso limitante (i.e. agua) durante el desarrollo ontogenético de las plantas, mediante la redistribución de la asignación de la biomasa



hacia el órgano encargado de la captura del recurso limitado (i.e. la raíz, como órgano encargado del forrajeo del agua y nutrientes; Dewar, 1993; Poorter y Nagel, 2000). Es así, que el carácter R/F se incrementó a medida que se limitó el suministro de agua, logrando su mayor magnitud en el tratamiento CRH W20. Bajo condiciones de déficit hídrico fue mayor la asignación de biomasa hacia la raíz, en comparación con la biomasa asignada hacia las hojas, debido a ello, R/F incrementó en CRH W20. De esta forma se validó la TAO, como ajuste plástico en el patrón de asignación de biomasa en la búsqueda de eficiencia en la incorporación de agua y reducción en el consumo (menor AFE, menor transpiración), mejorando así la capacidad competitiva de la planta al redirigir su crecimiento hacia parches del sustrato en los cuales no esté limitado el recurso (agua) (Pigliucci, 2001); y como consecuencia la reducción evaluada en la FMF. La alteración significativa de la LR con el déficit hídrico, contrastada con la ausencia de significancia en la FMR (carácter cuya magnitud para los días 45 y 66 fueron inconsistentes con el patrón evaluado en la LR y R/F), y la significativa respuesta evaluada en la R/F, evidencia que la alteración en la morfología de las raíces se ajusta en detrimento de la biomasa foliar y no con respecto a la biomasa total de la planta. Este patrón de respuesta en PF y particularmente en los caracteres radiculares (LR, FMR y R/F), se acercaría al planteamiento de Khurana y Singh, 2000, en el cual destacan a la plasticidad morfológica como un medio alternativo de mitigación en la limitación de recursos que no requiere un ajuste fundamentado en la asignación de biomasa.

Los caracteres asociados al forrajeo del factor luz (NH, LRM, AFE, RAF, FMF), disminuyeron con la restricción del agua en el suelo, con un patrón similar al reportado por Camargo y Rodríguez, 2008, para plantas de las especies *Lippia alba* y *Lippia organoides* sometidas a un gradiente de disponibilidad de agua en el suelo. Durante el déficit hídrico, las plantas disminuyen el contenido de agua en la célula, causando una reducción del volumen celular y la pérdida de turgencia, lo cual afecta a los procesos de expansión foliar y la reducción del área foliar (Taiz y Zeiger, 2006). Esta respuesta es congruente con la reducción observada en el AFE, tal como Liu y Stützel, 2004, reportaron en plantas de *Amaranthus* sp. como respuesta al estrés hídrico. En CRH W20 se restringió el crecimiento de estructuras aéreas, la ganancia de biomasa de las hojas y ramas, respuesta que causó la reducción en el NH, LRM, AFE y RAF. McConnaghay y Coleman, 1999, en su trabajo realizado con las especies *Abutilon theophrasti*, *Chenopodium album* y *Polygonum pensylvanicum*, sometiéndolas a un gradiente de luz, agua y nutrientes, demostraron que frente a la reducción en la disponibilidad de agua en el suelo, la RAF se redujo significativamente en la especie *Polygonum pensylvanicum*, resultado que corresponde con la respuesta evaluada en *L. dulcis* frente al déficit hídrico. La diferencia significativa detectada en el NH, en la interacción tratamiento x muestreo, señala como esto podría afectar de manera considerable el balance de carbono de las plantas. La reducción del AFE, así como la de los caracteres NH, LRM, RAF y FMF en condiciones de moderada humedad en el suelo y bajo déficit hídrico, evidencia una estrategia que busca reducir la pérdida excesiva de agua por evaporación, mejoraría la eficiencia en el uso del agua (Wright *et al.*, 1994), y constituiría un importante mecanismo para evadir el déficit hídrico (Valladares, 2004; Ogaya y Peñuelas, 2006). Nuestros resultados sugieren que en condiciones de déficit hídrico, *L. dulcis* optimizó el uso del agua, mediante la reducción del AFE y FMF (disminución en la distribución de biomasa hacia las hojas); efecto que



en conjunto redujo la RAF, porque la expresión de la RAF es producto de sus componentes AFE y FMF (Villar *et al.*, 2004). Adicionalmente, dicho patrón de respuesta valida la TAO como mecanismo adaptativo que le permite a las plantas de *L. dulcis* mantener su crecimiento en un ambiente con limitación en el suministro de agua, al redistribuir sus fotoasimilados.

