



Universidad de Concepción
Facultad de Ciencias Forestales
Programa de Magíster en Ciencias Forestales

**EFFECTO DE LA ADICIÓN DE AGUA Y NUTRIENTES EN EL CRECIMIENTO
E INTERCAMBIO GASEOSO DE *Quillaja saponaria* Molina (Quillajaceae)**



POR

NATALIA PAZ NAVARRO FUENZALIDA

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad de
Concepción para optar al grado académico de Magíster en Ciencias Forestales

Profesor Guía: Rafael Rubilar Pons

Septiembre 2020

CONCEPCIÓN – CHILE



© 2020. NATALIA PAZ NAVARRO FUENZALIDA

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento.

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS	V
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	VI
RESUMEN	VII
ABSTRACT	VIII
I. ANTECEDENTES DE <i>Quillaja saponaria</i> Molina	1
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES GENERALES DE QUILLAY	4
Taxonomía	4
Descripción general de la especie	5
Distribución territorial y asociaciones	9
Requerimientos ambientales	9
Estado de conservación	10
Interés económico	10
Normativa para su intervención o manejo	12
Silvicultura	12
ALGUNOS EXPERIMENTOS DE CONDICIONES CONTRASTANTES DE DISPONIBILIDAD HÍDRICA Y NUTRICIONAL REALIZADOS CON QUILLAY	14
Estudios de parámetros morfológicos	14
Estudios de parámetros fisiológicos	21
DISCUSIÓN	25
Efecto de la adición de agua y nutrientes en el crecimiento	25
Sobrevivencia y disponibilidad de agua y nutrientes	27
Efectos de la disponibilidad de agua y nutrientes en parámetros fisiológicos	28
CONCLUSIONES	32
BIBLIOGRAFÍA	34
I. EFFECT OF THE ADDITION OF WATER AND NUTRIENTS ON GROWTH EFFICIENCY, GAS EXCHANGE AND ESTABLISHMENT OF <i>Quillaja saponaria</i> Molina (Quillajaceae) UNDER FIELD CONDITIONS	41
ABSTRACT	41
INTRODUCTION	43
MATERIALS AND METHODS	47

Study site characteristics	47
Climate of the study area	48
Establishment of the study	49
Experimental design and treatments	50
Growth measurements	53
Growth, leaf area, and growth efficiency	53
Individual plant volume estimation	53
Leaf area estimation	54
Estimation of plant leaf area	54
Estimation of individual plant leaf area index	55
Individual plant growth efficiency estimates	56
Gas exchange measurements	56
Statistical and data analysis	56
RESULTS	59
Growth	59
Increase in volume, LAI and growth efficiency	61
Gas exchange	64
DISCUSSION	66
Growth and growth efficiency	67
Gas exchange	72
Growth, growth efficiency and gas exchange	74
CONCLUSIONS	78
REFERENCES	79



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Taxonomía de <i>Quillaja saponaria</i> Molina_____	5
Table 2.1 Physical and chemical properties of the soil o 0-150 cm deep_____	48
Table 2.2 Irrigation water amount applied weekly to each plant_____	52
Table 2.3 Mean \pm error standard of height (H), collar diameter (CD), volume per plant (VOL), individual plant leaf area index (LAI) and individual plant annual volume increment (VI) for each treatment at the end of the study period (July, 2019). Different letters in each column indicate significant differences between treatments (Tukey, $p < 0.05$)_____	59
Table 2.4 Comparison of the percentage gain between the mean of the treatments control, irrigation, fertilization and fertilization + irrigation for the variables H, CD, VOL, LAI and VI evaluated at the end of the study period (July 2019), corresponding to plants 1 year and 11 months of age_____	60
Table 2.5 Linear regression models between the leaf area index (LAI) and the annual volume increment (VI) for control, fertilization, irrigation, and fertilization + irrigation treatments in Quillay plants of 1 year and 11 months of age (17 months after establishment)_____	63

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

- Figura 1.1** Morfología general de *Quillaja saponaria* Molina. (a) ejemplar adulto en el secano costero de la región del maule, (b) flor y (c) fruto _____ 7
- Figure 2.1** Average monthly temperature ($^{\circ}\text{C}$) and accumulated rainfall (mm month^{-1}) for 2018 and 2019 at the site _____ 49
- Figure 2.2** Aerial view taken in March of 2019 showing the experimental design and distribution of treatments in each experimental unit, with the development of saplings 13 months after establishment _____ 51
- Figure 2.3** Individual plant annual volume increment (VI) versus individual plant leaf area index (LAI) (growth efficiency ratio). LAI estimated according to data from July 2019, and VI estimated according to the difference in VOL of June 2019, and July 2018 for the control, fertilization, irrigation, and the fertilization + irrigation treatments for the 1 year and 11 months-old plants _____ 62
- Figure 2.4** Means of gas exchange parameters of Quillay plants one year after planting for control (C) irrigation (I) and fertilization + irrigation (F+I) treatments. a) Net photosynthesis (A_n), b) stomatal conductance (g_s), c) transpiration (E), and d) instantaneous water use efficiency (WUE_i). Vertical lines correspond to the standard error ($n = 3$). Different letters in each column indicate significant differences between treatments (Tukey, $p < 0.05$) _____ 65

RESUMEN

Quillaja saponaria Molina (Quillay) es una especie arbórea, endémica de Chile, utilizada ampliamente en restauración ecológica y explotada con fines comerciales por la concentración de saponinas que presenta en toda su biomasa. Sin embargo, los antecedentes sobre las respuestas de Quillay ante condiciones contrastantes hídricas y nutricionales son escasos. Con el objetivo de aumentar el conocimiento sobre esta especie nativa y de alto potencial comercial, en la primera sección del presente documento se entregan antecedentes generales de Quillay, junto con una revisión, análisis y síntesis de estudios relacionados con sus respuestas ante condiciones diferentes de disponibilidad hídrica y nutricional. En la segunda sección de este documento se evaluó la respuesta morfofisiológica de Quillay para tratamientos aislados y combinados de fertilización (40 g N + 115 g K + 50 g P + 35 g Ca planta⁻¹) y riego estival (25% del déficit hídrico). La fotosíntesis neta aumentó en 26 veces para el tratamiento de fertilización + riego, respecto al tratamiento control. La eficiencia de crecimiento, respecto al tratamiento control, aumentó en 111% para el tratamiento fertilización + riego. Una condición fisiológica óptima se asegura con la adición hídrica, pero la adición de fertilizantes y riego produce una mayor productividad en Quillay.

ABSTRACT

Quillaja saponaria Molina (Quillay) is an arboreal species, endemic to Chile, widely used in ecological restoration and exploited for commercial purposes due to the concentration of saponins in all its biomass. However, background information on Quillay's responses to contrasting water and nutritional conditions is scarce. With the aim of increasing ecophysiological knowledge about this native species with high commercial potential, the first section of this document provides general information on Quillay, along with a review, analysis and synthesis of studies that have reported responses to manipulated conditions of water and nutritional availability. In the second section of this document, the morphophysiological response of Quillay was evaluated in a factorial field experiment testing the single and combined effects of fertilization (40 g N + 115 g K + 50 g P + 35 g Ca 19 plant⁻¹) and summer irrigation (25% of the deficit water) against a control treatment. Net photosynthesis increased 26 times for the fertilization + irrigation treatment, compared to the control treatment. Growth efficiency, compared to the control treatment, increased by 111% for the fertilization + irrigation treatment. An optimal physiological condition was ensured with the addition of water, but the addition of fertilizers and irrigation increased Quillay productivity.

I.

ANTECEDENTES DE *Quillaja saponaria* Molina

INTRODUCCIÓN

Quillaja saponaria Molina (Quillay) es considerada una de las especies arbóreas chilenas de mayor interés económico. Es una especie endémica de Chile y se distribuye desde la región de Coquimbo hasta la región de la Araucanía (Benedetti et al., 2000b). En el año 2019, las exportaciones de productos derivados de Quillay generaron alrededor de US\$ 21.5 millones (INFOR, 2020). El interés económico en la especie surge por la concentración de saponinas que presenta en toda su biomasa, dentro de los usos que destacan de las saponinas son sus propiedades de adyuvante en vacunas, fabricación de detergentes, espuma en bebidas, cosméticos, insumos agrícolas, explosivos, entre otros (Benedetti et al., 2000a; Neuenschwander, 1965; Rodríguez et al., 1983). Además, el Quillay es utilizado ampliamente en restauración ecológica por la alta tolerancia a condiciones de sequía, esto gracias a su estrategia de enraizamiento, donde el desarrollo de raíces profundas y gruesas le permiten mantener una buena condición hídrica (Ovalle et al., 2015).

Es fundamental conocer cómo distintos factores hídricos y nutricionales pueden influir y determinar el desarrollo de una especie vegetal para llevar a cabo un manejo óptimo en su establecimiento. Aunque Quillay es ampliamente utilizado en restauración ecológica y presenta un gran potencial económico, el conocimiento sobre sus respuestas frente a distintas condiciones hídricas o nutricionales es aún escaso.

La mayor parte de los estudios realizados con Quillay han evaluado el desarrollo que presenta bajo diferentes dosis de riego y fertilizante (Ovalle et al., 2016a y 2016b; Valenzuela, 2007), la sobrevivencia y el crecimiento ante diferentes regímenes hídricos (Becerra et al., 2013; Gotor, 2008; Ovalle et al., 2015) y en menor medida, se han evaluado parámetros de intercambio gaseoso (Brito et al., 2014; Donoso et al., 2011; Ovalle et al., 2016b). Sin embargo, es necesario sintetizar la información disponible para simplificar el desarrollo de investigaciones futuras y a la vez realizar un correcto manejo del Quillay. En base a lo anteriormente expuesto, en la primera sección de esta tesis se presenta una revisión de los antecedentes generales de Quillay, junto con una revisión de algunos estudios respecto a factores ambientales limitantes y su efecto en el crecimiento y desarrollo de Quillay.

Finalmente, para comprender la respuesta a la adición de agua y nutrientes a nivel morfológico y fisiológico de Quillay, en la segunda sección de esta tesis se

presenta la investigación desarrollada en condiciones de campo para evaluar el crecimiento, el intercambio gaseoso y la eficiencia de crecimiento de Quillay ante condiciones contrastantes de adición hídrica y nutricional para plantas entre los 6 y 23 meses de desarrollo. Por medio de esta investigación se evidencian las diferencias en crecimiento de Quillay, su relación de eficiencia de crecimiento y adicionalmente la remoción de factores limitantes y su impacto en los parámetros fisiológicos de la especie. De esta manera se espera que el presente documento sirva de base para desarrollar un manejo silvícola adecuado de Quillay según las condiciones y objetivos de su establecimiento.



ANTECEDENTES GENERALES DE QUILLAJA

Taxonomía

Las únicas especies pertenecientes al género *Quillaja* son *Quillaja saponaria* Molina y *Q. brasiliensis* (A. St. Hilaire & Tulasne) C. Martius, que se diferencian principalmente por sus distribuciones. Es posible encontrar individuos de *Q. brasiliensis* en el sur de Brasil, norte de Uruguay, noreste de Argentina y este de Paraguay, mientras que *Q. saponaria* es considerada endémica de Chile (Luebert, 2014).



El género *Quillaja* ha sido históricamente incluido dentro de la familia de las Rosáceas (Hoffmann, 1982; MMA, 2020; San Martín y Briones, 1999). Sin embargo, por las características químicas de la biomasa de las especies del género, como la presencia de saponinas (Bate-Smith, 1965), algunos rasgos anatómicos florales (Eyde, 1975) y el número de cromosomas que presenta el género *Quillaja* ($n = 14$) (Goldblatt, 1976), este se distingue respecto a los otros miembros de las Rosáceas. El género *Quillaja* posee su propia familia: Quillajaceae, donde junto con las familias Surinaceae, Poligalaceae y Fabaceae pertenecen al orden Fabales (Tabla 1) (APG, 1998; Rodríguez et al., 2018).

Tabla 1. Taxonomía de *Quillaja saponaria* Molina

Reino	Plantae
Filo	Tracheophyta
Clase	Magnolipsida
Orden	Fabales
Familia	Quillajaceae
Género	<i>Quillaja</i>
Especie	<i>Quillaja saponaria</i> Molina
Sinonimia	<i>Quillaja molinare</i> DC., <i>Quillaja poeppigii</i> Walp., <i>Smegmadermos emarginatus</i> Ruiz & Pav., <i>Semegmaria emarginata</i> (Ruiz & Pav.) Willd.
Nombre común	Quillay
Mapudungun	Küllai

Descripción general de la especie

Quillay es un árbol polígamo-monoico (hermafrodita), siempreverde, intolerante a la sombra, de 15-30 m de altura y fuste de hasta 1,5 m de diámetro (Rodríguez et al., 1983; Vita, 1974) (Figura 1a).

Hojas. Quillay generalmente presenta hojas de 2-4 cm de largo y de 1-3 cm de ancho. Son perennes, simples, alternas, coriáceas, elípticas, glabras, lustrosas y de color verde claro. Presentan margen entero o levemente denticulado y el pecíolo generalmente alcanza los 2 mm de largo (Rodríguez et al., 1983).

Flor y fruto. La flor de Quillay es blanca y aplanada, de 1-1,5 cm de diámetro, dispuestas en corimbos terminales, solitarias o sobre pedúnculos axilares con 3-

5 flores. La polinización es realizada principalmente por insectos (Hoffman, 1982) (Figura 1b). El fruto corresponde a un polifolículo de 2-5 cm de diámetro, el cual presenta cinco folículos bivalvos de 1,3 cm de largo y 5-6 mm de diámetro dispuestos de forma estrellada. Al interior de estos folículos se encuentran las semillas (Rodríguez et al., 1983) (Figura 1c).

Semillas. Las semillas de Quillay poseen entre 5-7 mm de largo y 1-2 mm de ancho, terminan en un ala membranacea de 6-7 mm de largo y de 4-5 mm de ancho (Hoffmann, 1982; Rodríguez et al., 1983). El número de semillas por kilogramo de muestra de semillas puras varía entre 120.000-250.000. La semilla no necesita pretratamiento para su germinación y su capacidad germinativa se encuentra entre 22 y 80% (Vita, 1970).

Corteza y madera. La corteza de Quillay es grisácea y rasgada longitudinalmente. La madera es blanda, de color crema y calidad regular, utilizada en implementos agrícolas, como carbón y en artesanías para confección de estribos y tallados (Orellana y Fischer, 1976; Rodríguez et al., 1983).



Figura 1. Morfología general de *Quillaja saponaria* Molina. (a) Ejemplar adulto en el secano costero de la región del Maule, (b) Flor y (c) Fruto

Raíz. El sistema radicular de Quillay consiste, principalmente, en el desarrollo de raíces profundas con pocas raíces laterales. Las raíces principales alcanzan profundidades cercanas a los 10 m (Giliberto y Estay, 1978).

Desarrollo. El desarrollo de Quillay está condicionado tanto por la edad de la planta como por su ubicación. En estado natural se han reportado incrementos en altura entre 10-30 cm año⁻¹ en etapa juvenil (5-25 años), y en edades avanzadas, sobre los 50 años, el crecimiento disminuye entre 10-20 cm año⁻¹

(Benedetti et al., 2000a; Toral y Rosende, 1986). El incremento en diámetro fluctúa entre los 0,4-0,9 cm año⁻¹ (Benedetti et al., 2000a; Vita, 1974). Para el caso de crecimiento en altura y en diámetro ante condiciones de riego pueden alcanzar los 90 cm año⁻¹ y 1,2 cm año⁻¹, respectivamente (Benedetti et al., 2000b).

