

Universidad Nacional de La Plata Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales

Respuesta anatómica y fisiológica de especies de *Nothofagus* de Patagonia austral ante la variación de temperatura, humedad, CO₂ y nutrientes

Héctor Alejandro Bahamonde

Tesis para optar al grado de Doctor de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP



Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

Director: Dr. Pablo Luis Peri

Codirector: Dr. Javier Gyenge

Asesor académico: Dr. Juan Manuel Cellini

Dedicado especialmente a las 3 mujeres que me han dado y siguen dando amor e inspiración, a mi madre, a mi hermana y a mi compañera de vida.

Dedico también esta tesis a personas que se han entregado en plenitud a intentar una sociedad más justa y equitativa: a Chicho Allende, Pepe Mujica, Clotario Blest, Mariano Puga, Pocho Lepratti y a tantos otros que los han precedido y continúan por el mismo camino.

A Martín y a Mateo que representan los nuevos sueños

Agradecimientos

Agradezco en primer lugar al pueblo argentino que con su trabajo hace posible que podamos tener educación pública e instituciones de investigación a las que cualquier hijo de vecino, como yo, pueda acceder.

Mis profundos agradecimientos a Pablo (Peri), Javier (Gyenge) y Manu (Cellini) por guiarme y acompañarme en todo el sendero de esta tesis.

A Victoria (Fernández) por toda su ayuda y acompañamiento en diferentes etapas de esta tesis.

A todos y todas l@s colegas y/o amig@s que de distintas formas han ayudado para que esta tesis vea la luz: Vero Gargaglione, Romina Lasagno, Sebastián Ormaechea, Leo Huertas, Pancho Mattenet, Enzo Fasioli, Lucas Monelos, Jorge Birgi, Juan Pablo Mayo, Rodolfo Christiansen, Guillermo Martínez Pastur, Vanesa Lencinas, Rosina Soler, Yamina Rosas, Brenton Ladd, Sandra Duarte, Ismael Aranda, David Sánchez-Gómez, Luis Gil, Quique Rodríguez, y a quienes por limitaciones de memoria no he nombrado.

A Santiago Fernández y a Fabio de la Estancia Cancha Carrera por permitir y hacer más llevaderos muchos muestreos de campo.

A tod@s quienes han dado su cariño y apoyo en distintos momentos.

ÍNDICE

LISTA DE TABLAS	7
LISTA DE FIGURAS	10
RESUMEN	15
SUMMARY	17
Publicaciones científicas surgidas de esta tesis	20
CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN	21
1.1 Marco teórico	22
1.2 Antecedentes sobre respuesta ecofisiológica ante distintos factores de estrés en especies de <i>Nothofagus</i> de Patagonia.	28
Objetivo general.....	31
Estructura de la tesis, objetivos particulares e hipótesis	32
CAPITULO 2: IMPORTANCIA RELATIVA DE LAS PROPIEDADES DEL SUELO Y CLIMA REGIONAL SOBRE LA PRODUCTIVIDAD DE LOS BOSQUES DE <i>Nothofagus antarctica</i> EN PATAGONIA AUSTRAL, ARGENTINA.....	35
INTRODUCCIÓN	36
MATERIALES Y MÉTODOS	39
Área de estudio.....	39
Sitios de estudio y muestreo.....	40
Variables climáticas y topográficas.....	42
Análisis de datos	43
RESULTADOS	44
Análisis combinado de todos los sitios	44
DISCUSIÓN	49
CONSIDERACIONES FINALES.....	52
CAPITULO 3: PENSANDO EN LA SUSTENTABILIDAD DEL USO SILVOPASTORIL DE LOS BOSQUES DE <i>Nothofagus antarctica</i>, ¿CÓMO	

VARIAN LAS RESPUESTAS DE PLÁNTULAS DE DIFERENTES PROCEDENCIAS ANTE LA ESCASEZ DE AGUA?	58
INTRODUCCIÓN	59
MATERIALES Y MÉTODOS	61
Material vegetal.....	61
Diseño experimental.....	63
Medición de parámetros foliares morfológicos y funcionales	64
Análisis de datos	66
RESULTADOS	67
DISCUSIÓN	73
CONSIDERACIONES FINALES.....	76
CAPÍTULO 4: MODIFICACIONES ANATÓMICAS Y ULTRAESTRUCTURALES DE HOJAS DE <i>Nothofagus antarctica</i> Y <i>N. betuloides</i> CAUSADAS POR UN AUMENTO DE CO₂ ATMOSFÉRICO	78
INTRODUCCIÓN	79
MATERIALES Y MÉTODOS	83
Diseño experimental.....	83
Análisis de datos	90
RESULTADOS	90
Topografía de las hojas desarrolladas con diferentes concentraciones de CO ₂	90
Características de mojabilidad en hojas de <i>N. betuloides</i> y <i>N. antarctica</i> creciendo a dos niveles de CO ₂	94
Concentración de lípidos cuticulares, área foliar específica en dos niveles de concentración de CO ₂	102
Estructura de la epidermis y del mesófilo, densidad estomática y ultra-estructura de las hojas	103
DISCUSIÓN	112
Topografía de las hojas desarrolladas en diferentes concentraciones de CO ₂	112
Características de mojabilidad creciendo a dos niveles de CO ₂	113

Concentración de lípidos cuticulares, área foliar específica y densidad estomática foliar en dos niveles de concentración de CO ₂	115
Estructura de la epidermis y del mesófilo y ultra-estructura de las hojas	118
CONSIDERACIONES FINALES.....	121
CAPITULO 5: REABSORCIÓN FOLIAR DE NUTRIENTES ESENCIALES Y ELEMENTOS TRAZA EN DOS ESPECIES DE <i>Nothofagus</i> COEXISTENTES, CRECIENDO EN DIFERENTES CONDICIONES AMBIENTALES, EN PATAGONIA AUSTRAL, ARGENTINA.	122
INTRODUCCIÓN	123
MATERIALES Y MÉTODOS	127
Área de estudio.....	127
Muestreo y análisis de hojas y suelo	129
Análisis de datos	131
RESULTADOS	132
Concentración de nutrientes y elementos traza en tejidos foliares y suelo	133
Reabsorción de macronutrientes, micronutrientes y elementos traza	144
DISCUSIÓN	149
Concentración y reabsorción de macronutrientes	149
Concentración y reabsorción de micro-nutrientes y elementos traza.....	152
Implicancias ecológicas	154
CONSIDERACIONES FINALES.....	156
CAPITULO 6: DISCUSIÓN FINAL	157
PRINCIPALES HALLAZGOS, IMPLICANCIAS Y PERSPECTIVAS.....	157
BIBLIOGRAFÍA	164

LISTA DE TABLAS

Tabla 3.1. Principales características de bosques de *Nothofagus antarctica* de cuatro procedencias en Patagonia austral. PMA: precipitación media anual; TMA: temperatura media anual; H: altura de árboles dominantes; Evpt: Evapotranspiración.

Tabla 3.2. Valores promedio (\pm desviación estándar) de parámetros de curvas P-V evaluados en plántulas de *Nothofagus antarctica* de cuatro procedencias a diferentes niveles de disponibilidad hídrica. Proc: procedencias; Π_{100} : potencial osmótico a turgencia máxima; Π_0 : potencial osmótico a turgencia cero; RWC_0 : contenido relativo de agua a turgencia cero; DW/TW: relación peso seco/totalmente hidratado; Emax: módulo de elasticidad máximo de la pared celular.

Tabla 3.3. Índice de plasticidad fenotípica de parámetros funcionales y fisiológicos evaluados en plántulas de *Nothofagus antarctica* de cuatro procedencias. An: fotosíntesis neta; Swvc: conductancia estomática al vapor de agua; WUEi: eficiencia intrínseca en el uso del agua; AFE: área foliar específica; RGR: tasa de crecimiento relativo de las plántulas; ETR: tasa de transporte de electrones; qP: coeficiente de extinción fotoquímica; FPSII: rendimiento cuántico del fotosistema II; F'V/F'M: rendimiento cuántico intrínseco del fotosistema II; OP_100: potencial osmótico a turgencia máxima; OP_0: potencial osmótico a turgencia cero; RWC_0 : contenido relativo de agua a turgencia cero; DW/TW: relación peso seco/totalmente hidratado; Emax: módulo de elasticidad máximo de la pared celular.

Tabla 4.1. ANOVA de los ángulos de contacto de 3 líquidos (agua, glicerol y diyodometano) sobre la cara adaxial y abaxial de hojas de dos especies de *Nothofagus* creciendo a dos niveles de CO₂.

Tabla 4.2. Ángulos de contacto entre tres líquidos (agua (θ_w), glicerol (θ_g) y diyodometano (θ_d)) y dos lados (adaxial y abaxial) foliares en dos especies de *Nothofagus* (*N. antarctica* y *N. betuloides*) creciendo en dos niveles de concentración de CO₂ (400 y 800 ppm).

Tabla 4.3. Valores de energía libre superficial (γ) y sus componentes dispersivos (γ^W) y no dispersivos (γ^{AB}), y parámetro de solubilidad (δ) en dos lados (adaxial y abaxial) foliares de dos especies de *Nothofagus* (*N. antarctica* y *N. betuloides*) creciendo en dos niveles de concentración de CO₂ (400 y 800 ppm).

Tabla 4.4. Valores de concentración de lípidos cuticulares solubles (ceras), área foliar específica (AFE) de dos especies de *Nothofagus* (*N. antarctica* y *N. betuloides*) creciendo en dos niveles de concentración de CO₂ (400 y 800 ppm).

Tabla 4.5. Valores de parámetros de anatomía estomática de dos especies de *Nothofagus* (*N. antarctica* y *N. betuloides*) desarrolladas en dos niveles de concentración de CO₂ (400 y 800 ppm). LCG: longitud célula guarda; ACG: ancho celula guarda; ArCG: área célula guarda; LPE: longitud de poro estoma; APE: ancho de poro estoma; ArPE: área de poro estoma; ICP: índice de conductancia potencial.

Tabla 4.6. Valores de tamaños y proporciones de distintos tejidos foliares de dos especies de *Nothofagus* (*N. antarctica* y *N. betuloides*) al crecer en dos niveles de concentración de CO₂ (400 y 800 ppm). EsLa: espesor de lámina; EsEh: espesor de epidermis adaxial (haz); EsEe: espesor de epidermis abaxial (envés); EpH: epidermis adaxial (haz); EpE: epidermis abaxial (envés); PaEm: parénquima en empalizada; PaEs: parénquima esponjoso; EsIn: espacios intercelulares. Los porcentajes se refieren al total de la sección transversal de la hoja.

Tabla 4.7. Valores de espesor de cutícula adaxial (haz) y abaxial (envés) y área de cloroplastos de dos especies de *Nothofagus* (*N. antarctica* y *N. betuloides*) creciendo en dos niveles de concentración de CO₂ (400 y 800 ppm).

Tabla 5.1. Características principales de tres bosques de *Nothofagus* ubicados en sitios ambientalmente contrastantes en Patagonia austral. PMA: precipitación media anual; TMA: temperatura media anual; H: altura dominante de árboles maduros; Na: *Nothofagus antarctica*; Np: *Nothofagus pumilio*. CSA: alta calidad de sitio; CSM: media calidad de sitio; CSB: baja calidad de sitio.

Tabla 5.2. Área foliar específica (AFE) de hojas maduras y senescentes de *N. pumilio* y *N. antarctica* colectadas en tres sitios contrastantes (CSA, CSAM y CSB). CSA: alta calidad de sitio; CSM: media calidad de sitio; CSB: baja calidad de sitio.

Tabla 5.3. Concentración de macro y micronutrientes en suelo (0-20 cm) de bosques de *Nothofagus pumilio* y *N. antarctica* creciendo en tres sitios con condiciones ambientales contrastantes. La concentración de materia orgánica (MO) y nitrógeno (N) son

expresadas como %, mientras los demás elementos son expresados en mg kg^{-1} . CSA: alta calidad de sitio; CSM: media calidad de sitio; CSB: baja calidad de sitio.

Tabla 5.4. Eficiencia de reabsorción (%) de macronutrientes en hojas de bosques de *Nothofagus pumilio* y *N. antarctica* recolectadas en tres sitios con condiciones ambientales contrastantes en Patagonia austral. CSA: alta calidad de sitio; CSM: media calidad de sitio; CSB: baja calidad de sitio.

Tabla 5.5. Eficiencia de reabsorción (%) de micronutrientes en hojas de bosques de *Nothofagus pumilio* y *N. antarctica* recolectadas en tres sitios con condiciones ambientales contrastantes en Patagonia austral. CSA: alta calidad de sitio; CSM: media calidad de sitio; CSB: baja calidad de sitio.

Tabla 5.6. Eficiencia de reabsorción (%) de elementos traza en hojas de bosques de *Nothofagus pumilio* y *N. antarctica* recolectadas en tres sitios con condiciones ambientales contrastantes en Patagonia austral. CSA: alta calidad de sitio; CSM: media calidad de sitio; CSB: baja calidad de sitio.

Tabla 5.7. Coeficiente de correlación de Pearson (R) y valor p entre concentración de elementos en suelo, en hojas maduras y reabsorción de nutrientes, en hojas de bosques de *Nothofagus pumilio* y *N. antarctica* recolectadas en tres sitios con condiciones ambientales contrastantes en Patagonia austral.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Distribución de los bosques de *Nothofagus* estudiados en esta tesis. En color naranja bosques de *N. antarctica*; en color verde claro *N. pumilio* y en color verde oscuro bosques mixtos siempreverdes mayoritariamente compuestos por *N. betuloides*.

Figura 2.1. Distribución de los rodales de *Nothofagus antarctica* evaluados en este estudio.

Figura 2.2. Correlación entre valores de altura dominante predichos por el modelo RMCP y valores de altura dominante medidos en todos los sitios de estudio mostrados en la Fig. 2.1.

Figura 2.3. Importancia relativa de variables predictoras de altura dominante de árboles de *Nothofagus antarctica*. Las 9 variables más importantes se muestran en orden ascendente (siendo la altitud la variable más importante). Temp= temperatura; Estacionalidad térmica= desviación estándar del rango anual de temperatura x 100, donde el rango se refiere a la diferencia entre los valores más altos y más bajos registrados.

Figura 2.4. Altura de árboles dominantes de acuerdo a la altitud en la que se encontraban los sitios mostrados en la Fig. 2.1.

Figura 2.5. Altura de árboles dominantes de acuerdo al rango anual de temperatura en la que se encontraban los sitios mostrados en la Fig. 2.1. Rango anual de temperatura= temperatura máxima mensual – temperatura mínima mensual.

Figura 2.6. Altura de árboles dominantes de acuerdo a la textura de suelo en la que se encontraban los sitios mostrados en la Fig. 2.1.

Figura 2.7. Altura de árboles dominantes de acuerdo a la estacionalidad térmica en la que se encontraban los sitios mostrados en la Fig. 2.1. Estacionalidad térmica= desviación estándar del rango anual de temperatura x 100, donde el rango se refiere a la diferencia entre los valores más altos y más bajos registrados.

Figura 2.8. Análisis de componentes principales incluyendo variables climáticas, espaciales y edáficas, relacionadas con las clases de sitio de los bosques de *Nothofagus antarctica* en Patagonia austral. CS es la clase de sitio donde crece cada rodal; las letras S y T antes del número de cada sitio indican si el rodal está ubicado en Santa Cruz o Tierra del Fuego, respectivamente; BIO2 (temperatura máxima mensual- temperatura mínima mensual); BIO3 (isotermalidad (BIO2/BIO7) x 100)); BIO4 (estacionalidad de la temperatura (desviación estándar x 100)); BIO5 (temperatura máxima del mes más cálido); BIO6 (temperatura mínima del mes más frío); BIO7 (rango anual de temperatura (BIO5-BIO6)); BIO9 (temperatura media del trimestre más seco); BIO10 (temperatura media del trimestre más cálido); Alt (altitud); C (concentración de carbono en suelo); C:N (relación carbono:nitrógeno); EVPT (evapotranspiración); N (concentración de nitrógeno en suelo).

Figura 3.1. Humedad volumétrica de macetas (A) y potencial pre-alba (B) medidas en diferentes fechas en plántulas de *Nothofagus antarctica* de 4 procedencias. T₀ inicio de periodo de riego completo; T_F periodo de estrés hídrico.

Figura 3.2. Fotosíntesis neta (A), área foliar específica (B), conductancia estomática al vapor de agua (C) y eficiencia intrínseca en el uso del agua (D) en diferentes fechas en plántulas de *Nothofagus antarctica* de 4 procedencias. T₀ inicio de periodo de riego adecuado; T_F periodo de estrés hídrico.

Figura 3.3. Tasa de transporte de electrones (A), coeficiente de extinción fotoquímica (B), rendimiento cuántico del fotosistema II (C) y rendimiento cuántico intrínseco del fotosistema II (D) en diferentes fechas en plántulas de *Nothofagus antarctica* de 4 procedencias. T₀ inicio de periodo de riego adecuado; T_F periodo de estrés hídrico.

Figura 3.4. Diámetro en la base del tallo (A) y tasa de crecimiento relativo (B) en diferentes fechas en plántulas de *Nothofagus antarctica* de 4 procedencias. T₀ inicio de periodo de riego adecuado; T_{0,5} fin de periodo de riego adecuado; T_F periodo de estrés hídrico.

Figura 4.1. A) Plantas de *Nothofagus* creciendo en invernadero; B) Plantas de *Nothofagus* creciendo en cámara de cultivo; C y D) hojas de *Nothofagus* para cálculo de

área foliar específica (AFE); E) equipo de análisis de sombra para medir ángulos de contacto de distintos líquidos con superficies foliares; F) imagen de una gota de agua sobre una superficie foliar y su ángulo de contacto (θ).

Figura 4.2. Imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) de envés de hojas de *Nothofagus* donde se pueden observar y cuantificar: número de estomas (1 y 2); longitud de células guarda (3); ancho de células guarda (4); longitud de apertura estomática (5) y ancho de apertura estomática (6).

Figura 4.3. Imagen de microscopio óptico de hoja de *Nothofagus* donde se pudieron cuantificar los siguientes parámetros: grosor de epidermis adaxial (1), parénquima en empalizada (2), parénquima esponjoso (3), espacios intercelulares (4), grosor de epidermis abaxial (5) y espesor de lámina (6).

Figura 4.4. Micrografías obtenidas a través de microscopía electrónica de barrido (SEM) del haz de hojas de *N. antarctica* de plantas crecidas a 400 (A, B) u 800 ppm (C, D) de CO₂. (A, C) magnificación x50, (B, D) magnificación x100.

Figura 4.5. Micrografías obtenidas a través de microscopía electrónica de barrido (SEM) del haz de hojas de *N. betuloides* de plantas crecidas a 400 (A) u 800 ppm (B) de CO₂ (magnificación por x100).

Figura 4.6. Micrografías obtenidas a través de microscopía electrónica de barrido (SEM) de la cara abaxial de hojas de *N. antarctica* de plantas crecidas a 400 (A, B) u 800 ppm (C, D) de CO₂. (A, C) magnificación x100), (B, D) magnificación x500.

Figura 4.7 Micrografías obtenidas a través de microscopía electrónica de barrido (SEM) del envés de hojas de *N. betuloides* de plantas crecidas a 400 (A, B) u 800 ppm (C, D) CO₂. (A, C) magnificación por x50, (B, D) magnificación x100 aumentos. Los tricomas glandulares se han marcado con la letra TG, las extensiones de la vaina del haz como EVH y las áreas con acumulación de estomas como E.

Figura 4.8. Micrografías obtenidas a través de microscopía electrónica de barrido (SEM) del lado abaxial de hojas de *N. betuloides* de plantas crecidas a 400 (A) u 800 ppm (B) CO₂, a una magnificación x500.

Figura 4.9. Ángulos de contacto entre tres líquidos (agua, glicerol y diiodometano) y dos lados (adaxial (haz) y abaxial (envés)) foliares en dos especies de *Nothofagus* (*N. antarctica* y *N. betuloides*) creciendo en dos niveles de concentración de CO₂ (400 y 800 ppm).

Figura 4.10. Valores de energía libre superficial total y sus componentes (dispersivos y no dispersivos), y parámetro de solubilidad en dos lados (adaxial (haz) y abaxial (envés)) foliares de dos especies de *Nothofagus* (*N. antarctica* y *N. betuloides*) creciendo en dos niveles de concentración de CO₂ (400 y 800 ppm).

Figura 4.11. Cortes transversales de hojas de *N. antarctica* teñidos con azul de toluidina y observados mediante microscopía óptica (A, C, x 100 y C,D x 200 aumentos). Las plantas crecidas a 400 (A, C) u 800 ppm (B, D) de CO₂. En A y B se señalan los haces vasculares (HV) y extensiones de la vaina del haz (EVA).

Figura 4.12. Cortes transversales de hojas de *N. antarctica* crecidas a 400 ppm de CO₂ observados mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM), con énfasis en la epidermis del lado adaxial (A, B) y abaxial (C, D). En B y D se muestra la cutícula (C), pared celular epidérmica (incluyendo la cutícula, PCE), pared celular (de polisacáridos, PC), ceras epicuticulares (CEp) y pliegues cuticulares (PCut) en el caso del lado abaxial (D). Por debajo de la pared celular epidérmica se observa la continuidad de las células epidérmicas (CE).

Figura 4.13. Cortes transversales de hojas de *N. betuloides* teñidos con azul de toluidina y observados mediante microscopía óptica (A, C x100 y B, D x200 aumentos). Las plantas fueron crecidas a 400 (A, C) u 800 ppm de CO₂ (B, D) CO₂. En A y C, se señalan los haces vasculares (HV) y extensiones de la vaina del haz (EVA). En D se observa un tricoma glandular (TG) cortado en sección transversal

Figura 4.14. Cortes transversales de hojas de *N. betuloides* crecidas a 400 ppm de CO₂, observados mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM), con énfasis en la epidermis del lado adaxial (A, B) y abaxial (C,D). En B y C se muestra la cutícula (C),

pared celular epidérmica (incluyendo la cutícula, PCE), pared celular (de polisacáridos, PC), ceras epicuticulares (CEp). Por debajo de la pared celular epidérmica se observa la continuidad de las células epidérmicas (CE).

Figura 4.15. Imágenes de microscopía electrónica de transmisión (TEM) de cloroplastos de hojas de *Nothofagus antarctica* creciendo a 400 ppm de CO₂ (A y B); y creciendo a 800 ppm de CO₂ (C, D y E). Las flechas rojas señalan los cloroplastos.

Figura 4.16. Imágenes de microscopía electrónica de transmisión (TEM) de cloroplastos de hojas de *Nothofagus betuloides* creciendo a 400 ppm de CO₂ (A y B); y creciendo a 800 ppm de CO₂ (C, D y E). Las flechas rojas señalan los cloroplastos.

Figura 5.1 Concentración de macronutrientes (N, Ca, K, Mg, P and S) de hojas de *N. pumilio* y *N. antarctica* creciendo en tres sitios contrastantes, recolectadas durante dos momentos o edades de las hojas (maduras y senescentes). CSA: alta calidad de sitio; CSM: media calidad de sitio; CSB: baja calidad de sitio. N.p., *Nothofagus pumilio*; N.a., *Nothofagus antarctica*; Mad, hojas maduras; Sen, hojas senescentes.

Figura 5.2. Concentración de Micronutrientes (B, Cu, Fe, Ni, Mn y Zn) de hojas de *N. pumilio* y *N. antarctica* creciendo en tres sitios contrastantes, recolectadas durante dos momentos o edades de las hojas (maduras y senescentes). CSA: alta calidad de sitio; CSM: media calidad de sitio; CSB: baja calidad de sitio. N.p., *Nothofagus pumilio*; N.a., *Nothofagus antarctica*; Mad, hojas maduras; Sen, hojas senescentes.

Figura 5.3. Concentración de elementos traza (Al, Li, Pb, Rb, Sr, Ti y Tl) de hojas de *N. pumilio* y *N. antarctica* creciendo en tres sitios contrastantes, recolectadas durante dos momentos o edades de las hojas (maduras y senescentes). CSA: alta calidad de sitio; CSM: media calidad de sitio; CSB: baja calidad de sitio. N.p., *Nothofagus pumilio*; N.a., *Nothofagus antarctica*; Mad, hojas maduras; Sen, hojas senescentes.

RESUMEN

Los bosques de *Nothofagus pumilio* (Poepp. et Endl.) Krasser. (lenga, especie caducifolia), *N. antarctica* (G. Forster) Oerst. (ñire, especie caducifolia) y *N. betuloides* (Mirb.) Oerst. (guindo, especie de hoja perenne) son de gran importancia ecológica, ambiental y productiva para el hemisferio sur. En concreto, los bosques de estas especies de la Patagonia austral (Santa Cruz y Tierra del Fuego) abarcan una superficie mayor a 1,2 millones de hectáreas y son los más meridionales del mundo. Asimismo, estas masas boscosas son uno de los principales reservorios de carbono (C) de la Patagonia austral argentina, por lo que son un elemento importante para mantener el balance global de C en respuesta al cambio climático. Tomando los bosques nativos de *Nothofagus* de la Patagonia austral como objeto de estudio, se han desarrollado diversas investigaciones en los distintos capítulos de la tesis, para evaluar la respuesta de estas especies ante diversas situaciones de estrés abiótico y poder así predecir sus posibles respuestas al cambio climático a nivel funcional, estructural y de producción. Como aspectos principales, en esta tesis se han analizado los factores edáficos y climáticos que más afectan la productividad de los bosques de *N. antarctica* en Patagonia austral, cómo es la respuesta de esta especie al estrés hídrico y al crecimiento en condiciones climáticas variables, si existen alteraciones a nivel de anatomía foliar en respuesta a un incremento de CO₂ atmosférico y cuál es la tasa de reabsorción de nutrientes de *Nothofagus antarctica* y *N. pumilio* de la Patagonia austral. En el Capítulo dos se ha evaluado la influencia de factores edáficos y variables climáticas en la productividad de 48 bosques de *N. antarctica*, estimada mediante la altura de los árboles dominantes. Los datos de productividad medidos junto con una serie de variables edáficas y climáticas, se integraron en un modelo matemático que permite relacionar la productividad de los bosques estudiados con las variables mencionadas. Las cuatro variables más importantes para el modelo resultaron ser la altitud, la temperatura, la textura del suelo y por último la homogeneidad temporal (o estacionalidad) de la temperatura, concluyéndose un efecto predominante a nivel de productividad, de las variables edáficas y aquellas relacionadas con la temperatura y una menor importancia de la disponibilidad hídrica. La respuesta funcional de plántulas de diferentes procedencias de *N. antarctica* al estrés hídrico, factor cada vez más habitual en las condiciones actuales de calentamiento global, se estudió en detalle en el Capítulo tres de la tesis, como herramienta preliminar para estimar la supervivencia y sostenibilidad de los bosques de

esta especie. Se llevaron a cabo experimentos de ecofisiología con cuatro procedencias ambientalmente contrastantes de *N. antarctica*, en condiciones controladas de invernadero. Entre los resultados obtenidos se observaron diferencias a nivel de tasa de fotosíntesis y conductancia estomática entre las distintas procedencias, pero sólo cuando las plantas estaban en condiciones de buena disponibilidad hídrica. Estos estudios permitieron caracterizar las respuestas funcionales a la sequía de las distintas procedencias de *N. antarctica*, concluyéndose que esta especie posee una gran capacidad de regulación osmótica. Las características anatómicas de las hojas y físico-químicas de las superficies foliares de *N. antarctica* y *N. betuloides* fueron estimadas tras cultivar las plantas en condiciones normales y a altos niveles de CO₂ atmosférico. Manteniendo las plantas en condiciones de buena disponibilidad hídrica, nutrición y fotoperiodo desde el inicio del periodo experimental, se impuso un tratamiento de 400 ppm (control) y otro de 800 ppm de CO₂ a varios individuos de estas dos especies de *Nothofagus*. Tras un periodo de crecimiento en las citadas condiciones de CO₂ ambiental, se tomaron muestras de hojas y se llevaron a cabo diversos estudios anatómicos con microscopía electrónica de barrido, transmisión y microscopía óptica. También se midieron los ángulos de contacto de tres líquidos con diferente grado de polaridad y apolaridad, para estimar la mojabilidad y posteriormente la energía libre de las superficies foliares y los parámetros relacionados. Se observó un efecto diferencial del crecimiento en altos niveles de CO₂ atmosférico entre las 2 especies y en la proporción de los tejidos del haz y del envés de las hojas (por ejemplo, un incremento del espacio apoplástico o espesor de la epidermis o cutícula), Mediante microscopía electrónica de transmisión se apreciaron también incrementos en la presencia de cloroplastos en las células de mesófilo de las hojas de *N. antarctica* de plantas crecidas en altos niveles de CO₂ atmosférico y daños en los cloroplastos de ambas especies. En cuanto a la mojabilidad, energía libre superficial y concentración de ceras de las superficies del haz y el envés de las plantas evaluadas, se observaron diferencias a nivel de especie y en algunos casos por efecto de las altas condiciones de CO₂ atmosférico. También se observaron diferencias en cuanto a la topografía de las superficies y presencia de estructuras tales como estomas, tricomas o venas. Se concluye que las hojas de *N. antarctica* tienen mayor potencial para captar agua depositada sobre ellas como lluvia, rocío o niebla que *N. betuloides*. En el Capítulo cinco de la tesis, se estudió la tasa de reabsorción de nutrientes y elementos minerales en árboles de *N. antarctica* y

N. pumilio pertenecientes a bosques localizados en 3 condiciones edafo-climáticas distintas de la Patagonia austral Argentina. La tasa de reabsorción de la mayoría de los elementos estudiados no varió entre especies en ninguna de las parcelas experimentales. Sin embargo, se observaron variaciones en relación a los distintos lugares de estudio para la eficacia del proceso de resorción de la mayoría de los macronutrientes, algunos micronutrientes y elementos traza en el caso de *N. antarctica*, mientras que *N. pumilio* no mostró diferencias. Por otro lado, indistintamente de la especie o lugar de estudio, algunos elementos tales como el boro, cobre, hierro o aluminio no se reabsorbieron. Se concluye que ambas especies tienen una estrategia similar de reabsorción cuando coexisten en el mismo lugar, pero no se han observado indicios de una mayor reabsorción de nutrientes en condiciones más limitantes a nivel climático y edáfico.