La disponibilidad hídrica es considerada como el principal factor limitante del crecimiento de las plantas en ecosistemas como el mediterráneo (Blondel y Aronson, 1999). Bajo déficit hídrico, se producen dos tipos de mecanismos o estrategias, los cuales son característicos de cada especie (Larcher, 1995). Dichos mecanismos ecofisiológicos pueden ser: estrategias para evadir el déficit hídrico y de tolerancia al déficit hídrico (Levitt, 1980). Sin embargo, como reporta Levitt, 1980, las plantas han evolucionado hacia el desarrollo de mecanismos que evitan el déficit hídrico, mientras que los mecanismos de tolerancia serían un factor complementario a los mecanismos anteriores. Asimismo, el desarrollo de mecanismos evitadores (i.e. alta superficie de absorción en relación con baja superficie transpirante) permite no solo sobrevivir al estrés, sino continuar creciendo y desarrollándose en condiciones de déficit hídrico. No obstante, y aunque las plantas deben desarrollar ambas estrategias, cada especie vegetal tiende a desarrollar principalmente una de las dos estrategias (Valladares, 2004). La reducción en el AFE, RAF, FMF y el incremento de la LR, R/F, corresponden con los planteamientos anteriores, de tal manera, que las plantas de *L. dulcis*, alteran sus caracteres morfológicos y los patrones de asignación de biomasa como estrategia que busca evadir el estrés asociado a la limitación del agua.

MAGNITUD DE LA PLASTICIDAD FENOTÍPICA Y SU ALTERACIÓN EN LA ONTOGENIA

Contrario a nuestra hipótesis y al planteamiento de Wright y McConnaughay, 2002, no se observó una mayor PF en los caracteres morfológicos vs. los de asignación de biomasa, ambos grupos de caracteres fueron relevantes en la respuesta de *L. dulcis* al déficit hídrico. La PF difirió entre caracteres a lo largo de la ontogenia vegetativa, lo cual coincide con lo expuesto por Chambel *et al.*, 2005, quienes indicaron que la PF está asociada a caracteres específicos y a determinados factores ambientales. Por lo tanto, no todo carácter expresará plasticidad y poseerá la misma magnitud a un factor ambiental dado; la respuesta dependerá del tipo e intensidad de la restricción. El cambio en la magnitud de PF evaluada en los caracteres morfológicos y de asignación de biomasa para cada una de las edades ontogénicas; denota un cambio en la relevancia de los diferentes caracteres, el cual se ajusta y cambia según la edad ontogénica y la intensidad del déficit hídrico. Estos resultados corresponden con los hallazgos reportados por Camargo y Rodríguez, 2008, para plantas de *Lippia alba* y *Lippia organoides*, y sobre el cual; Wright y McConnaughay, 2002, señalan que muchos caracteres fenotípicos pueden variar en función del crecimiento y desarrollo ontogénico, y que el ambiente ejerce una fuerte influencia sobre el crecimiento y desarrollo, los cuales en sí mismos son muy plásticos. Dichas alteraciones se evaluaron en las interacciones W20 - W60 y W60 - W80, pues de acuerdo con el régimen hídrico cambia la expresión y PF de los diferentes caracteres, manteniendo como patrón una importante capacidad de ajuste arquitectural, morfológico y en biomasa entre los diferentes órganos que mantienen la eficiencia de la planta a lo largo de su desarrollo ontogénico.



Los resultados permitieron establecer que no se expresó una mayor PF en los caracteres morfológicos respecto a los caracteres de asignación de biomasa. *L. dulcis* desarrolló igual PF en ambos grupos de caracteres, con igual relevancia en la dinámica del ajuste plástico realizado ante la disponibilidad hídrica. *L. dulcis* expresó PF significativa en la alteración de la morfología radicular y foliar, así como en sus patrones de asignación de biomasa. La respuesta plástica significativa de los caracteres AFE, RAF y FMF durante la reducción de la humedad en el suelo, demuestran que ya con niveles moderados de humedad *L. dulcis* produce ajustes plásticos arquitecturales y morfológicos que le permiten evadir dicho estrés. El AFE fue el carácter con menor capacidad de ajuste plástico de las plantas de *L. dulcis* al déficit hídrico; por lo contrario, los caracteres, FMF (39 días), RAF y LRM (45 días), NH y FMF (día 66). Caracteres cuya expresión fenotípica sería fundamental en la capacidad de las plantas de *L. dulcis* de responder y evadir el déficit hídrico, mediante estrategias de ajuste en sus patrones de distribución de biomasa y en la morfología de sus órganos. Los modelos de asignación y forrajeo óptimo no son mutuamente excluyentes en la respuesta a la disponibilidad hídrica. El modelo de asignación óptima guió la respuesta alométrica en la asignación de biomasa de las hojas y raíz; la reducción en el AFE, NH, LRM y RAF, sería una estrategia que disminuiría la superficie de transpiración, como importante mecanismo que mejora el uso del agua, y que permite evadir eficientemente el déficit hídrico. El incremento en la LR y en la R/F validan los modelos confrontados, al actuar como estrategia que maximiza la capacidad de absorción del agua. Aun cuando *L. dulcis* es una especie restringida a condiciones de humedad estables, exhibe una notable capacidad de evasión al déficit hídrico, al poseer una importante PF que le permite alterar sus patrones de asignación de biomasa y la morfología de sus órganos de manera eficiente, característica que en su hábitat natural le conferiría una potencial ventaja funcional competitiva y adaptativa a la limitación en la humedad del substrato, lo cual repercutiría en su éxito ecológico.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Biólogo Iván Darío Camargo-Rodríguez por sus sugerencias e invaluable colaboración, al Doctor Fernando Valladares por su gentil colaboración, suministro de bibliografía y sugerencias, a la Doctora Rosa Urich por sus críticas y lectura del manuscrito; a COLCIENCIAS (CO - 432) - CENIVAM por el apoyo financiero para la ejecución del proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