Reproducción. En Quillay se distinguen dos tipos de individuos, los polígamo-monoicos, en los que la inflorescencia se compone por una flor central hermafrodita y flores laterales estériles por aborto del ovario, y otros individuos en que toda la inflorescencia es hermafrodita (Rodríguez et al., 1983). El Quillay se reproduce por semillas y de manera vegetativa, en esta última se destaca la regeneración a partir de tocón (Vita, 1974), además de la posible la propagación a través de estacas (Mera, 1990).

Ciclo de vida. Floración y polinización entre octubre y enero, formación y maduración del fruto entre enero y marzo, diseminación de semillas entre febrero y mayo; con rotaciones naturales de 100-150 años (Alvarado y Levet, 2014).

Plagas y enfermedades. Dentro de los principales agentes dañinos de Quillay se encuentran los insectos *Callideriphus laetus* Blanchard (Coleóptera, Cerambycidae) (Taladrillo del peumo), *Diaspidis chilensis* Howard (Homóptera, Diaspididae) (Conchuela), *Melanospis sitreana* (Homóptera, Diaspididae)

(Conchuela), *Procalus viridis* Philippi y Philippi (Coleóptera, Chrysomelidae), *Psathyrocerus pallipes* Blanchard (Coleóptera, Chrysomelidae), *Rhyephenes humeralis* Guérin-Méneville (Coleóptera, Curculionidae) (Marinerito del nogal), *Syncirsodes primata* Walker (Lepidóptera, Geometridae) y *Tettigades chilensis* Amyot y Serville (Homóptera, Cicadidae) (Chicharra). También se encuentra la planta parásita *Cuscuta* sp. (Convolvulaceae) (Cabello de ángel) y el hongo *Capnodium* sp. (Capnodiaceae) (Fumagina) (Correa y Martínez, 2013). Además, cuando el tallo no se encuentra lignificado es atacado por lagomorfos, lo que ocasiona gran disminución en la regeneración natural (Orellana y Fischer, 1976).



Distribución territorial y asociaciones

El Quillay se categoriza como perteneciente al tipo forestal Esclerófilo (Donoso, 1981). Se desarrolla en la cordillera de Costa, Valle Central y cordillera de los Andes, desde los 15 hasta los 1.600 msnm, desde la región de Coquimbo hasta la región de la Araucanía (Benedetti et al., 2000b; Rodríguez et al., 1983; Vita, 1974). Además, se reconoce al Quillay como especie asociada a los tipos forestales Palma chilena, Roble-Hualo y Ciprés de la Cordillera (Donoso, 1981).

Requerimientos ambientales

El Quillay es un árbol adaptado a ambientes estériles y secos, como también a sitios frescos y húmedos donde tolera nevazones y heladas. En el Valle Central crece en lugares soleados y en faldeos de cerros, principalmente, secos y con

escasa vegetación (Hoffman, 1982; Rodríguez et al., 1983). Además, se reconoce a Quillay como capaz de desarrollarse en zonas marginadas al uso forestal por *Pinus radiata* D. Don y *Eucalyptus globulus* Labill (Vita, 1974). Las temperaturas mínimas en las que se desarrolla Quillay oscilan entre los -3 a 9°C, y entre 16 a 31°C para las temperaturas máximas. Las precipitaciones varían desde los 104-1500 mm anuales en su rango de distribución, desde el norte y sur respectivamente (del Fierro, 1998; Vita, 1970). Además, crece en diversos tipos de suelos, en suelos profundos y planos puede alcanzar alturas de hasta 30 m y diámetro a la altura del pecho de 1,5 m (Vita, 1966).



Estado de conservación

En el ámbito nacional el Quillay se encuentra sin ser clasificado por el Reglamento de Clasificación de Especies Silvestres (RCE). Internacionalmente, la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) clasifica al Quillay bajo la categoría de preocupación menor, ya que presenta una gran población, con una distribución muy amplia y ausencia de amenazas significativas futuras (BGCI y IUCN SSC, 2018).

Interés económico

El Quillay es de las especies nativas arbóreas de mayor interés económico por la concentración de saponinas que presenta en toda su biomasa, con valores promedio de concentración de saponinas para cada componente arbóreo de 10-

19% en corteza, 10% ramas, 8,8% fuste y 6,1% follaje (Toral y Rosende, 1986). Además, la miel proveniente del néctar de Quillay es cotizada internacionalmente, lo que hace a la producción de miel monofloral una opción productiva de interés (Cruz, 2013). Sin embargo, la explotación de la especie radica en los diversos usos de las saponinas, que corresponden a dos grandes categorías: 1) En forma doméstica para lavar ropa, como champú o preservación de vestimenta, y 2) De manera industrial para fabricar detergentes en la industria textil, como sustituto de jabón, espuma en diferentes tipos de bebidas, emulsionante de grasas y aceites, dentífricos, revelador fotográfico, estimulador de crecimiento de animales, adyuvante de vacunas, pesticida, productos cosméticos, películas para rayos X, extintores, explosivos, reducción de malos olores en criaderos, entre otros (Benedetti et al., 2000a; Neuenschwander, 1965; Rodríguez et al., 1983). El Quillay además es ampliamente utilizado en programas de forestación, como especie ornamental, en cortinas cortavientos o uso silvopastoral ya que forma masas abiertas que permiten el desarrollo de herbáceas bajo dosel (Mera, 1990; Vita, 1981).

Para el año 2019 las exportaciones de la especie generaron US\$ 21,5 millones con un volumen total de 4.048 t, correspondientes en un 100% a productos forestales no madereros (INFOR, 2020).

Normativa para su intervención o manejo

La explotación del Quillay está regulada por el Decreto Supremo N° 366 de 1944 del Ministerio de Tierras y Colonización. Para realizar labores de corta, explotación o descegado de la especie, se debe pedir permiso al Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) en la oficina regional correspondiente.

Silvicultura

Vita (1974) señala que la explotación de Quillay, para la obtención de saponinas, radicaba en el volteo del árbol, extracción de la corteza y con la biomasa restante se fabricaba carbón. Sin embargo, desde el año 1997 comenzó a aplicarse un proceso de producción industrial que utilizaba además de la corteza, fustes y ramas (Cruz, 2013). De esta manera, el método silvícola tradicionalmente empleado para la extracción de la corteza del Quillay consiste en la corta selectiva de ejemplares (Benedetti et al., 2000a).

Acorde al artículo N°40 del Título II del reglamento general del decreto ley N° 701, de 1974, sobre fomento forestal (Ministerio de Agricultura 1998), para aplicar el método de corta selectiva se permite una extracción máxima del 35% del área basal del rodal. No obstante, al considerar los largos períodos de rotación que conlleva este manejo (corta selectiva) en Quillay (sobre los 30 años), Cruz (2013) propone aplicar un sistema de monte bajo o monte medio con el objetivo de producir biomasa a nivel industrial, esto por la adecuación a la estructura actual

de los bosques naturales con Quillay y a la capacidad de regeneración por rebrote de la especie. Al emplear este esquema silvícola se permite la utilización de todo el material leñoso de fustes y ramas de pequeñas dimensiones, lo que disminuiría los períodos de rotación.

El esquema propuesto por Cruz (2013) considera un ciclo periódico de 3-6 años, acorde al sitio, que debe considerar las siguientes intervenciones: 1) Cosecha de árboles seniles con problemas sanitarios para estimular la regeneración de tocón, 2) Raleo de retoños de tocón, donde se mantienen los individuos sanos, de buena forma y de diámetros menores a 12 cm, 3) Podas periódicas para facilitar la cosecha y el transporte, 4) Mantención de individuos de distintas clases de edad para la producción de semillas, fines paisajísticos, refugio para fauna, mantención de biodiversidad, protección de cursos de agua y suelo, y 5) Enriquecimiento con especies esclerófilas para aumentar cobertura y biomasa del bosque y mantener la estructura de monte medio.

ALGUNOS EXPERIMENTOS DE CONDICIONES CONTRASTANTES DE DISPONIBILIDAD HÍDRICA Y NUTRICIONAL REALIZADOS CON QUILLAY

Estudios de parámetros morfológicos

Uno de los factores más limitantes del crecimiento, distribución y composición de las especies que se desarrollan en clima mediterráneo es el estrés hídrico (Otieno et al., 2005). Gotor (2008) al considerar que las hojas son las principales reguladoras de procesos metabólicos y de biosíntesis de las plantas, con el objetivo de conocer los cambios anatómicos que en ellas se producen, caracterizó y comparó variables anatómicas foliares de individuos de dos años de edad de *Q. saponaria*. Las plantas se encontraban en macetas de 9 L de capacidad con mezcla de sustrato conformado por suelo del lugar (40%), perlita (30%) y arena (30%), ante condiciones climáticas naturales en Santiago, región Metropolitana, donde predomina un clima de tipo mediterráneo; los tratamientos comparados correspondieron a plantas sometidas a riego permanente (contenido hídrico del sustrato (CHS) entre 90 y 100%) y restricción hídrica (CHS entre 30 y 40%). Acorde a sus resultados, cambios significativos se produjeron en las hojas juveniles entre tratamientos, con aumentos del espesor de la cutícula (13%) y de la hoja (38%), y disminuciones de la densidad del parénquima de empalizada (39%) y esponjoso (15%) para la condición de restricción hídrica respecto a la

condición con riego permanente. En cambio, en las hojas adultas sólo disminuyó significativamente el espesor de las hojas (4%) para el tratamiento de restricción hídrica en comparación a aquellas bajo riego permanente.

Donoso et al. (2011) evaluaron el desarrollo de plantas de 2 años de edad de *Q. saponaria* bajo diferentes regímenes hídricos (riego permanente (CHS entre 75 y 100%) y restricción hídrica (CHS entre 30 y 40%)). Las plantas se encontraban en macetas de 9 L de capacidad con mezcla de sustrato conformado por suelo del lugar (40%), perlita (30%) y arena (30%) ante condiciones climáticas naturales en Santiago, región Metropolitana. Sus resultados indican que las variables de crecimiento presentaron diferencias significativas, con valores de crecimiento en DAC de 0,0 vs. 2,2 mm y en longitud de 2,6 vs. 12,0 cm, para el tratamiento de restricción hídrica y el con riego permanente, respectivamente. Para la distribución de biomasa seca hubo diferencias significativas entre regímenes hídricos para todos los componentes; con valores de biomasa foliar, de ramas y radicular de $43,0 \pm 7,3$ vs. $7,5 \pm 2,2$ g, $42,7 \pm 4,5$ vs. $19,5 \pm 2,5$ g y $43,5 \pm 3,4$ vs. $20,6 \pm 1,8$ g para el tratamiento de riego permanente y restricción hídrica, respectivamente. La relación biomasa aérea/biomasa radical (BA/BR), presentó diferencias no significativas entre el tratamiento de riego permanente ($2,0 \pm 0,4$) y el de restricción hídrica ($1,4 \pm 0,3$).

Becerra et al. (2013) evaluaron el efecto del riego (0 y 8 L planta⁻¹ mes⁻¹) y de la edad de las plantas (1 y 4 años de edad) en la sobrevivencia y el crecimiento en altura de individuos de *Q. saponaria* plantados en un depósito de cenizas de carbón cubierto por una capa de suelo del lugar de aproximadamente 0,8 m; ante condiciones climáticas naturales en la zona costera de Puchuncaví, región de Valparaíso, donde predomina un clima de tipo mediterráneo. Según los resultados la sobrevivencia de *Q. saponaria* fue mayor en las plantas de cuatro años que en las plantas de un año de edad, tanto para la condición de adición hídrica como para aquella sin riego. Sólo en esta última condición la diferencia fue significativa, con valores de sobrevivencia cercanos a 80 y 50% para las plantas de 4 y 1 año de edad, respectivamente. El incremento en altura presentó diferencias que no fueron significativas entre tratamientos de riego y edad de las plantas, con valores entre los 7 y 22 cm.

Ovalle et al. (2015) evaluaron el efecto de la escasez hídrica sobre la sobrevivencia, el crecimiento y variables morfológicas radiculares de individuos de 3 años de edad de *Q. saponaria* plantados en suelo de textura franco arenosa (73% arena, 20% limo y 7% arcilla) ante condiciones climáticas naturales en el valle de Curacaví, región Metropolitana, donde predomina un clima de tipo mediterráneo. Dentro de sus resultados se observaron diferencias entre regímenes hídricos (0 y 2 L planta⁻¹ semana⁻¹) para las variables de sobrevivencia y crecimiento en DAC y en longitud, sin embargo, estas no fueron significativas.

Los valores obtenidos para sobrevivencia, DAC y altura promedio, para el tratamiento de adición y restricción hídrica son de 100 vs. 96%, 23 vs. 24 mm y de 2,4 vs. 2,2 m, respectivamente. Respecto a la biomasa radicular, no hubo diferencias significativas y fue inferior para el tratamiento de riego ($147,2 \pm 21,3$ g) respecto al tratamiento de restricción hídrica ($158,1 \pm 12,0$ g). La relación BA/BR fue significativamente superior para el tratamiento con riego ($9,7 \pm 0,9$) respecto al tratamiento de restricción hídrica ($5,5 \pm 0,3$).

Valenzuela (2007) estudió los efectos de diferentes tratamientos de riego (0 y 5 L planta⁻¹ mes⁻¹) y fertilización en la sobrevivencia y crecimiento de individuos de 3 años de edad de *Q. saponaria* plantados ante condiciones climáticas naturales en Melipilla, región Metropolitana, en suelo de tipo granítico. El riego favoreció por sí solo la sobrevivencia de las plantas, con valores promedio de 98%, mientras que la fertilización, en ausencia de riego, presentó valores promedio de 90%. El DAC y la altura alcanzaron los mayores incrementos para la adición de riego en conjunto con fertilización (110 g planta⁻¹ compuestos por 30 g de Urea [CO(NH₂)₂], 30 g de Superfosfato Triple [Ca(H₂PO₄)₂·H₂O], 30 g de Sulfato de Potasio [K₂SO₄] y 20 g de Boronatro de Calcita [CaNaB₅O₉·H₂O], con valores promedio de 4,9 mm y 23,9 cm, respectivamente. La sobrevivencia e incrementos en altura fueron significativamente mayores para la condición de adición hídrica respecto a la condición sin riego, con valores promedio de 98 vs. 92% y de 22 vs.

16 cm, respectivamente. Para el incremento en DAC las diferencias entre tratamientos no fueron significativas con valores entre 3,5 a 4,9 mm.

Ovalle et al. (2016a) evaluaron el efecto de distintas dosis de riego (0 y 2 L planta⁻¹ semana⁻¹) en campo y de la aplicación de fertilizante (17 g planta⁻¹ de fertilizante de liberación controlada Basacote® Plus (12M) [NH₄ + NO₃ + P₂O₅ + K₂O + MgO] en diferentes ubicaciones dentro del perfil de suelo (0, 15 y 30 cm), en el desarrollo de individuos de 25 meses de edad de *Q. saponaria*. La fertilización se realizó en etapa de vivero sólo una vez cuando las plantas tenían 6 meses de edad y se encontraban en bolsas de polietileno de 400 cm³, además todas las plantas se regaban 3 veces a la semana con dosis de 0,2 L planta⁻¹, posteriormente, a los 14 meses de edad estas fueron plantadas en campo, en suelo de textura franco arcillosa, ante condiciones climáticas naturales en Santiago, región Metropolitana. El mayor incremento en DAC se obtuvo para el tratamiento de adición de fertilizante a 30 cm y riego (21,45 ± 1,23 mm), mientras que los menores incrementos los presentó el tratamiento control (sin adición de fertilizante) tanto para la condición de adición hídrica (11,15 ± 1,51 mm) como para la de restricción hídrica (10,11 ± 1,45 mm). La mayor altura se presentó en la localización de fertilizante a 15 cm con 63,44 ± 1,76 cm, y la menor para el tratamiento control con 50,91 ± 2,09 cm. La altura para la condición de adición hídrica fue significativamente superior (60,79 ± 1,31 cm) respecto a aquella sin riego (54,97 ± 1,32 cm).