SUMMARY

The forests of *Nothofagus pumilio* (Poepp. et Endl.) Krasser. (lenga, deciduous species); *N. antarctica* (G. Forster) Oerst. (ñire, deciduous species) and *N. betuloides* (Mirb.) Oerst. (guindo, evergreen species) are of great ecological, environmental and productive importance to the southern hemisphere. In particular, the forests of these species in Southern Patagonia (Santa Cruz and Tierra del Fuego) covering an area of more than 1.2 million hectares and are the southernmost in the world. Likewise, these forests are one of the main carbon (C) reservoirs in Argentina's Southern Patagonia, making them an important element for maintaining the global C balance in response to climate change. Considering *Nothofagus* native forests of southern Patagonia as central topic, several investigations have been developed, as shown in the different chapters of the thesis, with the aim of evaluating the response of these species to diverse abiotic stress factors, and thus making it possible to predict their possible response to climate change at a functional, structural and production level. The main aspects examined in this PhD thesis are how the edaphic and climatic factors affect the productivity of *N. antarctica* forests in South Patagonia, how is the response of this species to water stress and growth under variable climatic conditions, if there are alterations in leaf anatomy in response to an increased atmospheric CO₂ levels, and what is the rate of nutrient

reabsorption these two species of *Nothofagus* from Southern Patagonia. In Chapter two, the influence of soil factors and climatic variables on the productivity of different *N. antarctica* forests, estimated by the height of the dominant trees, has been evaluated. The measured productivity data, together with a series of soil and climate variables, were integrated into a mathematical model that relates the productivity of the studied forests with the mentioned variables in a theoretical way. The four most important variables for the model were: altitude, temperature, soil texture and finally the seasonality of temperature. The main finding was to recognise the predominant effect of the soil and temperature variables on productivity was that the availability of water was less important. The functional response of *N. antarctica* seedlings of different provenances to water stress, an increasingly common factor under current global warming conditions, was studied in detail in Chapter three of the thesis, as a preliminary tool for estimating the survival and sustainability of this species' forests. Ecophysiological experiments were carried out with four different *N. antarctica* provenances under controlled greenhouse conditions. Among the results obtained, differences were observed in the rate of photosynthesis and stomatal conductance between the different provenances, but only when the plants were kept under sufficient water availability conditions. These studies enabled the characterisation of functional responses to drought of the different provenances *N. antarctica*, concluding that this species has a great capacity for osmotic regulation. The leaf anatomical features and physical-chemical characteristics of the leaf surfaces of *N. antarctica* and *N. betuloides* were estimated after growing the plants under normal conditions and at high levels of atmospheric CO₂. Keeping the plants in conditions of good water availability, nutrition and photoperiod from the beginning of the experimental period, a treatment of 400 ppm (control) and another one of 800 ppm of CO₂ was imposed on several individuals of these two *Nothofagus* species. After a period of growth under the aforementioned environmental CO₂ conditions, leaf samples were taken and various anatomical studies were carried out using scanning electron microscopy, transmission and optical microscopy. The contact angles of three liquids with different degrees of polarity and apolarity were also measured to estimate the wettability and subsequently, the free energy of the leaf surfaces and related parameters. A differential effect of growth at high levels of atmospheric CO₂ between the two species and in the proportion of tissues in adaxial and abaxial leaf surfaces was observed (e.g. an increase in the apoplastic

space or thickness of the epidermis or cuticle). Transmission electron microscopy also showed increases in the presence of chloroplasts in the mesophyll cells of leaves of *N. antarctica* plants grown under high levels of atmospheric CO₂ and damage to the chloroplasts of both species. Regarding wettability, surface free energy and wax concentration of adaxial and abaxial leaf surfaces of the plants evaluated, differences were observed at the species level and in some cases due to high CO₂ conditions. Differences were also observed in terms of surface topography and the presence of structures such as stomata, trichomes or veins. It is concluded that *N. antarctica* leaves have a greater potential to absorb water deposited as rain, dew or mist than those of *N. betuloides*.

Publicaciones científicas surgidas de esta tesis

- 1) Bahamonde, H. A., Martínez Pastur, G., Lencinas, M. V., Soler, R., Rosas, Y. M., Ladd, B., et al. (2018). The relative importance of soil properties and regional climate as drivers of productivity in southern Patagonia's *Nothofagus antarctica* forests. *Ann. For. Sci.* 75 (2), 45. doi: 10.1007/s13595-018-0725-7
- 2) Bahamonde, H. A., Sánchez-Gómez, D., Gyenge, J., Peri, P. L., Cellini, J. M., & Aranda, I. (2019). Thinking in the sustainability of *Nothofagus antarctica* silvopastoral systems, how differ the responses of seedlings from different provenances to water shortage?. *Agroforestry Systems*, 93(2), 689-701.
- 3) Bahamonde, H. A., Fernández, V., Gyenge, J., Mattenet, F., & Peri, P. L. (2019). Essential nutrient and trace element foliar resorption of two co-existing *Nothofagus* species grown under different environmental conditions in southern Patagonia. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1542.

CAPITULO 1

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

1.1 Marco teórico

El género *Nothofagus* (Fagaceae) es uno de los géneros arbóreos más representativos del hemisferio Sur, siendo distribuido principalmente en los bosques templados de Australia, Nueva Zelanda, y sur de Chile y Argentina (Tanai 1986). Los bosques de *Nothofagus pumilio* (Poepp. et Endl.) Krasser. (lenga); *N. antarctica* (G. Forster) Oerst. (ñire) y *N. betuloides* (Mirb.) Oerst. (guindo), de Patagonia austral (Santa Cruz y Tierra del Fuego) constituyen las masas boscosas de hoja ancha más meridionales del mundo, siendo las dos primeras especies caducifolias y la última siempreverde, ocupando una superficie mayor a 1,2 millones de ha (Carabelli y Peri 2005, Peri et al. 2019). En general, las tres especies ocupan distintas áreas asociadas a diferentes condiciones ambientales (Figura 1.1). En Patagonia austral, los bosques de *N. pumilio* se distribuyen entre 48° y 55 ° de latitud sur, crecen mayoritariamente en rodales puros, en suelos bien desarrollados y bien drenados con precipitaciones de entre 500 y 600 mm año⁻¹ (Veblen et al. 1996). Excepcionalmente se pueden encontrar mezclados con rodales de *N. antarctica* por debajo de esos niveles de precipitación; aunque en su distribución más occidental pueden formar bosques mixtos con *N. betuloides* en condiciones de mayor pluviosidad (Frangi et al. 2004, Donoso et al. 2006). En Patagonia los bosques de lenga pueden alcanzar 30 m de altura y 1,7 m de diámetro en individuos dominantes. Los bosques de *N. antarctica* en general ocupan sitios con condiciones menos favorables en comparación a las restantes especies, incluyendo suelos rocosos, suelos pobremente drenados o anegados (como turberas), ambientes de baja disponibilidad hídrica y expuestos a fuertes vientos en el límite con la estepa patagónica (Frangi et al. 2004). Esto se traduce en que más del 90 % de los rodales no superan los 10 m de altura en Patagonia austral y, ocasionalmente, pueden alcanzar los 16 m (Collado 2009, Peri y Ormaechea 2013). Por otro lado, *N. betuloides* se desarrolla en Argentina desde 48° a 52° de latitud sur (Veblen et al. 1996) convirtiéndose en el bosque siempreverde más austral del mundo (Promis et al. 2008). En Patagonia austral se localiza en rodales puros o mixtos asociado con *Drimys winteri*, *Embothrium coccineum* o *N. pumilio* principalmente en zonas ribereñas o en bordes de lagos (Donoso y Donoso 2006), lo cual se asocia a sitios con mayor disponibilidad hídrica y a inviernos menos rigurosos en cuanto a temperatura (Peri et al. 2012). Por su parte, los bosques de *N. antarctica* son los que se desarrollan en la mayor amplitud ecológica de todos los *Nothofagus* spp. que

viven en Sudamérica. Su distribución va desde 36° 30' a 56° 00'S y altitudinalmente desde 0 a 2000 m s.n.m. (sobre el nivel del mar) (Donoso et al. 2006). En Patagonia austral se encuentra entre los 46° 00' a 56° 00'S, puede crecer en rodales puros o mixtos principalmente con *N. pumilio*. Estos bosques conforman uno de los principales reservorios de carbono (C) de la Patagonia austral argentina (Peri et al. 2008), lo que les confiere un rol primordial como elemento mitigador del cambio climático (Denman et al. 2007). A esto debemos agregar la función fundamental que cumplen los bosques nativos como reguladores del ciclo hidrológico, tanto como protección de cursos de agua asociados, así como también por los servicios ecosistémicos proporcionados a nivel de cuenca (Oyarzún et al. 2005, Jobbágy 2011). El entendimiento de este tipo de interacción entre ciclo de C y agua es bastante difuso a nivel global (Jackson et al. 2005). En un estudio de modelización de cambio climático para Patagonia austral, Kreps et al. (2012) pronostican aumentos de 2 °C en la temperatura media anual, y un incremento de 20 mm sobre el promedio actual de precipitaciones anuales en los próximos 70 años para la zona boscosa de Tierra del Fuego; siendo esta tendencia de aumentos menos notorio en las áreas de bosques en Santa Cruz. Relacionado con esto, el Panel Intergubernamental de Cambio Climático (IPCC por sus siglas en inglés) ha dado a conocer incrementos de hasta 20 ppm en la concentración de CO₂ atmosférico en las últimas décadas, previéndose una tendencia a la aceleración de dicha tasa (IPCC, Allen et al. 2019). Por otra parte, es poca la información sobre la respuesta funcional de las especies forestales de la zona boscosa de Patagonia austral en un mundo enriquecido en CO₂. Particularmente, en Argentina no existen estudios que evalúen la respuesta de especies de bosque nativo a los efectos que puedan generar el cambio climático y el aumento de CO₂ atmosférico. Relacionado también con esto, existe preocupación a nivel global por generar herramientas y/o pautas de manejo que contribuyan a la adecuación de los sistemas naturales al cambio climático. En este sentido, el IPCC define la adecuación al cambio climático (aclimatación) como un “ajuste de los sistemas naturales o humanos en respuesta a estímulos climáticos reales o esperados, o a sus efectos, que atenúa los efectos perjudiciales o explota las oportunidades beneficiosas”. Asimismo, se sabe que no hay ninguna medida de aplicación universal para adecuar los bosques al cambio climático, por ende quienes tomen decisiones deberán tener la flexibilidad para poner en prácticas las medidas de adaptación más adecuadas al contexto local (Seppala et al. 2009). Por consiguiente, se hace imprescindible

profundizar en el conocimiento de los aspectos señalados para reducir las actuales incertidumbres en torno a los efectos del cambio climático sobre los bosques, sus especies y las poblaciones asociadas.

Cuando nos referimos a estrés para las plantas, hablamos del conjunto de condiciones bioquímicas o fisiológicas que definen un estado particular del organismo diferente al observado bajo un rango de condiciones óptimas (óptimo fisiológico) en las cuales el límite de estabilidad ha sido sobrepasado, y en el mismo sentido, un factor de estrés es cualquier agente que produce un menor crecimiento respecto al óptimo de la planta (Kozlowski y Pallardy 1997a, b). Conocer las respuestas de las especies vegetales que se desarrollan en un lugar frente a los distintos factores de estrés a que estén expuestas, nos permitirá conocer su potencial de supervivencia y productividad (Lambers et al. 2008, Pallardy 2008). En este sentido, se sabe que la producción primaria de C está fuertemente relacionada con el agua, la temperatura y la disponibilidad de nutrientes en cada ecosistema (Roy et al. 2001). Una característica del ambiente en Patagonia es su aridez, con un gradiente de precipitaciones que disminuye desde las más altas en el Oeste hacia el Este y donde la relación entre la precipitación anual y la evapotranspiración potencial varía de 0,9 en los lugares más húmedos, a valores menores de 0,5 en los lugares más secos (Paruelo et al. 1998). Este aspecto ambiental es muy relevante en los sistemas boscosos de la Patagonia, debido a que tales condiciones de estrés hídrico tendrían incidencia directa en el desarrollo de los árboles y principalmente, en la supervivencia de la regeneración (Cellini 2010). Las plantas en general pueden desarrollar distintas respuestas ante este factor, desde mecanismos de evitación, escape o hasta estrategias de tolerancia a la sequía (Levitt 1980, Valladares et al. 2004). Se sabe que las hojas juegan un rol clave en el funcionamiento de las plantas y su aclimatación o adaptación a largo plazo al ambiente que las circunda. Las estrategias en este órgano pueden variar desde el cierre estomático para evitar pérdida de agua (Bohnert y Jensen 1996), un ajuste osmótico para mantener el nivel de turgencia con baja disponibilidad de agua (Girma y Krieg 1992), hasta cambios en el área foliar específica, la que puede reflejar la capacidad fotosintética de las plantas en una escala geográfica amplia (Tian et al. 2016). En la misma línea, las características de los estomas (densidad, tamaño) son susceptibles a los cambios ambientales (luz, temperatura, agua) producidos por gradientes geográficos amplios (Hetherington y

Woodward 2003). Asimismo, se sabe que la funcionalidad, morfología y densidad de estomas pueden verse modificados por deficiencias de nutrientes (Fernández et al. 2014a). Las características físico químicas de las superficies de los vegetales varían con la interacción con líquidos, partículas sólidas, insectos o microorganismos depositados sobre las mismas (Khayet y Fernández 2012). De esta manera, la combinación de rugosidad y composición química de los tejidos foliares determinará el grado de humectabilidad, polaridad e hidrofobicidad y por ende la potencial capacidad de una planta de absorber agua a través de sus hojas (Fernandez et al. 2014b), pudiendo esto variar entre especies, variedades o condiciones ambientales en las que crecen las plantas. En este sentido, la permeabilidad al agua de las superficies de las plantas puede ser un fenómeno de relevancia ecofisiológica, ya que puede impedir o facilitar la absorción de agua, por ejemplo, como gotas de líquido depositadas en las superficies (Oliveira et al. 2005, Fernández et al. 2014a), niebla (Limm et al. 2009, Limm y Dawson 2010, Eller et al. 2013, Berry et al. 2014) o rocío (Konrad et al. 2014). La habilidad de las plantas para capturar agua a través de las hojas ha sido indirectamente reportada en especies que crecen en desiertos (Martin y von Willert 2000, Roth-Nebelsick et al. 2012), climas áridos y semi-áridos (Grammatikopoulos y Manetas 1994, Fenández et al. 2014b), ambientes de montaña con alta nubosidad en superficie (Berry et al. 2014) y en zonas de montañas costeras donde la niebla juega un rol climático significativo (Burgess y Dawson 2004).

A la vez, estudios a nivel de estructura interna (parénquima, mesófilo) y microestructura de cloroplastos han mostrado que estos elementos imprescindibles para la fotosíntesis varían en respuesta a diferentes factores de estrés tales como sequía (Mascher et al. 2005), déficit de nitrógeno (Bondada y Syvertsen 2003) o altas concentraciones de CO₂ (Pritchard et al. 1997). En relación a esto último, Pritchard et al. (1997) informaron que en plántulas de *Pinus palustris* se produjo un aumento en el tamaño de los cloroplastos y en el número de granos de almidón cuando se incrementó el nivel de CO₂ de 365 a 720 $\mu\text{mol mol}^{-1}$. En otro estudio, Velikova et al. (2009) también reportaron modificaciones en la microestructura de cloroplastos de plantas de *Platanus orientalis* cuando se les aumentó su concentración de CO₂ de 380 a 800 $\mu\text{mol mol}^{-1}$. Estos autores reportaron un aumento en el volumen de estroma y una reducción del sistema de tilacoides en los cloroplastos de las plantas sometidas a mayores niveles de CO₂.

Otro elemento a tener en cuenta en las respuestas al estrés es la variabilidad intraespecífica de determinadas especies, que estaría relacionada a la plasticidad fenotípica para lograr la “resistencia” al estrés (Valladares et al. 2006). Este factor sería especialmente importante en especies con amplio rango de distribución como lenga y ñire, lo que ha sido reportado para otros *Nothofagus* no sudamericanos (Hovenden y Brodribb 2000). En otras especies del género como *N. obliqua* y *N. nervosa*, distribuidas en menor rango de condiciones ambientales en Patagonia Norte, se ha reportado que la variabilidad intraespecífica de respuestas ante el estrés ha sido baja, mostrándose en general comportamientos similares entre distintos orígenes (Varela 2010).

Por otro lado, se sabe que en los bosques de *Nothofagus* en Patagonia austral, la disponibilidad de nutrientes para las plantas está limitada por varias razones, tales como bajas tasas de descomposición de hojarasca (Caldentey et al. 2001, Bahamonde et al. 2012a, Mansilla 2012), baja tasa de mineralización de N del suelo (Bahamonde et al. 2013a), o baja descomposición de raíces finas (Gargaglione et al. 2019). En este sentido, existe bibliografía respecto a las estrategias que utilizarían las plantas para mejorar su disponibilidad de nutrientes a través del “movimiento” de elementos desde las hojas hacia otros tejidos o sitios de almacenamiento interno, previo a la caída de las mismas, lo cual ha sido señalado un componente clave para la conservación de nutrientes en los bosques del mundo (Ares y Gleason 2006) y de Patagonia (Diehl et al. 2003) y ha sido definido como reabsorción de nutrientes (Killingbeck 1986). Al respecto, la mayoría de los estudios existentes en relación a esto se han focalizado en la reabsorción de macronutrientes como el N y el P, existiendo información que indica que más del 60 % del N y el P podrían ser reabsorbidos por plantas terrestres (Vergutz et al. 2012). Sin embargo, la reabsorción de otros macro y micro nutrientes considerados clave en los procesos metabólicos de las plantas, tales como K, Ca, Mg, Cu o Zn (Liu et al. 2014) han sido muy poco estudiados (Vergutz et al. 2012). Peri et al. (2008) reportaron valores de reabsorción de entre 66 y 14 % de N y Mg, respectivamente, en bosques de ñire en Patagonia austral.

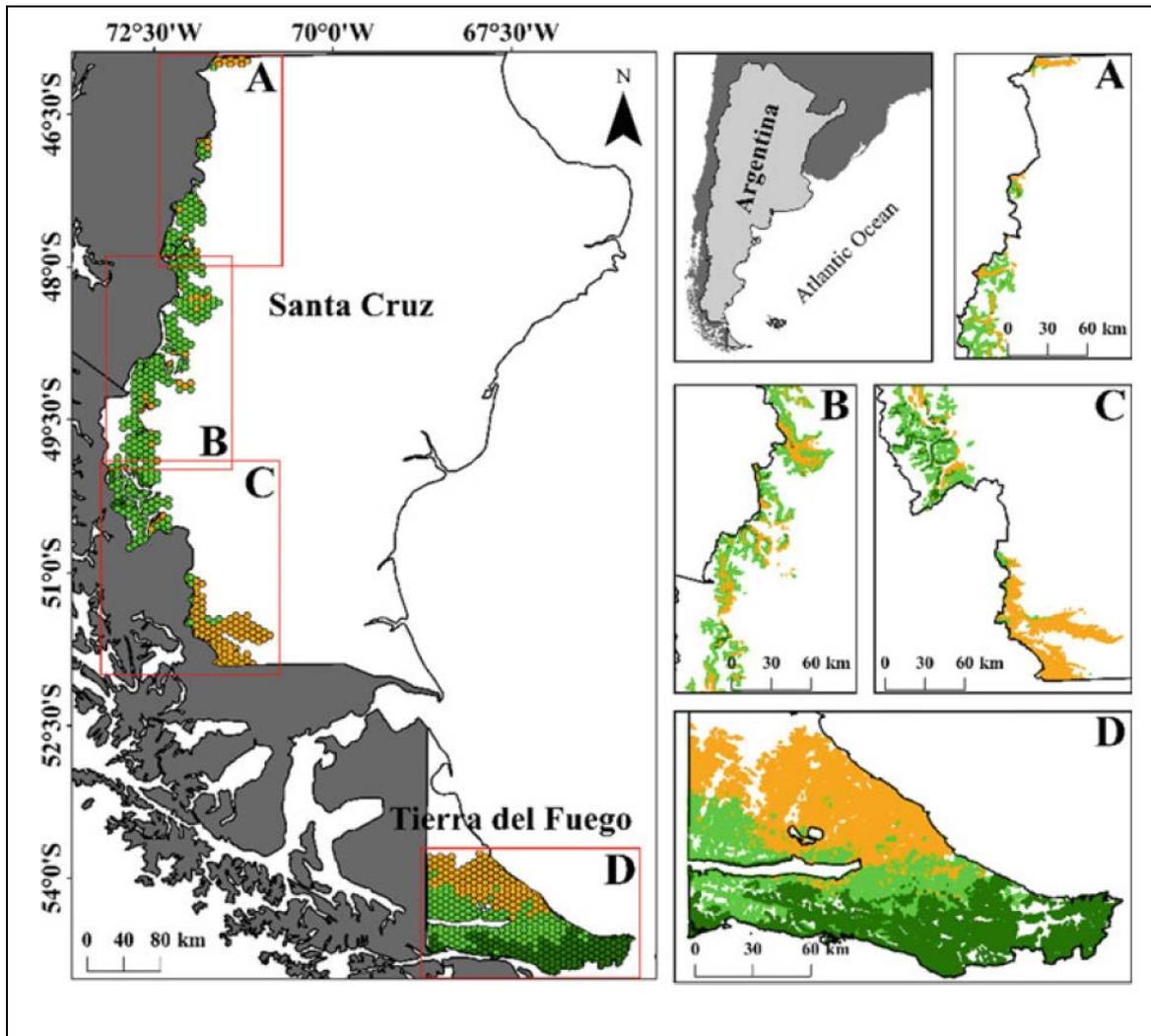


Figura 1.1. Distribución de los bosques de *Nothofagus* estudiados en esta tesis. En color naranja bosques de *N. antarctica*; en color verde claro *N. pumilio* y en color verde oscuro bosques mixtos siempreverdes mayoritariamente compuestos por *N. betuloides*. Adaptado de Rosas et al. (2021).

1.2 Antecedentes sobre respuesta ecofisiológica ante distintos factores de estrés en especies de *Nothofagus* de Patagonia.

Premoli y Brewer (2007) evaluaron si algunos rasgos fisiológicos y anatómicos de *Nothofagus pumilio* estaban determinados genética y/o ambientalmente realizando un ensayo a campo y otro en jardín común. Las autoras demostraron que las hojas de plantas de baja altitud creciendo bajo condiciones naturales tuvieron menor densidad estomática que las de altura y que las tasas fotosintéticas máximas fueron mayores en las plantas de altura tanto a campo como en el jardín común. Además, se comprobó que plantas provenientes del sitio de menor altitud tuvieron menor conductancia estomática y mayor eficiencia intrínseca en el uso del agua que las plantas de mayor altitud, pero estas diferencias no se mantuvieron en el jardín común. Estos resultados indican que las tasas fotosintéticas de *N. pumilio* estarían bajo control principalmente genético mientras que los caracteres ecofisiológicos relacionados con el uso del agua parecerían responder además a señales ambientales.

Peri et al. (2009) estudiaron la respuesta fotosintética de plántulas de *N. pumilio* y *N. antarctica* ante distintos niveles de radiación (luz) y agua disponible (sequía e inundación). *N. pumilio* tuvo mayor fotosíntesis neta que *N. antarctica* en el rango de niveles de luz evaluado cuando el agua no era limitante. Sin embargo, ante condiciones de estrés (sequía o inundación) *N. antarctica* mostró mejor respuesta fisiológica (mayores tasas de fotosíntesis y conductancia estomática) que *N. pumilio*.

Varela (2010) estudió el efecto de estrés hídrico, en *Nothofagus obliqua* y *N. nervosa*. Entre los principales resultados obtenidos en esa tesis se destacan:

-Niveles leves de déficit hídrico en suelo no afectaron la capacidad de intercambio gaseoso y el crecimiento de ninguna de las dos especies.

-Niveles moderados a severos de déficit hídrico generaron un importante impacto sobre la capacidad de fijación de C de ambas especies y, consecuentemente, en su crecimiento. No se detectaron respuestas plásticas en relaciones alométricas de las plantas, sugiriendo un bajo grado de aclimatación por parte de ambas especies.

-La variabilidad intraespecífica de respuestas ante el estrés fue baja en ambas especies, mostrándose en general comportamientos similares entre los distintos orígenes.

Ivancich et al. (2012) estudiaron rasgos anatómicos y morfológicos de hojas de plántulas de *N. pumilio* relacionados con su fisiología. Los tratamientos fueron 3 niveles de radiación (4, 26 y 64 % de la luz incidente) y 2 niveles de riego (40-60 y 80-100 % de capacidad de campo). Las proporciones de parénquima (% y ancho) se vieron incrementadas en el máximo nivel de radiación, siendo el parénquima en empalizada más sensible a los cambios de radiación (explicado por su alto contenido de cloroplastos). También el espesor de las hojas aumentó en los niveles más altos de radiación (por acumulación de tejidos fotosintéticos). En general no encontraron cambios en la anatomía foliar con los distintos niveles de humedad, lo que los autores atribuyen a que probablemente el nivel de “estrés hídrico” estudiado sería moderado y no generó respuesta. Sin embargo, algunas interacciones significativas entre los niveles de radiación y humedad (y distintas fechas de muestreo) indicarían estrategias de adaptación de las plantas a distintas condiciones. Las hojas fueron más grandes en el nivel de radiación intermedia y el nivel más bajo de humedad (probablemente una combinación que daría la mayor eficiencia).