- AERTS R. Interspecific competition in natural plant communities: mechanisms, trade-offs and plant-soil feedbacks. *J Expl Bot.* 1999;50:29-37.
- BAKR EM. A new software for measuring leaf area, and area damaged by *Tetranychus urticae* Koch. *J Appl Ent.* 2005;129:173-175.
- BAZZAZ FA. Habitat selection in plants. *Am Nat.* 1991;37:116-130.
- BELL DL, SULTAN SE. Dynamic Phenotypic Plasticity for Root Growth in *Polygonum*: a comparative study. *Am J Bot.* 1999;86:807-819.
- BLONDEL J, ARONSON J. *Biology and wildlife of the Mediterranean region.* New York: Oxford University Press; 1999.



BLOOM AJ, CHAPIN FS, MOONEY HA. Resource limitation in plants-an economic analogy. *Ann Rev Ecol Syst.* 1985;16:363-392.

CAIN ML, DUDLEY DA, EVANS JP. Spatial models of foraging in clonal plant species. *Am J Bot.* 1996;83:76-85.

CALDWELL MM, MANWARING JH, JACKSON RB. Exploitation of phosphate from fertile soil microsites by three Great Basin perennials when in competition. *Funct Ecol.* 1991;5:757-764.

CALLAWAY RM, PENNINGS SC, RICHARDS CL. Phenotypic plasticity and interactions among plants. *Ecology.* 2003;84:1115-1128.

CAMARGO ID, RODRIGUEZ N. New perspectives to study the biomass allocation and its relationship with the functioning of plants in neotropical ecosystems. *Acta biol Colomb.* 2006;11:75-87.

CAMARGO A, RODRÍGUEZ N. Respuestas fenotípicas de *Lippia alba* y *Lippia organoides* (VERBENACEAE) a la disponibilidad de agua en el suelo. *Acta biol Colomb.* 2008;13:133-148.

CAMPBELL BD, GRIME JP, MACKEY JML. A trade-off between scale and precision in resource foraging. *Oecologia.* 1991;87:532-538.

CHAMBEL MR, CLIMENT J, ALÍA R, VALLADARES F. Phenotypic plasticity: a useful framework for understanding adaptation in forest species. *Invest Agrar: Sist Recur For.* 2005;14:334-344.

COMPADRE CM, PEZZUTO JM, KINGHORN AD, KAMATH SK. Hernandulcin: an intensely sweet compound discovered by review of ancient literature. *Science.* 1985;227:417-419.

DERNER JD, BRISKE DD. Does a tradeoff exist between morphological and physiological root plasticity? A comparison of grass growth forms. *Acta Oecol.* 1999;20:519-526.

DEWAR RC. A root: shoot partitioning model based on carbon-nitrogen-water interactions and Münch phloem flow. *Funct Ecol.* 1993;7:356-368.

DEWITT TJ, SCHEINER SM. Phenotypic variation from single genotypes. En: DeWitt TJ, Scheiner SM, eds. *Phenotypic plasticity: functional and conceptual approaches.* Oxford, UK: Oxford University Press; 2004. p. 1-9.

ESPELETA JF, DONOVAN LA. Fine root demography and morphology in response to soil resources availability among xeric and mesic sandhill tree species. *Funct Ecol.* 2002;16:113-121.

EVANS GC. *The quantitative analysis of plant growth.* Berkley, California: University of California Press; 1972.

GONZÁLEZ AV, GIANOLI E. Morphological plasticity in response to shading in three *Convolvulus* species of different ecological breadth. *Acta Oecol.* 2004;26:185-190.

HODGE A. Plastic plants and patchy soils. *J Expl Bot.* 2006;57:401-411.