Adicionalmente, la biomasa aérea (BA) registrada por Ovalle et al. (2016a) fue significativamente superior ($30,45 \pm 0,89$ g) para la ubicación de fertilizante a 15 cm respecto a los demás tratamientos, independiente de la condición de adición hídrica. La BA fue significativamente inferior para el tratamiento control ($17,25 \pm 1,03$ g) respecto a las localizaciones de fertilizante a 0 y 15 cm. Por otra parte, entre los tratamientos hídricos hubo diferencias significativas para la BA, donde el tratamiento con riego presentó BA de $25,03 \pm 0,59$ g, mientras que el tratamiento sin riego presentó BA de $20,78 \pm 0,43$ g. La biomasa radicular (BR) en condición sin riego y ubicación de fertilizante a los 15 y 30 cm fue significativamente superior respecto a la localización de fertilizante en superficie (0 cm), con valores de $21,51 \pm 3,20$ y $24,30 \pm 2,50$ g, respectivamente. La relación BA/BR del tratamiento con adición de fertilizante en superficie y riego, fue significativamente mayor (2,6) respecto a los demás tratamientos. El tratamiento que presentó una relación BA/BR significativamente inferior (0,7) fue el de fertilización a los 30 cm y sin riego.

Ovalle et al. (2016b) determinaron la relación entre la dosis de fertilización en vivero (0, 3, 6 y 12 g L⁻¹ de fertilizante de liberación controlada Basacote® Plus (12M) [NH₄ + NO₃ + P₂O₅ + K₂O + MgO]), el crecimiento y el desarrollo de rasgos para evitar la sequía de individuos de 25 meses de edad de *Q. saponaria* con regímenes hídricos contrastantes (0 y 2 L planta⁻¹ semana⁻¹) en campo. La

fertilización se realizó sólo una vez en etapa de vivero, cuando las plantas tenían 6 meses de edad y se encontraban en bolsas de polietileno de 400 cm³, además todas las plantas se regaban 3 veces a la semana con dosis de 0,15 L planta⁻¹; al cumplir 14 meses de edad estas fueron plantadas en campo, en suelo de textura franco arcillosa, ante condiciones climáticas naturales en Santiago, región Metropolitana. Los autores señalan que, el valor medio de DAC para el tratamiento con riego y sin fertilización fue significativamente superior (11,0 mm) respecto a los demás tratamientos (valores entre 7,5 a 10,0 mm). Mientras que, la condición sin riego y la menor dosis de fertilización (3 g L⁻¹) presentó el DAC menor entre tratamientos, con un valor medio de 7,5 mm. La altura fue significativamente superior para el tratamiento de adición de fertilizante en dosis de 6 g L⁻¹, independiente de la condición de adición hídrica, con un valor de 41,46 ± 1,04 cm. Además, para el tratamiento de adición hídrica la altura fue significativamente superior (39,01 ± 1,33 cm) respecto a condiciones sin riego (35,96 ± 1,31 cm). La biomasa aérea (BA) fue significativamente superior (7,29 ± 0,12 g) para la dosis de fertilización de 12 g L⁻¹, respecto a las demás dosis de fertilización e independiente de la condición de adición hídrica. Por otra parte, la BA fue significativamente inferior para el tratamiento sin fertilización (4,96 ± 0,22 g) respecto a los demás tratamientos de fertilización, independiente de la condición de adición hídrica. El tratamiento con riego presentó BA significativamente superior (6,17 ± 0,16 g) respecto al tratamiento sin riego (5,69 ± 0,21 g).

En aquellos mecanismos, considerados por Ovalle et al. (2016b), de resistencia a la sequía las plantas sin fertilización y con riego presentaron un DAC significativamente mayor (11 mm) respecto a los demás tratamientos. La biomasa radicular fue significativamente superior en los tratamientos con riego sin fertilización y riego con la dosis más baja de fertilizante (3 g L⁻¹), con valores cercanos a 17 g. La relación BA/BR presentada por los tratamientos con adición de fertilizante nula y dosis de 3 g L⁻¹, ambos con riego, fue significativamente menor respecto a los demás tratamientos, con valores de 0,3 y 0,4, respectivamente.



Estudios de parámetros fisiológicos

Quillaja saponaria es una especie que destaca por su amplio rango de distribución y, por consiguiente, por las diversas condiciones ambientales y de disponibilidad de recursos que tolera, por esto las respuestas que presente en sus parámetros morfofisiológicos cambiarán acorde a su contexto. Dentro de los factores más determinantes en el desarrollo de las especies vegetales es la fotosíntesis, la cual en zonas mediterráneas es limitada, principalmente, por las altas temperaturas y sequías estivales, y las bajas temperaturas en invierno. En consecuencia, las máximas tasas de fotosíntesis en especies mediterráneas ocurren en primavera y otoño, mientras que en verano e invierno la disminución en la tasa de fotosíntesis depende de la especie y de las adaptaciones que esta

posea a diferentes condiciones climáticas (Flexas et al., 2014). Los bosques mediterráneos, como consecuencia de su alto déficit de presión de vapor, altas temperaturas y radiación, en verano presentan déficit hídrico (Peña-Rojas et al., 2004), lo que determina distintos aspectos del funcionamiento de las plantas, como sus parámetros fisiológicos. El déficit hídrico impone limitaciones en el crecimiento de las plantas, causadas principalmente por la reducción en el balance de carbono, el cual depende del balance entre la fotosíntesis y la respiración (Flexas et al., 2006). Al considerar las proyecciones de cambio climático en Chile, que señalan un aumento en las temperaturas y reducción de las precipitaciones, caudales y escorrentía superficial (MMA 2014), surge como prioridad conocer las respuestas fotosintéticas de las especies ante diferentes condiciones de disponibilidad de recursos.

Según Donoso et al. (2011), en individuos de 2 años de edad de *Q. saponaria* ante condiciones climáticas naturales y ubicados en macetas de 9 L de capacidad con regímenes hídricos contrastantes (riego (CHS entre 75 y 100%) y restricción hídrica (CHS entre 30 y 40%)) en Santiago, región Metropolitana; las variables fisiológicas como fotosíntesis neta, concentración interna de CO₂, conductancia estomática y potencial hídrico fueron significativamente menores para la condición de restricción hídrica que para aquella de riego constante. Se tiene que la fotosíntesis neta presentó valores cercanos a 2 y 10 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, la concentración interna de CO₂ valores de 150 y 220 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, la conductancia

estomática alrededor de los 0,01 y 0,13 mmol m⁻² s⁻¹, y el potencial hídrico valores en torno a -3,9 y -0,5 MPa, para la condición sin y con adición hídrica, respectivamente.

Acorde a Brito et al. (2014), las plantas de *Q. saponaria* de 2 años de edad ubicadas en bolsas de polietileno de capacidad de 2 L, con riego diario a capacidad de campo y protegidas de la radiación directa mediante malla raschel, en Santiago, región Metropolitana, presentaron valores de fotosíntesis neta de $14,2 \pm 0,8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, concentración interna de CO₂ de $336,6 \pm 3,7 \mu\text{mol mol}^{-1}$ y conductancia estomática de $250 \pm 18 \text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Ovalle et al. (2016a), evaluaron el efecto de distintas dosis de riego (0 y 2 L planta⁻¹ semana⁻¹) y de la aplicación de fertilizante (17 g planta⁻¹ de fertilizante de liberación controlada Basacote[®] Plus (12M) [NH₄ + NO₃ + P₂O₅ + K₂O + MgO] en diferentes ubicaciones dentro del perfil de suelo (0, 15 y 30 cm) en parámetros fisiológicos (fotosíntesis neta, conductancia estomática y potencial hídrico) de individuos de 25 meses de edad de *Q. saponaria* plantados en suelo de textura franco arcillosa en Santiago, región Metropolitana. Donde registraron diferencias significativas entre regímenes hídricos, y fueron significativamente superiores al haber adición de riego, y se tienen valores de $10,54 \pm 0,39 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $69,01 \pm 2,45 \text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y $-3,83 \pm 0,67 \text{MPa}$ para fotosíntesis neta, conductancia estomática y potencial hídrico, respectivamente. Entre las diferentes

localizaciones de fertilizante se presentaron diferencias significativas al final del período estival, el potencial hídrico para el tratamiento con fertilizante en superficie presentó los mayores valores ($-4,29 \pm 0,74$ MPa), mientras que la conductancia estomática y la fotosíntesis neta fueron superiores para el tratamiento sin fertilización con valores de $113,60 \pm 8,23$ mmol m⁻² s⁻¹ y $12,8 \pm 0,76$ μmol m⁻² s⁻¹, respectivamente.

Ovalle et al. (2016b) evaluaron parámetros fisiológicos en individuos de 25 meses de edad de *Q. saponaria*, los cuales fueron fertilizados en etapa de vivero con dosis de 0, 3, 6 y 12 g L⁻¹ de fertilizante de liberación controlada Basacote® Plus (12M) [NH₄ + NO₃ + P₂O₅ + K₂O + MgO] a los 6 meses de edad y, posteriormente, al cumplir 14 meses de edad fueron plantadas en campo con suelo de textura franco arcillosa con regímenes hídricos contrastantes (0 y 2 L planta⁻¹ semana⁻¹), esto en Santiago, región Metropolitana. Aquellas plantas sin fertilización y con riego presentaron el mayor valor de potencial hídrico ($-3,09 \pm 0,23$ MPa) durante el período de sequía, respecto a aquellos tratamientos de fertilización con o sin riego. Sin embargo, al comenzar el período lluvioso, los valores de potencial hídrico no presentaron diferencias entre tratamientos y se encuentran entre los -1,5 y -1,05 MPa.

DISCUSIÓN

Efecto de la adición de agua y nutrientes en el crecimiento

Se ha evidenciado que la altura presenta mayor crecimiento ante condiciones de adición hídrica (Becerra et al., 2013; Donoso et al., 2011; Ovalle et al., 2015, 2016a y 2016b; Valenzuela, 2007), y tanto para el DAC como la altura, al haber una combinación de riego y dosis de fertilización adecuada presentan los mayores crecimientos. Sin embargo, dosis de fertilización excesivas presentan efectos negativos en el desarrollo de la planta, aún al estar en combinación con riego (Valenzuela, 2007).



La adición hídrica por sí sola afecta de manera positiva y significativa el incremento en biomasa aérea (Donoso et al., 2011; Ovalle et al., 2016a y 2016b). Los tratamientos de fertilización y riego presentaron en todas las investigaciones reportadas los mayores incrementos en altura, en consecuencia, los incrementos en biomasa aérea también fueron mayores. Acorde a los resultados de Donoso et al. (2011) y Ovalle et al. (2016b), la adición hídrica influye de manera positiva en el desarrollo de biomasa radicular. Sin embargo, Ovalle et al. (2015) y Ovalle et al. (2016a) indican una mayor biomasa radicular para la condición de déficit

hídrico, lo que se atribuye al incremento en el desarrollo de raíces para aumentar la absorción de agua.

Según Donoso et al. (2011) la relación BA/BR es menor para el tratamiento de restricción hídrica, lo que coincide con lo reportado por Ovalle et al. (2015 y 2016a). Por el contrario, la relación BA/BR obtenida por Ovalle et al. (2016b) es menor para los tratamientos con adición hídrica, esto se relacionaría con la habilidad de repartición de biomasa de Quillay ante la transición del vivero a campo. Respecto a la disminución en la relación BA/BR ante condiciones de restricción hídrica, se atribuye a la defoliación presentada y el aumento en el desarrollo de raíces, como mecanismo de resistencia a la sequía (Donoso et al., 2011; Ovalle et al., 2016b).

En Quillay los cambios que se generen en las hojas dependerán de su estado de desarrollo, es decir si son juveniles o adultas. Una característica que destaca del Quillay, es que al estar bajo condiciones de sequía mantiene los brotes jóvenes y presenta como respuesta temprana la abscisión de sus hojas adultas, esto explicaría que el único cambio anatómico, en hojas adultas, sea la disminución de su espesor, producto de la disminución del agua en ellas para proveer un mejor estado hídrico a los nuevos brotes (Gotor, 2008). Por otra parte, Donoso et al. (2011) indican que la defoliación presentada por Quillay ante sequía provee una mejor condición hídrica a las hojas jóvenes y, junto con ello, mayores tasas

fotosintéticas. Esto complementa los resultados de Gotor (2008), donde las hojas juveniles aumentan el espesor de la hoja y, además, la densidad del parénquima de empalizada y esponjoso disminuye. En relación a esto, Colmenares-Arteaga et al. (2005) señalan que las disminuciones de la densidad de los parénquimas producen el aumento en grosor de la hoja, lo que se relaciona con un transporte más eficiente de agua.

Sobrevivencia y disponibilidad de agua y nutrientes

La sobrevivencia que presenta Quillay es alta, aún ante un estado de déficit hídrico. Valenzuela (2007) señala como sobrevivencia promedio un 90%, muy cercano al 96% de sobrevivencia expuesto por Ovalle et al. (2015) para condiciones sin riego en la región Metropolitana. Al respecto, Becerra et al. (2013) señalan que la sobrevivencia de Quillay está limitada de manera no significativa por la restricción hídrica y, junto con ello, que se encuentra dentro de las especies mediterráneas chilenas con mayor tolerancia a la sequía.

La alta sobrevivencia de Quillay se debería a su estrategia de enraizamiento, de raíces profundas, y a la defoliación presentada ante condiciones de restricción hídrica (Gotor, 2008). Esto se relaciona con la teoría de partición óptima de recursos, que indica que las plantas, ante condiciones de restricción hídrica, disminuyen las superficies transpirantes y aumentan la absorción de agua (Bloom et al., 1985; Ovalle et al., 2015).

Efectos de la disponibilidad de agua y nutrientes en parámetros fisiológicos

A través de la fotosíntesis las plantas fijan CO₂ y lo convierten en biomasa, por ende, mientras más fotosíntesis realicen más crecimiento presentan. Sin embargo, dentro de las respuestas que poseen las plantas mediterráneas a condiciones de estrés hídrico se encuentra el cierre estomático, factor considerado el principal limitante de la fotosíntesis ante condiciones de sequía (Mediavilla y Escudero, 2003). Adicionalmente, uno de los efectos más importantes al haber condiciones de estrés hídrico es la reducción de la tasa de fotosíntesis neta, concentración interna de CO₂, conductancia estomática y potencial hídrico, por lo que existe una estrecha relación entre la disponibilidad de agua y los parámetros fisiológicos (Luna, 2006). Ahora bien, las plantas mediterráneas tienen capacidades fotosintéticas similares a las de otras biomas y, en particular, son las especies mediterráneas esclerófilas de hoja perenne las que presentan los menores valores de conductancia estomática respecto a otras especies mediterráneas (Flexas et al., 2014).

Para Quillay la concentración interna de CO₂ registrada por Donoso et al. (2011) bajo riego suplementario (220 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) es bastante inferior a la registrada por Brito et al. (2014) (336 $\mu\text{mol mol}^{-1}$). Esta diferencia se relacionaría con las frecuencias de riego, ya que Donoso et al. (2011) mantenían el contenido hídrico del sustrato entre 75 y 100%, y Brito et al. (2014) regaban a diario a capacidad

de campo. Adicionalmente, la concentración interna de CO₂ es significativamente superior con riego, respecto a tratamientos de restricción hídrica (Donoso et al., 2011), esto se puede atribuye al cierre estomático presentado por las plantas ante condiciones de déficit hídrico.