En otro estudio, Pfautsch et al. (2014) llevaron a cabo un estudio donde estimaron el consumo de agua de rodales de ñire y lenga de densidades similares, a través de la medición de flujo de savia, en Patagonia austral (Argentina). Los autores indicaron que el consumo total de agua fue superior en *N. pumilio* (20 a 90 litros árbol⁻¹ día⁻¹) en comparación a *N. antarctica* (8 a 13 litros árbol⁻¹ día⁻¹). No obstante, para ambas especies Pfautsch et al. (2014) encontraron una relación lineal directa entre consumo de agua y déficit de presión de vapor (DPV). Asimismo, los autores informaron que en el caso del ñire la transpiración fue baja independientemente de la humedad del suelo y que en esta especie la relación entre el área foliar y el área de albura indicaría que es estructuralmente más competente en la conservación del agua.

Por otro lado, Peri et al. (2012) analizaron la abundancia natural de isótopos de carbono y nitrógeno en 33 bosques de *N. antarctica* y *N. pumilio* en Patagonia austral y lo analizaron junto a 28 variables abióticas (clima y suelo). En dicho estudio los autores encontraron que las variables relacionadas a la disponibilidad de agua (principalmente la precipitación anual) explicaron la mayor proporción de la variabilidad de la abundancia natural de isótopos de C y N. Asimismo, los autores concluyeron que la eficiencia en el uso del agua disminuyó en los sitios más húmedos.

Bucci et al. (2013) evaluaron características hidráulicas de hojas y tallos de 6 especies de *Nothofagus* (*N. pumilio*, *N. antarctica*, *N. dombeyi* en dos sitios y *N. alessandri*, *N. obliqua* y *N. glauca* en un sitio). En particular, los autores describieron variaciones intraespecíficas significativas en resistencia a la cavitación de tallo en 2 especies (*N. pumilio* y *N. antarctica*), y en general, las poblaciones de lugares más secos fueron más vulnerables a la cavitación. El potencial de agua en hojas al mediodía en general fue mayor (menos negativo) en los sitios más secos. Asimismo, la densidad de la madera fue menor en sitios más secos. La variación fenotípica en la resistencia a la cavitación fue mayor a nivel intraespecífico que entre especies.

En otro trabajo relacionado con fisiología de *N. antarctica* en Patagonia, Fernández et al. (2009) estudiaron los mecanismos fisiológicos que determinan que las plantaciones exóticas (*Pseudotsuga menziesii*) usen mayor cantidad de agua que el bosque nativo mixto (compuesto por *N. antarctica*, *Lomatia hirsuta*, *Schinus patagonicus* y *Diostea juncea*). Los autores sugieren que hay un control hidráulico de conductancia estomática en todas las especies nativas, manteniendo un mínimo potencial hídrico foliar por sobre un valor umbral. La mayoría de las nativas (incluyendo a *N. antarctica*) mostraron una rápida disminución de la conductancia de canopy con valores bajos de déficit de presión de vapor (DPV), mostrando mayor sensibilidad a los cambios ambientales.

En un estudio en Tierra del Fuego, Toro Manríquez et al. (2019) analizaron la respuesta de la regeneración de *N. pumilio* ante diferentes condiciones micro-ambientales (principalmente de humedad de suelo y niveles de radiación fotosintéticamente activa) generadas por un manejo silvícola de retención variable (dispersa o agregada). Los autores encontraron que las diferentes condiciones micro ambientales generadas por la cosecha de árboles con retención variable influenciaron la dinámica de la regeneración de estos bosques. Por ejemplo, los autores indicaron que las plántulas de *N. pumilio* desarrolladas en zonas cubiertas con detritos leñosos finos o medios y sotobosque con plantas dicotiledóneas mostraron los mejores parámetros de crecimiento (conductancia estomática, longitud de raíces, área foliar).

En otra investigación reciente Ignazi et al. (2020) compararon la respuesta ecofisiológica de plántulas de *N. pumilio* que procedían de condiciones ambientales contrastantes (lugares muy húmedos de mayor crecimiento y lugares más secos con

crecimientos marginales) en un experimento de jardín común. Los autores reportaron que cuando las plántulas crecieron en condiciones óptimas de temperatura y disponibilidad de agua, las plántulas procedentes de lugares más húmedos presentaron mayor crecimiento en altura, diámetro de tallo y número de hojas. Mientras que en condiciones de déficit hídrico las plántulas de lugares más secos mostraron una mayor tasa de crecimiento relativo y eficiencia en el uso del agua, siendo las plántulas de origen más húmedo más susceptibles a la desecación.

Objetivo general

El objetivo general de esta tesis fue evaluar la influencia de distintos factores ambientales contrastantes sobre la respuesta de productividad, y sobre aspectos fisiológicos y anatómicos de las especies de *Nothofagus* pertenecientes a los bosques nativos de Patagonia austral, y de esta manera lograr un mejor entendimiento de la posible incidencia del cambio climático en estos ecosistemas. Asimismo, como parte de este objetivo en esta tesis se ha intentado dar respuesta a las siguientes preguntas:

- 1) ¿Cuáles son las principales variables edáficas y climáticas que inciden en la productividad de los bosques de *N. antarctica* en Patagonia austral?
- 2) ¿Cómo responden fisiológicamente ante el estrés hídrico, distintas poblaciones de *N. antarctica* provenientes de condiciones ambientales contrastantes?
- 3) ¿Tienen dos especies de *Nothofagus* que crecen en Patagonia, una siempreverde (*N. betuloides*) y otra decidua (*N. antarctica*), la capacidad potencial de absorber agua a través de las hojas?
- 4) ¿Cómo responden las dos especies de *Nothofagus* mencionadas en el punto anterior anatómicamente ante un aumento del nivel de CO₂?
- 5) ¿Cómo es la tasa de reabsorción de nutrientes de rodales de *N. pumilio* y *N. antarctica* coexistiendo en sitios de productividad contrastante, en Patagonia austral?

Estructura de la tesis, objetivos particulares e hipótesis

En el capítulo 2 se identificaron las variables climáticas y edáficas que mostraron tener mayor incidencia en la productividad de los bosques de *N. antarctica* en Patagonia austral, evaluando situaciones geográficas contrastantes como bosques creciendo en el archipiélago de Tierra del Fuego y rodales desarrollados en el continente.

Hipótesis:

- 1) La textura del suelo y las variables climáticas relacionadas a la disponibilidad de agua serán los factores más importantes que determinan la productividad de los bosques de *N. antarctica* en Patagonia austral.

Objetivos particulares:

- 1) Relacionar distintas variables climáticas y edáficas a la clase de sitio (como indicador de productividad) donde crecen los bosques de *Nothofagus antarctica*.
- 2) Identificar las principales variables incidentes en la productividad de estos bosques a escala de paisaje, comparando los rodales que crecen en las partes continental (Santa Cruz) e insular (Tierra del Fuego) de Patagonia austral.

En el capítulo 3 se analizó si las diferencias de crecimiento de árboles de *N. antarctica* observadas a campo en condiciones ambientales contrastantes, se traducen en distintas respuestas ante estrés hídrico en condiciones controladas.

Hipótesis:

- 1) Las plántulas provenientes de poblaciones nativas de *N. antarctica* que crecen en áreas con condiciones medio-ambientales más restrictivas (por ej., bajas precipitaciones, altos niveles de evapotranspiración y bajas temperaturas) tendrán mayor capacidad de responder a condiciones limitantes de agua.

Objetivo particular:

- 1) Evaluar la respuesta funcional de plántulas de *N. antarctica* provenientes de poblaciones nativas que se desarrollan en condiciones ambientales contrastantes, ante niveles limitantes de disponibilidad hídrica, mediante el análisis de intercambio gaseoso y capacidad de ajuste osmótico.

El capítulo 4 fue enfocado en dar respuesta a la adaptación anatómica de dos especies de *Nothofagus* (*N. betuloides* y *N. antarctica*) ante un aumento del nivel de CO₂ y su potencial de absorber agua a través de las hojas.

Hipótesis:

- 1) Aunque *N. antarctica* y *N. betuloides* se distribuyen en ambientes con distinta disponibilidad de agua, basado en la información existente, se propone que ambas especies no presentarán diferencias en su nivel de mojabilidad o repelencia al agua y por ende en su potencial absorción de agua a través de las hojas, cuando crezcan con concentraciones de CO₂ como las existentes en la actualidad.
- 2) Una elevada concentración de CO₂ ambiental generará modificaciones anatómicas y de ultra-estructura foliares de mayor magnitud en *N. antarctica* que en *N. betuloides*, al ser esta última una especie siempreverde con estructuras foliares más robustas. Esto a su vez generaría diferencias entre estas especies en su interacción con el agua en cuanto a mojabilidad o repelencia.

Objetivos particulares:

- 1) Identificar el potencial de absorción de agua a través de las hojas en las dos especies de *Nothofagus*.
- 2) Determinar potenciales modificaciones anatómicas y de ultra-estructura foliar ante un aumento del nivel de CO₂ en una especie siempreverde de *Nothofagus* y una especie decidua del mismo género (*N. betuloides* y *N. antarctica*, respectivamente)

En el capítulo 5 se estudió la reabsorción de nutrientes de bosques de *N. pumilio* y *N. antarctica* coexistiendo en 3 sitios de productividad contrastante.

Hipótesis:

- 1) Debido a su mayor potencial de crecimiento, los árboles de *N. pumilio* presentarán una menor reabsorción de nutrientes en comparación con los de *N. antarctica* cuando ambas especies se desarrollen en las mismas condiciones de suelo.
- 2) Para ambas especies las tasas de reabsorción de nutrientes serán más altas en aquellos rodales creciendo bajo condiciones ambientales más restrictivas (mayor altitud, menores temperaturas y precipitaciones).

Objetivo particular:

- 1) Comparar la reabsorción foliar de macro y micro nutrientes y elementos traza en bosques coexistentes de *N. pumilio* y *N. antarctica* creciendo en sitios de productividad contrastante en Patagonia austral.

Finalmente, en el capítulo 6 se discutieron de manera conjunta los principales resultados obtenidos en los capítulos previos de esta tesis.

Para los capítulos 2 y 3 se decidió trabajar con *N. antarctica* por ser la especie que se encuentra en la mayor amplitud ambiental de las que se desarrollan en Patagonia austral. De esta manera se consideró que era una especie modelo para evaluar cuáles eran los factores que más incidían en su productividad. También por su amplia distribución en ambientes contrastantes se eligió esta especie para evaluar si su respuesta ante la sequía estaba muy influenciada por la procedencia o era un carácter más asociado a su genética. Para el capítulo 4 se realizó el estudio con *N. antarctica* y *N. betuloides* para tener una idea del comportamiento de una especie decidua y otra siempreverde. Además porque se trataba de las especies de mayor (*N. antarctica*) y menor (*N. betuloides*) amplitud ecológica de Patagonia austral. Finalmente, para el capítulo 5 se estudiaron *N. antarctica* y *N. pumilio* por ser dos especies que coexisten y con crecimientos contrastantes en los bosques de Patagonia austral.

CAPITULO 2

IMPORTANCIA RELATIVA DE LAS PROPIEDADES DEL SUELO Y CLIMA REGIONAL SOBRE LA PRODUCTIVIDAD DE LOS BOSQUES DE *Nothofagus antarctica* EN PATAGONIA AUSTRAL, ARGENTINA.

Bahamonde, H. A., Martínez Pastur, G., Lencinas, M. V., Soler, R., Rosas, Y. M., Ladd, B., et al. (2018a). The relative importance of soil properties and regional climate as drivers of productivity in southern Patagonia's *Nothofagus antarctica* forests. *Ann. For. Sci.* 75 (2), 45. doi: 10.1007/s13595-018-0725-7

INTRODUCCIÓN

La calidad de sitio de un bosque determina su productividad y es influenciada por varios factores, incluyendo el clima, la topografía y las características físico-químicas del suelo (Skovsgaard y Vanklay 2008). En relación a esto, Schoenholtz et al. (2000) analizaron el uso de las características físico químicas del suelo como indicadores de calidad de sitio de los bosques y determinaron que las variables mayormente usadas para tal fin son la materia orgánica, nitrógeno total, fósforo disponible, pH, textura y profundidad del suelo. Estos mismos autores consideran que la textura del suelo es la propiedad física del suelo más relevante, ya que es la que controla la retención y liberación de agua, nutrientes y oxígeno para las plantas (Doran y Parkin 1994).

Los bosques de *Nothofagus* spp. de la Patagonia austral son los más australes de hoja ancha del mundo, siendo la especie caducifolia *N. antarctica* (G. Forster) Oerst. (ñire) la que ocupa la mayor variedad de condiciones ambientales, incluyendo desde suelos temporalmente anegados hasta sitios de gran aridez en el límite con la estepa patagónica (Veblen et al. 1996). En Argentina, esta especie cubre aproximadamente 750000 ha (SAyDS 2005), de las cuales el 60 % se localiza en la Patagonia austral (Santa Cruz y Tierra del Fuego) (Peri et al. 2016a). Aunque, como se dijo se trata de una especie ampliamente distribuida, en general, su diversidad genética ha sido escasamente estudiada. Sin embargo, en un amplio estudio filogenético de 5 especies del sub-género *Nothofagus*, el cual incluyó muestras de *N. antarctica* de toda su distribución en Argentina, Prémoli et al. (2012) informaron una importante divergencia latitudinal entre los linajes de cloroplastos dentro del sub género *Nothofagus* que data de principios del Oligoceno y al menos no más joven que el Mioceno medio. En el caso particular de *N. antarctica*, los autores encontraron que las poblaciones localizadas en Patagonia austral (Santa Cruz y Tierra del Fuego) pertenecen al mismo linaje, que a su vez era diferente al de poblaciones de Patagonia norte. Por otro lado, la productividad forestal de *N. antarctica* ha sido caracterizada a través de ecuaciones de índice de calidad de sitio (Ivancich et al. 2011), quienes propusieron una clasificación con 5 Clases de Sitio (CS), donde los rodales que crecen en las mejores CS alcanzan altura de árboles dominantes superiores a 14 m (CS 1), mientras que aquellos creciendo en las peores CS están representadas por árboles dominantes que no superan los 8 m de altura (CS 5). De esta

manera, es posible estimar indirectamente la productividad de los rodales de *N. antarctica* a través de la medición de la altura de árboles dominantes maduros. En este sentido, se han desarrollado diversos estudios relacionados a la CS donde se ha encontrado que: i) la acumulación de carbono de árboles maduros se incrementó en las mejores CS (Peri et al. 2010); ii) la productividad del sotobosque estaba positivamente correlacionada con la calidad de sitio de los rodales (Bahamonde et al. 2012b); iii) la cantidad de nutrientes en biomasa de raíces se incrementaba en las peores CS (Gargaglione et al. 2013); y iv) la producción de semillas y hojarasca era mayor en las mejores clases de sitio (Bahamonde et al. 2015, 2016a). Por otro lado, es ampliamente reconocido que la concentración de nitrógeno del suelo es uno de los factores más limitantes para el crecimiento de la mayoría de los bosques templados (Fisher y Binkley 2000), situación que se da en bosques de *N. antarctica* en Patagonia austral, donde se han reportado cantidades muy bajas de N disponible en suelo (Bahamonde et al. 2013a). No obstante, el carbono orgánico del suelo en estos bosques de *Nothofagus* es relativamente abundante comparado con otros bosques templados, lo que estaría dado principalmente por las bajas tasas de descomposición de materia orgánica y de respiración de suelo en los bosques de *N. antarctica* (Bahamonde et al. 2012a, Peri et al. 2015). Este es un aspecto clave, considerando que la materia orgánica del suelo ha sido identificada como un indicador de la productividad de los ecosistemas forestales en general (Burger y Kelting 1999). En la misma dirección, Ladd et al. (2014) encontraron una fuerte correlación entre la composición isotópica del carbono presente en la materia orgánica del suelo y la productividad primaria (estimada a través de su índice de área foliar) de distintos bosques, entre los que se incluyeron rodales de *N. antarctica*. Un factor físico del suelo que ha sido indicado como fundamental para el desarrollo de las plantas, como la textura del suelo (Doran y Parkin 1994, Schoenholtz et al. 2000) ha sido poco estudiado en su relación con la productividad de los bosques de *Nothofagus*. Satti et al. (2003) sugieren que la textura del suelo condicionaría la forma en la que se encuentra el nitrógeno del suelo (amonio o nitrato) en bosques de *Nothofagus dombeyi* y *N. nervosa* en Patagonia norte. Soto et al. (2014) reportaron que suelos muy compactos afectaban el crecimiento y aumentaban la mortalidad de plántulas de *N. alpina* en Chile. Echeverría y Lara (2004) estudiaron la influencia de factores ambientales (climáticos y edáficos) sobre el crecimiento en diámetro de bosques secundarios de *Nothofagus obliqua* y *N. alpina* en el Sur de Chile. En dicho estudio los autores encontraron que la

textura del suelo fue la variable edáfica que más incidencia tuvo en el crecimiento diamétrico de estas especies.

En el mismo sentido, variables climáticas tales como temperatura, radiación y disponibilidad de agua también inciden fuertemente en la productividad de los bosques (Boisvenue y Running 2006). Más aun, estos factores abióticos pueden interactuar entre ellos, haciendo más difícil la interpretación de su efecto relativo sobre índices de productividad de los sistemas forestales. Por otro lado, los factores climáticos que más limitan la productividad de un bosque pueden variar en cada región del mundo (Churkina y Running 1998, Nemani et al. 2003). En bosques templados la disponibilidad de agua y la radiación han sido identificados como los factores climáticos más limitantes (Ladd et al. 2009, Martínez Pastur et al. 2014), lo que podría darse también en *N. antarctica*. En la Provincia de Santa Cruz Peri y Ormaechea (2013) mostraron que los bosques de ñire de mayor altura se encontraban en zonas de precipitaciones más altas. En el mismo sentido, Ladd et al. (2014) encontraron una correlación positiva entre el índice de área foliar y las precipitaciones en distintos ecosistemas que incluyeron bosques de *N. antarctica* de Patagonia austral.

No obstante, las bajas temperaturas dominantes en Patagonia podrían ser otro factor de incidencia preponderante en los índices de productividad de los bosques de ñire. En este contexto, poder determinar cuáles son las principales variables edáficas y climáticas que inciden en la productividad de los bosques de *N. antarctica* es un aspecto clave a tener en cuenta para el manejo de estos recursos forestales. Bajo esta perspectiva, se plantean los siguientes objetivos e hipótesis.

HIPÓTESIS:

- La textura del suelo y las variables climáticas relacionadas a la disponibilidad de agua serán los factores más importantes que determinan la productividad de los bosques de *N. antarctica* en Patagonia austral.

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1) Relacionar distintas variables climáticas y edáficas a la clase de sitio (como indicador de productividad) donde crecen los bosques de ñire.
- 2) Identificar las principales variables incidentes en la productividad de estos bosques a escala de paisaje, comparando los rodales que crecen en las partes continental (Santa Cruz) e insular (Tierra del Fuego) de Patagonia austral.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Este trabajo se llevó a cabo en dos provincias de la Patagonia austral argentina: Santa Cruz (en el continente) y Tierra del Fuego (territorio insular), cuya superficie conjunta alcanza aproximadamente 26,5 millones de ha en un rango latitudinal que va desde 46° a 55° de latitud Sur. Las precipitaciones en forma de lluvia presentan un rango de entre 900 y 200 mm año⁻¹ en un gradiente Oeste-Este en Santa Cruz y Sur-Norte en Tierra del Fuego. La temperatura media anual en la Patagonia austral sigue un gradiente Norte-Sur con valores medios anuales de 12 y 5 °C en el Norte y en el Sur, respectivamente (Paruelo et al. 1998, Kreps et al. 2012). En términos generales y de acuerdo a la clasificación de suelos de USDA, en el área de estudio los suelos predominantes son haploxeroles (molisoles) en la zona boscosa y molisoles (en la estepa) con una textura limosa y pH ácido (del Valle 1998). En Santa Cruz, al norte de los 51° de latitud los bosques de *N. antarctica* se encuentran en el área de Valles Intermontanos y al sur de esa latitud en la zona llamada Planicies Glacifluviales, de acuerdo a la clasificación de unidades de paisaje propuesta por Oliva et al. (2001). Según estos autores los suelos de los Valles Intermontanos y de las Planicies Glacifluviales son Haploboroles (Molisoles) y se caracterizan por un perfil A11 de 14 cm de espesor, un perfil A12 de 21 cm, ambos con textura franco arenosa con estructura en bloques, y un perfil AC de 65 cm sin estructura definida. En el caso de Tierra del Fuego, los bosques de *N. antarctica* están presentes en el área ecológica llamada Ecotono fueguino (Oliva et al. 2001), siendo los suelos de esta área identificados como Crioles (Molisoles) y Ustoles (Molisoles) (del

Valle 1998). Este tipo de suelos han sido descriptos, en los bosques de *N. antarctica* de la mencionada Isla, con un horizonte superficial rico en materia orgánica con alto grado de humificación y estructura de características criogénicas (Frangi et al. 2004).

Sitios de estudio y muestreo

En primera instancia se realizó un análisis exploratorio en gabinete de los mapas de distribución de CS de los bosques de *N. antarctica* de Santa Cruz y Tierra del Fuego de acuerdo a los inventarios existentes (Collado 2001, Peri y Ormaechea 2013). De este análisis se seleccionaron un total de 48 rodales maduros (alrededor de los 150 años) y coetáneos de *N. antarctica* (27 en Tierra del Fuego y 21 en Santa Cruz) (Figura 2.1). De esta manera, se aseguró que todas las Clases de sitio establecidas para la especie en Patagonia austral por Ivancich et al. (2011) estuvieran incluidas en el muestreo. Se debe aclarar que la clasificación de Ivancich et al. (2011) está basada en ecuaciones de índice de sitio a una edad base de 50 años (IS_{50}) de rodales coetáneos y maduros, y que además se basa en que el crecimiento en altura de los árboles es asintótico a lo largo del tiempo alcanzando una altura máxima determinada por la calidad del sitio. De cada sitio seleccionado se obtuvieron las coordenadas geográficas para poder planificar la mejor manera de acceder a ellos y realizar los muestreos. Con esta información se procedió con el trabajo de campo, donde en cada sitio de muestreo se midió la altura de 3 árboles dominantes maduros (HD) con clinómetro y cinta métrica, como un indicador de productividad, aportando este dato además a la identificación de la clase de sitio de cada rodal de acuerdo a la clasificación propuesta por Ivancich et al. (2011) (Imagen 2.1). Además, en cada sitio se midió la profundidad del suelo de 3 puntos seleccionados al azar. Para ello se realizaron excavaciones con pala hasta llegar a la roca base y se midió la profundidad con cinta métrica (Imagen 2.2). De los mismos puntos donde se midió la profundidad se tomaron muestras de suelo de los primeros 30 cm del perfil, debido a que esta profundidad se encuentran más del 70 % de las raíces finas en esta especie (Bahamonde et al. 2016b). De estas muestras se realizaron las siguientes determinaciones: i) pH con pasta de suelo saturada (30 ml de agua destilada mezclada con 100 gr de suelo); ii) contenido de materia orgánica a través del método de pérdida por ignición a 450 °C durante 4 horas (Videla et al. 2008); iii) contenido de nitrógeno total a través de espectrofotometría (Dalal y Henry 1986); iv) P disponible mediante el método Olsen (Olsen et al. 1954); v) contenido de K extraído con acetato de amonio a

través de un espectrómetro de emisión de plasma (Shimadzu ICPS-1000 III, Japón); vi) textura de suelo determinada usando el método del densímetro de Bouyoucos y tamizando las fracciones de arena.

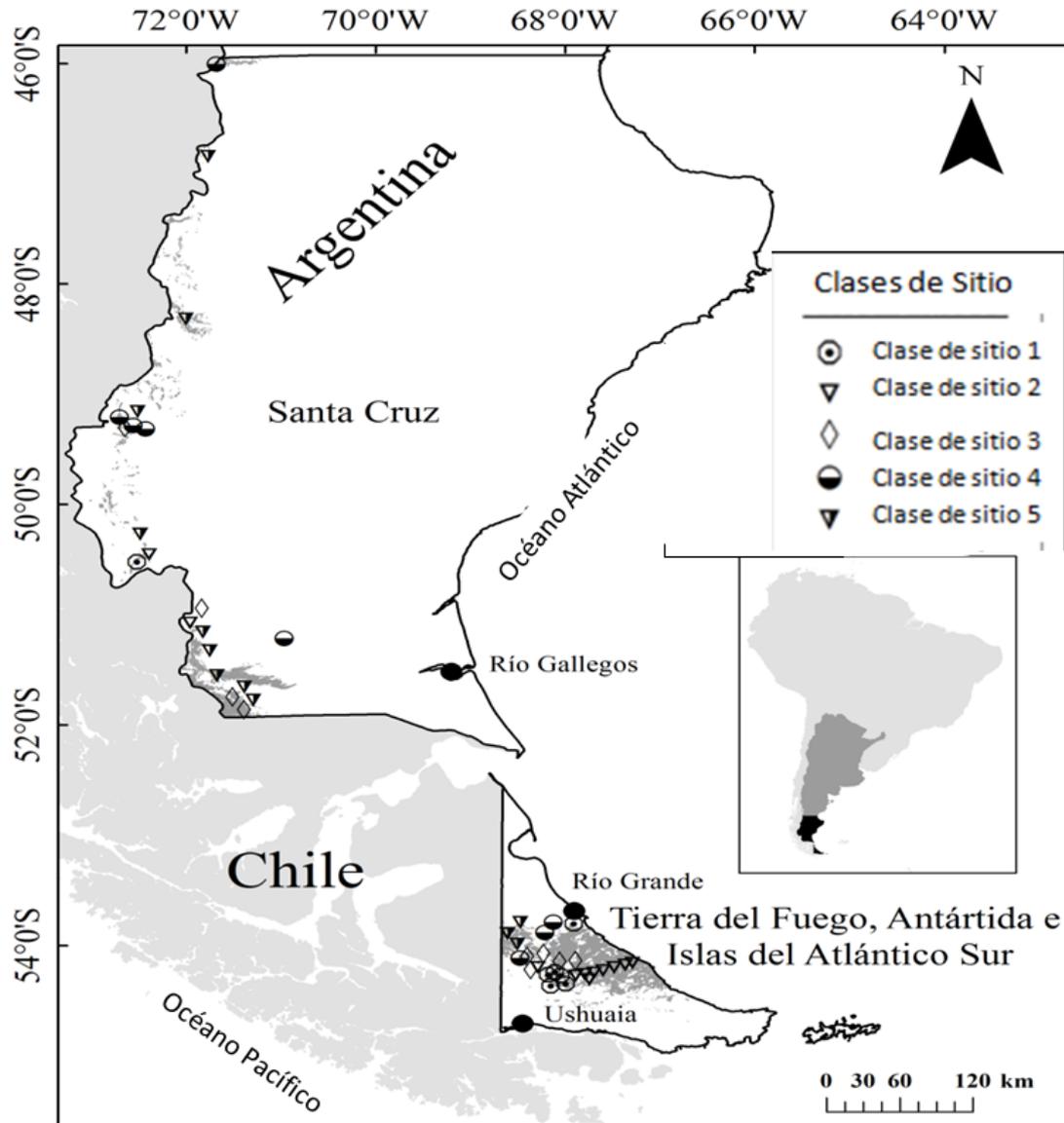


Figura 2.1. Distribución de los rodales de *Nothofagus antarctica* evaluados en este estudio.



Imagen 2.1. Medición de altura dominante de árboles de *Nothofagus antarctica* en los sitios estudiados.