KHURANA E, SINGH JS. Influence of seed size on seedling growth of *Albizia procera* under different soil water levels. *Ann Bot.* 2000;86:1185-1192.

LARCHER W. *Physiological plant ecology. Ecophysiology and stress physiology of functional groups.* Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg; 1995.

LAWLOR DW, CORNIC G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant Cell Environ.* 2002;25:275-294.



LAWLOR DW, TEZARA W. Causes of Decreased Photosynthetic Rate and Metabolic Capacity in Water-deficient Leaf Cells: A Critical Evaluation and Integration of Mechanisms and Processes. *Ann Bot.* 2009;103:561-579.

LEVITT J. Responses of plants to environmental stresses. New York: Academic Press; 1980.

LIU F, STÜTZEL. Biomass partitioning, specific area, and water use efficiency of vegetable amaranth (*Amaranthus* sp.) in response to drought stress. *Sci Hortic.* 2004;102:15-27.

McCONNAUGHAY K, COLEMAN J. Biomass allocation in plants: ontogeny or optimality? A test along three resources gradients. *Ecology.* 1999;80:2581-2593.

OGAYA R, PEÑUELAS J. Contrasting foliar responses to drought in *Quercus ilex* and *Pillyrea latifolia*. *Biol Plant.* 2006;50:373-382.

ORELLANA AD, MARTÍNEZ JV, CÁCERES A. Agrotecnología para el cultivo del orozu o hierba dulce. En: Martínez JV, Bernal HY, Cáceres A, editores. Fundamentos de agrotecnología de cultivo de plantas medicinales Iberoamericanas. Publicación del Convenio Andrés Bello (CAB) y Tecnología para el desarrollo (CYTED). Santafé de Bogotá, D. C., Colombia; 2000. p. 269-276.

PASSIOURA JB. Physiology and determination of crop yields. En: Boote *et al.* editors. The yield of crops in relation to drought. ASA. Canberra Australia: CSIRO; 1994. p. 343-359.

PAZ H. Root/Shoot Allocation and Root Architecture in Seedlings: Variation among forest sites, microhabitats, and ecological groups. *Biotropica.* 2003;35:318-332.

PIGLIUCCI M, SCHLICHTING C. Ontogenetic reaction norms in *Lobelia siphilitica* (Lobeliaceae): response to shading. *Ecology.* 1995;76:2134-2144.

PIGLIUCCI M. Phenotypic Plasticity: Beyond Nature and Nurture. Baltimore: John Hopkins University Press; 2001.

POORTER H, NAGEL O. The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO₂, nutrients and water: a quantitative review. *Aust J Plant Physiol.* 2000;27:595-607.

RYSER P, EEK L. Consequences of phenotypic plasticity vs. interspecific differences in leaf and root traits for acquisition of aboveground and belowground resources. *Am J Bot.* 2000;87:402-411.

SCHLICHTING CD, PIGLIUCCI M. Phenotypic evolution: a reaction norm perspective. Sinauer Associates, Sunderland; 1998.

SOUTO FA, DE JESUS M, CARDENAS OE, ACUÑA MF, MELENDEZ PA, ROMERO L. Terpenoid composition of *Lippia dulcis*. *Phytochem.* 1997;44:1077-1086.

TAIZ LY ZEIGER E. Fisiología vegetal (Traducción en español de la 3.ª edición Plant Physiology). Universidad Jaume I, Castellón. Editoriales Universitarias Españolas; 2006.

VALLADARES F, WRIGHT SJ, LASSO E, KITAJIMA K, PEARCY RW. Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from Panamanian rainforest. *Ecology.* 2000;81:1925-1936.

VALLADARES F. Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante. Ministerio de Medio Ambiente, EGRAF, S. A, Madrid; 2004. p. 191-223.

VALLADARES F, SÁCHEZ D, ZAVALA M. Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *J Ecol.* 2006;94:1103-1116.



VILLAR R, RUIZ-ROBLETO J, QUERO JL, POORTER H, VALLADARES F, MARAÑÓN T. Tasas de crecimiento en especies leñosas: aspectos funcionales e implicaciones ecológicas. En: Valladares F Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante. Ministerio de Medio Ambiente. Madrid: EGRAF, S. A.; 2004. p. 191-227.

WRIGHT S, MCCONNAUGHAY KDM. Interpreting phenotypic plasticity: the importance of ontogeny. *Plant Species Biol.* 2002;17:119-131.

WRIGHT GC, RAO RCN, FARQUHAR GD. Water-use efficiency and carbon isotope discrimination in peanuts under water deficit conditions. *Crop Sci.* 1994;34:92-97.

ZAR JH. *Biostatistical Análisis*. 4 ed. New Jersey. Prentice Hall, Inc; 1999.