La conductancia estomática registrada por distintos autores es muy diferente para cada condición, donde las plantas con riego diario son las que presentan los mayores valores de conductancia estomática (Brito et al., 2014). Donoso et al. (2011) registraron valores de conductancia estomática drásticamente inferiores, lo que se atribuye a la reducción del contenido hídrico foliar al aumentar el déficit hídrico, resultados que concuerdan con la conductancia estomática presentada por distintas especies mediterráneas, con valores cercanos a cero (Galmés et al., 2007). Ante condiciones de déficit hídrico la tasa de asimilación de CO₂ puede disminuir producto del cierre estomático, hasta valores cercanos a cero, sin presentar reducciones significativas en la capacidad fotosintética (Chaves, 1991). No obstante, la tasa de fotosíntesis neta en los diferentes estudios presentó valores cercanos entre sí y, al estar en condiciones hídricas favorables, se encontraría entre los 9 y 15 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Brito et al., 2014; Donoso et al., 2011; Ovalle et al., 2016a).

El potencial hídrico de Quillay en condiciones hídricas favorables (meses con precipitaciones y/o riego) presentó valores cercanos entre sí entre los distintos

estudios (Donoso et al., 2011; Ovalle et al., 2016a y 2016b) y, a la vez, se complementan con aquellos reportados por Giliberto y Estay (1978). Entonces, se tiene que el potencial hídrico de *Q. saponaria* en condiciones hídricas favorables oscila entre los -1,5 y -0,5 MPa. Sin embargo, al final del período estival (condiciones hídricas desfavorables) Ovalle et al. (2016b) reportan valores de potencial hídrico entre -5,1 y -4 MPa, los cuales difieren de aquellos reportados por Giliberto y Estay (1978) para *Q. saponaria* en condiciones ambientales naturales, donde el potencial no disminuye de los -2,5 MPa. Esta variación en los potenciales podría explicarse por la diferencia en el estado de desarrollo de las plantas, ya que Giliberto y Estay (1978) analizaron una condición de matorral en estado natural, por lo que aquellos rasgos morfológicos que facilitan la mantención de potenciales hídricos elevados se encontrarían más desarrollados que en el estudio de Ovalle et al. (2016b).

Ovalle et al. (2016a) señalan que la mantención de un mayor potencial hídrico ante condiciones de déficit hídrico se determina por el desarrollo radicular, el cual al haber fertilización ausente en etapa de vivero se ve favorecido una vez establecidas las plantas en campo. Al respecto Giliberto y Estay (1978) y Donoso et al. (2011), señalan que la capacidad de penetración de las raíces y el desarrollo de estas ante condiciones de sequía permiten la mantención de una condición hídrica adecuada, lo que facilita el funcionamiento de la fotosíntesis.

Donoso et al. (2011) señalan que Quillay presenta mecanismos no claros de ajuste al déficit hídrico y la estrategia que emplea para suministrar agua a sus hojas consiste en disminuir la biomasa foliar, para reducir la transpiración, y gracias al desarrollo en profundidad del sistema radicular suministrar agua a las hojas. Brito et al. (2014) señalan que Quillay presenta un gran rendimiento fotosintético respecto a otras especies mediterráneas esclerófilas, lo que se atribuye a las limitaciones de conductancia en el mesófilo de la especie, las cuales están mediadas principalmente por los rasgos anatómicos de las hojas. Lo anterior se complementa con lo registrado por Giliberto y Estay (1978), donde Quillay presenta un potencial hídrico estable y elevado en verano en comparación a otras especies mediterráneas.



CONCLUSIONES

Las altas tasas de sobrevivencia, producto del ajuste de parámetros morfológicos y, consecuentemente, fisiológicos de Quillay ante condiciones de déficit hídrico, reflejan la importancia de aumentar el conocimiento, mediante estudios a corto y largo plazo, respecto al comportamiento de la especie ante diferentes condiciones de disponibilidad de recursos, ya sea con fines productivos o de restauración ecológica.



La relación BA/BR presentada en condiciones de déficit hídrico disminuye producto de la disminución de biomasa foliar, ocasionada por la abscisión de las hojas, y por el aumento en el desarrollo de raíces para mantener condiciones hídricas adecuadas. Los cambios anatómicos foliares presentados según el estado de desarrollo de las hojas, tales como la abscisión de las hojas adultas, están directamente relacionados con la mantención de una mejor condición hídrica en los nuevos brotes. Gracias a la disminución de superficies transpirantes y aumento de la absorción de agua se mantiene la fotosíntesis y Quillay presenta un alto porcentaje de sobrevivencia, aún en condiciones de déficit hídrico con un promedio de 93%.

El DAC y la altura de Quillay aumentan al haber condiciones de adición hídrica. La adición hídrica en conjunto con adición nutricional favorece el desarrollo de Quillay, aunque la fertilización puede ocasionar toxicidad en las plantas producto del desarrollo de raíces profundas de Quillay. Entonces, la localización y dosis de fertilizante son primordiales para obtener resultados positivos en el desarrollo de la especie.



BIBLIOGRAFÍA

- Alvarado, A. y Levet, O. (2014). *Manual de protocolos de producción de especies utilizadas por el programa de arborización*. Santiago, Chile: Editorial e Imprenta Maval. Recuperado en https://www.conaf.cl/cms/editorweb/institucional/Manual_Protocolos_de_Produccion.pdf. [2019, 5 de diciembre].
- Angiosperm Phylogeny Group (APG). (1998). An ordinal classification for the families of flowering plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 85(4), 531–553.
- Bate-Smith, E. C. (1965). Investigation of the chemistry and taxonomy of sub-tribe Quillajeae of the Rosaceae using comparisons of fresh and herbarium material. *Phytochemistry*, 4(4), 535-539.
- Becerra, P. I., Cruz, G., Ríos, S. y Castinelli, G. (2013). Importance of irrigation and plant size in the establishment success of different native species in a degraded ecosystem of central Chile. *Bosque*, 34(1), 103-111.
- Benedetti, S., Delard, C. y Roach, F. (2000a). *Quillay: Una alternativa multipropósito para la zona central* (documento de divulgación N° 20). Santiago, Chile: PRODECOP SECANO – INFOR - FIA.
- Benedetti, S., Delard, C., Roach, F. y González, M. (2000b). *Monografía de Quillay: Quillaja saponaria*. Santiago, Chile: LOM Ediciones.
- Bloom, A. J., Chapin, F. S. y Mooney, H. (1985). Resource limitation in plants - An economic analogy. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 16, 363–392.

- Botanic Gardens Conservation International (BGCI) y IUCN SSC Global Tree Specialist Group. (2018). *The IUCN Red List of Threatened Species 2018: Quillaja saponaria*. U.K.: IUCN. Recuperado en <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-2.RLTS.T131407078A135697763.en> [2019, 6 de agosto].
- Brito, C. E., Brown, H. E., Fuentes, J. P., Franck, N. y Perez-Quezada, J. F. (2014). Mesophyll conductance constrains photosynthesis in three common sclerophyllous species in Central Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, 87(1), 8.
- Chaves, M.M. (1991). Effects of water deficits on carbon assimilation. *Journal of Experimental Botany*, 42(1), 1-16.
- Colmenares-Arteaga, M., Rada, F. y Luque, R. (2005). Anatomía foliar de *Polylepis Serica* Wedd. (Rosaceae) a dos altitudes en los altos andes venezolanos. *Plántula*, 3(3), 141-148.
- Correa, C. y Martínez, A. (2013). *Información tecnológica de productos forestales no madereros del bosque nativo en Chile: Antecedentes silvícolas y tecnológicos de Quillaja saponaria* Mol. Santiago, Chile: CONAF – MINAGRI – INFOR. Recuperado en http://www.pfnm.cl/paqtecnologicos/quillay/informacion_quillay.pdf. [2019, 21 de junio].
- Cruz, G. (2013). Propuesta silvicultural para el manejo sustentable con fines industriales en bosques naturales con quillay (*Quillaja saponaria*) en Chile central. En *Silvicultura en bosques nativos: Avances en la investigación en Chile, Argentina y Nueva Zelandia* (pp. 18-37). Valdivia, Chile: Marisa Cuneo Ediciones.
- del Fierro, P. (1998). Especies arbóreas nativas. En *Experiencia silvicultural del bosque nativo de Chile: Recopilación de antecedentes para 57 especies arbóreas y evaluación de prácticas silviculturales* (pp. 30-183). Santiago, Chile: Publicaciones Lo Castillo.

- Donoso, C. (1981). *Tipos forestales de los bosques nativos de Chile* (documento de trabajo N° 38). Santiago, Chile: CONAF y FAO.
- Donoso, S., Peña, K., Pacheco, C., Luna, G. y Aguirre, A. (2011). Respuesta fisiológica y de crecimiento en plantas de Quillaja saponaria y *Cryptocarya alba* sometidas a restricción hídrica. *Bosque*, 32(2), 187-195.
- Eyde, R. H. (1975). The bases of angiosperm phylogeny: floral anatomy. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 62(3), 521–537.
- Flexas, J., Bota, J., Galmés, J., Medrano, H. y Ribas-Carbó, M. (2006). Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. *Physiologia Plantarum*, 127(3), 342-352.
- Flexas, J., Diaz-Espejo, A., Gago, J., Gallé, A., Galmés, J., Gulías, J. y Medrano, H. (2014). Photosynthetic limitations in Mediterranean plants: A review. *Environmental and Experimental Botany*, 103, 12-23.
- Galmés, J., Medrano, H. y Flexas, J. (2007). Photosynthetic limitations in response to water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms. *New Phytologist*, 175(1), 81-93.
- Giliberto, J. y Estay, H. (1978). Seasonal water stress in some Chilean matorral shrubs. *Botanical Gazette*, 139(2), 236-240.
- Goldblatt, P. (1976). Cytotaxonomic studies in the tribe Quillajeae (Rosaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 63(1), 200–206.
- Gotor, B. (2008). *Caracterización y comparación anatómica de hojas de Peumo (Cryptocarya alba (Mol.) Looser) y Quillay (Quillaja saponaria Mol.) sometidas a condiciones de riego permanente y de restricción hídrica*. Trabajo de grado, Ingeniería Forestal, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

- Hoffmann, A. (1982). Quillaja saponaria Mol. En *Flora silvestre de Chile, zona araucana: Árboles, arbustos y enredaderas leñosas* (p.102) (quinta edición). Santiago, Chile: Editorial Claudio Gay.
- Instituto Forestal (INFOR). (2020). *Consultas en línea: Exportaciones forestales chilenas. Chile.* Recuperado en https://wef.infor.cl/consultas_linea/consultaenlinea.php [2020, 14 de abril].
- Luebert, F. (2014). Taxonomy and distribution of the genus Quillaja Molina (Quillajaceae). *Feddes Repertorium*, 124(4), 157–162.
- Luna, G. (2006). *Evaluación de parámetros fisiológicos y de crecimiento en plantas de Quillaja saponaria Mol. bajo condiciones de déficit hídrico.* Trabajo de grado, Ingeniería Forestal, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- Mediavilla, S. y Escudero, A. (2003). Stomatal responses to drought at a Mediterranean site: a comparative study of co-occurring woody species differing in leaf longevity. *Tree Physiology*, 23(14), 987-996.
- Mera, E. (1990). *Propagación vegetativa en Quillay (Quillaja saponaria Mol.).* Trabajo de grado, Ingeniería Forestal, Universidad de Concepción, Chillán, Chile.
- Ministerio del Medio Ambiente (MMA). (2014). *Plan de adaptación al cambio climático en biodiversidad.* Santiago, Chile: MMA.
- Ministerio del Medio Ambiente (MMA). (2020). *Inventario nacional de especies de Chile: Quillaja saponaria.* Recuperado en http://especies.mma.gob.cl/CNMWeb/Web/WebCiudadana/ficha_independ.aspx?EspecieId=4311&Version=1 [2020, 25 de junio].
- Ministerio de Agricultura (1998, 29 de septiembre). Aprueba reglamento general del decreto ley N°701, de 1974, sobre fomento forestal. En *Decreto N°193.* Recuperado en <http://bcn.cl/1wwns> [2019, 7 de enero].

- Ministerio de Tierras y Colonización (1944, 30 de marzo). Reglamenta explotación de Quillay y otras especies forestales. En *Decreto N°366*. Recuperado en <http://bcn.cl/1xtcn> [2019, 17 de enero].
- Neuenschwander, A. (1965). *Contribución al estudio anatómico de la corteza de Quillay (Quillaja saponaria Mol.) y recomendaciones sobre su explotación*. Trabajo de grado, Ingeniería Forestal, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- Orellana, L. y Fischer, E. (1976). *Comportamiento de las semillas de Quillay (Quillaja saponaria, Mol.) de diversas procedencias*. Trabajo de grado, Técnico Forestal, Universidad de Concepción, Los Ángeles, Chile.
- Otieno, D., Schmidt, M., Adiku, S. y Tenhunen, J. (2005). Physiological and morphological responses to water stress in two Acacia species from contrasting habitats. *Tree Physiology*, 25(3), 361-371.
- Ovalle, J. F., Arellano, E. C. y Ginocchio, R. (2015). Trade-offs between drought survival and rooting strategy of two South American Mediterranean tree species: Implications for dryland forests restoration. *Forests*, 6(10), 3733-3747.
- Ovalle, J. F., Arellano, E. C., Ginocchio, R. y Becerra, P. (2016a). Fertilizer location modifies root zone salinity, root morphology, and water stress resistance of tree seedlings according to the watering regime in a dryland reforestation. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 179(2), 223-233.
- Ovalle, J. F., Arellano, E. C., Oliet, J. A., Becerra, P. y Ginocchio, R. (2016b). Linking nursery nutritional status and water availability post-planting under intense summer drought: the case of a South American Mediterranean tree species. *Forest-Biogeosciences and Forestry*, 9, 758-765.
- Peña-Rojas, K., Aranda, X. y Fleck, I. (2004). Stomatal limitation to CO₂ assimilation and down-regulation of photosynthesis in *Quercus ilex* resprouts in response to slowly imposed drought. *Tree Physiology*, 24(7), 813-822.

- Rodríguez, R., Matthei, O. y Quezada, M. (1983). *Flora arbórea de Chile*. Concepción, Chile: Editorial de la Universidad de Concepción.
- Rodríguez, R., Marticorena, C., Alarcón, D., Baeza, C., Cavieres, L., Finot, V. L., Fuentes, N., Kiessling, A., Mihoc, M., Pauchard, A., Ruiz, E., Sánchez, P. y Marticorena, A. (2018). Catálogo de las plantas vasculares de Chile. *Gayana Botánica*, 75(1), 1-430.
- San Martín, R. y Briones, R. (1999). Industrial uses and sustainable supply of Quillaja saponaria (Rosaceae) saponins. *Economic Botany*, 53(3), 302-311.
- Toral, M. y Rosende, R. (1986). Producción y productividad del Quillay. *Renarres*, 3(8), 19-21.
- Valenzuela, L. (2007). *Evaluación de un ensayo de riego y fertilización de quillay (Quillaja saponaria Mol.), en la Comuna de San Pedro, Provincia de Melipilla, Región Metropolitana*. Trabajo de grado, Ingeniería Forestal, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- Vita, A. (1966). *Reforestación por siembra directa con Quillay (Quillaja saponaria Mol.) y Peumo (Cryptocarya alba (Mol.) Looser)*. Trabajo de grado, Ingeniería Forestal, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- Vita, A. (1970). *Efecto del origen geográfico de árboles padres de quillay (Quillaja saponaria Mol.) sobre la calidad de la semilla y supervivencia en reforestación por siembra directa* (boletín técnico N° 21). Santiago, Chile: Universidad de Chile.
- Vita, A. (1974). Algunos antecedentes para la silvicultura del quillay (Quillaja saponaria Mol.). En *Algunos antecedentes para la silvicultura del raulí (Nothofagus alpina (Poepp. et Endl.) Oerst.)*. Algunos antecedentes para la silvicultura del quillay (Quillaja saponaria Mol.) (pp. 19-31) (boletín técnico N° 28). Santiago, Chile: Universidad de Chile.