Variables climáticas y topográficas

En cada sitio de muestreo se registraron latitud, longitud, altitud, pendiente y orientación geográfica (exposición) del rodal. Además, a través de la base de datos del sitio WorldClim (www.worldclim.org, Hijmans et al. 2005) se obtuvieron 19 parámetros climáticos para cada sitio. Esta base de datos contiene parámetros climáticos que incluyen precipitaciones, temperatura y una combinación de esas variables, de la superficie terrestre global a una resolución espacial de aproximadamente 1 km. Las variables climáticas principales fueron temperatura (anual, máxima del mes más cálido y mínima del mes más frío), precipitaciones (anuales y del trimestre más cálido), evapotranspiración potencial e índice de aridez (Hijmans et al. 2005, Zomer et al. 2008). De estas variables climáticas principales se derivaron los siguientes parámetros: BIO1 (temperatura media anual); BIO2 (temperatura máxima mensual – temperatura mínima mensual); BIO3 (isotermalidad $((\text{BIO2}/\text{BIO7}) * 100)$); BIO4 (estacionalidad térmica (desvío estándar de la temperatura anual * 100)); BIO5 (temperatura máxima del mes más cálido); BIO6 (temperatura mínima del mes más frío); BIO7 (rango anual de temperatura (BIO5 – BIO6)); BIO8 (temperatura media del trimestre más húmedo); BIO9 (temperatura media del trimestre más seco); BIO10 (temperatura media del trimestre más cálido); BIO11 (temperatura media del trimestre más frío); BIO12

(precipitación anual); BIO13 (precipitación del mes más húmedo); BIO14 (precipitación del mes más seco); BIO15 (estacionalidad de la precipitación (coeficiente de variación de la precipitación anual)); BIO16 (precipitación del trimestre más húmedo); BIO17 (precipitación del trimestre más seco); BIO18 (precipitación del trimestre más cálido); y BIO19 (precipitación del trimestre más frío). En el anexo 2.1 se pueden encontrar todos los datos mencionados para cada sitio.



Imagen 2.2. Medición de profundidad de suelo y toma de muestras en los primeros 30 cm del perfil para análisis químicos en sitios estudiados.

Análisis de datos

Inicialmente se realizaron análisis de correlación de Pearson entre todas las variables de topografía, suelo, clima y la altura dominante promedio de cada rodal. Posteriormente, la totalidad de los datos fueron analizados a través de una regresión de mínimos cuadrados parciales (RMCP). Para ello, usamos la altura de los árboles dominantes de cada sitio evaluada como variable dependiente y las demás variables descriptas previamente (climáticas, edáficas y topográficas) como variables independientes usando el software XLStat (Addin Soft, París, Francia). En el caso de la textura del suelo al ser una variable categórica (no numérica) se le asignó valores de entre 1 y 3 para suelos

arenosos y arcillosos, respectivamente. RMCP es una técnica estadística que combina elementos del ACP (análisis de componentes principales) y regresión múltiple. En RMCP, primero se reduce el gran número de variables independientes originales a un menor número de componentes para disminuir su dimensión y evitar problemas de multicolinealidad. Esos componentes producto de la reducción son posteriormente usados como variables independientes en una regresión múltiple. Con RMCP también es posible calcular la importancia relativa de las variables independientes subyacentes usadas para crear los componentes que se usan en la regresión múltiple. Posteriormente, todos los rodales evaluados fueron asignados a una Clase de sitio, de acuerdo a la clasificación descrita en la introducción (Ivancich et al. 2011) para facilitar el análisis del efecto de las variables ambientales sobre la productividad de los bosques de ñire. Después de esto, se llevó a cabo un análisis de componentes principales (ACP) para estudiar la influencia de las variables mayormente correlacionadas con la productividad, evidenciando la distribución de los sitios muestreados en un espacio de ordenación. De este análisis se excluyeron las variables latitud y longitud (también altamente correlacionadas) debido a su relación con el origen de las muestras. El ACP incluyó la prueba de permutación de Montecarlo (n=999) para evaluar el nivel de significancia de cada eje. Para este análisis (ACP) se usó el software PCORD versión 4.01 (McCune y Mefford 1999).

RESULTADOS

Análisis combinado de todos los sitios

En el anexo 2.2 se pueden observar los resultados de las correlaciones de Pearson de todas las variables (edáficas, climáticas, topográficas y de productividad) de todos los sitios bajo estudio. De esas correlaciones se destacan que la concentración de N total del suelo estuvo positivamente correlacionada con la latitud y negativamente con la altitud, mientras que la concentración de P del suelo fue correlacionada negativamente con la latitud y positivamente con la longitud. Por otro lado, la temperatura media anual estuvo negativamente correlacionada con la latitud, longitud y altitud de los sitios.

El análisis de RMCP generó un modelo que resultó tener un alto poder predictivo de la altura dominante de árboles de *N. antarctica* con la base de datos de variables y parámetros ambientales generada (Figura 2.2, $R^2 = 0,68$). Las variables que más contribuyeron al poder predictivo del modelo fueron: (1) Altitud, (2) Rango anual de temperatura (BIO2), (3) Textura del suelo, y (4) Estacionalidad de la temperatura (BIO4) (ver Figuras 2.3, 2.4, 2.5, 2.6 y 2.7). Por otro lado, el ACP mostró una clara separación de los rodales entre los distintos paisajes (Continenciales e Isleños) (Figura 2.8). Los autovalores para los dos primeros ejes fueron 7,578 ($p = 0,001$) y 1,8131 ($p = 0,110$), explicando el 58,3 y 72,4 % de la variación acumulada del total de la base de datos. Los factores con mayor coeficiente absoluto para el eje 1 fueron evapotranspiración > rango de temperatura anual (BIO2) > temperatura máxima en el trimestre más cálido (BIO5) > temperatura media del trimestre más seco (BIO9); y para el eje 2 fueron temperatura mínima en el mes más frío (BIO6) > temperatura media del trimestre más cálido (BIO10) > rango de temperatura anual (BIO2) > isothermalidad (BIO3). Independientemente de su productividad, los rodales desarrollados en Tierra del Fuego estuvieron asociados a menor variabilidad de los parámetros evaluados (Figura 2.8).

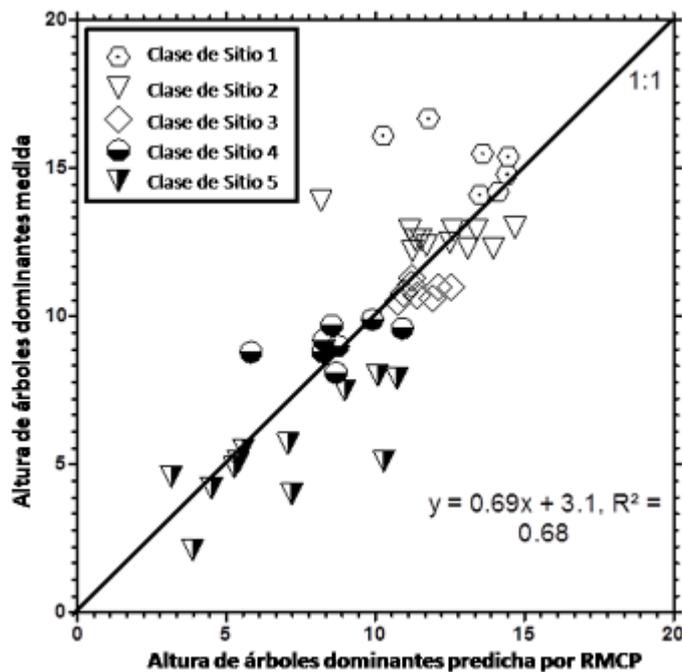


Figura 2.2. Correlación entre valores de altura dominante predichos por el modelo RMCP y valores de altura dominante medidos en todos los sitios de estudio mostrados en la Fig. 2.1.

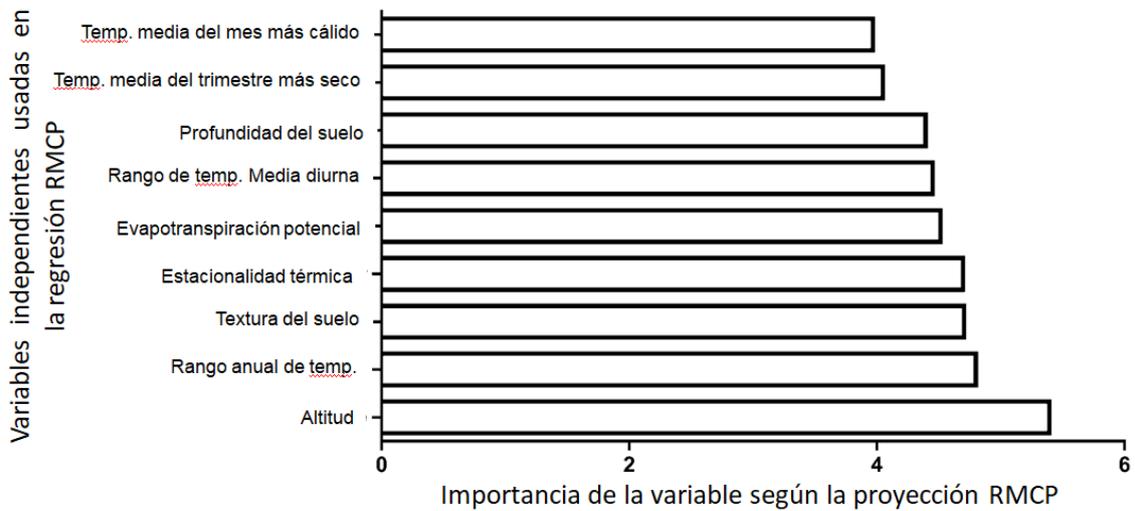


Figura 2.3. Importancia relativa de variables predictoras de altura dominante de árboles de *Nothofagus antarctica*. Las 9 variables más importantes se muestran en orden ascendente (siendo la altitud la variable más importante).

Temp= temperatura; Estacionalidad térmica= desviación estándar del rango anual de temperatura x 100, donde el rango se refiere a la diferencia entre los valores más altos y más bajos registrados.

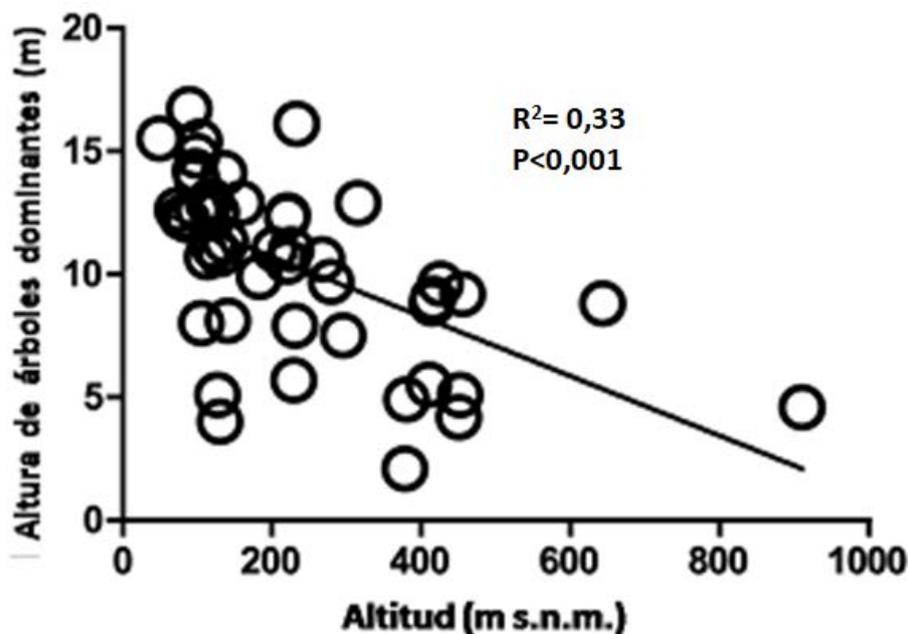


Figura 2.4. Altura de árboles dominantes de acuerdo a la altitud en la que se encontraban los sitios mostrados en la Fig. 2.1.

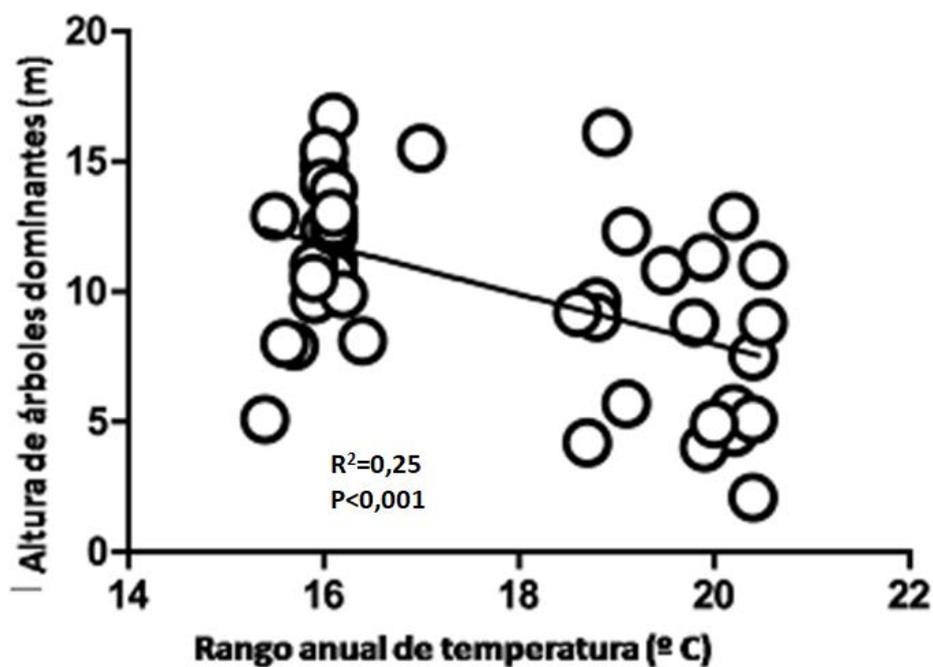


Figura 2.5. Altura de árboles dominantes de acuerdo al rango anual de temperatura en la que se encontraban los sitios mostrados en la Fig. 2.1.
Rango anual de temperatura= temperatura máxima mensual – temperatura mínima mensual.

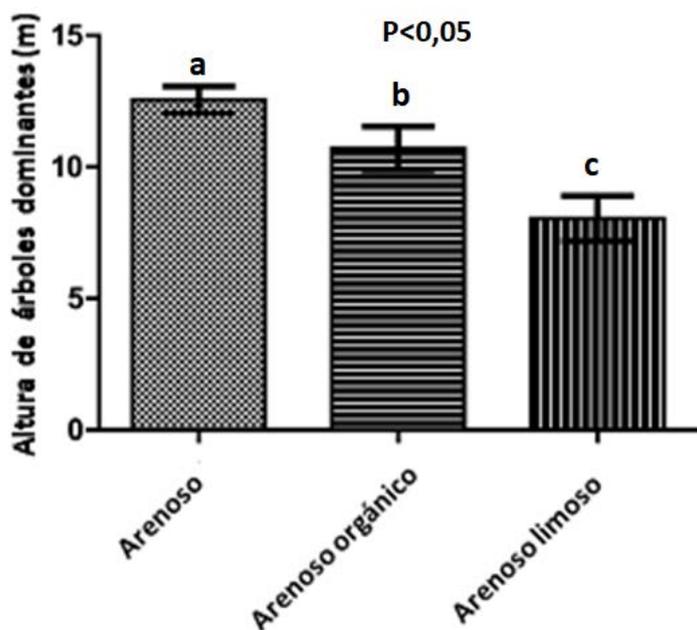


Figura 2.6. Altura de árboles dominantes de acuerdo a la textura de suelo en la que se encontraban los sitios mostrados en la Fig. 2.1.

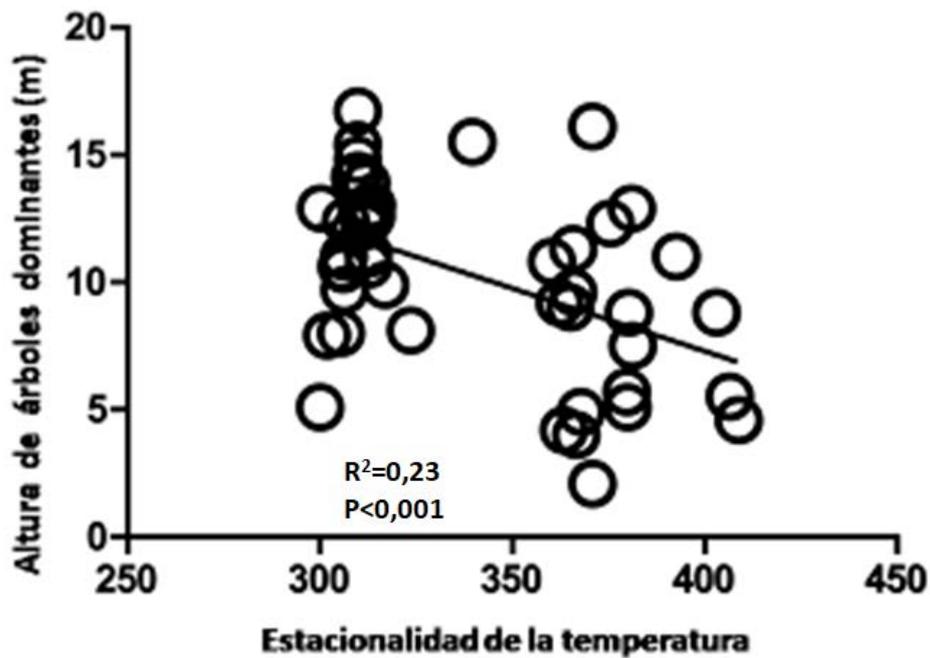


Figura 2.7. Altura de árboles dominantes de acuerdo a la estacionalidad térmica en la que se encontraban los sitios mostrados en la Fig. 2.1. Estacionalidad térmica= desviación estándar del rango anual de temperatura x 100, donde el rango se refiere a la diferencia entre los valores más altos y más bajos registrados.

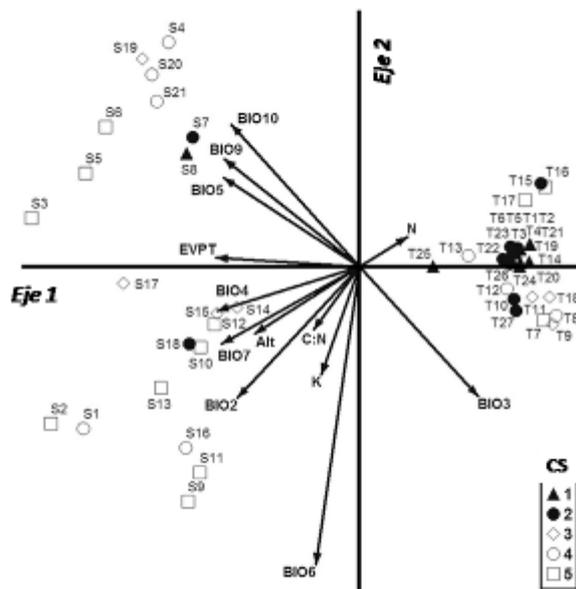


Figura 2.8. Análisis de componentes principales incluyendo variables climáticas, espaciales y edáficas, relacionadas con las clases de sitio de los bosques de *Nothofagus antarctica* en Patagonia austral.

CS es la clase de sitio donde crece cada rodal; las letras S y T antes del número de cada sitio indican si el rodal está ubicado en Santa Cruz o Tierra del Fuego, respectivamente; BIO2 (temperatura máxima mensual- temperatura mínima mensual); BIO3 (isotermalidad (BIO2/BIO7) x 100)); BIO4 (estacionalidad de la temperatura (desviación estándar x 100)); BIO5 (temperatura máxima del mes más cálido); BIO6 (temperatura mínima del mes más frío); BIO7 (rango anual de temperatura (BIO5-BIO6)); BIO9 (temperatura media del trimestre más seco); BIO10 (temperatura media del trimestre más cálido); Alt (altitud); C (concentración de carbono en suelo); C:N (relación carbono:nitrógeno); EVPT (evapotranspiración); N (concentración de nitrógeno en suelo).

DISCUSIÓN

La productividad de los bosques está fuertemente influenciada por las condiciones climáticas y edáficas del sitio, sin embargo, la magnitud de la incidencia de estas condiciones puede variar en función de la especie considerada y su interacción con las condiciones ambientales (Schoenholtz et al. 2000, Skoovsgaard y Vanclay 2008). En un contexto de cambio climático, es importante conocer la magnitud y el rango de cada uno de los factores ambientales que afectan la productividad arbórea de los ecosistemas forestales. En el contexto Patagónico, los bosques de *N. antarctica* son considerados de gran relevancia debido a su gran amplitud ecológica y su importancia económica para sistemas silvopastoriles (Peri et al. 2016a). En el mismo sentido, los bosques de ñire son considerados de gran relevancia ecológica debido a su distribución en diversas condiciones ambientales y a que se encuentran principalmente localizados en una zona de transición entre los bosques de *N. pumilio* (más productivos que los de *N. antarctica*) y la estepa patagónica. Debido a esta gran significancia ecológica, los bosques de *N. antarctica* en la Patagonia austral son parte de la red PEBANPA (Parcelas de Ecología y Biodiversidad de Ambientes Naturales en Patagonia Austral), red que ha sido establecida para evaluar y medir los parámetros económicos, silviculturales y ecológicos en relación al uso, manejo y regeneración del bosque (Peri et al. 2016b). De esta manera, la importancia ecológica de esta especie y los indicadores productivos analizados en este estudio están cercanamente relacionados. La altura de los árboles dominantes (usada como indicador de productividad) fue mayor en los rodales ubicados más al Sur y al Oeste y a bajas altitudes (sobre el nivel del mar), muy probablemente como consecuencia de la combinación de variables edáficas y climáticas más favorables en esas situaciones. Por ejemplo, en este estudio se encontró que la concentración de N

total del suelo estuvo correlacionada positivamente con la latitud y negativamente correlacionada con la altitud. Similarmente, la temperatura media anual estuvo negativamente correlacionada con la latitud, longitud y altitud (Anexo 2.2). De esta manera, las correlaciones observadas entre las variables espaciales y la productividad de los bosques están representando indirectamente el efecto de las variables edáficas y climáticas. En la misma dirección, la profundidad y textura del suelo resultaron ser variables significativas para explicar la variación en la altura de árboles dominantes (Figura 2.3). Otros estudios realizados en Patagonia con la especie *N. pumilio* (filogenéticamente cercana a *N. antarctica*) revelaron tendencias similares. Por ejemplo, se ha informado que el crecimiento en diámetro y altura de dicha especie disminuyó con la altitud (Barrera et al. 2000, Massaccesi et al. 2008), lo que los autores atribuyeron principalmente a que las condiciones climáticas eran más desfavorables a medida que aumentaba la altitud. Nemani et al. (2003) identificaron las principales limitantes climáticas para el desarrollo de las plantas en un estudio global, indicando que para el crecimiento de los bosques patagónicos, la baja temperatura sería la mayor limitación climática. Similarmente, un estudio realizado en Alaska demostró que las altas temperaturas inducían estrés por sequía en los bosques boreales y consecuentemente afectaban el crecimiento y la productividad de esos bosques (Barber et al. 2000). Estos estudios son coherentes con los resultados obtenidos en nuestro estudio, donde los rodales menos productivos se localizan en lugares con temperaturas medias extremas, ya sean altas o bajas. Por otro lado, el hecho de que los rodales más productivos se hayan encontrado en suelos más arenosos podría estar relacionado con que en suelos más arcillosos los rodales de ñire suelen estar en condiciones de anegamiento que limita su crecimiento (Peri et al. 2016a). Los rodales con árboles maduros de mayor altura (como indicador de productividad) estuvieron mayormente correlacionados con variables relativas a las características edáficas y a las temperaturas, sugiriendo que la incidencia de variables relacionadas a la temperatura fue más importante que los parámetros asociados a las condiciones hídricas, en el contexto regional estudiado. Esto nos lleva a rechazar parcialmente la hipótesis inicial propuesta.

Comparando los sitios localizados en el continente con aquellos ubicados en el archipiélago de Tierra del Fuego, la cordillera de los Andes juega un rol clave, tanto por su incidencia en las diferentes condiciones climáticas como en la historia de formación de suelos existentes entre esas dos zonas. Por ejemplo, en el continente la cordillera de

los Andes intercepta los vientos provenientes del Oeste, generando un contraste climático notable entre la vertiente del océano Pacífico y las laderas con orientación hacia el Atlántico (donde se ubican los bosques estudiados), con un fuerte gradiente de precipitaciones Oeste-Este (Coronato et al. 2008). En el caso de Tierra del Fuego, la cordillera de los Andes no alcanza los niveles altitudinales del continente y pierde continuidad, cambiando su orientación a un sentido Oeste-Este, lo cual implica una disminución en la magnitud del gradiente de precipitaciones mencionado para el continente (Coronato et al. 2008). De esta manera, las precipitaciones están más uniformemente distribuidas en los rodales localizados en el área central de la isla grande de Tierra del Fuego. También, las temperaturas en el archipiélago son más uniformes debido al efecto amortiguador que generan los océanos circundantes (Strahler y Strahler 2000). Esto ha sido corroborado en la Patagonia en general, donde la amplitud térmica media anual varía desde los 16 °C en el norte (en el continente) hasta 8 °C en el Sur, o incluso menos de 4 °C en las islas más externas del archipiélago (Coronato et al. 2008). Esto podría explicar en parte la clara separación entre los rodales situados en el continente y los localizados en el archipiélago, encontrado en el análisis de componentes principales de este estudio. Asimismo, las diferencias de altitud y características edáficas entre los sitios continentales y de la isla de Tierra del Fuego estarían asociadas a sus particularidades geológicas. Muchos de los rodales del continente están localizados en la provincia geológica llamada “Cordillera Patagónica Sur” (Ramos 1999), que se caracteriza por tener orientación Norte-Sur y altas elevaciones; los rodales en Tierra del Fuego se encuentran en los “Andes Fueguinos” (Borrello 1972), cuyas cumbres son las más bajas de toda la cordillera de los Andes siendo la única porción de los Andes de Patagonia con orientación Oeste-Este (Coronato et al. 2008). Relacionado a esto, las diferencias en las variables bioclimáticas entre sitios continentales e insulares han sido reportadas previamente a nivel de rodales. Por ejemplo, Bahamonde et al. (2014a) publicaron temperaturas medias del aire más altas en bosques de ñire desarrollados en Santa Cruz (continente) que en bosques de la isla de Tierra del Fuego, y al mismo tiempo indicaron mayores valores de humedad de suelo en rodales de Tierra del Fuego, lo que se debería a que la tasa de evapotranspiración sería más baja en los rodales insulares. Aunque tanto en Santa Cruz como en Tierra del Fuego estuvieron representadas todas las clases de sitio de *N. antarctica*, teniendo en cuenta los resultados obtenidos en este estudio donde los rodales

insulares crecen en ambientes de menor altitud, menor evapotranspiración potencial y temperaturas más homogéneas, entre otras, es posible sugerir una tendencia a rodales con árboles dominantes de mayor altura en Tierra del Fuego que en Santa Cruz.

CONSIDERACIONES FINALES

Identificar las combinaciones de clima y suelo más convenientes para obtener los niveles más altos de productividad (o crecimiento), puede ser una importante herramienta para mejorar el manejo de los bosques de *Nothofagus antarctica* en Patagonia austral, especialmente considerando los potenciales escenarios de cambio climático. Por ejemplo, contar con este conocimiento puede resultar de utilidad para seleccionar las áreas más apropiadas para realizar plantaciones de ñire, ya sea con fines de recuperación de bosques degradados o recuperación de regeneración en sitios donde la continuidad del estrato arbóreo se vea comprometida. Adicionalmente, los resultados obtenidos servirán como base para realizar otros estudios de los aspectos más importantes para obtener mejores productividades del bosque nativo en Patagonia. Finalmente, la información generada provee conocimiento clave en el modelado de secuestro de carbono en esos bosques, contribuyendo al mejor entendimiento de la ecología de esta especie austral.