Vita, A. (1981). *Silvicultura en zonas áridas* (serie educativa N° 1). Santiago, Chile: Universidad de Chile.



I.

**EFFECT OF THE ADDITION OF WATER AND NUTRIENTS ON
GROWTH EFFICIENCY, GAS EXCHANGE AND ESTABLISHMENT OF
Quillaja saponaria Molina (Quillajaceae) UNDER FIELD CONDITIONS**

Autores: Natalia Navarro-Fuenzalida, Rafael A. Rubilar, Elvis Gavilán, Felipe

Aburto

Artículo enviado a New Forests

ABSTRACT

Quillaja saponaria Molina (“Quillay”) is an endemic sclerophyllous tree species of Chile, widely used in local ecological restoration projects and with high economic potential due to the high concentration of saponins in its tissues. Despite the environmental and economic relevance of this specie, little is known about how water and nutrients availability influence the early establishment of this specie. Tree growth and the ecophysiological response of Quillay were evaluated for

combined treatments of summer irrigation (25% water deficit) and fertilization (40 g N + 115 g K + 50 g P + 35 g Ca plant⁻¹) between 6 to 23 months in loamy-sand soils of the Central Valley, Maule, Chile. Tree height and collar diameter were measured to assess the response in volumetric growth, and individual plant leaf area index was determined to evaluate differences in growth efficiency (GE) among treatments. Physiological responses of Quillay to applied treatments for gas exchange, net photosynthesis (A_n), stomatal conductance (g_s), transpiration (E), and instantaneous water use efficiency (WUE_i) were evaluated. Responses after 23 months of development showed that GE increased 70% for fertilization, 93% for irrigation and 111% for the combined fertilization + irrigation respect to the control treatment. Likewise, WUE_i increased 240 times for fertilization + irrigation treatment respect to control treatment. Even though irrigation during early growth improves physiological performance Quillay, combined irrigation and fertilization increases Quillay productivity.

Keywords: Fertilization, Growth efficiency, Irrigation, Photosynthesis, Saponins production, Soapbark

INTRODUCTION

Quillaja saponaria Molina (Quillay) is an endemic species of Chile distributed from Coquimbo (32°25'S latitude, 70°15'W longitude) to the Araucanía (38°13'S latitude, 72°32'W longitude) regions, under high environmental pressure due to expected climate change scenarios (Garreaud et al., 2017). Is one of the Chilean native tree species of major economic interest (Benedetti et al., 2000), and in 2019 exports derived from Quillay generated around US\$ 21.5 million, with a volume of 4,048 tons (INFOR, 2020). Economic interest and industrial exploitation of the species lies in the concentration of saponins of all its biomass, with average concentration values for each tree component of 10-19% in bark, 10% in branches, 9% in stems, and 6% in foliage (Toral & Rosende, 1986). Quillay is also widely used as ornamental species and in ecological restoration projects, given its large tolerance to drought (Becerra et al., 2013).

Among the main limiting factors for growth and distribution of Mediterranean plant species, these are capable to sustain low winter temperatures and summer droughts (Otieno et al., 2005). However, Quillay is recognized for its wide distribution range and, consequently, for the various limiting environmental

conditions and that the specie can tolerate (Valenzuela, 2007). Climate change scenarios in Chile project an increment in annual temperatures and a reduction of rainfall (MMA, 2014). Therefore, it is not known how severe water and nutritional limitations can influence the early establishment, development and regeneration of Quillay. Neither it is known how to manage under this scenario for productive or ecological restoration purposes under more limiting conditions.

In Chile, tree growth response to different conditions of water and nutrient availability has been more extensively studied in exotic coniferous species (e.g., Ojeda et al., 2018; Rubilar et al., 2018), and exotic broadleaf species (e.g., Cañete-Salinas et al., 2019; Rubilar et al., 2020). However, little attention has been given to native forest species trying to understand their ecophysiological responses to manipulation of environmental factors (e.g., Donoso et al., 2011; Peña-Rojas et al., 2018a and 2018b). Previous native species studies have never consider to understand growth efficiency ratio (GE), understood as the slope of the linear relation between leaf area index and volume growth (Waring et al., 2016). However, majority of studies with exotic species have found a close relationship between growth rate, leaf area, and the interaction with water and nutrient constraints, which have large ecophysiological implications on plant response to environmental limitations.

Most of the studies in Quillay have evaluated tree growth response to different irrigation doses (Becerra et al., 2013; Donoso et al., 2011; Ovalle et al., 2015), or combined treatments of irrigation and fertilization (Ovalle et al., 2016a and 2016b; Valenzuela, 2007). Responses to nutrient and water additions have shown that plant collar diameter (CD) have exceeded control treatments by 112% (Ovalle et al., 2016a) and in height by 62% (Valenzuela, 2007) in experiments at semiarid areas with less than 450 mm of annual rainfall. Interestingly, most studies have shown that Quillay survival usually exceeds 90%, even without the addition of water or nutrients at these water limited sites. Ovalle et al. (2015) pointed out that the survival of Quillay during the drought season may be better explained by its rooting strategy, where early development of thick and deep roots allows this specie to maintain an adequate water status even under low soil water availability.

Overall, there is almost no research on the combined effect of water and nutrient availability in early and late stages of development and physiological response of Quillay under field conditions, and no reports have explored the effect of water and nutrient resource availability on Quillay GE. The understanding of this ecophysiological variable in native species is of enormous importance. It should be the focus of most studies when investigating response of species to future environmental changes, particularly for endangered species or species considered during afforestation or ecological restoration projects. The current research study evaluated growth, gas exchange, and the relation of growth

efficiency of Quillay with contrasting conditions of water and nutrient availability under field conditions.



MATERIALS AND METHODS

Study site characteristics

The study site was established in the Central Valley of Chile in the Maule Region (35°58'0.62"S latitude, 71°34'18.71"W longitude). Quillay trees were planted in a field previously used for sowing oats and the soil derive from a mixture of sediments of alluvial origin with volcanic ash, corresponding to the Maulecura soil series classified as a Humic Haploxerands (Andisol) (CIREN, 1997) in flat terrain. Detailed evaluation of soil profile physical and chemical properties were obtained from a 150 cm depth soil profile excavated at the site (Table 1). Analysis of soil properties indicated shallow soils, excessively drained and limited nutritional conditions (Table 1). Soil samples obtained from major soil horizons for chemical lab analyses followed standard methods described by Sadzawka et al. (2006). Soil pH was determined in a 1:2.5 soil to solution ratio in water and CaCl₂ (0.01 M). Soil cations potassium (K⁺), calcium (Ca²⁺), and magnesium (Mg²⁺) were measured by atomic absorption and emission AAS Spectrophotometer (A Analyst 400, PerkinElmer®) after ammonium acetate extraction. All analyses were performed at the Soil, Water, and Forests Research Laboratory (LISAB) at University of Concepción, Concepción, Chile.

Table 1 Physical and chemical properties of the soil o 0-150 cm deep

Soil depth cm	Texture	BD g cm ⁻³	Porosity ----- % -----	W _{PWP} %	W _{FC} -----	AWC	OM	Ca -----	K mg kg ⁻¹	Mg -----	N --- % ---	C	C/N
0 - 39	Sandy Loam	0.9	66.8	28.7	49.7	20.9	13.8	605.7	46.6	61.5	0.4	4.5	11.5
39 - 60	Sand	1.6	38.9	3.0	15.5	12.5	4.1	271.9	27.2	22.4	0.2	1.9	10.8
60 - 150	Sand	1.4	48.3	1.9	6.2	4.2	1.8	54.1	10.2	BDL	0.0	0.3	14.6

BD: Bulk density, W_{PWP}: Moisture content at permanent withering point, W_{FC}: Moisture content at field capacity, AWC: Available water content, OM: Organic matter, C/N: Carbon-Nitrogen ratio, BDL: Below the detection limit

Climate of the study area

Climate of the area presents a supra-thermal warm temperate climate with a subhumid to dry moisture regime. Average monthly temperatures range between a maximum of 29.1°C (January) and a minimum of 3.5°C (July), with an annual average rainfall of 1,137 mm (Santibáñez, 2017). Data from a local weather station during the development of the study reported annual rainfall estimates for 2018 and 2019 with 596 and 543 mm, respectively. Average monthly temperature for the warmest month at the site was 19.8°C and 21.2°C for February of 2018 and 2019, respectively. Average temperature of the coldest month was 6.5°C and 8.1°C for June of 2018 and 2019, respectively (Figure 1). Rainfall and temperature data were obtained from a weather station located at less than 10 km from the field (<https://www.agromet.cl/datos-historicos>).

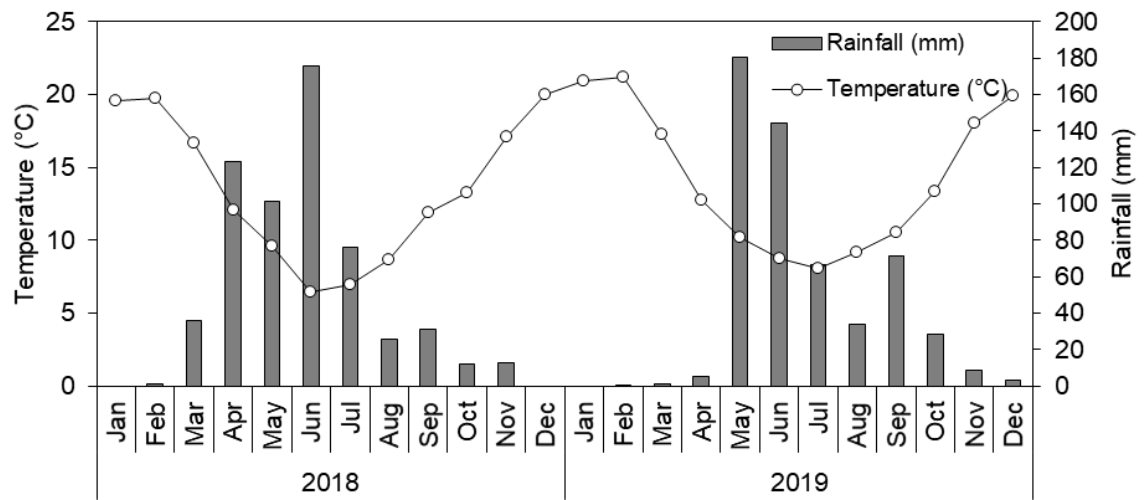


Figure 1. Average monthly temperature (°C) and accumulated rainfall (mm month⁻¹) for 2018 and 2019 at the site

Establishment of the study

The study considered the establishment of Quillay seedlings from a local commercial nursery. Seedlings were produced from seeds collected from natural forests within the Ñuble Region. In September 2017, collected seeds were pretreated with immersion in cold water for 72 hours and placed in 130 cm³ containers and developed for six months in a medium of radiata pine compost bark. Homogeneous six-month-old saplings (n = 300) were selected based on morphological parameters that considered plant height, collar diameter and total number of leaves.

Quillay saplings were planted on the same day during the summer season (February 27, 2018) considering a planting distance of 2 x 2 m. Each plant was irrigated with 10 L of water in the planting hole to facilitate its establishment. In order to prevent rodents damage, each plant was protected with a surrounding wire mesh of 50 cm height. The experiment was maintained free of weed competition during its whole duration by hand mechanical removal of woody species and chemical applications of 1.5% solution of glyphosate in water (Roundup® Full II, 58%, Monsanto Company) to suppress grasses. Chemical applications were performed in June and November 2018.



Experimental design and treatments

The experimental design was a factorial experiment with three random blocks and two main factors (i.e., fertilization and irrigation) at two levels (with and without the addition of each factor). A total of four treatments were considered (control, fertilization, irrigation, and fertilization + irrigation) established in 12 experimental units covering a total area of 0.19 ha. Each experimental unit was established with a total of 15 tree saplings (75 saplings per treatment) in 12 x 12 m long plots, with 1 m buffer between plots (Figure 2).

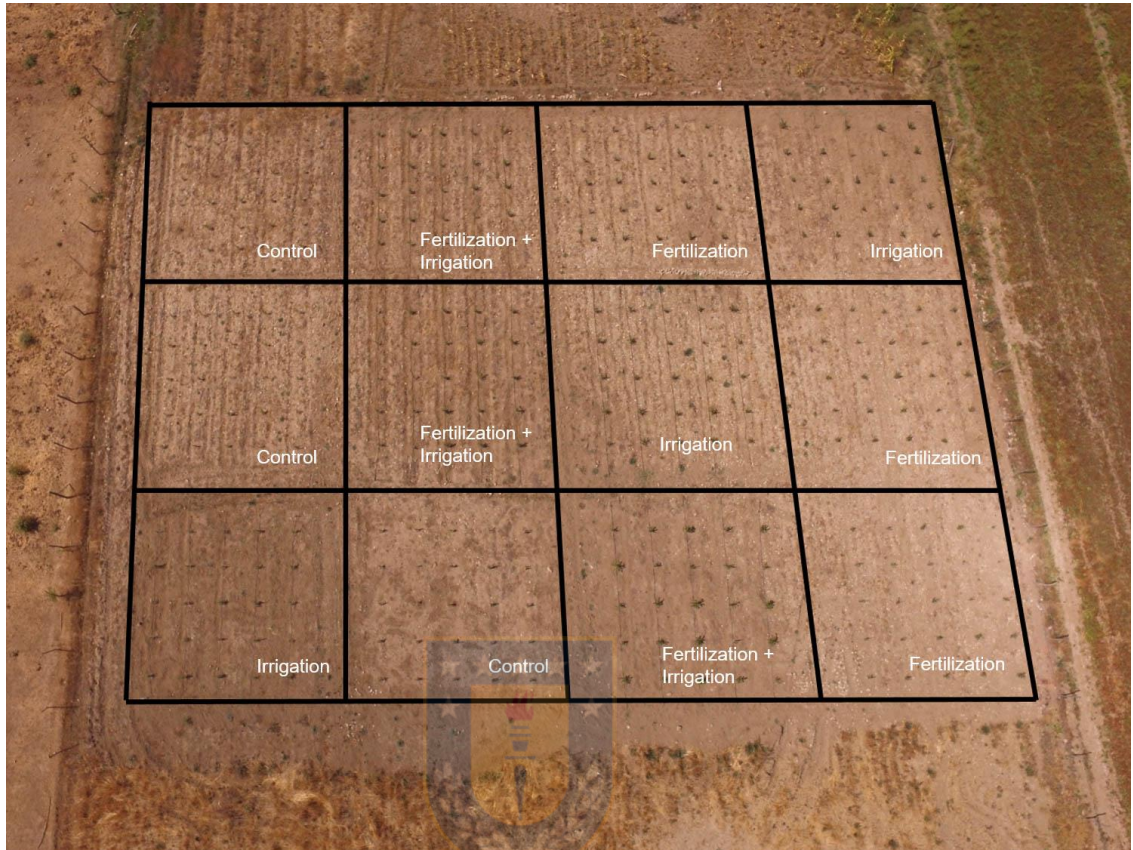


Figure 2. Aerial view taken in March of 2019 showing the experimental design and distribution of treatments in each experimental unit, with the development of saplings 13 months after establishment

Fertilization treatments considered no-fertilization and a fertilization treatment which added every 3 months from, April 2018 to April 2019 (5 applications in total), 10 g P + 7 g Ca + 8 g N + 23 g K per plant (mix of 40 g de triple superphosphate $[\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2]$ and 60 g of potassium nitrate $[\text{KNO}_3]$ per plant). fertilization was applied at 30 cm distance from the plant in a single hole of 15 cm depth.