Anexo 2.1. Datos detallados de todas las variables evaluadas en cada rodal de *Nothofagus antarctica* del capítulo 2.

Nº	Latitud	Longitud	Altitud (m snm)	Pendiente (°)	Exposición (°)	HD (m)	CS	Profundidad del suelo (cm)	pH	Materia orgánica (%)	N total (%)	P disponible (ppm)	K intercambiable (meq/100gr)	Textura del suelo	Valor asignado a	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	Evapotranspiración potencial	Índice de aridez					
																1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15			16	17	18	19	
1	54°21'43.34"	67°51'18.49"	89	7.0	225	17.2	1	36	5.0	10.00	0.45	20.9	0.5	Arenoso	1	5.2	7.9	4.9	309.8	14.1	-2.0	16.1	5.1	3.6	9.1	1.1	426	43	25	16	123	81	116	101	570	0.7489	
								42	5.0	10.02	0.40	22.0	0.4	Arenoso	1	5.2	7.9	4.9	309.8	14.1	-2.0	16.1	5.1	3.6	9.1	1.1	426	43	25	16	123	81	116	101	570	0.7489	
								16.1	34	4.9	10.00	0.44	23.1	0.4	Arenoso	1	5.2	7.9	4.9	309.8	14.1	-2.0	16.1	5.1	3.6	9.1	1.1	426	43	25	16	123	81	116	101	570	0.7489
2	54°19'44.36"	67°41'32.72"	122	17.0	225	11.1	3	25	5.4	8.58	0.39	66.6	0.5	Arenoso	1	5.1	8.0	4.9	312.6	14.0	-2.1	16.1	5.0	3.4	9.0	1.0	409	42	23	17	119	76	113	96	568	0.7196	
								11.0	23	5.4	9.22	0.29	67.0	0.6	Arenoso	1	5.1	8.0	4.9	312.6	14.0	-2.1	16.1	5.0	3.4	9.0	1.0	409	42	23	17	119	76	113	96	568	0.7196
								11.3	22	5.4	9.02	0.40	65.4	0.5	Arenoso	1	5.1	8.0	4.9	312.6	14.0	-2.1	16.1	5.0	3.4	9.0	1.0	409	42	23	17	119	76	113	96	568	0.7196
3	54°20'05.25"	67°41'52.21"	113	15.0	90	10.7	3	30	6.0	5.97	0.30	14.5	0.3	Arenoso	1	5.0	8.0	4.9	312.7	14.0	-2.2	16.1	4.9	3.4	9.0	0.9	411	42	23	17	119	77	114	97	571	0.7224	
								10.6	36	6.1	6.01	0.32	14.8	0.4	Arenoso	1	5.0	8.0	4.9	312.7	14.0	-2.2	16.1	4.9	3.4	9.0	0.9	411	42	23	17	119	77	114	97	571	0.7224
								10.7	29	6.0	6.00	0.33	15.9	0.3	Arenoso	1	5.0	8.0	4.9	312.7	14.0	-2.2	16.1	4.9	3.4	9.0	0.9	411	42	23	17	119	77	114	97	571	0.7224
4	54°21'33.82"	67°38'38.11"	87	3.0	225	12.2	2	26	5.2	8.93	0.41	36.3	0.5	Arenoso	1	5.2	8.0	4.9	311.7	14.1	-2.0	16.1	5.1	3.5	9.1	1.1	410	42	23	17	119	77	114	96	573	0.717	
								13.0	31	5.4	8.88	0.28	39.0	0.5	Arenoso	1	5.2	8.0	4.9	311.7	14.1	-2.0	16.1	5.1	3.5	9.1	1.1	410	42	23	17	119	77	114	96	573	0.717
								11.4	24	5.2	8.70	0.48	38.0	0.5	Arenoso	1	5.2	8.0	4.9	311.7	14.1	-2.0	16.1	5.1	3.5	9.1	1.1	410	42	23	17	119	77	114	96	573	0.717
5	54°22'08.68"	67°27'49.68"	101	17.0	135	12.6	2	38	5.2	7.99	0.39	25.1	0.5	Arenoso orgánico	15	5.2	8.0	4.9	312.4	14.1	-2.0	16.1	5.1	3.5	9.1	1.1	402	42	23	18	117	75	113	93	573	0.6998	
								12.1	44	5.5	6.90	0.39	26.0	0.4	Arenoso orgánico	15	5.2	8.0	4.9	312.4	14.1	-2.0	16.1	5.1	3.5	9.1	1.1	402	42	23	18	117	75	113	93	573	0.6998
								13.2	38	5.3	7.80	0.35	26.4	0.6	Arenoso orgánico	15	5.2	8.0	4.9	312.4	14.1	-2.0	16.1	5.1	3.5	9.1	1.1	402	42	23	18	117	75	113	93	573	0.6998
6	54°21'15.53"	67°16'52.24"	126	3.0	270	12.5	2	33	4.4	14.25	0.53	25.0	0.3	Arenoso orgánico	15	5.1	8.0	4.9	313.1	14.1	-2.0	16.1	5.1	3.3	9.1	1.0	394	41	22	19	115	73	113	89	572	0.6896	
								12.1	33	4.4	12.22	0.61	24.8	0.2	Arenoso orgánico	15	5.1	8.0	4.9	313.1	14.1	-2.0	16.1	5.1	3.3	9.1	1.0	394	41	22	19	115	73	113	89	572	0.6896
								13.0	35	4.4	12.56	0.48	25.8	0.2	Arenoso orgánico	15	5.1	8.0	4.9	313.1	14.1	-2.0	16.1	5.1	3.3	9.1	1.0	394	41	22	19	115	73	113	89	572	0.6896
7	54°10'47.03"	68°20'15.44"	231	5.0	225	7.9	5	33	5.3	11.39	0.47	19.3	1.0	Arenoso	1	4.6	7.7	4.9	301.8	13.3	-2.4	15.7	4.5	3.0	8.4	0.7	450	46	26	16	131	88	121	109	552	0.8125	
								7.8	36	5.4	11.00	0.48	20.1	0.8	Arenoso	1	4.6	7.7	4.9	301.8	13.3	-2.4	15.7	4.5	3.0	8.4	0.7	450	46	26	16	131	88	121	109	552	0.8125
								7.9	30	5.5	11.78	0.44	20.0	1.1	Arenoso	1	4.6	7.7	4.9	301.8	13.3	-2.4	15.7	4.5	3.0	8.4	0.7	450	46	26	16	131	88	121	109	552	0.8125
8	54°16'15.14"	68°08'15.34"	279	6.0	0	9.7	4	50	4.2	10.03	0.62	23.3	0.5	Arenoso	2	4.3	7.9	4.9	306.4	13.1	-2.8	15.9	4.2	2.7	8.2	0.3	446	45	26	15	129	87	120	107	551	0.8063	
								9.9	55	4.2	13.50	0.65	22.4	0.7	Arenoso	2	4.3	7.9	4.9	306.4	13.1	-2.8	15.9	4.2	2.7	8.2	0.3	446	45	26	15	129	87	120	107	551	0.8063
								9.6	50	4.1	12.86	0.71	22.8	0.5	Arenoso	2	4.3	7.9	4.9	306.4	13.1	-2.8	15.9	4.2	2.7	8.2	0.3	446	45	26	15	129	87	120	107	551	0.8063
9	54°16'03.13"	68°08'02.54"	267	2.0	315	10.6	3	37	4.3	17.61	0.78	28.4	0.8	Arenoso orgánico	15	4.5	7.8	4.9	305.6	13.2	-2.7	15.9	4.3	2.9	8.3	0.5	444	45	26	15	128	86	120	106	554	0.801	
								10.6	44	4.2	17.60	0.88	27.4	0.7	Arenoso orgánico	15	4.5	7.8	4.9	305.6	13.2	-2.7	15.9	4.3	2.9	8.3	0.5	444	45	26	15	128	86	120	106	554	0.801
								10.7	40	4.2	17.70	0.78	27.8	0.6	Arenoso orgánico	15	4.5	7.8	4.9	305.6	13.2	-2.7	15.9	4.3	2.9	8.3	0.5	444	45	26	15	128	86	120	106	554	0.801
10	54°15'40.99"	68°07'48.85"	221	6.0	45	12.4	2	57	4.5	17.46	0.50	23.2	0.5	Arenoso	1	4.7	7.8	4.8	306.7	13.5	-2.5	16.0	4.5	3.1	8.5	0.6	440	44	26	15	126	86	119	106	557	0.7947	
								12.8	55	4.5	18.00	0.50	23.0	0.5	Arenoso	1	4.7	7.8	4.8	306.7	13.5	-2.5	16.0	4.5	3.1	8.5	0.6	440	44	26	15	126	86	119	106	557	0.7947
								12.1	54	4.6	17.40	0.48	24.0	0.4	Arenoso	1	4.7	7.8	4.8	306.7	13.5	-2.5	16.0	4.5	3.1	8.5	0.6	440	44	26	15	126	86	119	106	557	0.7947
11	54°14'29.92"	68°07'45.34"	226	7.0	135	10.5	3	70	4.2	9.80	0.40	22.2	0.5	Arenoso	1	4.7	7.8	4.9	306.3	13.5	-2.4	15.9	4.6	3.1	8.6	0.7	435	44	25	15	126	84	118	104	559	0.7783	
								11.6	66	4.0	10.04	0.55	22.5	0.4	Arenoso	1	4.7	7.8	4.9	306.3	13.5	-2.4	15.9	4.6	3.1	8.6	0.7	435	44	25	15	126	84	118	104	559	0.7783
								11.0	66	4.0	9.94	0.50	22.9	0.7	Arenoso	1	4.7	7.8	4.9	306.3	13.5	-2.4	15.9	4.6	3.1	8.6	0.7	435	44	25	15	126	84	118	104	559	0.7783
12	54°05'42.00"	68°02'48.85"	183	3.0	90	9.6	4	62	4.5	10.80	0.63	24.7	1.0	Arenoso orgánico	15	4.8	7.9	4.8	316.9	13.8	-2.4	16.2	4.6	3.1	8.8	0.7	400	42	22	17	117	74	108	95	564	0.7039	
								9.9	66	4.1	10.69	0.66	25.0	0.8	Arenoso orgánico	15	4.8	7.9	4.8	316.9	13.8	-2.4	16.2	4.6	3.1	8.8	0.7	400	42	22	17	117	74	108	95	564	0.7039
								10.3	60	4.4	10.50	0.59	25.4	0.8	Arenoso orgánico	15	4.8	7.9	4.8	316.9	13.8	-2.4	16.2	4.6	3.1	8.8	0.7	400	42	22	17	117	74	108	95	564	0.7039

Nº	Latitud	Longitud	Altitud (m snm)	Pendiente (°)	Exposición (°)	HD (m)	CS	Profundidad del suelo (cm)	pH	Materia orgánica (%)	N total (%)	P disponible (ppm)	K intercambiable (meq/100gr)	Textura del suelo	Valor asignado a Textura	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	Evapotranspiración potencial	Índice de aridez					
																1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14			15	16	17	18	19
13	54°01'53.45"	67°58'57.06"	141	1.0	90	8.1	4	35	5.0	9.47	0.47	29.5	1.0	Arenoso orgánico	15	5.1	7.8	4.7	323.6	14.2	-2.2	16.4	4.9	3.5	9.1	0.9	381	40	21	19	112	69	104	90	573	0.6606
								9.0	5.0	9.63	0.48	30.1	0.7	Arenoso orgánico	15	5.1	7.8	4.7	323.6	14.2	-2.2	16.4	4.9	3.5	9.1	0.9	381	40	21	19	112	69	104	90	573	0.6606
								7.3	4.9	9.50	0.44	29.0	0.9	Arenoso orgánico	15	5.1	7.8	4.7	323.6	14.2	-2.2	16.4	4.9	3.5	9.1	0.9	381	40	21	19	112	69	104	90	573	0.6606
14	54°22'09.38"	67°52'12.77"	136	2.0	270	14.6	1	40	4.3	10.62	0.43	30.5	0.3	Arenoso	1	5.0	7.9	4.9	309.1	13.8	-2.2	16.0	4.9	3.3	8.9	0.9	434	44	25	16	125	83	118	104	565	0.7673
								14.1	4.4	10.60	0.69	31.0	0.3	Arenoso	1	5.0	7.9	4.9	309.1	13.8	-2.2	16.0	4.9	3.3	8.9	0.9	434	44	25	16	125	83	118	104	565	0.7673
								13.5	4.6	10.44	0.55	30.4	0.4	Arenoso	1	5.0	7.9	4.9	309.1	13.8	-2.2	16.0	4.9	3.3	8.9	0.9	434	44	25	16	125	83	118	104	565	0.7673
15	54°00'11.84"	68°31'53.23"	114	6.0	90	12.9	2	57	4.8	9.84	0.53	18.9	0.5	Arenoso orgánico	15	5.4	7.5	4.8	300.3	14.0	-1.5	15.5	5.3	3.7	9.2	1.4	437	45	24	17	128	84	118	106	563	0.7711
								12.0	4.9	9.78	0.58	18.7	0.4	Arenoso orgánico	15	5.4	7.5	4.8	300.3	14.0	-1.5	15.5	5.3	3.7	9.2	1.4	437	45	24	17	128	84	118	106	563	0.7711
								13.7	4.9	9.90	0.55	19.0	0.2	Arenoso orgánico	15	5.4	7.5	4.8	300.3	14.0	-1.5	15.5	5.3	3.7	9.2	1.4	437	45	24	17	128	84	118	106	563	0.7711
16	54°00'10.10"	68°32'01.00"	127	4.0	90	6.2	5	18	5.4	14.42	0.65	28.5	0.5	Arenoso orgánico	15	5.4	7.5	4.8	300.1	14.0	-1.5	15.4	5.3	3.7	9.1	1.4	437	45	24	17	128	84	118	106	563	0.7787
								5.1	5.5	14.00	0.66	31.0	0.6	Arenoso orgánico	15	5.4	7.5	4.8	300.1	14.0	-1.5	15.4	5.3	3.7	9.1	1.4	437	45	24	17	128	84	118	106	563	0.7787
								4.3	5.5	14.40	0.80	30.0	0.5	Arenoso orgánico	15	5.4	7.5	4.8	300.1	14.0	-1.5	15.4	5.3	3.7	9.1	1.4	437	45	24	17	128	84	118	106	563	0.7787
17	53°55'18.38"	68°25'29.14"	105	4.0	180	8.0	5	21	4.5	8.10	0.42	48.9	0.8	Arenoso	2	5.4	7.5	4.8	305.5	14.1	-1.5	15.6	5.3	3.7	9.2	1.4	406	43	22	18	120	77	110	99	566	0.7148
								7.6	4.4	7.88	0.44	50.1	0.8	Arenoso	2	5.4	7.5	4.8	305.5	14.1	-1.5	15.6	5.3	3.7	9.2	1.4	406	43	22	18	120	77	110	99	566	0.7148
								8.2	4.1	8.50	0.42	48.0	0.7	Arenoso	2	5.4	7.5	4.8	305.5	14.1	-1.5	15.6	5.3	3.7	9.2	1.4	406	43	22	18	120	77	110	99	566	0.7148
18	54°14'39.01"	68°08'31.64"	220	4.0	0	10.1	3	33	4.1	17.69	0.64	23.3	0.3	Arenoso	1	4.6	7.8	4.9	306.1	13.4	-2.6	15.9	4.5	3.0	8.4	0.6	437	44	25	16	126	84	119	105	557	0.7819
								11.0	4.1	18.40	0.55	24.0	0.5	Arenoso	1	4.6	7.8	4.9	306.1	13.4	-2.6	15.9	4.5	3.0	8.4	0.6	437	44	25	16	126	84	119	105	557	0.7819
								10.5	4.5	18.04	0.68	28.4	0.5	Arenoso	1	4.6	7.8	4.9	306.1	13.4	-2.6	15.9	4.5	3.0	8.4	0.6	437	44	25	16	126	84	119	105	557	0.7819
19	54°22'03.33"	67°51'21.27"	99	2.0	180	14.7	1	65	5.0	11.01	0.43	36.7	0.5	Arenoso	1	5.1	7.9	4.9	309.8	14.0	-2.1	16.0	5.0	3.5	9.0	1.0	429	44	25	16	124	81	117	101	569	0.7539
								14.8	5.1	11.22	0.47	29.0	0.4	Arenoso	1	5.1	7.9	4.9	309.8	14.0	-2.1	16.0	5.0	3.5	9.0	1.0	429	44	25	16	124	81	117	101	569	0.7539
								14.7	5.0	11.63	0.44	41.0	0.5	Arenoso	1	5.1	7.9	4.9	309.8	14.0	-2.1	16.0	5.0	3.5	9.0	1.0	429	44	25	16	124	81	117	101	569	0.7539
20	54°22'05.66"	67°51'21.72"	103	2.0	270	14.8	1	35	5.1	21.92	0.55	40.0	0.3	Arenoso	1	5.1	7.9	4.9	309.8	13.9	-2.1	16.0	5.0	3.4	9.0	1.0	429	44	25	17	124	81	117	101	569	0.7539
								16.0	5.2	21.47	0.60	44.6	0.5	Arenoso	1	5.1	7.9	4.9	309.8	13.9	-2.1	16.0	5.0	3.4	9.0	1.0	429	44	25	17	124	81	117	101	569	0.7539
								15.4	5.2	22.50	0.55	46.9	0.3	Arenoso	1	5.1	7.9	4.9	309.8	13.9	-2.1	16.0	5.0	3.4	9.0	1.0	429	44	25	17	124	81	117	101	569	0.7539
21	54°22'04.70"	67°51'18.62"	97	2.0	270	14.2	1	37	4.9	10.01	0.46	30.5	0.3	Arenoso	1	5.1	7.9	4.9	309.9	14.0	-2.1	16.0	5.0	3.5	9.0	1.0	429	44	25	17	124	81	117	101	569	0.7539
								14.4	4.9	11.00	0.46	33.4	0.2	Arenoso	1	5.1	7.9	4.9	309.9	14.0	-2.1	16.0	5.0	3.5	9.0	1.0	429	44	25	17	124	81	117	101	569	0.7539
								14.1	4.0	10.40	0.48	30.1	0.2	Arenoso	1	5.1	7.9	4.9	309.9	14.0	-2.1	16.0	5.0	3.5	9.0	1.0	429	44	25	17	124	81	117	101	569	0.7539
22	54°22'08.60"	67°32'20.30"	159	3.0	315	12.9	2	53	4.5	6.07	0.29	16.0	0.5	Arenoso	1	5.2	8.0	4.9	312.0	14.1	-2.0	16.1	5.1	3.5	9.1	1.1	404	42	23	18	117	75	113	94	573	0.7036
								14.0	5.5	6.50	0.38	14.8	0.3	Arenoso	1	5.2	8.0	4.9	312.0	14.1	-2.0	16.1	5.1	3.5	9.1	1.1	404	42	23	18	117	75	113	94	573	0.7036
								12.0	4.9	6.12	0.22	15.8	0.6	Arenoso	1	5.2	8.0	4.9	312.0	14.1	-2.0	16.1	5.1	3.5	9.1	1.1	404	42	23	18	117	75	113	94	573	0.7036
23	54°22'28.30"	67°32'31.30"	79	8.5	270	12.3	2	42	4.7	8.22	0.36	2.6	0.5	Arenoso	1	5.2	8.0	4.9	311.7	14.2	-1.9	16.1	5.1	3.5	9.2	1.1	404	42	23	18	117	75	113	94	574	0.7013
								12.6	5.0	8.55	0.50	5.0	0.4	Arenoso	1	5.2	8.0	4.9	311.7	14.2	-1.9	16.1	5.1	3.5	9.2	1.1	404	42	23	18	117	75	113	94	574	0.7013
								11.9	4.1	8.01	0.47	2.4	0.4	Arenoso	1	5.2	8.0	4.9	311.7	14.2	-1.9	16.1	5.1	3.5	9.2	1.1	404	42	23	18	117	75	113	94	574	0.7013
24	54°22'03.40"	67°33'23.90"	99	10.5	90	13.9	2	30	4.8	7.26	0.38	9.1	0.8	Arenoso	2	5.2	8.0	4.9	312.1	14.1	-2.0	16.1	5.1	3.5	9.1	1.1	405	42	23	18	117	75	113	94	574	0.7037
								14.7	3.3	7.45	0.40	9.8	0.8	Arenoso	2	5.2	8.0	4.9	312.1	14.1	-2.0	16.1	5.1	3.5	9.1	1.1	405	42	23	18	117	75	113	94	574	0.7037
								14.0	2.9	7.44	0.44	8.9	0.7	Arenoso	2	5.2	8.0	4.9	312.1	14.1	-2.0	16.1	5.1	3.5	9.1	1.1	405	42	23	18	117	75	113	94	574	0.7037

Nº	Latitud	Longitud	Altitud (m snm)	Pendiente (°)	Exposición (°)	HD (m)	CS	Profundidad del suelo (cm)	pH	Materia orgánica (%)	N total (%)	P disponible (ppm)	K intercambiable (meq/100gr)	Textura del suelo	Valor asignado a Textura	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	BIO	Evapotranspiración potencial	Índice de aridez	
																1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19			
25	53°54'20.75"	67°42'37.68"	49	0.0	180	15.5	1	53	5.1	31.97	0.85	2.6	10	Arenoso orgánico	15	5.2	8.0	4.7	339.6	14.7	-2.3	17.0	2.5	3.6	9.5	0.8	345	37	18	22	104	58	96	80	589	0.584	
								16.0	5.0	28.50	0.70	2.8	11	Arenoso orgánico	15	5.2	8.0	4.7	339.6	14.7	-2.3	17.0	2.5	3.6	9.5	0.8	345	37	18	22	104	58	96	80	589	0.584	
								16.0	5.0	30.00	0.78	3.2	11	Arenoso orgánico	15	5.2	8.0	4.7	339.6	14.7	-2.3	17.0	2.5	3.6	9.5	0.8	345	37	18	22	104	58	96	80	589	0.584	
26	54°15'21.46"	66°57'36.06"	73	10.0	163	12.6	2	43	5.2	3.82	0.38	6.6	13	Arenoso	2	5.4	8.0	4.9	313.4	14.3	-1.8	16.1	5.3	3.6	9.3	1.3	383	41	21	20	112	69	112	86	581	0.6584	
								13.5	4.7	3.90	0.44	6.8	9.9	Arenoso	2	5.4	8.0	4.9	313.4	14.3	-1.8	16.1	5.3	3.6	9.3	1.3	383	41	21	20	112	69	112	86	581	0.6584	
								12.4	4.2	3.66	0.44	6.9	1.3	Arenoso	2	5.4	8.0	4.9	313.4	14.3	-1.8	16.1	5.3	3.6	9.3	1.3	383	41	21	20	112	69	112	86	581	0.6584	
27	54°16'35.66"	67°02'42.49"	118	7.0	315	13.0	2	74	5.1	7.17	0.38	8.8	11	Arenoso	1	5.1	8.1	5.0	313.5	14.0	-2.1	16.1	5.0	3.3	9.0	1.0	387	41	21	19	114	70	112	87	573	0.6691	
								13.6	7.9	5.0	7.69	0.33	8.7	12	Arenoso	1	5.1	8.1	5.0	313.5	14.0	-2.1	16.1	5.0	3.3	9.0	1.0	387	41	21	19	114	70	112	87	573	0.6691
								12.9	7.1	4.8	8.40	0.38	8.8	0.9	Arenoso	1	5.1	8.1	5.0	313.5	14.0	-2.1	16.1	5.0	3.3	9.0	1.0	387	41	21	19	114	70	112	87	573	0.6691
28	46°03'24.3"	71°41'10.9"	643	4.8	315	8.8	4	60	5.6	6.90	0.22	60.0	1.7	Arenoso	2	5.3	9.1	4.6	403.1	15.7	-4.1	19.8	0.3	10.2	10.2	-0.2	490	69	20	44	202	66	66	188	706	0.6968	
								9.5	6.5	6.96	0.29	55.9	1.4	Arenoso	2	5.3	9.1	4.6	403.1	15.7	-4.1	19.8	0.3	10.2	10.2	-0.2	490	69	20	44	202	66	66	188	706	0.6968	
								8.8	6.5	6.35	0.21	61.0	1.5	Arenoso	2	5.3	9.1	4.6	403.1	15.7	-4.1	19.8	0.3	10.2	10.2	-0.2	490	69	20	44	202	66	66	188	706	0.6968	
29	46°52'58.2"	71°52'55.5"	910	11.2	135	4.6	5	50	4.9	5.86	0.15	34.0	0.5	Arenoso	2	5.0	9.2	4.5	408.8	15.5	-4.6	20.2	0.0	10.0	10.0	-0.4	367	44	14	36	131	50	50	129	690	0.5304	
								5.5	5.2	4.9	5.69	0.18	36.0	0.5	Arenoso	2	5.0	9.2	4.5	408.8	15.5	-4.6	20.2	0.0	10.0	10.0	-0.4	367	44	14	36	131	50	50	129	690	0.5304
								5.0	5.0	4.8	6.00	0.20	34.9	0.4	Arenoso	2	5.0	9.2	4.5	408.8	15.5	-4.6	20.2	0.0	10.0	10.0	-0.4	367	44	14	36	131	50	50	129	690	0.5304
30	48°22'08.3"	72°08'22.4"	410	15	225	5.5	5	55	4.9	11.92	0.36	56.0	1.1	Arenoso	2	7.1	9.2	4.5	406.5	17.8	-2.4	20.2	4.1	11.3	12.1	1.8	378	45	22	23	126	69	73	105	732	0.5204	
								5.0	5.8	4.9	11.40	0.40	58.7	1.4	Arenoso	2	7.1	9.2	4.5	406.5	17.8	-2.4	20.2	4.1	11.3	12.1	1.8	378	45	22	23	126	69	73	105	732	0.5204
								5.8	6.0	4.7	11.80	0.39	55.1	1.5	Arenoso	2	7.1	9.2	4.5	406.5	17.8	-2.4	20.2	4.1	11.3	12.1	1.8	378	45	22	23	126	69	73	105	732	0.5204
31	49°17'04"	72°53'19.1"	426	0.7	45	9.6	4	90	4.5	13.96	0.87	25.0	0.3	Arenoso	2	7.5	8.6	4.5	365.8	17.8	-1.0	18.8	4.9	11.2	12.0	2.7	807	92	46	22	271	155	170	227	695	1.1669	
								10.2	8.1	4.4	13.36	0.88	30.1	0.3	Arenoso	2	7.5	8.6	4.5	365.8	17.8	-1.0	18.8	4.9	11.2	12.0	2.7	807	92	46	22	271	155	170	227	695	1.1669
								9.0	8.6	4.7	14.02	0.88	24.2	0.4	Arenoso	2	7.5	8.6	4.5	365.8	17.8	-1.0	18.8	4.9	11.2	12.0	2.7	807	92	46	22	271	155	170	227	695	1.1669
32	49°14'16.8"	72°54'10.5"	450	1.5	45	4.2	5	50	5.3	10.42	0.17	86.5	1.3	Arenoso	2	7.3	8.6	4.5	363.4	17.6	-1.1	18.7	4.8	11.0	11.9	2.6	821	93	47	22	274	158	174	231	699	1.1759	
								5.0	5.5	10.54	0.21	88.9	0.9	Arenoso	2	7.3	8.6	4.5	363.4	17.6	-1.1	18.7	4.8	11.0	11.9	2.6	821	93	47	22	274	158	174	231	699	1.1759	
								5.0	5.7	10.86	0.24	79.9	0.9	Arenoso	2	7.3	8.6	4.5	363.4	17.6	-1.1	18.7	4.8	11.0	11.9	2.6	821	93	47	22	274	158	174	231	699	1.1759	
33	50°18'23.3"	72°47'22.4"	229	4.4	225	5.7	5	60	4.8	11.98	0.33	47.5	1.0	Arenoso	2	7.5	8.7	4.5	379.7	17.6	-1.5	19.1	4.7	11.6	12.3	2.5	593	64	35	18	183	120	127	163	711	0.8326	
								5.0	5.9	4.8	11.74	0.33	48.0	1.1	Arenoso	2	7.5	8.7	4.5	379.7	17.6	-1.5	19.1	4.7	11.6	12.3	2.5	593	64	35	18	183	120	127	163	711	0.8326
								6.0	6.6	4.7	11.50	0.35	46.9	1.3	Arenoso	2	7.5	8.7	4.5	379.7	17.6	-1.5	19.1	4.7	11.6	12.3	2.5	593	64	35	18	183	120	127	163	711	0.8326
34	50°31'28.3"	72°46'53.9"	220	7.0	315	12.3	2	85	6.0	13.74	0.87	147.0	0.8	Arenoso	2	7.2	8.8	4.6	375.5	17.2	-1.8	19.1	7.0	9.8	11.8	2.2	579	62	35	17	176	119	126	157	704	0.8196	
								12.0	8.7	6.1	13.47	0.79	147.0	1.0	Arenoso	2	7.2	8.8	4.6	375.5	17.2	-1.8	19.1	7.0	9.8	11.8	2.2	579	62	35	17	176	119	126	157	704	0.8196
								12.2	8.1	5.8	13.90	0.78	155.0	1.0	Arenoso	2	7.2	8.8	4.6	375.5	17.2	-1.8	19.1	7.0	9.8	11.8	2.2	579	62	35	17	176	119	126	157	704	0.8196
35	50°33'12.6"	72°50'31.2"	233	0.8	225	16.1	1	100	5.3	12.12	0.49	74.0	0.7	Arenoso	2	7.2	8.7	4.6	370.8	17.1	-1.8	18.9	7.0	9.5	11.7	2.2	636	68	40	16	192	133	141	170	694	0.9106	
								15.0	9.5	5.4	12.69	0.50	78.0	0.9	Arenoso	2	7.2	8.7	4.6	370.8	17.1	-1.8	18.9	7.0	9.5	11.7	2.2	636	68	40	16	192	133	141	170	694	0.9106
								16.4	8.9	5.4	13.02	0.69	75.6	0.7	Arenoso	2	7.2	8.7	4.6	370.8	17.1	-1.8	18.9	7.0	9.5	11.7	2.2	636	68	40	16	192	133	141	170	694	0.9106
36	51°18'53.5"	72°10'58.4"	452	4.3	45	5.1	5	66	4.8	11.72	0.54	78.0	1.6	Arenoso	2	5.1	9.9	4.8	379.9	15.8	-4.6	20.4	4.9	5.8	9.8	0.0	342	38	21	17	107	69	79	87	676	0.5059	
								5.0	5.9	4.7	13.00	0.55	81.2	1.4	Arenoso	2	5.1	9.9	4.8	379.9	15.8	-4.6	20.4	4.9	5.8	9.8	0.0	342	38	21	17	107	69	79	87	676	0.5059
								5.5	6.0	4.7	12.40	0.48	74.1	1.3	Arenoso	2	5.1	9.9	4.8	379.9	15.8	-4.6	20.4	4.9	5.8	9.8	0.0	342	38	21	17	107	69	79	87	676	0.5059