Irrigation treatments considered also no-irrigation and irrigation. Irrigation was applied using an automated irrigation system from October 2018 to April 2019, and consisted of two self-compensating drippers of 2 L h⁻¹ per plant⁻¹ located 20 cm from each plant. The irrigation treatment was designed to supply 25% of the monthly water deficit (WD), which was estimated from the difference between monthly accumulated rainfall and potential evapotranspiration. Potential evapotranspiration (ET₀) was estimated using the FAO 56 – Penman-Monteith (Allen et al., 1998) model using daily records from the nearby local weather station. The estimated monthly WD, the 25% WD, and the weekly irrigation rate per plant for each month is presented in Table 2.



Table 2 Irrigation water amount applied weekly to each plant

Year	Month	WD	25% WD	Irrigation
		mm month ⁻¹	mm	L plant ⁻¹ week ⁻¹
2018	October	72	18	4
	November	112	28	7
	December	154	38	10
2019	January	136	34	8
	February	107	27	7
	March	78	19	5
	April	39	10	2

WD: Water deficit, 25%WD: 25% of WD

Growth measurements

Measurements of plant collar diameter (CD) and total height (H) were performed on all individuals (n = 300 plants) starting in May 2018 and every two months until July 2019. Bimonthly measurements were performed in order to evaluate seasonal patterns of cumulative growth and growth rate of the specie. Plant CD was measured at 5 cm from the ground with a digital caliper (± 0.01 mm) and H was measured in the main axis of the plant using a flexible metal tape (± 0.1 cm).

Growth, leaf area, and growth efficiency

Plant measurements allowed to estimate individual plant volume over time, maximum leaf area reached by each plant at the end of the study, and finally obtain individual plant GE estimates.

Individual plant volume estimation

Cumulative volume per plant (VOL) was estimated from measurements performed from CD and H, according to Equation 1:

$$VOL = 0.33 \pi \left(\frac{CD}{2} \right)^2 H , \quad (1)$$

Where VOL corresponds to the volume per plant (cm³), CD to collar diameter (cm), and H to the height (cm).

Individual plant annual volume increment (VI) was estimated according to:

$$VI = VOL_{jul19} - VOL_{jul18} , \quad (2)$$

Where V_I corresponds to individual plant annual volume increment from 2018 to 2019 ($\text{cm}^3 \text{ year}^{-1} \text{ plant}^{-1}$), and VOL_{jul18} and VOL_{jul19} to individual plant cumulative volume in July 2018 and July 2019, respectively ($\text{cm}^3 \text{ plant}^{-1}$).

Leaf area estimation

In February 2019, one year after planting, representative samples of 10 leaf sizes per plant were taken from the foliage of 5 randomly selected plants from each treatment (40 leaves in total). Individual leaf area, of each individual leaf, was measured through ImageJ 1.x software (Schneider et al., 2012) together with leaf length measurements (± 0.1 cm). Measurements of leaf area and its length were used to fit a power regression model to estimate plant individual leaves leaf area from individual leaf length measurements. The adjusted relationship corresponded to the equation:

$$AF = 0.8 L_H^{1.61}, \quad (3)$$

Where AF corresponds to estimated leaf area of each individual leaf (cm^2) and L_H to individual leaf length (cm).

Estimation of plant leaf area

Estimates of individual plant leaf area were obtained in March 2019 by measuring the L_H of all individual leaves of representative plants per treatment and then adding AF estimates from each measured leaf using Equation 3. Selected representative plant individuals considered the mean and one and two standard

deviations above and below the mean of the CD distribution of each treatment (5 plants per treatment, 20 plants for the four treatments). Estimates of the individual plant leaf area of each plant allowed to generate a power regression model between plant CD and individual plant leaf area (Equation 4). Since these individual plant leaf adjusted regressions models for each treatment were similar (p -value = 0.33), a single regression model was adjusted for all treatments (p -value < 0.05) and corresponded to:

$$AF = 1,382.74 CD^{2.09} \quad (4)$$

Where AF is the individual plant leaf area (cm²) and CD is collar diameter (cm).



Estimation of individual plant leaf area index

Individual plant leaf area index (LAI) was estimated from calculating the quotient between estimates obtained from Equation 4 and individual space occupied in the field by each plant (40,000 cm²), which is determined by the spacing between plants (2 x 2 m), therefore:

$$LAI = \frac{1,382.74 CD^{2.09}}{40,000} \quad (5)$$

Where LAI is individual plant leaf area index (cm² cm⁻²) and CD is collar diameter (cm).

Individual plant growth efficiency estimates

Estimates of VI (Equation 2) and LAI (Equation 5) allowed to fit linear relationships between both parameters to assess growth efficiency (GE) at individual plant level for each treatment.

Gas exchange measurements

Net photosynthesis (A_n), stomatal conductance (g_s), and transpiration (E) were measured in a leaf selected from the upper third of three plants for the control, irrigation and fertilization + irrigation treatments. Measurements were taken between 10 and 1 p.m. at the end of the summer season (March, 2019). The measurements were carried out with a portable photosynthesis equipment (LI-Cor 640XT) equipped with a LED light source. The measurements were performed with a light saturation of $500 \text{ } \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, a CO_2 concentration of $400 \text{ } \mu\text{mol mol}^{-1} \text{ CO}_2$, at a temperature of 24°C and an airflow of $500 \text{ } \mu\text{mol s}^{-1}$. Instantaneous water use efficiency (WUE_i) was calculated as the quotient between net photosynthesis (A_n) and the transpiration (E). Unfortunately, due to IRGA equipment power loss, gas exchange measurements were not possible to perform at the fertilization only treatment.

Statistical and data analysis

Comparisons of the effect of treatments in the growth variables (H, CD, VOL, LAI and VI) and gas exchange (A_n , g_s , E and WUE_i) were performed through analysis

of variance (ANOVA). Means comparisons were considered using a Tukey procedure with a significance level $p < 0.05$. Results of GE, A_n , g_s , E and WUE_i were compared through graphs and the percentage statistical analyses growth gains were attributed to different conditions of available resources. To evaluate differences in GE among treatments, a linear regression model was adjusted between the leaf area index (LAI, independent variable) and annual volume increment (VI, dependent variable), where intercepts and the slopes of evaluated treatments control, fertilization, irrigation and fertilization + irrigation were compared using dummy variables analyzing the effect of each treatment in the intercept and/or slope of a common or independent regression line. The statistical model to evaluate common or independent GE regression lines was:

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 F_i + \beta_2 I_i + \beta_3 FI_i + (\alpha_0 + \alpha_1 F_i + \alpha_2 I_i + \alpha_3 FI_i)x_i + \varepsilon_i, \quad (6)$$

Where y_i is the i^{th} observation for the dependent variable VI, $i = 1, 2, 3, \dots, n$, n is the number of (VI_i, LAI_i) paired observations, x_i is the i^{th} observation for the independent variable LAI. F_i is 1 if VI_i and LAI_i are from treatment fertilization or 0 if VI_i and LAI_i are not from treatment fertilization, I_i is 1 if VI_i and LAI_i are from treatment irrigation or 0 if VI_i and LAI_i are not from treatment irrigation, FI_i is 1 if VI_i and LAI_i are from treatment fertilization + irrigation or 0 if VI_i and LAI_i are not from treatment fertilization + irrigation. The parameters β_0 and α_0 are the intercepts and the slope of the control treatment (baseline). Parameters β_1 , β_2 , and β_3 correspond to the difference between the intercept (β_0) for the fertilization (F), irrigation (I) and fertilization + irrigation (FI) treatment, respectively. The parameters α_1 , α_2 , and α_3

correspond to the difference between the slope fertilization (F), irrigation (I), and fertilization + irrigation (FI) treatment, respectively. All analyses were performed with the R software, version 3.5.0 (R Core Team, 2019).



RESULTS

Growth

All measured parameters (H, CD, VOL, LAI, and VI) showed higher values for the irrigation, fertilization, and fertilization + irrigation treatments respect to the control. Response for all growth variables was significantly different among treatments ($p < 0.05$), except for H between the irrigation, and fertilization + irrigation treatments ($p = 0.34$) (Table 3).



Table 3 Mean \pm error standard of height (H), collar diameter (CD), volume per plant (VOL), individual plant leaf area index (LAI) and individual plant annual volume increment (VI) for each treatment at the end of the study period (July, 2019). Different letters in each column indicate significant differences between treatments (Tukey, $p < 0.05$)

	H cm	CD mm	VOL cm ³	LAI cm ² cm ⁻²	VI cm ³ year ⁻¹
Control	53.1 \pm 1.4 a	7.00 \pm 0.16 a	7.20 \pm 0.42 a	0.017 \pm 0.001 a	6.30 \pm 0.39 a
Fertilization	66.8 \pm 1.9 b	9.26 \pm 0.26 b	17.33 \pm 1.45 b	0.031 \pm 0.002 b	16.37 \pm 1.44 b
Irrigation	76.1 \pm 2.8 c	11.27 \pm 0.37 c	30.80 \pm 2.63 c	0.048 \pm 0.003 c	29.95 \pm 2.61 c
Fert. + irrigation	81.5 \pm 2.6 c	12.75 \pm 0.43 d	42.27 \pm 4.02 d	0.063 \pm 0.004 d	41.30 \pm 4.01 d
F value	30.34	60.38	37.05	49.62	37.36
p-value	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

The fertilization treatment improved average growth for all variables by 82%, and the irrigation treatment by 191%, while the fertilization + irrigation treatment by 276% compared to the control treatment. The fertilization + irrigation treatment improved growth by 91% versus the fertilization only treatment, and by 23% versus the irrigation only treatment. The irrigation treatment showed a 53% better growth for all variables compared to the fertilization treatment (Table 3, 4).

Table 4 Comparison of the percentage gain between the mean of the treatments control, irrigation, fertilization and fertilization + irrigation for the variables H, CD, VOL, LAI and VI evaluated at the end of the study period (July 2019), corresponding to plants 1 year and 11 months of age

	H	CD	VOL	LAI	VI
Fertilization vs Control	26%	32%	141%	50%	160%
Irrigation vs Control	43%	61%	328%	150%	375%
Fert. + irrigation vs Control	53%	82%	487%	200%	556%
Fert. + irrigation vs Fertilization	22%	38%	144%	100%	152%
Fert. + irrigation vs Irrigation	7%	13%	37%	20%	38%
Irrigation vs Fertilization	14%	22%	78%	67%	83%

H: Height, CD: Collar diameter, VOL: Volume per plant, LAI: Individual plant leaf area index, VI: Individual plant annual volume increment

The largest difference for all growth variables (H, CD, VOL, LAI and VI) was observed between the fertilization + irrigation and the control treatments. On the other hand, the lowest percentage difference was observed between the fertilization + irrigation and the irrigation treatments (Table 4).

Increase in volume, LAI and growth efficiency

Annual VI rates ranged 1.2-1.9 cm³ plant⁻¹ year⁻¹ for the control treatment, 3.0-55.2 cm³ plant⁻¹ year⁻¹ for the fertilization treatment, 1.0-105.4 cm³ plant⁻¹ year⁻¹ for the irrigation treatment, and 2.0-149.6 cm³ plant⁻¹ year⁻¹ for the fertilization + irrigation treatment. LAI range per individual plant observed between treatments was between 0.01 cm² cm⁻² (control treatment) and 0.16 cm² cm⁻² (fertilization + irrigation treatment) (Figure 3) and presented significant differences among treatments.



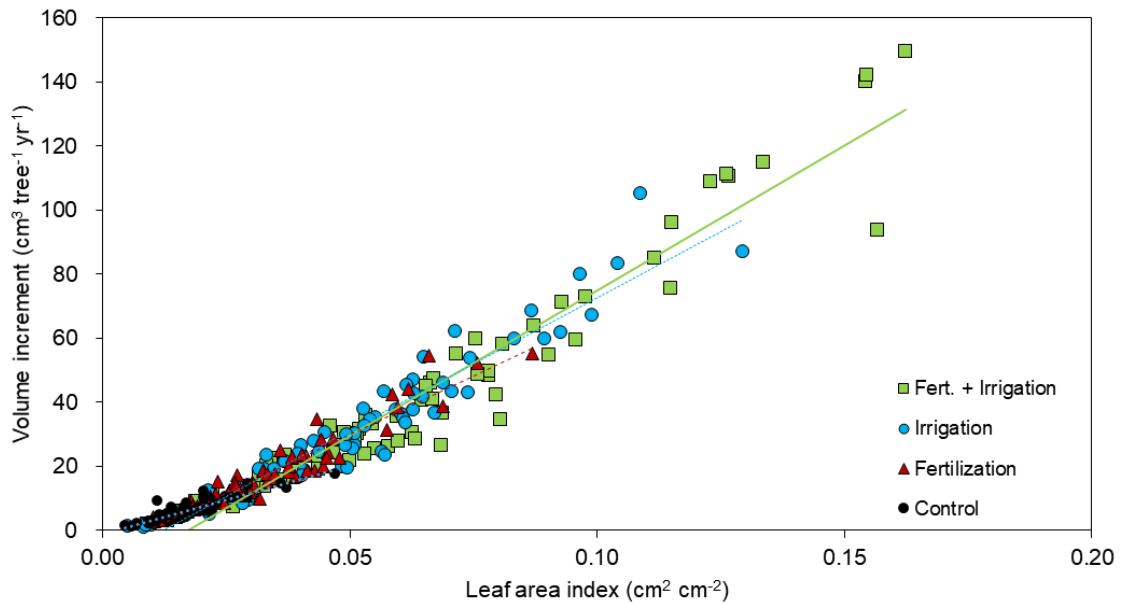


Figure 3. Individual plant annual volume increment (VI) versus individual plant leaf area index (LAI) (growth efficiency ratio). LAI estimated according to data from July 2019, and VI estimated according to the difference in VOL of June 2019, and July 2018 for the control, fertilization, irrigation, and the fertilization + irrigation treatments for the 1 year and 11 months-old plants

When looking at the level of response of VI among treatments for a given level of LAI, for a LAI of $0.04 \text{ cm}^2 \text{ cm}^{-2}$, VI for the control was $17.9 \text{ cm}^3 \text{ plant}^{-1} \text{ year}^{-1}$, while for the same LAI $28.3 \text{ cm}^3 \text{ plant}^{-1} \text{ year}^{-1}$ for the fertilization treatment, $30.8 \text{ cm}^3 \text{ plant}^{-1} \text{ year}^{-1}$ for the irrigation treatment, and $32.9 \text{ cm}^3 \text{ plant}^{-1} \text{ year}^{-1}$ for the fertilization + irrigation treatment were attained (Figure 3). This suggests that the irrigation + fertilization treatment almost double in GE the control treatment.

The adjusted regression model between VI and LAI proved to be highly significant for all treatments ($p < 0.01$). The coefficient of determination, percentage of variation of VOL that could be explained by LAI for all treatments, according to the adjusted model (Equation 6) was 95%. The GE, slope of the linear relation between the linear regression between LAI and VI was different for all treatments ($p < 0.01$) with values that ranged from $428.9 \text{ cm}^3 \text{ plant}^{-1} \text{ year}^{-1}$ for the control treatment to $904.7 \text{ cm}^3 \text{ plant}^{-1} \text{ year}^{-1}$ for the fertilization + irrigation treatment per each leaf area unit. The GE of the fertilization + irrigation treatment was 111% higher respect to the control, 24% higher than the fertilization treatment and 10% higher than the irrigation treatment. For the irrigation treatment, GE was 93% higher than the control and 13% higher respect to the fertilization treatment. The fertilization treatment had a GE 70% higher than the control (Table 5).

Table 5 Linear regression models between the leaf area index (LAI) and the annual volume increment (VI) for control, fertilization, irrigation, and fertilization + irrigation treatments in Quillay plants of 1 year and 11 months of age (17 months after establishment)

Treatment	Parameter test		Model
	Intercept (β)	Slope (α)	
Control	-1.04, ns	428.88, $p < 0.001$	VI = -1.04 + 428.88*LAI
Fertilization	-5.50, $p < 0.01$	300.45, $p < 0.01$	VI = -6.54 + 729.33*LAI
Irrigation	-8.95, $p < 0.001$	397.20, $p < 0.001$	VI = -9.99 + 826.08*LAI
Fert. + irrigation	-14.51, $p < 0.001$	475.81, $p < 0.001$	VI = -15.55 + 904.69*LAI

ns: not significant

Gas exchange

For all measured gas exchange parameters (A_n , g_s , E , and WUE_i), the fertilization + irrigation treatment presented the highest values followed by the irrigation treatment and then for the control. For A_n , the control treatment presented a significantly lower value compared to the irrigation treatment and the fertilization + irrigation treatment ($p = 0.01$). Between the irrigation treatment and the fertilization + irrigation treatment there were no significant differences ($p = 0.61$) (Figure 4a).

Regarding g_s , we found neither significant differences between the irrigation treatment compared to the control treatment ($p = 0.25$), or with the fertilization + irrigation treatment ($p = 0.09$). Significant differences were observed between the control treatment and the fertilization + irrigation treatment ($p = 0.01$) (Figure 4b). For E the irrigation treatment presented a no significant differences compared to the control treatment ($p = 0.05$), and the fertilization + irrigation treatment ($p = 0.68$). Significant differences were observed between the control treatment and the fertilization + irrigation treatment ($p = 0.02$) (Figure 4c). WUE_i was significantly different between the control with both, the irrigation ($p = 0.02$) and the fertilization + irrigation treatments ($p = 0.01$). No significant differences were observed between the irrigation and the fertilization + irrigation treatments ($p = 0.87$) (Figure 4d).

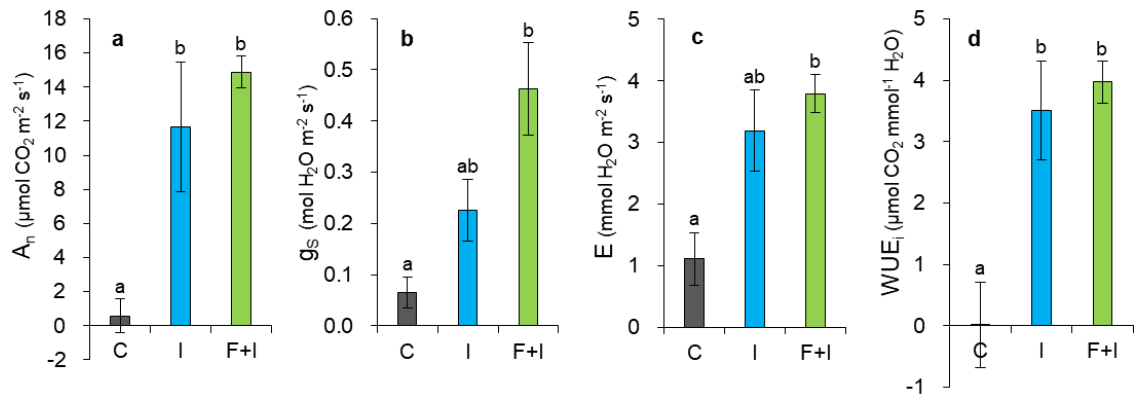


Figure 4. Means of gas exchange parameters of Quillay plants one year after planting for control (C) irrigation (I) and fertilization + irrigation (F+I) treatments. a) Net photosynthesis (A_n), b) stomatal conductance (g_s), c) transpiration (E), and d) instantaneous water use efficiency (WUE_i). Vertical lines correspond to the standard error (n = 3). Different letters in each column indicate significant differences between treatments (Tukey, p < 0.05)

DISCUSSION

In this study, the ecophysiological responses of Quillay were evaluated under variable water and nutrient availability regimes. It is relevant to note that the irrigation doses applied weekly in this study were from 2 to 8 times higher than the doses applied in previous studies with this species (Ovalle et al., 2015, 2016a and 2016b; Valenzuela, 2007).

The highest observed growth increments were of six times for the VI in the fertilization + irrigation treatment compared to the control treatment. Whereas, for gas exchange variables, the WUE_i increased 240 times in the fertilization + irrigation treatment respect to the control treatment. Although there are no previous reports on the relationship between volume and WUE_i in Quillay under field conditions, some studies have shown an increment in aerial biomass and relatively improved physiological performance for this specie under increased water and/or nutrient availability (Donoso et al., 2011; Ovalle et al., 2016a and 2016b).

Growth and growth efficiency

Between the irrigation and the fertilization + irrigation treatments, there were not differences in plant height. Similar responses to separated irrigation or fertilization treatments have been observed in studies where water or nutrients were added (Ovalle et al., 2016b; Valenzuela, 2007). The absence of differential response of aerial growth, between the irrigation and fertilization + irrigation treatments, could be related with the mentioned capacity of the Quillay to develop mechanisms of resistance to drought, through an early allocation of resources towards a more extensive root development (Ovalle et al., 2016b).



In the case of CD, all treatments varied significantly between them. The plants with fertilization + irrigation presented higher CD, unlike what was reported by Ovalle et al. (2016b). Who reported that the treatment with the highest CD was the irrigated treatment without fertilization. In this treatment, they added in total 68 L per plant under field conditions, which were applied in doses of 2 L per plant⁻¹ week⁻¹. We observed a more significant effect of fertilization on CD, which could be related to the different fertilization strategies we used. Ovalle et al. (2016b) fertilize when the plants were only six months old and were confined in 400 cm³ polyethylene bags. While, in our study we applied the first dose of fertilizer, two months after planting, which may have improved nutrient use efficiency by providing nutrients during the early development of roots during establishment and also because it reduced the possibility of salinity problems associated to

confined fertilization. In contrast, Valenzuela (2007) found no significant differences in the diameter between their irrigation, fertilization and control treatments. This could be explained by the absence of weed control and consequently a greater resource competition in their study. Control of competition is a primary factor for the establishment of Quillay, as it improves initial growth, site resource exploitation, consequently ensuring its early survival (Wrann & Infante, 1988).

The importance of weed control, fertilization, and irrigation in the early development of plants has been reported for different Mediterranean species (Becerra et al., 2013; Donoso et al., 2007; Quero et al., 2008). Based on this, an enhanced Quillay growth is expected when these management techniques are combined, as they increase water availability, early growth, and maintenance of LAI, consequently favoring an increment in overall productivity.

Due to the lack of previous studies reporting LAI and volume growth in Quillay, we can only compare our results to aerial biomass. Donoso et al. (2011), in a nursery study, reported a 217% increment in aerial biomass of Quillay, by maintaining a water content of the substrate between 75% and 100%. Additionally, Ovalle et al. (2016a) report a 20% increment of aerial biomass with the addition of 64 L of water in total per plant in field conditions. On the other hand, increases in aerial biomass up to 77% with fertilization has also been reported (17

g plant⁻¹ of Basacote® Plus [NH₄ + NO₃ + P₂O₅ + K₂O + MgO]) in non-irrigated condition (Ovalle et al., 2016a). We observed a synergistic effect for VOL increment when fertilization and irrigation are combined compared when they are applied as separate treatments. The latter suggests a consistent early response of the species to nitrogen and phosphorous fertilization. However, it may be relevant to note that these responses could also be site-specific, as it has been seen for exotic species (Albaugh et al., 2020; Rubilar et al., 2010).

The response in leaf area and volume to fertilization in Quillay is similar to the response observed in *Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Oerst (15g N, 45g P₂O₅, and 15g K₂O), with increases close to 27% in foliar area and 190% in VI (Donoso et al., 2009). *N. dombeyi* is one of native tree species with greatest potential for forest plantations in Chile due mostly to its high productivity (Bustos et al. 2008). The comparable response of Quillay to these treatments also positioned it among the Chilean species with the highest potential.

The greater response in GE was observed for the irrigation treatment, which could be explained by the low water retention capacity available of the soil in the study site (Table 1). The frequent irrigation performed in this study would avoid the limitations for growth imposed by the water deficit, maximizing biomass accumulation (Flexas et al., 2006). The Mediterranean climatic conditions in the study site and the sensitivity of this specie to irrigation suggest that the growth

and productivity of Quillay under not irrigated conditions could be severely affected by decreases in rainfall and increases in temperature as a result of climate change.

Like for growth response, fertilization increased LAI and VI. This is similar to previous studies with different Mediterranean species that incorporate fertilization or analyze growth according to fertility gradients (Agüero et al., 2014; Davis et al., 2004; Lusk and Matus, 2000). The effect of the periodic fertilization during the first year of development (including N, P, K, and Ca) generated a significant increase in the GE of Quillay. This increase in GE would be related to the greater availability of nutrients delivered by the frequent applications of fertilizers. Allowing a better acquisition of nutrients over time and maintaining the nutritional potential to generate a higher GE. Undoubtedly, one of the most significant effects of fertilization in plantations in Chile is due to the increase of N availability (Donoso et al., 2009), a crucial element for the increase of the foliar area, higher carbon fixation and improvements in GE (Maggard et al., 2017). Our results emphasize the relevance of fertilization and the fertilization strategy as critical aspects to consider for the successful establishment of Quillay.

GE of Quillay responded more strongly to the fertilization + irrigation treatment. Similarly, other studies have evaluated the combined incorporation of fertilizers and irrigation for fast-growing exotic species (Albaugh et al., 1998; Rubilar et al.,

2013; Samuelson et al., 2001). These studies had also shown a greater response for GE when irrigation and nutrient were supplied jointly rather than separately. Regardless of the species, the leaf area and volume are modified under different conditions of water and/or nutrient availability. Our results show that an increase in the availability of these resources increases GE in Quillay, at least during the early stages of development.

Irrigation and fertilization have generated additive effects in some growth variables (the response is greater than the effect of each individual treatment or the response is the sum of the individual responses of both treatment, respect to the control) and synergistic in others variables (the response is greater than the sum of the individual responses of each treatment respect to the control) (Bansal et al., 2013). Specifically, additive effects to the addition of water and nutrients were observed for H, CD, and LAI, whereas for VOL and VI, the joint action of these elements caused a synergistic effect. The addition of water displayed a more substantial growth effect than the addition of nutrients. This outcome suggests that the most limiting resource in the site is water availability. In this sense, Albaugh et al. (2004) point out that periodic measurements in the development of the stand are fundamental to determine whether the differences in GE between treatments are increased, decreased, or maintained over time. However, the response presented by each species is related to the edaphic

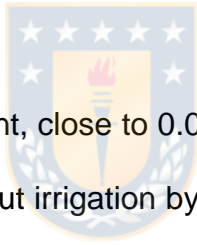
characteristics of the site and the climatic condition that define the fertility of the site (Ojeda et al., 2018).

Gas exchange

Gas exchange of Quillay was highly dependent on water availability, and the results obtained suggest that irrigation decreased summer water stress (season in which gas exchange was evaluated). Even though the A_n , g_s , E , and WUE_i in the fertilization + irrigation treatment were not significantly different from irrigation treatment, there was a significant increment of GE in the combined treatment. The latter suggests that the combination of irrigation and nutrients may have favored the overall physiological status of the plant.

The non-significant differences presented by g_s and E between the irrigation treatment and the control differ with what has been previously reported for this species (Donoso et al., 2011; Ovalle et al., 2016a). Therefore, we expected a more substantial response, as we evaluated gas exchange at the end of the summer season under near-maximum water stress. This lack of differentiation between the control and the irrigation treatment for these variables could be the result of the characteristic adaptative response of this Mediterranean species to conditions of severe water stress (Mediavilla & Escudero, 2003).

The observed A_n rates are similar to those reported by other authors (Brito et al., 2014; Donoso et al., 2011; Ovalle et al., 2016a). This suggests that, under favorable water conditions, A_n displays values between 10 and 15 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Also, the lower A_n for the control treatment is a response to lower water availability, which also presents a decrease in stomatal conductance (g_s) due to the stomatal closure. The latter induces a reduction of net photosynthesis due to lower CO_2 availability (Lawlor & Cornic, 2002). A similar response to lower water availability has been observed for other Mediterranean species (Galmés et al., 2007; Peña-Rojas et al., 2004).



The g_s in the control treatment, close to $0.05 \text{ H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, are close to the values reported for treatments without irrigation by Ovalle et al. (2016a). In the irrigation treatment, g_s was slightly higher to the value reported for Quillay plants under field conditions in the northern limit of its natural distribution ($0.21 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) with irrigation doses of 4 L plant^{-1} every two weeks in the summer season (Bown et al., 2018) and very close to the value of $0.25 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ reported for Quillay saplings maintained at field capacity in a nursery experiment (Brito et al., 2014).

Similar to previous studies, the E obtained under irrigation was significantly higher than the non-irrigated treatments (e.g., Donoso et al., 2011). The E of the irrigation treatment and fertilization + irrigation treatment was approximately $3.5 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, which was close to that reported by Brito et al. (2014). We observed a

direct association between the response obtained for A_n , g_s , and E . This is similar to what has been reported in other studies that have evaluated these types of variables under different water availability in Mediterranean species, such as *Lithraea caustica* Hook. et Arn. (Peña-Rojas et al., 2018b), *Cryptocarya alba* Mol. Looser (Donoso et al., 2011) and *Acacia caven* (Mol.) Mol (Donoso et al., 2015).

WUE_i was a parameter that allowed us to differentiate better the physiological response of Quillay. An exponential increase for the irrigation and fertilization + irrigation treatments was observed, with a WUE_i close to zero for the control treatment. The latter response can be directly related to the A_n , g_s and E obtained. In the irrigation treatment, the WUE_i of $3.51 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ was equal to that reported for plants maintained at field capacity and in nursery condition by Brito et al. (2014). The similarity in the response is surprising, due to the different contexts in which the studies were performed. Therefore, we could point out that the amount and frequency of irrigation applied in this study (25% WD) could correspond to the minimum necessary for the development of Quillay for the edaphoclimatic characteristics in which this experiment was established.

Growth, growth efficiency and gas exchange

Studies have shown a direct relationship between the development of the tree species and water stress under Mediterranean climates (Bown et al., 2018; Ojeda et al., 2018; Ovalle et al., 2016a). Combined fertilization and irrigation increase

resource availability favoring plant growth and a higher allocation of resources towards the foliage (photosynthetic tissue). This has also been observed in manipulative studies with exotic species, in which these treatments induced a lower resource allocation towards roots (Albaugh et al., 1998). The above could explain our results, where the greatest difference in both growth and gas exchange variables were observed between the control treatment, and the fertilization + irrigation treatment. In this sense, the irrigation, and the fertilization + irrigation treatments presented highest growths respect to the control treatment, where higher LAI values yielded both higher g_s and E , as a result of a reduction of nutritional and water limitations (Hernández et al., 2009; Maggard et al., 2017).

Here we show that lower water availability induces lower growth rates, lower LAI, and, consequently, a drastic decrease of A_n , g_s , and E , which in turn reduced GE and WUE_i (Donoso et al., 2011; Samuelson et al., 2019). The decreases in development and GE under conditions of limited water availability could be explained by the decrease in gas exchange or by the greater allocation of resources towards root development to ensure survival (Ovalle et al., 2015).

Even though there were no significant differences in g_s and E between the irrigation, and the control treatments, we found a lower GE and biomass production for the same level of LAI in the control treatment. Thus, the addition of water produces a better condition for the development of Quillay. Interestingly,

the large A_n and WUE_i differences between the control and the irrigation treatments suggest the high relevance of considering these parameters when studying the morphological response of Quillay. Although gas exchange between the fertilization + irrigation and the irrigation treatments were not different, we observed higher growth and higher A_n , g_s , E , WUE_i , and GE in the combined treatment, suggesting a greater morphological and physiological efficiency respect to the irrigation treatment. In this sense, it is interesting to note that there is a direct association between LAI, VI, and the addition of water and nutritional resources. At lower LAI values, there were lower differences in VI among treatments, and as LAI increased, the differences in VI between treatments also increased. This could be related to different growth efficiency relationships observed among treatments and the synergy presented in VOL when both water and nutrients were added.