Nº	Latitud	Longitud	Altitud (m snm)	Pendiente (%)	Exposición	HD (m)	CS	Profundidad del suelo		Materia orgánica (%)	N total (%)	P disponible (ppm)	K intercambia ble (meq/100gr)	Textura del suelo	Valor asignado a Textura	BIO																			Evapotranspiración potencial	Índice de aridez		
								(cm)	pH							BIO 1	BIO 2	BIO 3	BIO 4	BIO 5	BIO 6	BIO 7	BIO 8	BIO 9	BIO 10	BIO 11	BIO 12	BIO 13	BIO 14	BIO 15	BIO 16	BIO 17	BIO 18	BIO 19				
37	51° 17' 21.3"	72° 15' 50.1"	235	3.0	1.5			7.5	05	4.9	12.00	0.00	23.0	0.2	Francoso	2.5	5.9	9.0	4.0	301.3	16.6	-3.0	20.4	5.6	6.9	10.5	0.7	331	36	19	10	104	65	75	87	636	0.4741	
								7.2	05	5.0	12.10	0.98	19.9	0.3	Francoso	2.5	5.9	9.0	4.0	301.3	16.6	-3.0	20.4	5.6	6.9	10.5	0.7	331	36	19	10	104	65	75	87	636	0.4741	
								0.0	02	4.9	11.70	0.50	20.9	0.3	Francoso	2.5	5.9	9.0	4.0	301.3	16.6	-3.0	20.4	5.6	6.9	10.5	0.7	331	36	19	10	104	65	75	87	636	0.4741	
38	51° 37' 03.2"	71° 59' 28.7"	378	1.5	225			2.1	5	30	4.8	8.16	0.23	19.0	0.5	Arenoso	2	5.1	9.9	4.8	370.8	16.8	-4.6	20.4	4.9	5.6	9.6	0.0	353	39	22	16	107	72	87	87	674	0.5207
								7.6	32	4.8	7.88	0.22	21.4	0.4	Arenoso	2	5.1	9.9	4.8	370.8	16.8	-4.6	20.4	4.9	5.6	9.6	0.0	353	39	22	16	107	72	87	87	674	0.5207	
								3.0	33	4.5	8.44	0.25	23.7	0.4	Arenoso	2	5.1	9.9	4.8	370.8	16.8	-4.6	20.4	4.9	5.6	9.6	0.0	353	39	22	16	107	72	87	87	674	0.5207	
39	51° 49' 58.1"	71° 42' 35.1"	190	6.5	225			4.0	5	45	5.8	8.00	0.35	95.0	0.9	Arenoso	2	6.3	9.6	4.8	366.6	16.8	-3.1	19.9	6.1	6.8	10.8	1.3	314	33	20	14	93	65	79	77	689	0.4571
								5.0	44	5.5	8.00	0.36	96.4	0.7	Arenoso	2	6.3	9.6	4.8	366.6	16.8	-3.1	19.9	6.1	6.8	10.8	1.3	314	33	20	14	93	65	79	77	689	0.4571	
								3.7	50	5.5	7.95	0.35	80.4	0.8	Arenoso	2	6.3	9.6	4.8	366.6	16.8	-3.1	19.9	6.1	6.8	10.8	1.3	314	33	20	14	93	65	79	77	689	0.4571	
40	51° 46' 13.7"	71° 44' 50.4"	300	4.4	225			4.3	5	50	5.2	12.00	0.23	61.7	1.1	Arenoso	2	6.2	9.7	4.8	367.8	16.8	-3.2	20.0	6.0	6.7	10.7	1.2	311	33	19	15	93	64	78	76	694	0.4495
								5.0	55	5.5	12.25	0.36	50.9	1.1	Arenoso	2	6.2	9.7	4.8	367.8	16.8	-3.2	20.0	6.0	6.7	10.7	1.2	311	33	19	15	93	64	78	76	694	0.4495	
								5.1	44	5.0	12.20	0.31	50.4	1.2	Arenoso	2	6.2	9.7	4.8	367.8	16.8	-3.2	20.0	6.0	6.7	10.7	1.2	311	33	19	15	93	64	78	76	694	0.4495	
41	51° 50' 57.6"	71° 41' 41.6"	100	5.7	195			10.0	3	95	5.0	4.54	0.20	27.2	0.0	Arenoso orgánico	15	6.2	9.4	4.8	360.3	16.6	-2.9	19.5	6.0	6.7	10.6	1.4	336	35	22	13	99	71	85	81	682	0.4897
								10.0		88	5.8	5.61	0.22	19.8	0.7	Arenoso orgánico	15	6.2	9.4	4.8	360.3	16.6	-2.9	19.5	6.0	6.7	10.6	1.4	336	35	22	13	99	71	85	81	682	0.4897
								11.0		87	5.6	4.78	0.25	28.4	0.8	Arenoso orgánico	15	6.2	9.4	4.8	360.3	16.6	-2.9	19.5	6.0	6.7	10.6	1.4	336	35	22	13	99	71	85	81	682	0.4897
42	51° 50' 53.0"	71° 46' 18.0"	138	1.9	225			11.3	3	105	4.9	4.96	0.21	84.7	0.5	Arenoso	1	6.2	9.6	4.8	365.8	16.8	-3.1	19.9	6.0	6.7	10.7	1.3	330	35	21	14	98	68	83	81	688	0.4781
								11.0		110	4.9	4.98	0.22	89.1	0.5	Arenoso	1	6.2	9.6	4.8	365.8	16.8	-3.1	19.9	6.0	6.7	10.7	1.3	330	35	21	14	98	68	83	81	688	0.4781
								11.0		99	5.1	5.00	0.27	91.0	0.4	Arenoso	1	6.2	9.6	4.8	365.0	16.0	-3.1	19.9	6.0	6.7	10.7	1.3	330	35	21	14	98	68	83	81	688	0.4781
43	51° 16' 50.9"	72° 11' 2.10"	414	2.1	195			0.0	4	00	5.5	9.93	0.40	52.6	0.0	Arenoso orgánico	15	5.3	9.9	4.8	380.3	16.0	-4.5	20.5	5.1	6.0	9.9	0.2	334	37	20	17	104	67	77	86	709	0.2595
								10.4		05	5.6	10.40	0.95	54.0	0.7	Arenoso orgánico	15	5.3	9.9	4.8	380.3	16.0	-4.5	20.5	5.1	6.0	9.9	0.2	334	37	20	17	104	67	77	86	709	0.2595
								8.0		55	5.6	10.40	0.48	55.0	0.8	Arenoso orgánico	15	5.3	9.9	4.8	380.3	16.0	-4.5	20.5	5.1	6.0	9.9	0.2	334	37	20	17	104	67	77	86	709	0.2595
44	51° 09' 30.1"	72° 13' 11.2"	203	2.3	375			11.0	3	95	5.6	9.92	0.43	89.1	0.8	Arenoso orgánico	15	6.6	9.7	4.7	392.6	17.4	-3.1	20.5	6.4	9.4	11.4	1.4	291	32	16	19	92	55	62	80	718	0.4038
								11.0		91	5.5	9.66	0.43	88.1	0.8	Arenoso orgánico	15	6.6	9.7	4.7	392.6	17.4	-3.1	20.5	6.4	9.4	11.4	1.4	291	32	16	19	92	55	62	80	718	0.4038
								10.6		87	5.4	9.21	0.44	79.9	0.9	Arenoso orgánico	15	6.6	9.7	4.7	392.6	17.4	-3.1	20.5	6.4	9.4	11.4	1.4	291	32	16	19	92	55	62	80	718	0.4038
45	51° 09' 12.9"	72° 13' 20.2"	195	4.9	45			12.0	2	90	5.9	14.00	0.93	23.5	0.3	Arenoso	1	5.9	9.0	4.0	370.0	16.5	-3.7	20.2	5.7	8.1	10.5	0.8	336	36	19	19	106	66	74	89	697	0.482
								12.0		94	5.9	15.25	0.95	19.5	0.4	Arenoso	1	5.9	9.0	4.0	370.0	16.5	-3.7	20.2	5.7	8.1	10.5	0.8	336	36	19	19	106	66	74	89	697	0.482
								13.0		90	5.0	15.00	0.96	24.0	0.4	Arenoso	1	5.9	9.0	4.0	370.0	16.5	-3.7	20.2	5.7	8.1	10.5	0.8	336	36	19	19	106	66	74	89	697	0.482
46	49° 17' 55.3"	72° 54' 18.5"	416	2.8	195			11.1	3	100	6.2	4.02	0.23	64.4	0.3	Arenoso	1	7.5	8.6	4.5	363.9	17.7	-1.0	18.7	4.9	11.2	12.0	2.7	819	93	47	22	274	158	174	231	701	1.6883
								11.5		104	6.1	4.78	0.23	65.8	0.2	Arenoso	1	7.5	8.6	4.5	363.9	17.7	-1.0	18.7	4.9	11.2	12.0	2.7	819	93	47	22	274	158	174	231	701	1.6883
								11.0		100	6.0	4.25	0.25	80.0	0.5	Arenoso	1	7.5	8.6	4.5	363.9	17.7	-1.0	18.7	4.9	11.2	12.0	2.7	819	93	47	22	274	158	174	231	701	1.6883
47	49° 17' 22.4"	72° 53' 34.9"	416	3.5	45			9.0	4	65	5.6	4.27	0.25	45.1	0.3	Arenoso	2	7.5	8.7	4.6	365.0	17.8	-1.0	18.8	4.9	11.2	12.0	2.7	808	92	46	22	271	155	171	228	702	1.624
								9.4		66	5.5	4.77	0.26	50.3	0.5	Arenoso	2	7.5	8.7	4.6	365.0	17.8	-1.0	18.8	4.9	11.2	12.0	2.7	808	92	46	22	271	155	171	228	702	1.624
								9.1		62	5.5	5.69	0.21	44.7	0.5	Arenoso	2	7.5	8.7	4.6	365.0	17.8	-1.0	18.8	4.9	11.2	12.0	2.7	808	92	46	22	271	155	171	228	702	1.624
48	43° 13' 11.7"	72° 57' 16.0"	455	2.6	125			9.2	4	70	4.3	2.74	0.12	30.3	0.3	Arenoso	2	7.2	8.6	4.6	362.3	17.4	-1.2	18.6	4.7	11.0	11.8	2.5	873	98	51	21	207	170	187	244	693	1.2597
								8.8		74	4.8	2.48	0.14	39.0	0.4	Arenoso	2	7.2	8.6	4.6	362.3	17.4	-1.2	18.6	4.7	11.0	11.8	2.5	873	98	51	21	207	170	187	244	693	1.2597
								9.2		70	4.0	3.01	0.11	30.4	0.6	Arenoso	2	7.2	8.6	4.6	362.3	17.4	-1.2	18.6	4.7	11.0	11.8	2.5	873	98	51	21	207	170	187	244	693	1.2597

HD: altura de árboles maduros dominantes; CS: Clase de Sitio; BIO1: temperatura media anual; BIO2 (temperatura máxima mensual- temperatura mínima mensual); BIO3 (isotermalidad (BIO2/BIO7) x 100)); BIO4 (estacionalidad de la temperatura (desviación estándar x 100)); BIO5 (temperatura máxima del mes más cálido); BIO6 (temperatura mínima del mes más frío); BIO7 (rango anual de temperatura (BIO5-BIO6)); BIO 8 (temperatura media del trimestre más húmedo); BIO9 (temperatura media del trimestre más seco); BIO10 (temperatura media del trimestre más cálido); BIO 11 (temperatura media del trimestre más frío); BIO 12 (precipitación anual); BIO 13 (precipitación del mes más húmedo); BIO 14: (precipitación del mes más seco); BIO 15 (estacionalidad de la precipitación (coeficiente de variación)); BIO 16 (precipitación del trimestre más húmedo); BIO 17 (precipitación del trimestre más seco); BIO18 (precipitación del trimestre más cálido); BIO 19 (precipitación del trimestre más frío); Evpt (evapotranspiración potencial); Ar (índice de aridez).

Anexo 2.2. Coeficientes de correlación de Pearson entre las variables estudiadas.

	Long	Alt	Pend	h	CS	Ps	pH	MOS	N	C:N	P	K	BIO1	BIO2	BIO3	BIO4	BIO5	BIO6	BIO7	BIO8	BIO9	BIO10	BIO11	BIO12	BIO13	BIO14	BIO15	BIO16	BIO17	BIO18	BIO19	Evpt	Ar				
Lat	-0.88**	-0.84**	ns	0.48**	-0.49**	-0.50**	-0.37*	ns	0.32*	-0.29*	-0.49**	ns	-0.68**	0.67**	0.87**	-0.91**	-0.83**	ns	-0.82**	0.33*	-0.94**	-0.81**	ns	-0.44**	-0.57**	-0.36*	-0.67**	-0.58**	-0.37**	ns	-0.64**	-0.89**	ns				
Long		0.67**	-0.32*	-0.50**	0.51**	0.62**	0.41**	ns	ns	ns	0.61**	ns	-0.79**	0.81**	-0.91**	0.94**	0.94**	ns	0.91**	0.88**	0.39**	0.44**	0.57**	0.48**	0.42**	ns	0.49**	0.43**	ns	0.53**	0.96**	ns					
Alt			ns	-0.56**	0.56**	ns	ns	ns	-0.28*	0.35*	ns	ns	-0.29*	0.53**	-0.78**	0.71**	0.49**	-0.42**	0.64**	-0.56**	0.67**	0.44**	ns	0.33*	0.44**	ns	0.67**	0.46**	ns	ns	0.52**	0.63**	ns				
Pend				ns	ns	-0.29**	ns	-0.33*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0.31*	ns	-0.30*	ns	ns																		
h					-0.95**	ns	ns	ns	ns	-0.33*	ns	-0.33	ns	-0.47**	0.41**	-0.48**	-0.39**	0.35*	-0.51**	ns	-0.39**	-0.31*	ns	-0.46**	ns												
CS						ns	ns	ns	ns	ns	ns	0.32*	ns	0.42**	-0.42**	0.46**	0.38**	-0.29*	0.47**	ns	0.40**	0.32*	ns	0.44**	ns												
Ps							0.30*	ns	ns	ns	0.37**	ns	0.59**	0.49**	-0.46**	0.55**	0.64**	ns	0.55**	ns	0.59**	0.62**	0.38**	0.29*	0.33*	0.33*	ns	0.33*	0.33*	ns	0.35*	0.61**	ns				
pH								ns	ns	ns	0.44**	ns	0.45**	0.39**	ns	0.41**	0.48**	ns	0.41**	ns	0.42**	0.46**	ns	0.48**	ns												
MOS									0.75**	0.36**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns		
N										ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns		
C:N											ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns		
P											ns	0.55**	0.48**	0.46**	0.54**	0.59**	ns	0.54**	0.29*	0.55**	0.59**	0.33*	ns	0.60**	ns												
K													ns	ns	ns	0.29*	ns	0.31*	ns	ns	ns	ns															
BIO1														0.44**	-0.78**	0.64**	0.92**	0.36*	0.60**	0.31*	0.88**	0.97**	0.85**	0.64**	0.67**	0.67**	ns	0.66**	0.67**	0.37**	0.67**	0.79**	0.38**				
BIO2															0.88**	0.75**	-0.65**	0.97**	ns	0.61**	0.60**	ns	0.87**	-0.47**													
BIO3																0.75**	-0.79**	ns	-0.62**	-0.90**	-0.84**	-0.52**	-0.60**	-0.67**	-0.54**	-0.53**	-0.68**	-0.55**	ns	-0.72**	-0.76**	-0.35*					
BIO4																	0.87**	-0.45**	0.97**	ns	0.86**	0.80**	ns	ns	ns	0.47**	ns	ns	-0.31*	0.33*	ns	0.96**	ns				
BIO5																			ns	0.86**	ns	0.93**	0.98**	0.59**	0.43**	0.51**	0.46**	ns	0.51**	0.46**	ns	0.96**	ns				
BIO6																			ns	-0.53**	0.30*	ns	ns	0.78**	0.63**	0.54**	0.64**	ns	0.52**	0.64**	0.82**	ns	0.76**				
BIO7																				ns	ns	0.78**	0.75**	ns	ns	ns	ns	0.29*	ns	ns	-0.36*	0.96**	-0.30*				
BIO8																				ns	ns	ns	0.46**	ns	ns	ns	-0.79**	ns	ns	ns	ns	ns	ns				
BIO9																						ns	0.95**	0.56**	0.57**	0.66**	0.54**	0.47**	0.67**	0.55**	ns	0.92**	ns				
BIO10																						ns	0.71**	0.54**	0.61**	0.56**	ns	0.61**	0.57**	ns	0.90**	ns	ns				
BIO11																								0.74**	0.69**	0.79**	ns	0.68**	0.79**	0.71**	0.65**	0.35*	0.64**				
BIO12																									0.98**	0.98**	ns	0.98**	0.98**	0.97**	ns	0.92**					
BIO13																										0.94**	0.36*	0.99**	0.94**	0.79**	0.99**	0.38**	0.87**				
BIO14																										ns	0.93**	0.99**	0.90**	0.90**	0.29*	0.90**					
BIO15																											0.37**	ns	ns	0.43**	0.34*	ns					
BIO16																												0.93**	0.78**	0.99**	0.39**	0.87**					
BIO17																													0.90**	0.91**	0.29*	0.90**					
BIO18																														0.72**	ns	0.95**					
BIO19																															ns	ns	ns	ns			
Evpt																																					
Ar																																					

Lat: latitud; Long: longitud; Alt: altitud; Pend: pendiente; h: altura de árboles maduros dominantes; CS: Clase de Sitio; Ps: profundidad del suelo; MOS: materia orgánica del suelo; N: nitrógeno total del suelo; C:N: relación C:N del suelo; P: fósforo total del suelo; K: potasio intercambiable del suelo; BIO1: temperatura media anual; BIO2 (temperatura máxima mensual- temperatura mínima mensual); BIO3 (isotermalidad (BIO2/BIO7) x 100)); BIO4 (estacionalidad de la temperatura (desviación estándar x 100)); BIO5 (temperatura máxima del mes más cálido); BIO6 (temperatura mínima del mes más frío); BIO7 (rango anual de temperatura (BIO5-BIO6)); BIO 8 (temperatura media del trimestre más húmedo); BIO9 (temperatura media del trimestre más seco); BIO10 (temperatura media del trimestre más cálido); BIO 11 (temperatura media del trimestre más frío); BIO 12 (precipitación anual); BIO 13 (precipitación del mes más húmedo); BIO 14: (precipitación del mes más seco); BIO 15 (estacionalidad de la precipitación (coeficiente de variación)); BIO 16 (precipitación del trimestre más húmedo); BIO 17 (precipitación del trimestre más seco); BIO18 (precipitación del trimestre más cálido); BIO 19 (precipitación del trimestre más frío); Evpt (evapotranspiración potencial); Ar (índice de aridez). Los asteriscos indican la significancia de la correlación; *: P < 0.05; **: P < 0.01; ***: P < 0.001; ns: no significativa.

Los símbolos positivo y negativo indican si la correlación es directa o inversa, respectivamente.

CAPITULO 3

PENSANDO EN LA SUSTENTABILIDAD DEL USO SILVOPASTORIL DE LOS BOSQUES DE *Nothofagus antarctica*, ¿CÓMO VARÍAN LAS RESPUESTAS DE PLÁNTULAS DE DIFERENTES PROCEDENCIAS ANTE LA ESCASEZ DE AGUA?

Bahamonde, H. A., Sánchez-Gómez, D., Gyenge, J., Peri, P. L., Cellini, J. M., & Aranda, I. (2019). Thinking in the sustainability of *Nothofagus antarctica* silvopastoral systems, how differ the responses of seedlings from different provenances to water shortage?. *Agroforestry Systems*, 93(2), 689-701.

INTRODUCCIÓN

En Patagonia austral argentina (Santa Cruz y Tierra del Fuego), los bosques de *Nothofagus antarctica* cubren una extensión de 431.000 ha, ocupando principalmente la zona de ecotono entre los bosques de *N. pumilio* (lenga) y la estepa patagónica donde la escasa disponibilidad de agua limita severamente el crecimiento de los bosques (Collado 2001, Peri y Ormaechea 2013). Esta zona incluye condiciones ambientales muy contrastantes, desde sitios con mayores precipitaciones y mal drenaje, hasta lugares muy secos expuestos a vientos de gran intensidad (Veblen et al. 1996). Estudios realizados en bosques de *N. antarctica* han evidenciado que rodales desarrollados en distintas condiciones ambientales y con diferente manejo (por ejemplo, bosques sin manejo vs bosques raleados para uso silvopastoril - SSP) presentan respuestas diferentes en términos de parámetros ecológicos y/o productivos (Peri et al. 2010, Ladd et al. 2014, Bahamonde et al. 2015, 2016a, Gargaglione et al. 2013). En Patagonia austral, aproximadamente el 70 % de los bosques de ñire han sido usados como sistemas silvopastoriles, lo que implica la remoción de árboles para aumentar la producción de forraje y en consecuencia la producción de carne (Peri et al. 2016a). Sin embargo, de acuerdo a la nueva Ley de Presupuestos mínimos medioambientales para bosques nativos de Argentina (Ley N° 26331), los sistemas silvopastoriles deben garantizar la continuidad del estrato arbóreo de los bosques de estos sistemas. En relación a esto, estudios realizados en bosques de *N. antarctica* de Patagonia continental han informado que en bosques bajo uso silvopastoril se han encontrado valores más altos de instalación de regeneración, en comparación con bosques con altas coberturas de copa sin uso ganadero (Bahamonde et al. 2016a). No obstante, los autores reportaron que al final de la estación de crecimiento la tasa de sobrevivencia de plántulas era muy baja durante el primer año y cercana a cero al segundo año después de la germinación. En contraste, en la isla de Tierra del Fuego se ha encontrado instalación de plántulas en bosques de ñire, tanto bajo uso silvopastoril como en rodales sin manejo con altas coberturas de copa, generándose un banco de plántulas bien establecido, especialmente en los rodales bajo SSP donde después de 4 años la cantidad de plántulas duplicaba la de los bosques primarios (Peri et al. 2016a). En este contexto, el manejo de la regeneración ha sido sugerido como una estrategia clave para promover la continuidad del estrato arbóreo (Bahamonde et al. 2016a). Sin embargo, el conocimiento relacionado con los

mecanismos ecofisiológicos implicados en la sobrevivencia de plántulas bajo distintas situaciones de disponibilidad de recursos o creciendo en distintas condiciones ambientales, es prácticamente inexistente para *N. antarctica*. Por otro lado, en las próximas décadas se predice para Patagonia un aumento de las temperaturas y una disminución de las precipitaciones (3° Informe del Ministerio de medioambiente y desarrollo sustentable de Argentina, MESD 2015), desconociéndose las potenciales respuestas de las especies boscosas a dicho escenario futuro. En general, las plántulas de *N. antarctica* requieren altos niveles de luz y humedad del suelo para sobrevivir (Bahamonde et al. 2013b, Soler et al. 2013). Estudios previos indican que las plántulas pueden desarrollar diferentes estrategias dependiendo del origen de sus poblaciones. En el caso del ñire, se ha observado que presenta gran sensibilidad a las restricciones de agua y luz, disminuyendo fuertemente su tasa de asimilación fotosintética (Peri et al. 2009). Sin embargo, este estudio se realizó analizando las respuestas fenotípicas de plántulas provenientes de un único sitio, siendo la información referida a la variabilidad intra-específica de esta especie a las variaciones ambientales prácticamente inexistente. La variabilidad intra-específica en parámetros de intercambio gaseoso como respuesta al estrés hídrico ha sido evaluada para géneros y especies de Fagaceae, tales como *Quercus* sp. (Arend et al. 2011), *Fagus* sp. (Sánchez-Gómez et al. 2013) y para *Nothofagus pumilio* (Premoli y Brewer 2007). Similarmente, algunas investigaciones han analizado las diferencias inter-específicas en el género *Nothofagus* con el foco en las relaciones hídricas foliares como variable de respuesta. Por ejemplo, Varela (2010) evaluó el ajuste osmótico de *N. nervosa* y *N. obliqua* a través de curvas presión-volumen, sin embargo no encontró diferencias entre plantas con niveles hídricos adecuados y plantas con estrés hídrico. En otros estudios también se han evaluado las variaciones en propiedades hidráulicas de hojas y tallos y en la anatomía del xilema de diferentes especies de *Nothofagus* de Patagonia (Bucci et al. 2013, Dettmann et al. 2013). No obstante, no existen estudios que hayan evaluado la respuesta funcional de *N. antarctica* ante niveles de agua limitantes comparando plantas de distintos orígenes. Considerando los antecedentes, conocer la respuesta de la regeneración a un factor de estrés ambiental como la restricción hídrica es imprescindible para adoptar medidas de manejo que garanticen la continuidad del estrato arbóreo en estos bosques.