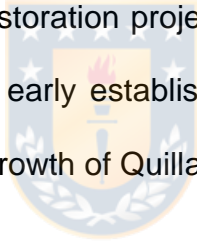
In other hand, long-term experiments with fast-growing conifers have shown that the productivity and growth response to silvicultural treatments (e.g., weed control, fertilization, irrigation, or a combination of these) could be very variable. These can range from positive to marginal responses to even negative, depending on the age and developmental stage of the stand (Albaugh et al., 2004; Jokela & Martin, 2000; Samuelson et al., 2001). Therefore, it is essential to create and maintain long-term studies for Quillay to evaluate the responses to different treatments over time and to assess if the differences for GE changed as the forest

stands develop. However, the scarce development, lower productivity, and the lower gas exchange rates of the control treatment compared to all treatments with added resources prove that Quillay responds well to intensive forestry treatments as a result of enhanced resource efficiency of this species. Therefore, these treatments should be considered in programs of ecological restoration, particularly during plant establishment.



CONCLUSIONS

The growth of Quillay is primarily limited by water availability and secondly by nutrient availability. Growth efficiency and the physiological performance of Quillay are significantly enhanced by increasing the availability of water and nutrients and its growth efficiency increases 1.7 times with fertilization, 1.9 times with irrigation, and 2.1 times with fertilization + irrigation. Our results suggest that successful afforestation or ecological restoration projects with this species should consider irrigation during at least the early establishment stage to ensure an adequate physiological condition and growth of Quillay.



REFERENCES

- Agüero, M. L., Puntieri, J., Mazzarino, M. J., Grosfeld, J., & Barroetaveña, C. (2014). Seedling response of nothofagus species to N and P: Linking plant architecture to N/P ratio and resorption proficiency. *Trees - Structure and Function*, 28(4), 1185–1195. <https://doi.org/10.1007/s00468-014-1029-7>
- Albaugh, T. J., Allen, H. L., Dougherty, P. M., & Johnsen, K. H. (2004). Long term growth responses of loblolly pine to optimal nutrient and water resource availability. *Forest Ecology and Management*, 192, 3–19. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2004.01.002>
- Albaugh, T. J., Allen, H. L., Dougherty, P. M., Kress, L. W., & King, J. S. (1998). Leaf area and above and belowground growth responses of Loblolly pine to nutrient and water additions. *Forest Science*, 44(2), 317–328. <https://doi.org/10.1093/forestscience/44.2.317>
- Albaugh, T. J., Maier, C. A., Campoe, O. C., Yañez, M. A, Carbaugh, E. D., Carter, D. R., Cook, R. L., Rubilar, R. A. & Fox, T. R. (2020). Crown Architecture, Crown Leaf Area Distribution, and Individual Tree Growth Efficiency Vary across Site, Genetic Entry, and Planting Density. *Trees* 34(1): 73–88. <https://doi.org/10.1007/s00468-019-01898-3>.
- Allen, R. G., Pereira, L. S., Raes, D., & Smith, M. (1998). Crop evapotranspiration: Guidelines for computing crop water requirements. *FAO irrigation and Drainage Paper*, 56, 300.

- Bansal, S., Hallsby, G., Löfvenius, M. O., & Nilsson, M. (2013). Research paper Synergistic, additive and antagonistic impacts of drought and herbivory on *Pinus sylvestris* leaf, tissue and whole-plant responses and recovery. *Tree Physiology*, 33, 451–463. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpt019>
- Becerra, P. I., Cruz, G., Ríos, S., & Castelli, G. (2013). Importance of irrigation and plant size in the establishment success of different native species in a degraded ecosystem of central Chile. *Bosque*, 34(1), 103–111. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002013000100012>
- Benedetti, S., Delard, C., Roach, F. y González, M. (2000b). *Monografía de Quillay: Quillaja saponaria*. Santiago, Chile: LOM Ediciones.
- Bown, H. E., Fuentes, J. P., & Martínez, A. M. (2018). Assessing water use and soil water balance of planted native tree species under strong water limitations in Northern Chile. *New Forests*, 49(6), 871–892. <https://doi.org/10.1007/s11056-018-9689-6>
- Brito, C. E., Bown, H. E., Fuentes, J-P., Franck, N., & Perez-Quezada, J. F. (2014). Mesophyll conductance constrains photosynthesis in three common sclerophyllous species in Central Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, 87(1), 8. <https://doi.org/10.1186/s40693-014-0008-0>
- Bustos, F., González, M. E., Donoso, P., Gerding, V., Donoso, C., & Escobar, B. (2008). Efectos de distintas dosis de fertilizante de liberación controlada (Osmocote®) en el desarrollo de plantas de coigüe, raulí y ulmo. *Bosque*, 29(2), 155–161. <https://doi.org/10.4067/s0717-92002008000200008>
- Cañete-Salinas, P., Zamudio, F., Yáñez, M., Gyenge, J., Valdés, H., Espinosa, C., Jara-Rojas, F., Venegas, J., Retamal, L., Acevedo-Opazo, C. (2019). Responses in growth and physiological traits in two *Populus x canadensis*

clones ('I-214' and 'I-488') submitted to different irrigation frequencies in central Chile. *Forest Ecology and Management*, 449, 117455. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2019.117455>

Centro de Información de Recursos Naturales (CIREN). (1997). *Descripciones de suelos, materiales y símbolos. Estudio agrológico VII Región*. Santiago, Chile.

Davis, M. R., Allen, R. B., & Clinton, P. W. (2004). The influence of N addition on nutrient content, leaf carbon isotope ratio, and productivity in a *Nothofagus* forest during stand development. *Canadian Journal of Forest Research*, 34(10), 2037–2048. <https://doi.org/10.1139/X04-067>

Donoso, P. J., Gerding, V., Uteau, D., Soto, D. P., Thiers, O. & Donoso, C. (2007). Efecto de fertilización y cobertura de malezas en el crecimiento inicial y la mortalidad de una plantación de *Nothofagus dombeyi* en la Cordillera de Los Andes. *Bosque*, 28(3), 249–255. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002007000300010>

Donoso, P. J., Soto, D. P., Schlatter, J. E. & Büchner, C. A. (2009). Effects of early fertilization on the performance of *Nothofagus dombeyi* planted in the Coastal Range of south-central Chile. *Ciencia e Investigación Agraria*, 36(3), 475–486. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-16202009000300014>

Donoso, S., Peña-rojas, K., Pacheco, C., Durán, S., Santelices, R., & Mascaró, C. (2015). The physiological and growth response of *Acacia caven* under water stress and the application of different levels of biosolids. *Ciencia e Investigación Agraria*, 42(2), 273–283. <https://doi.org/10.4067/S0718-162020150002000013>

- Donoso, S., Pena, K., Pacheco, C., Luna, G. y Aguirre, A. (2011). Respuesta fisiológica y de crecimiento en plantas de Quillaja saponaria y *Cryptocarya alba* sometidas a restricción hídrica. *Bosque*, 32(2), 187–195. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002011000200009>
- Flexas, J., Bota, J., Galmés, J., Medrano, H. & Ribas-Carbó, M. (2006). Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. *Physiologia plantarum*, 127, 343–352. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2005.00621.x>
- Galmés, J., Medrano, H. & Flexas, J. (2007). Photosynthetic limitations in response to water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms. *New Phytologist*, 175(1), 81-93.
- Hernández, E. I., Vilagrosa, A., Luis, V. C., Llorca, M., Chirino, E., & Vallejo, V. R. (2009). Root hydraulic conductance, gas exchange and leaf water potential in seedlings of *Pistacia lentiscus* L. and *Quercus suber* L. grown under different fertilization and light regimes. *Environmental and Experimental Botany*, 67, 269–276. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.07.004>
- Instituto Forestal (INFOR). (2020). *Consultas en línea: Exportaciones forestales chilenas. Chile.* Recuperado en https://wef.infor.cl/consultas_linea/consultaenlinea.php [2020, 14 de abril].
- Jokela, E. J., & Martin, T. A. (2000). Effects of ontogeny and soil nutrient supply on production, allocation, and leaf area efficiency in loblolly and slash pine stands. *Canadian Journal of Forest Research*, 30(10), 1511–1524. <https://doi.org/10.1139/cjfr-30-10-1511>
- Lawlor, D. W., & Cornic, G. (2002). Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant*,

Cell and Environment, 25, 275–294. <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00814.x>

Lusk, C. H., & Matus, F. (2000). Juvenile tree growth rates and species sorting on fine-scale soil fertility gradients in a Chilean temperate rain forest. *Journal of Biogeography*, 27(4), 1011–1020. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2699.2000.00449.x>

Maggard, A. O., Will, R. E., Wilson, D. S., Meek, C. R., & Vogel, J. G. (2017). fertilization can compensate for decreased water availability by increasing the efficiency of stem volume production per unit of leaf area for loblolly pine (*Pinus taeda*) stands. *Canadian Journal of Research*, 457, 445–457. <https://doi.org/10.1139/cjfr-2016-0422>

Mediavilla, S., & Escudero, A. (2003). Stomatal responses to drought at a Mediterranean site: a comparative study of co-occurring woody species differing in leaf longevity. *Tree Physiology*, 23, 987–996. <https://doi.org/10.1093/treephys/23.14.987>

Ministerio del Medio Ambiente (MMA). (2014). *Plan de adaptación al cambio climático en biodiversidad*. Santiago, Chile: MMA.

Ojeda, H., Rubilar, R. A., Montes, C., Cancino, J., & Espinosa, M. (2018). Leaf area and growth of Chilean radiata pine plantations after thinning across a water stress gradient. *New Zealand Journal of Forestry Science*, 48, 10. <https://doi.org/10.1186/s40490-018-0116-8>

Otieno, D. O., Schmidt, M. W. T., Adiku, S., & Tenhunen, J. (2005). Physiological and morphological responses to water stress in two *Acacia* species from contrasting habitats, 361–371.

Ovalle, J F, Arellano, E. C., Ginocchio, R., & Becerra, P. (2016a). Fertilizer location modifies root zone salinity, root morphology, and water-stress resistance of tree seedlings according to the watering regime in a dryland reforestation. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, (179), 223–233. <https://doi.org/10.1002/jpln.201500181>

Ovalle, Juan F., Arellano, E. C., & Ginocchio, R. (2015). Trade-offs between drought survival and rooting strategy of two South American Mediterranean tree species: Implications for dryland forests restoration. *Forests*, 6(10), 3733–3747. <https://doi.org/10.3390/f6103733>

Ovalle, J. F, Arellano, E. C., Oliet, J. A., Becerra, P., & Ginocchio, R. (2016b). Linking nursery nutritional status and water availability post-planting under intense summer drought: the case of a South American Mediterranean tree species. *Iforest-Biogeosciences and Forestry*, 9, 758–765. <https://doi.org/10.3832/ifor1905-009>

Peña-Rojas, K., Aranda, X., & Fleck, I. (2004). Stomatal limitation to CO₂ assimilation and down-regulation of photosynthesis in *Quercus ilex* resprouts in response to slowly imposed drought- *Tree Physiology*, 24, 813–822. <https://doi.org/10.1093/treephys/24.7.813>

Peña-Rojas, K., Donoso, S., Gangas, R., Durán, S., & Ilabaca, D. (2018a). Efectos de la sequía en las relaciones hídricas, crecimiento y distribución de biomasa en plantas de *Peumus boldus* Molina (Monimiaceae) cultivadas en vivero. *Interciencia*, 43, 36-42. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33955583007>

Peña-Rojas, K., Donoso, S., Pacheco, C., Riquelme, A., Gangas, R., Guajardo, A., & Durán, S. (2018b). Respuestas morfo-fisiológicas de plantas de

Lithraea caustica (Anacardiaceae) sometidas a restricción hídrica controlada. *Bosque*, 39(1), 27–36. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002018000100003>

Quero, J. L., Villar, R., Marañón, T., Murillo, A., & Zamora, R. (2008). Respuesta plástica a la luz y al agua en cuatro especies mediterráneas del género *Quercus* (Fagaceae). *Revista Chilena de Historia Natural*, 81(3), 373–385. <https://doi.org/10.4067/s0716-078x2008000300006>

R Core Team. (2019). *R: A language and environment for statistical computing*. Viena, Austria: R Foundation for Statistical Computing.

Rubilar, R. A., Albaugh, T. J., Allen, H. L., Alvarez, J., Fox, T. R., & Stape, J. L. (2013). Influences of silvicultural manipulations on above- and belowground biomass accumulations and leaf area in young *Pinus radiata* plantations, at three contrasting sites in Chile. *Forestry*, 86, 27–38.

Rubilar, R. A., Allen, H. L., Alvarez, J. S., Albaugh T. J., Fox, T.R. & Stape, J. L. (2010) Silvicultural manipulation and site effect on above and belowground biomass equations for young *Pinus radiata*. *Biomass and Bioenergy* 34(12): 1825–37. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.07.015>.

Rubilar, R., Blevins, L., Toro, J., Vita, A., & Muñoz, F. (2008). Early response of *Pinus radiata* plantations to weed control and fertilization on metamorphic soils of the Coastal Range, Maule Region, Chile. *Respuesta temprana de Pinus radiata al control de malezas y la fertilización en suelos metamórficos de la Cordil*, 29(1), 74–84.

Rubilar, R., Hubbard, R., Emhart, V., Mardones, O., Jose, J., Medina, A., ... Bozo, D. (2020). Climate and water availability impacts on early growth and growth efficiency of *Eucalyptus* genotypes: The importance of GxE

interactions. *Forest Ecology and Management*, 458(December 2019), 117763. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2019.117763>

Sadzawka R, A., Carrasco R, M. A., Grez Z, R., Mora G, M. de la luz, Flores P, H., & Neaman, A. (2006). Métodos de análisis recomendados para los suelos de Chile. Retrieved from <http://www.schcs.cl/doc/libros/Análisis de suelos.pdf>

Samuelson, L. J., Stokes, T. A., Ramirez, M. R., & Mendonca, C. C. (2019). Drought tolerance of a *Pinus palustris* plantation. *Forest Ecology and Management*, 451, 117557. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2019.117557>

Samuelson, L., Stokes, T. O. M., Cooksey, T. O. M., & Lemoore, P. M. C. (2001). Production efficiency of loblolly pine and sweetgum in response to four years of intensive management. *Tree Physiology*, 21, 369–376. <https://doi.org/10.1093/treephys/21.6.369>

Santibáñez, F. (2017). *Atlas agroclimático de Chile. Estado actual y tendencias del clima. Tomo III: Regiones de Valparaíso, Metropolitana, O'Higgins y Maule*. Santiago, Chile:AGRIMED.

Schneider, C. A., Rasband, W. S. y Eliceiri, K. W. (2012) NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9, 671-675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>

Toral, M. y Rosende, R. (1986). Producción y productividad del Quillay. *Renarres*, 3(8), 19-21.

Valenzuela, L. (2007). *Evaluación de un ensayo de riego y fertilización de quillay (Quillaja saponaria Mol.), en la Comuna de San Pedro, Provincia de Melipilla, Región Metropolitana*. Trabajo de grado, Ingeniería Forestal, Universidad de Chile, Santiago, Chile

Waring, R., Landsberg, J., & Linder, S. (2016). Tamm Review: Insights gained from light use and leaf growth efficiency indices. *Forest Ecology and Management*, 379, 232–242. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2016.08.023>