En este contexto, se plantean las siguientes hipótesis y objetivos.

HIPÓTESIS:

- Las plántulas provenientes de poblaciones nativas de ñire que crecen en áreas con condiciones medio-ambientales más restrictivas (por ej., bajas precipitaciones, altos niveles de evapotranspiración y bajas temperaturas) tendrán mayor capacidad de responder a condiciones limitantes de agua.

OBJETIVO PARTICULAR

- 1) Evaluar la respuesta funcional de plántulas de *N. antarctica* provenientes de poblaciones nativas que se desarrollan en condiciones ambientales contrastantes, ante niveles limitantes de disponibilidad hídrica, mediante el análisis de intercambio gaseoso y capacidad de ajuste osmótico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se recolectaron, durante marzo de 2014, semillas de *N. antarctica* en cuatro rodales: Cancha Carrera 2 y 4 (CC2, CC4); Tres Marías (TM) y Tierra del Fuego (TDF) (Tabla 3.1, Imagen 3.1) que crecen en condiciones ambientales contrastantes de la Patagonia austral. Los nombres están relacionados a las Estancias donde se localizan los rodales. Esas cuatro localizaciones (o poblaciones) de las semillas representaron una combinación de condiciones geográficas, climáticas y medio ambientales contrastantes, lo que a su vez se traducía en variables forestales contrastantes en el campo (Tabla 3.1). Los mayores contrastes se observan entre las poblaciones TM y TDF: la primera está localizada a mayor nivel altitudinal, recibe menor nivel de precipitación anual y exhibe un valor de evapotranspiración potencial más elevado que de TDF (Tabla 3.1). A su vez, estas diferencias ambientales son consistentes con las diferencias observadas en la altura que alcanzan los árboles dominantes maduros en los respectivos sitios, siendo de 5 m para la población TM y 13,6 m en TDF.

Tabla 3.1. Principales características de bosques de *Nothofagus antarctica* de cuatro procedencias en Patagonia austral.

Procedencia	Coordenadas geográficas	Altitud (m s.n.m.)	PMA (mm año ⁻¹)	TMA (°C)	H (m)	Evpt. Potencial (mm año ⁻¹)
CC2	51°13`21" S 72°15`44" O	295	520	5,9	11,7	696
CC4	51°17`11" S 72°15`00" O	250	450	5,5	8	718
TM	51°19`05" S 72°10`47" O	452	400	5,1	5	736
TDF	54°20`03" S 67°52`04" O	90	640	5,1	13,6	571

PMA: precipitación media anual; TMA: temperatura media anual; H: altura de árboles dominantes; Evpt: Evapotranspiración.

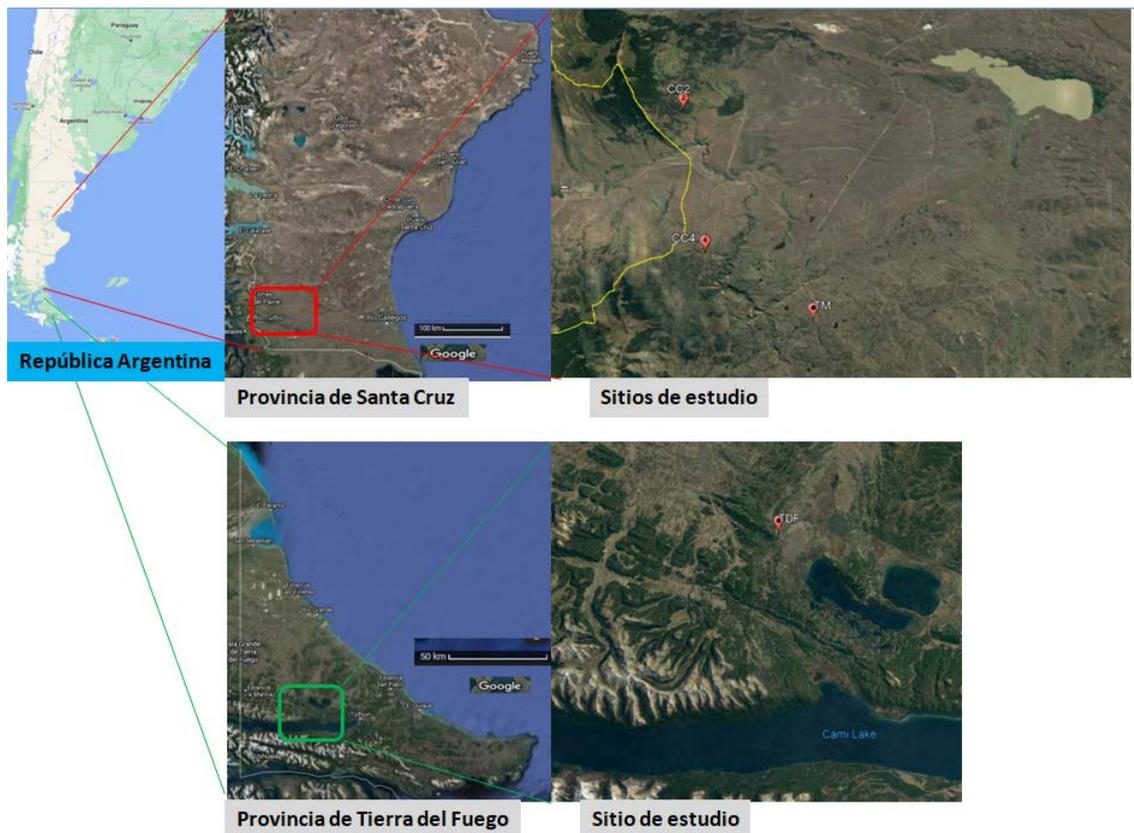


Imagen 3.1. Localización de 4 rodales de *N. antarctica* desde donde se recolectaron semillas para el presente estudio (Ver Tabla 3.1).

Diseño experimental

Se pusieron a germinar semillas de las cuatro poblaciones mencionadas previamente de acuerdo a los protocolos establecidos para la especie y detallados en Bahamonde et al. (2011). Posteriormente, cada plántula se plantó en una maceta de 100 cm³ que contenía una mezcla de sustrato (3:1 en volumen) de turba Floragard TKS2 (Floragard Vertriebs gmbh, Oldenburg, Alemania) y arena de río lavada. Este sustrato se complementó con el fertilizante Osmocote Plus (16-9-12 NPK+2 micronutrientes, Scotts, Heerlen, Países Bajos) a una dosis de 2 kg m⁻³. El número de plántulas obtenidas fueron 9, 10, 6 y 12 para las poblaciones CC2, CC4, TM y TDF, respectivamente. En una primera etapa de crecimiento de 2 meses de duración, las plántulas fueron regadas a capacidad de campo y mantenidas en un invernadero con temperaturas de 25/18 °C (día/noche) y humedad relativa del aire promedio de 60 %. Posteriormente, las plántulas fueron cuidadosamente trasplantadas a macetas de 2000 cm³ con el mismo sustrato y puestas a crecer en una cámara de cultivo bajo condiciones controladas. Esas condiciones incluyeron un

fotoperiodo de 14/10 h de luz/oscuridad, un rango de temperatura de 25 °C día/ 20 °C noche, 65 % de humedad relativa del aire y densidad de flujo de fotones fotosintéticos (PPFD) de 800 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Después de 5 meses de haber mantenido las plantas en estas condiciones y regadas a capacidad de campo, las mismas fueron sometidas a un ciclo de estrés hídrico durante un mes, disminuyendo gradualmente su disponibilidad de agua con frecuencia semanal. De esta manera las plantas fueron sometidas a una disminución semanal de disponibilidad de agua, desde capacidad de campo (CC), 70% CC, 50% CC, 40% CC y 33% CC, respectivamente. El estatus hídrico de las plantas fue establecido a través de mediciones de potencial hídrico pre-alba (Ψ_{pd}) realizado en ramas con 3 hojas de todas las plántulas bajo estudio, con una cámara de presión de Scholander (Santa Bárbara, CA, USA) y de tasas de intercambio gaseoso (T_0 y T_F , ver siguiente sección). El contenido hídrico del suelo (CHS) de las macetas se monitoreó varias veces durante el ciclo de estrés hídrico, con sensores de dominio de capacitancia/frecuencia (10 HS sensores grandes de humedad de suelo, conectados a data logger, Decagon Devices).

Medición de parámetros foliares morfológicos y funcionales

Se midió el diámetro a la base del tallo con un calibre a partir del cuarto mes de cría en la cámara de crecimiento (desde ahora T_0), repitiéndose esta medición 30 días después (es decir, al final del ciclo irrigación completa, $T_{0,5}$) y al final de periodo experimental (6 meses después del inicio, es decir al final del ciclo de estrés hídrico, T_F). A partir de estas medidas se pudo calcular el crecimiento relativo del diámetro en la base del tallo (CRDT) entre T_0 y $T_{0,5}$ (periodo de irrigación completa) y entre $T_{0,5}$ y T_F (periodo de estrés hídrico). Mediante un sistema portátil de fotosíntesis Li-Cor 6400 equipado con la cámara LFC-40 (LICOR Inc., Lincoln, NE, USA) se midieron los siguientes parámetros de intercambio gaseoso en los momentos T_0 y T_F : fotosíntesis neta (A_n), tasa de transporte de electrones (ETR), fluorescencia de la clorofila y conductancia estomática al vapor de agua (g_s) (Imagen 3.2). A fin de tener un marco comparativo adecuado entre tratamientos, se seleccionaron hojas totalmente desarrolladas (expandidas) de la parte alta del tallo principal, midiéndose 3 hojas de cada plántula. Para estas mediciones, a través de un mezclador de CO_2 incorporado en el Li-Cor 6400, las hojas de las plántulas bajo estudio fueron expuestas a una concentración de 400 ppm de CO_2 , 1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (15% de luz azul) de PPFD usando una cámara de fluorescencia Li-Cor 6400-40. A

su vez la cámara del Li-Cor 6400 estaba a una temperatura de 24 °C, un déficit de presión de vapor hoja-aire de 1,1 kPa y una humedad relativa de 60-65%. Con estas mediciones se pudo calcular la eficiencia intrínseca en el uso del agua (WUE_i) como An/gs en μmol de CO_2 fijado por mmol de agua transpirada. También se obtuvieron el coeficiente de extinción fotoquímica (qP), el rendimiento cuántico del fotosistema II (Φ PSII) y el rendimiento cuántico intrínseco del fotosistema II (FV/FM'). Después de completarse las mediciones de intercambio gaseoso, se estimó el área proyectada de la hoja medida dentro de la cámara del Li-Cor 6400, cortando la sección correspondiente de hoja, escaneándola y analizándola posteriormente a través del software ImageJ (Rasband 1997-2004). Este procedimiento se realizó porque las hojas resultaron ser más pequeñas que el área total que ocupa la cámara del aparato. De esta manera el área de hoja estimada a través de escáner y software se usó para re-calcular los resultados de intercambio gaseoso provistos por los algoritmos estándar del simulador del Li-Cor 6400. En cada fecha de medición, se tomaron muestras de hojas frescas sin peciolo que fueron escaneadas para la estimación de su área a través del procesamiento de hojas con el software mencionado previamente. Posteriormente, las hojas fueron secadas a 65 °C durante 3 días y pesadas con balanza de precisión (0,001 g) para calcular el área foliar específica (AFE, $\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$). Adicionalmente, se muestreó una hoja por cada planta y se construyeron curvas Presión-Volumen (P-V) (Corcuera et al. 2002) y se obtuvieron los siguientes parámetros: potencial osmótico a turgencia máxima y turgencia cero (Π_{100} ; Π_0), contenido relativo de agua a turgencia cero (RWC_0), módulo de máxima elasticidad (E_{max}) y relación peso seco/peso hidratado (DW/TW). Asimismo, para conocer el estatus hídrico de las plantas y el contenido hídrico del suelo se realizaron mediciones de potencial hídrico pre-alba, tanto al comienzo (periodo de hidratación adecuada) como al final del experimento (periodo de estrés hídrico). Para evaluar la respuesta fenotípica de las plántulas al estrés hídrico se calculó en índice de plasticidad fenotípica (PPI, Valladares et al. 2006), como se indica a continuación:

$$\text{PPI} = (\text{promedio máximo de } X - \text{promedio mínimo de } X) / \text{promedio máximo de } X,$$

Donde X representa el parámetro fenotípico a evaluar. Los valores de PPI variaran entre 0 y 1, siendo valores más altos indicativos de mayor plasticidad fenotípica.

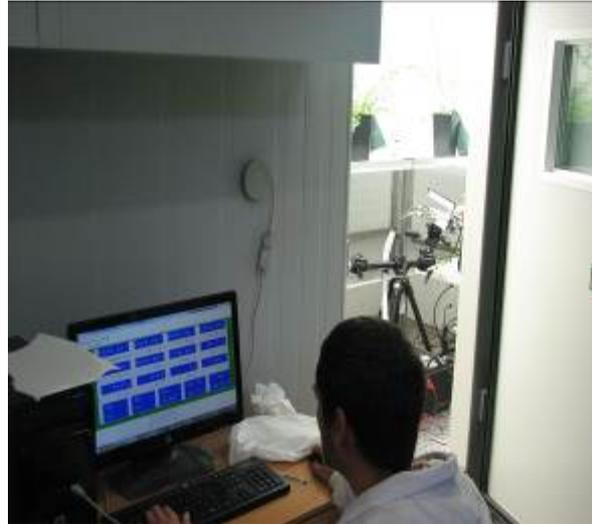


Imagen 3.2. Plantas de *N. antarctica* (9 meses de edad) creciendo en cámara de cultivo durante la medición de parámetros de intercambio gaseoso (izquierda) y obtención de datos (derecha).

Análisis de datos

En primer lugar, se realizaron análisis exploratorios para verificar el cumplimiento de los supuestos de normalidad, homocedasticidad e independencia de los datos para cada situación evaluada. Para chequear la normalidad de los datos se realizó el test de Shapiro-Wilk, mientras que para evaluar la homocedasticidad se usó el test de Levene. La independencia de los datos se evaluó gráficamente a través de análisis de los residuales. Los parámetros morfológicos y funcionales de las plántulas se analizaron con ANOVA de medidas repetidas, usando las procedencias de las semillas como factor entre sujetos y las fechas de medición como factores intra-sujetos. Este tipo de análisis se realizó porque los valores medidos en diferentes fechas no son independientes entre sí. Para evaluar las diferencias entre tratamientos cuando los valores de la prueba F fueron significativos ($P < 0,05$) se usó el test de Tukey. Los valores medios de índice de plasticidad fenotípica, considerando todos los parámetros, entre procedencias fueron comparados a través de ANOVA simple.

RESULTADOS

La humedad volumétrica del suelo al final del periodo de riego completo ($T_{0,5}$) promedió 28% y disminuyó hasta 14% al final del periodo de estrés hídrico (T_F) (Fig. 3.1A), sin que se hayan encontrado diferencias entre procedencias ($P < 0,05$). De manera similar, el potencial hídrico pre-alba de las plantas varió desde -0,38 a -0,76 MPa, para plantas bien regadas y bajo estrés hídrico, respectivamente (Fig. 3.1B), sin que se observen diferencias significativas ($P > 0,05$) entre procedencias en ninguno de los niveles de riego.

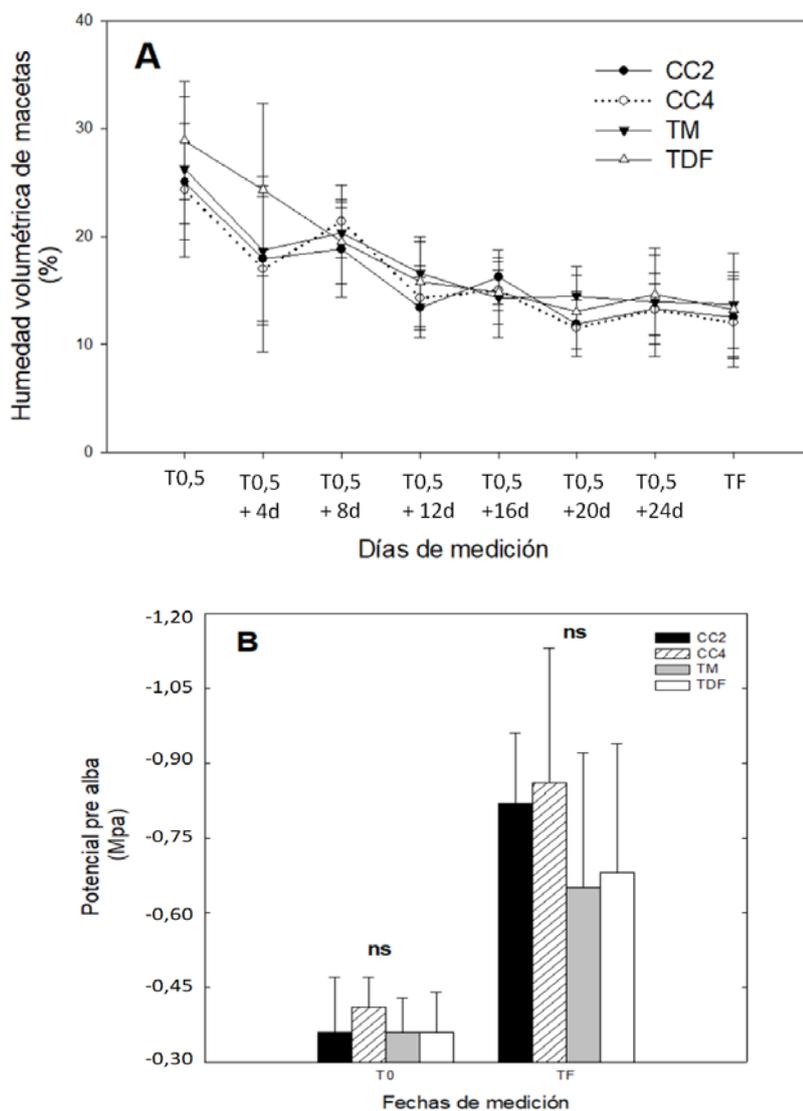
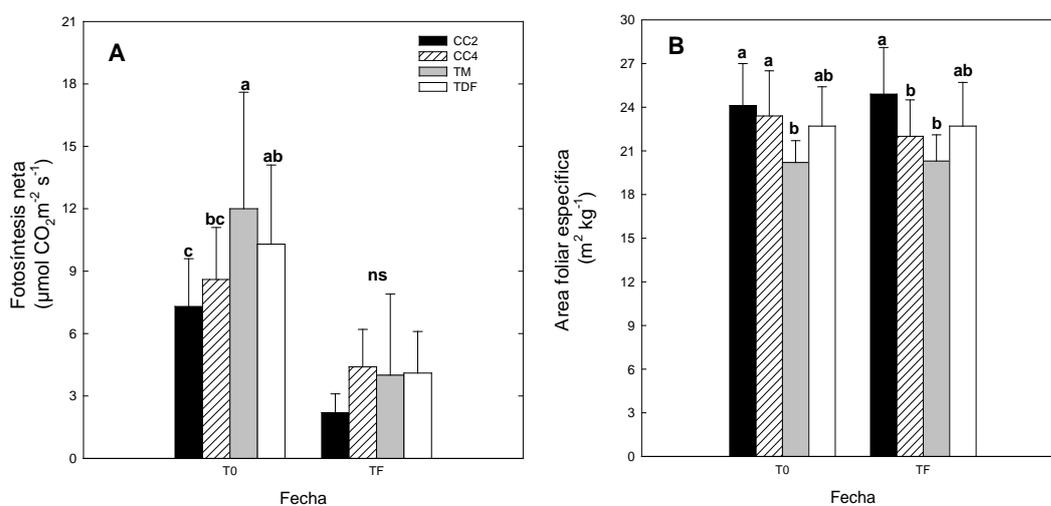


Figura 3.1. Humedad volumétrica de macetas (A) y potencial pre-alba (B) medidas en diferentes fechas en plántulas de *Nothofagus antarctica* de 4 procedencias.

T_0 inicio de periodo de riego completo; T_F periodo de estrés hídrico

Las barras indican el desvío estándar de las medias; ns sin diferencias significativas.

La tasa de fotosíntesis neta (A_n) varió entre procedencias cuando las plantas recibieron un nivel adecuado de riego (T_0), pero esas diferencias desaparecieron al final del periodo de estrés hídrico (T_F , Fig. 3.2A). Cuando se compararon los porcentajes de reducción de A_n a causa del estrés hídrico para las plantas de diferentes procedencias, la disminución más alta de A_n fue medida en CC2 y TM que promediaron 66% de reducción, siendo este valor significativamente ($P < 0,05$) mayor que en las procedencias CC4 (46% de reducción de A_n) y TDF (55%). Los valores de área foliar específica (AFE) fueron más bajos en hojas de la procedencia TM independientemente de si las plantas estaban bien regadas o bajo estrés hídrico, sin que se observaran diferencias entre fechas de medición ($P > 0,05$) (Fig. 3.2B). Por otro lado, cuando las plantas recibían niveles adecuados de agua se observaron diferencias en los niveles de conductancia estomática (g_s) y A_n entre procedencias, siendo los valores más bajos los de las plantas procedentes de CC2 (Figs. 3.2A y 3.2C). También se registró una disminución significativa ($P < 0,001$) de la g_s después del periodo de estrés hídrico (T_F) en todas las procedencias, pero sin diferencias entre ellas. La eficiencia intrínseca en el uso del agua (WUE_i) fue similar entre procedencias, tanto cuando las plantas eran adecuadamente regadas como en condiciones de estrés hídrico (Fig. 3.2D). Sin embargo, al comparar entre fechas de medición, la WUE_i en general tendió a ser más alta al fin del periodo de estrés hídrico (T_F), pero ese aumento fue significativo ($P < 0,05$) solo para las plantas procedentes de CC4.



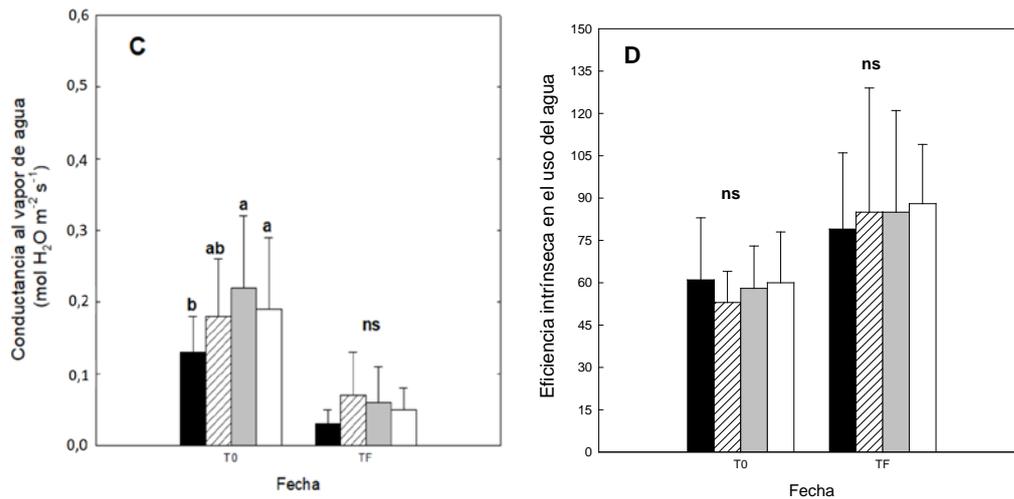


Figura 3.2. Fotosíntesis neta (A), área foliar específica (B), conductancia estomática al vapor de agua (C) y eficiencia intrínseca en el uso del agua (D) en diferentes fechas en plántulas de *Nothofagus antarctica* de 4 procedencias.

T₀ inicio de periodo de riego adecuado; T_F periodo de estrés hídrico

Las barras indican el desvío estándar de las medias. Letras diferentes en una misma fecha de medición indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre procedencias; ns sin diferencias significativas.

La tasa de transporte de electrones (ETR), el coeficiente de extinción fotoquímica (qP) y el rendimiento cuántico del fotosistema II (Φ PSII) no mostraron diferencias entre procedencias al comienzo del ensayo (T₀), pero disminuyeron significativamente ($P < 0,05$) con el estrés hídrico, dependiendo la magnitud de la procedencia de las plantas, siendo las de CC2 las de valores más bajos en condiciones de estrés hídrico (Figs. 3.3A-C). Por otro lado, el rendimiento cuántico intrínseco del fotosistema II (FV/FM') no varió entre procedencias, ni en condiciones normales de riego ni bajo estrés hídrico (Fig. 3.3D), pero disminuyó significativamente ($P < 0,05$) entre fechas de medición en todas las procedencias, excepto en TM.

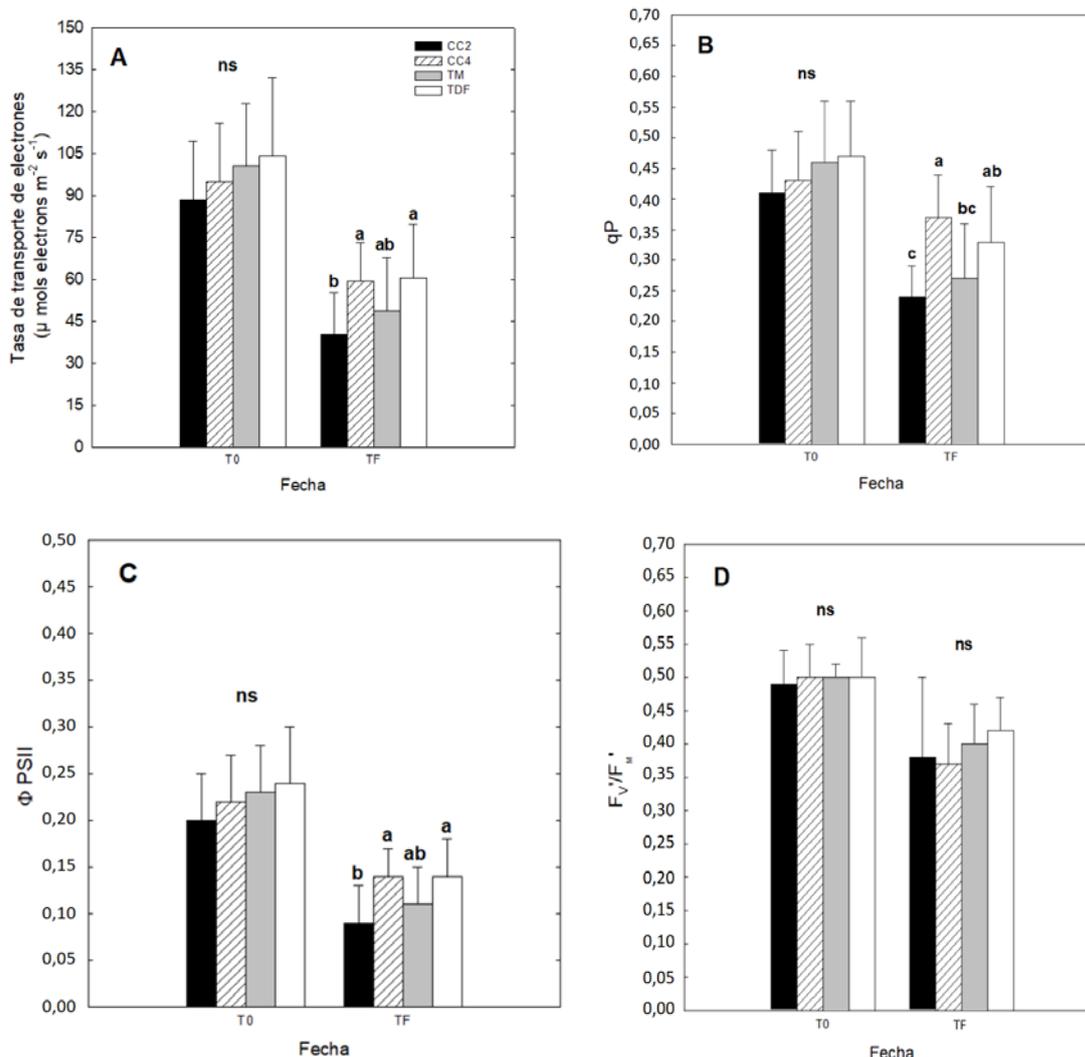


Figura 3.3. Tasa de transporte de electrones (A), coeficiente de extinción fotoquímica (B), rendimiento cuántico del fotosistema II (C) y rendimiento cuántico intrínseco del fotosistema II (D) en diferentes fechas en plántulas de *Nothofagus antarctica* de 4 procedencias.

T₀ inicio de periodo de riego adecuado; T_F periodo de estrés hídrico

Las barras indican el desvío estándar de las medias. Letras diferentes en una misma fecha de medición indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre procedencias; ns sin diferencias significativas.

Los potenciales osmóticos a máxima (Π_{100}) y cero (Π_0) turgencia no presentaron diferencias entre procedencias cuando las plantas estaban bajo riego adecuado, no obstante después del estrés hídrico se registró un decremento general con diferencias significativas entre procedencias (Tabla 3.2). Cuando se compararon los valores de Π_{100}) en plántulas de una misma procedencia entre fechas, solo las plantas de TM mostraron una disminución significativa ($P < 0,05$) como efecto del estrés hídrico. En el

caso de Π_0) también se apreciaron diferencias significativas entre fechas, pero sin claras diferencias entre procedencias después de la restricción de riego (Tabla 3.2). El contenido relativo de agua a turgencia cero (RWC_0) y el módulo máximo de elasticidad (E_{max}) no variaron ni entre procedencias ni entre fechas de medición. La relación peso seco/peso hidratado (DW/TW) fue diferente entre las plantas procedentes de TM y TDF, siendo las de TDF las que presentaron menores valores antes y después del estrés hídrico. El diámetro en la base del tallo fue similar entre procedencias desde el inicio del experimento y la misma tendencia se mantuvo durante el transcurso del mismo (Fig. 3.4A). Consecuentemente, la tasa de crecimiento relativo de las plantas no varió entre procedencias ni en el periodo de riego adecuado (T_0 - $T_{0,5}$) ni bajo escasez de agua ($T_{0,5}$ - T_F) (Fig. 3.4B). No obstante, al comparar entre periodos, la tasa de crecimiento relativo fue significativamente más baja ($P < 0,05$) durante el periodo de estrés hídrico en todas las procedencias. Los índices de plasticidad fenotípica calculados variaron entre procedencias según qué parámetro se consideró, pero los valores promedio de todos los parámetros fueron similares ($P > 0,05$) entre procedencias (Tabla 3.3).

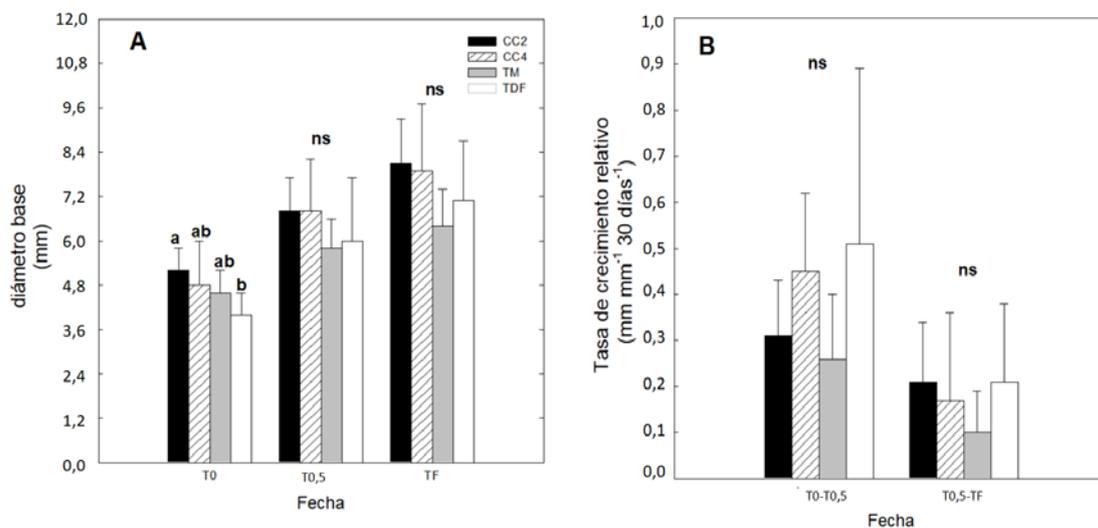


Figura 3.4. Diámetro en la base del tallo (A) y tasa de crecimiento relativo (B) en diferentes fechas en plántulas de *Nothofagus antarctica* de 4 procedencias.

T_0 inicio de periodo de riego adecuado; $T_{0,5}$ fin de periodo de riego adecuado; T_F periodo de estrés hídrico

Las barras indican el desvío estándar de las medias. Letras diferentes en una misma fecha de medición indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre procedencias; ns sin diferencias significativas.

Tabla 3.2. Valores promedio (\pm desviación estándar) de parámetros de curvas P-V evaluados en plántulas de *Nothofagus antarctica* de cuatro procedencias a diferentes niveles de disponibilidad hídrica.

Proc.	Π_{100} (Mpa)		Π_0 (Mpa)		RWC ₀		DW/TW		Emax (Mpa)	
	Bien regadas	Déficit hídrico	Bien regadas	Déficit hídrico	Bien regadas	Déficit hídrico	Bien regadas	Déficit hídrico	Bien regadas	Déficit hídrico
CC2	-1,1 \pm 0,2a	-1,4 \pm 0,2ab	-1,5 \pm 0,2a	-2,0 \pm 0,2ab	0,82 \pm 0,08a	0,80 \pm 0,06a	0,27 \pm 0,02ab	0,32 \pm 0,03a	4,2 \pm 1,7a	5,9 \pm 2,2a
CC4	-1,2 \pm 0,2a	-1,4 \pm 0,2ab	-1,6 \pm 0,1a	-2,1 \pm 0,5a	0,83 \pm 0,04a	0,81 \pm 0,06a	0,27 \pm 0,02ab	0,32 \pm 0,02a	4,9 \pm 1,7a	5,9 \pm 2,3a
TM	-1,2 \pm 0,2a	-1,6 \pm 0,2a	-1,5 \pm 0,2a	-1,8 \pm 0,4ab	0,85 \pm 0,06a	0,76 \pm 0,13a	0,29 \pm 0,02a	0,35 \pm 0,02a	5,8 \pm 2,4a	6,3 \pm 3,7a
TDF	-1,2 \pm 0,1a	-1,3 \pm 0,2b	-1,6 \pm 0,2a	-1,8 \pm 0,3b	0,80 \pm 0,07a	0,82 \pm 0,05a	0,26 \pm 0,03b	0,29 \pm 0,03b	5,7 \pm 1,9a	5,6 \pm 2,2a

Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre procedencias.

Proc: procedencias; Π_{100} : potencial osmótico a turgencia máxima; Π_0 : potencial osmótico a turgencia cero; RWC₀: contenido relativo de agua a turgencia cero; DW/TW: relación peso seco/totalmente hidratado; Emax: módulo de elasticidad máximo de la pared celular.

Tabla 3.3. Índice de plasticidad fenotípica de parámetros funcionales y fisiológicos evaluados en plántulas de *Nothofagus antarctica* de cuatro procedencias.

Procedencia	An	Swvc	WUEi	AFE	RGR	ETR	qP	FPSII	F ^v /F ^m	OP_100	OP_0	RWC0	DW/TW	Emax	Promedio†
CC2	0.70	0.77	0.29	0.03	0.63	0.54	0.41	0.55	0.22	0.27	0.33	0.02	0.19	0.40	0.38
CC4	0.49	0.61	0.62	0.06	0.75	0.38	0.14	0.36	0.26	0.17	0.31	0.02	0.19	0.20	0.33
TM	0.67	0.73	0.46	0.01	0.74	0.52	0.41	0.52	0.20	0.33	0.20	0.11	0.21	0.09	0.37
TDF	0.60	0.74	0.47	0.01	0.74	0.42	0.30	0.42	0.16	0.08	0.13	0.02	0.12	0.02	0.30

An: fotosíntesis neta; Swvc: conductancia estomática al vapor de agua; WUEi: eficiencia intrínseca en el uso del agua; AFE: área foliar específica; RGR: tasa de crecimiento relativo de las plántulas; ETR: tasa de transporte de electrones; qP: coeficiente de extinción fotoquímica; FPSII: rendimiento cuántico del fotosistema II; F^v/F^m: rendimiento cuántico intrínseco del fotosistema II; OP_100: potencial osmótico a turgencia máxima; OP_0: potencial osmótico a turgencia cero; RWC0: contenido relativo de agua a turgencia cero; DW/TW: relación peso seco/totalmente hidratado; Emax: módulo de elasticidad máximo de la pared celular.

†: no se encontraron diferencias significativas entre procedencias.

DISCUSIÓN

En este estudio, se evaluaron las respuestas funcionales ante déficit de agua en suelo de plantas de *N. antarctica* provenientes de 4 procedencias ambientalmente contrastantes. La tasa de fotosíntesis neta (A_n) medida en las 4 poblaciones fue similar a la reportada por Peri et al. (2009) en plántulas de la misma especie de 2 años de edad, en Patagonia norte, las que alcanzaron valores máximos de $11,1 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y valores cercanos a cero en plantas bien regadas y bajo estrés hídrico, respectivamente. Por otro lado, estos valores son más bajos que los registrados en otros *Nothofagus* spp. de Patagonia. Peri et al. (2009) informaron valores de $16,8 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ en plántulas de *N. pumilio*, mientras que Varela (2010) publicó tasas de fotosíntesis de $13,6 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ en plantas de *N. nervosa* y *N. glauca* bien regadas. En nuestro estudio, la tasa más alta de A_n se registró en plántulas de la procedencia que se ubicaba en el mayor nivel altitudinal (TM), en coincidencia con lo publicado por Premoli y Brewer (2007), quienes también midieron valores más altos de tasa fotosintética en plantas de *N. pumilio* procedentes de altas altitudes, en un experimento de jardín común. No obstante, esto deber ser interpretado con cautela, ya que la altitud no es la única variable medioambiental contrastante entre las procedencias analizadas, y porque el número de poblaciones es muy bajo para inferir una relación entre máxima tasa fotosintética y altitud, o la longitud de la estación de crecimiento como se ha observado en otros estudios (Lajtha y Getz 1993, Hovenden y Brodribb 2000). Por otro lado, el efecto negativo del estrés hídrico sobre la fotosíntesis está muy bien documentado (Bréda et al. 2006). En nuestro estudio el origen de las plántulas afectó su respuesta fotosintética a la restricción de agua, según lo observado en las diferencias de la reducción de A_n cuando comparamos plantas regadas adecuadamente y con restricciones hídricas para cada procedencia. Esto también se evidenció en que las diferencias observadas entre procedencias cuando las plantas eran adecuadamente regadas no se mantuvieron después de la restricción hídrica aplicada, y podría reflejar un comportamiento diferente en cuanto a plasticidad fenotípica de las procedencias estudiadas, tal como se corroboró con los índices de plasticidad fenotípica calculados. No existen antecedentes previos acerca de la variación entre procedencias de *N. antarctica* en respuesta al estrés hídrico. No obstante, muchos estudios llevados a cabo con árboles y otras especies leñosas han reportado variaciones entre procedencias de una misma especie en respuesta a

limitaciones hídricas (por ejemplo, García-Plazaola y Becerril 2000, Atzmon et al. 2004, Ramírez-Valiente et al. 2010, Sánchez-Gómez et al. 2013). Los valores de área foliar específica (AFE) medidos en este estudio fueron más altos que aquellos reportados por Calabria y Puntieri (2008) en hojas de *N. dombeyi* creciendo en Patagonia Norte bajo dos niveles de radiación solar, y también superiores a los valores reportados para *N. cunninghamii* al ser evaluados en diferentes condiciones de altitud y 2 niveles de radiación solar en Tasmania (Hovenden y Vander Schoor 2006). Aunque los cambios en este rasgo foliar (AFE) mayoritariamente han sido asociados con diferentes niveles de luz, existen algunas referencias que han asociado cambios en AFE como respuesta a la sequía (Liu y Stutzel 2004). No obstante, en este trabajo no observamos un efecto de la disponibilidad de agua sobre el área foliar específica, siendo esto concordante con estudios previos con *N. antarctica* donde se observaron cambios de AFE asociados a la disponibilidad de luz, pero no de agua (Bahamonde et al. 2014b). Respecto a la WUE_i , los valores medidos en este estudio estuvieron por sobre los informados por Piper et al. (2007) a potenciales hídricos $> -1,5$ MPa, y similares a lo que determinaron los mismos autores en plántulas sometidas a estrés hídrico severo (potenciales hídricos $< -2,5$ MPa). Aunque hubiera sido esperable un aumento en la WUE_i en respuesta al déficit hídrico (Ogaya y Peñuelas 2003, Yin et al. 2005), en este estudio no observamos un efecto de la restricción hídrica sobre la WUE_i , siendo este parámetro más alto solo en plántulas de la procedencia CC4, lo cual pudo deberse a un efecto genético como han sugerido Read y Farquhar (1991). Por otro lado, en varias especies se ha reportado que la tasa de transporte de electrones (ETR) se puede ver reducida en respuesta a la sequía y se ha sugerido que sería un mecanismo de protección de la fotoquímica de la hoja a partir de la producción de especies reactivas de oxígeno (Flexas et al. 1999, Golding y Johnson 2003). El coeficiente de extinción fotoquímica (qP) y el rendimiento cuántico del fotosistema II (Φ PSII) siguieron una tendencia similar decreciendo con la restricción hídrica, en concordancia con lo publicado por Piper et al. (2007) para otras dos especies de *Nothofagus* y otras especies (Golding y Johnson 2003). Nuestros resultados sugieren que, independientemente de la procedencia, la restricción hídrica disminuyó el rendimiento cuántico del PSII. Esto es interpretado como una consecuencia de la disminución en qP y el rendimiento cuántico intrínseco de PSII en la mayoría de las procedencias, con excepción de TM, cuya disminución de Φ PSII se debió solamente a un decremento de qP. Los valores de

conductancia estomática (g_s) medidos en este estudio fueron inferiores a los reportados por Peri et al. (2009) para plántulas de *N. antarctica* y *N. pumilio* a similares valores de potencial hídrico, aunque esas mediciones fueron hechas en plántulas de 2 años de edad. La disminución de g_s registrada en este estudio fue similar a la encontrada previamente para esta especie por Peri et al. (2009) y para otros *Nothofagus* spp. por Piper et al. (2007). Read et al. (2010) evaluaron 23 especies de *Nothofagus* tanto de bosques tropicales como templados, incluyendo especies perennifolias y caducifolias, entre ellas *N. antarctica*. La mayoría de los parámetros derivados de curvas presión-volumen en nuestro estudio fueron muy cercanos a aquellos informados por Read et al. (2010) para los *Nothofagus* de hoja caduca, pero los valores de E_{max} en general fueron más bajos en nuestro estudio. Read et al. (2010) sugirieron que los *Nothofagus* de hoja caduca parecían tener menor resistencia a la sequía en comparación los *Nothofagus* siempreverdes, tanto de climas tropicales como templados. De acuerdo a nuestros resultados, las plántulas de *N. antarctica* de todas las procedencias evaluadas no mostraron diferencias de ajuste osmótico en respuesta al déficit hídrico al que fueron sometidas. De manera similar, Varela (2010) no encontró evidencias de ajuste osmótico en plántulas de *N. obliqua* y *N. nervosa* que fueron sometidas a estrés hídrico en Patagonia norte. No obstante, en nuestro estudio el ajuste osmótico como respuesta a la sequía es una posibilidad cuando se analiza el promedio de todas las procedencias en forma conjunta. Asimismo, mucha variabilidad en ajuste osmótico como respuesta a la sequía se ha encontrado entre especies con distintos regímenes hídricos, así como también entre poblaciones de una misma especie desarrolladas en condiciones de disponibilidad hídrica contrastantes. Este mecanismo de tolerancia a la sequía podría no estar bien desarrollado en el género *Nothofagus*, como sí ha sido frecuentemente observado en Fagáceas como *Quercus* spp. (Aranda et al. 2004). Estos autores encontraron evidencia de ajuste osmótico en plántulas de *Quercus pyrenaica* y *Q. petraea* que fueron sometidas a tres ciclos de estrés hídrico consecutivos, siendo mayor la capacidad de osmoregulación en *Q. pyrenaica*. Este hallazgo fue interpretado por los autores como una mayor capacidad adaptativa a la sequía en *Q. pyrenaica* que en *Q. petraea*. En la misma dirección, Nguyen-Queyrens y Bouchet-Lannat (2003) evaluaron el ajuste osmótico en respuesta al estrés hídrico en plántulas de *Pinus pinaster* de cinco procedencias con disponibilidad de agua en suelo contrastantes. Estos autores reportaron diferencias significativas de ajuste osmótico entre procedencias y una

correlación negativa significativa entre el nivel de ajuste osmótico y las precipitaciones en el lugar de origen de cada procedencia. Por otro lado, se han encontrado altas correlaciones entre diámetro en la base del tallo y biomasa aérea total en plántulas de diferentes especies (Curt et al. 2005, Achten et al. 2010). En este estudio, la escasez de agua tuvo un efecto similar en todas las procedencias, disminuyendo la tasa de crecimiento relativo en la base del tallo. Similarmente, Varela (2010) informó una reducción en biomasa de hojas y tallos y crecimiento relativo en altura, en plántulas de *N. nervosa* y *N. obliqua* cuando eran sometidas a estrés hídrico.

CONSIDERACIONES FINALES

Como tendencia general, las cuatro procedencias de *N. antarctica* evaluadas en este estudio mostraron un comportamiento similar durante el periodo de riego adecuado, lo cual sugiere que las condiciones ambientales serían las principales causas de las diferencias fenotípicas que se observan en sus lugares de origen (por ejemplo, altura de árboles dominantes). De manera similar, Premoli y Brewer (2007) informaron que las diferencias en rasgos ecofisiológicos en plantas de *N. pumilio* bajo condiciones de campo no se manifestaron en un experimento en jardín común, sugiriendo un efecto importante de las condiciones ambientales en las que crecían estos árboles. Además, contrariamente a lo sugerido en nuestra hipótesis preliminar, la escasez de agua no produjo diferentes respuestas fisiológicas entre procedencias. Se concluye que se necesitan más estudios de campo y en jardín común para mejorar nuestra comprensión sobre la respuesta ecofisiológica de esta especie bajo diferentes factores de estrés. Independiente del ajuste osmótico y en coincidencia con estudios previos, los resultados nos sugieren que es necesario un mayor déficit hídrico para generar una respuesta en esta especie, o bien que la osmoregulación en respuesta a la sequía es una característica común de todas las procedencias evaluadas. Los resultados obtenidos proveen información importante acerca de la respuesta de plántulas de *N. antarctica* ante la sequía; sin embargo, se deberían realizar más estudios para una mejor comprensión de la economía hídrica de la especie en un contexto de cambio climático y como

herramienta para mejorar el uso silvopastoril de estos bosques en Patagonia austral. En el mismo sentido, se debe tener en cuenta que las condiciones ambientales (temperatura, radiación) en las que se desarrollan las plántulas de las procedencias estudiadas en condiciones de campo, son diferentes a las que se han experimentado en el presente estudio. Se requieren más estudios que analicen el efecto de otras variables ambientales sobre el comportamiento hídrico de esta especie.

CAPÍTULO 4

MODIFICACIONES ANATÓMICAS Y ULTRAESTRUCTURALES DE HOJAS DE *Nothofagus antarctica* Y *N. betuloides* CAUSADAS POR UN AUMENTO DE CO₂ ATMOSFÉRICO

INTRODUCCIÓN

Los bosques de *Nothofagus* spp. conforman uno de los principales reservorios de carbono (C) de la Patagonia austral argentina (Peri et al. 2008), lo que les confiere un rol primordial como elemento mitigador del cambio climático (Denman et al. 2007). A esto debemos agregar la función fundamental que cumplen los bosques nativos como reguladores del ciclo hidrológico, tanto como protección de cursos de agua asociados, así como también por los servicios ecosistémicos proporcionados a nivel de cuenca (Jobbágy 2011, Rosas et al. 2019). Esta relación entre el ciclo de C y el servicio de regulación de flujos de agua es foco de cierta discusión (Jackson et al. 2005). En un estudio de modelización de cambio climático para Patagonia austral, Kreps et al. (2012) pronostican aumentos de 2 °C en la temperatura media anual, y un incremento de 20 mm sobre el promedio actual de precipitaciones anuales en los próximos 70 años para la zona boscosa de Tierra del Fuego; siendo esta tendencia de aumentos menos notoria en las áreas de bosques en Santa Cruz. Relacionado con esto, el Panel Intergubernamental de Cambio Climático (IPCC por sus siglas en inglés) ha dado a conocer incrementos de hasta 20 ppm en la concentración de CO₂ atmosférico en las últimas décadas, previéndose una tendencia a la aceleración de dicha concentración (IPCC, First 2019). Por otra parte, en Argentina no existen estudios que evalúen la respuesta de especies de bosque nativo a los efectos que puedan generar el cambio climático y el aumento de CO₂ atmosférico. En este contexto, resulta importante contar con herramientas y/o pautas de manejo que contribuyan a la adaptación de los sistemas naturales al cambio climático. En este sentido, el Grupo de Expertos del IPCC define la adaptación al cambio climático como un “ajuste de los sistemas naturales o humanos en respuesta a estímulos climáticos reales o esperados, o a sus efectos, que atenúa los efectos perjudiciales o explota las oportunidades beneficiosas”. Asimismo, las medidas de adaptación de los bosques al cambio climático deberán tener la flexibilidad suficiente como para llevar adelante las prácticas más adecuadas al contexto local (Seppala et al. 2009).

Como ya se ha mencionado, los bosques caducifolios de *Nothofagus antarctica* presentan la distribución natural más amplia de *Nothofagus* spp. sudamericanos. No obstante, en general estos bosques son “desplazados” a las condiciones ambientales más

severas, tales como suelos rocosos, suelos pobremente drenados o anegados (como turberas), hasta localizaciones de baja disponibilidad hídrica y expuestas a fuertes vientos en el límite con la estepa patagónica (Frangi et al. 2004). Por otro lado, la especie siempreverde *Nothofagus betuloides* (guindo), se desarrolla en Argentina desde 48° a 52° de latitud sur (Veblen et al. 1996), constituyendo los bosques siempreverdes más australes del mundo (Promis et al. 2008). En Patagonia austral se localiza en rodales puros o mixtos asociado con *Drimys winteri*, *Embothrium coccineum* o lenga principalmente en zonas ribereñas o en bordes de lagos (Donoso y Donoso 2006), lo cual se asocia a mayores niveles de precipitaciones y a inviernos menos rigurosos en cuanto a temperatura (Peri et al. 2012).

La morfología y anatomía de las hojas son aspectos clave en el potencial fisiológico de adaptación de las plantas a cambios ambientales (Hanba et al. 2002). La información existente respecto a la anatomía y estructura foliar de plantas leñosas indica que en general las especies siempreverdes poseen estructuras foliares más robustas que las especies deciduas, como por ejemplo paredes celulares y epidermis más gruesas, mayor volumen de mesófilo y mayor densidad foliar (Castro-Díez et al. 2000, Niinemets et al. 2005, Enrique et al. 2016). A su vez, esto implicaría que, ante un escenario de aumento de concentración de CO₂ en el ambiente, las especies siempreverdes se verían menos afectadas que especies caducifolias, reduciendo en menor medida la eficiencia de la fotosíntesis a causa de la conductancia del mesófilo (Niinemets et al. 2011). Los estudios de anatomía foliar en especies de bosques de *Nothofagus* de Patagonia austral son muy escasos (Ivancich et al. 2012) siendo desconocido el nivel de afectación que generarían las variaciones de los niveles de CO₂ sobre la misma. Se sabe que ciertos aspectos estructurales que se relacionan con funciones fisiológicas están relacionados y que varían según el ambiente. Por ejemplo, el área foliar específica puede reflejar la capacidad fotosintética de las plantas en una escala geográfica amplia (Tian et al. 2016). En la misma línea, estudios previos han mostrado que las características de las hojas vinculadas a los estomas (por ejemplo, densidad estomática, tamaño de los estomas) son susceptibles a cambios ambientales (luz, temperatura, agua, nutrientes) como los producidos por gradientes geográficos amplios (Hetherington y Woodward 2003, Fernández et al. 2014a).

Por otro lado, las características físico-químicas de las superficies vegetales inciden en su interacción con líquidos, partículas sólidas, insectos o microorganismos depositados sobre las mismas (Khayet y Fernández 2012). De esta manera, la combinación de rugosidad y composición química de una hoja determinará su grado de humectabilidad, polaridad e hidrofobicidad y por ende su potencial capacidad de absorber agua (Fernandez et al. 2014b), pudiendo esto variar entre especies, variedades o condiciones ambientales en las que crecen las plantas. En este sentido, la permeabilidad al agua de las superficies de las plantas puede ser un fenómeno de relevancia ecofisiológica, ya que puede impedir o facilitar la absorción de agua, por ejemplo, como gotas de líquido depositadas en las superficies (Oliveira et al. 2005, Fernández et al. 2014a), niebla (Limm et al. 2009, Berry et al. 2014) o rocío (Konrad et al. 2014). La habilidad de las plantas para capturar agua a través de las hojas ha sido indirectamente reportada en especies que crecen en desiertos (Martin y von Willert 2000, Roth-Nebelsick et al. 2012), climas áridos y semi-áridos (Grammatikopoulos y Manetas 1994, Fernández et al. 2014b), ambientes de montaña con alta nubosidad en superficie (Berry et al. 2014) y en zonas de montañas costeras donde la niebla juega un rol climático significativo (Burgess y Dawson 2004). En el sentido opuesto, las características físico químicas de las hojas y sus parámetros anatómicos incidirán de manera importante en la potencial repelencia al agua por parte del follaje de superficies boscosas. En los últimos tiempos este fenómeno ha recibido mucha atención, ya que se considera un factor importante para la intercepción de la lluvia por parte de las hojas de los árboles y su consecuente relevancia en el estudio del balance hídrico en ecosistemas boscosos en un marco de cambio climático (Holder 2020). En este mismo sentido, se puede definir la mojabilidad de una hoja como la tendencia de un fluido (por ejemplo el agua) a esparcirse o adherirse a su superficie (Kumar y Prabhu 2007). En el noroeste de la Patagonia argentina, Brewer y Nuñez (2007) estudiaron la mojabilidad y retención de gotas en las hojas de 37 especies desarrolladas en un gradiente de humedad que incluyó desde la estepa hasta los bosques andino patagónicos. En este estudio solo se incluyó una especie del género *Nothofagus* (*N. dombeyi*), la cual, de acuerdo a los parámetros evaluados por las autoras, presentó cierto grado de mojabilidad en sus hojas. Por otro lado, en este estudio no se detectaron mayores diferencias en los niveles de mojabilidad o repelencia al agua de las hojas entre especies de ambientes contrastantes desde el punto de vista de la humedad.

Las propiedades físico-químicas de las superficies vegetales (hojas, frutos, tallos), tales como energía libre superficial, polaridad o trabajo de adhesión del agua, se pueden calcular midiendo los ángulos de contacto de tres líquidos con diferentes niveles de polaridad y apolaridad (Fernández et al. 2017). Este tipo de datos provee información crucial que determinará la probabilidad de que determinadas superficies vegetales puedan absorber o repeler agua. En este sentido, a partir de estas mediciones de ángulos de contacto, Fernández y Khayet (2015) obtuvieron ecuaciones que permiten calcular otros parámetros tales como la energía libre superficial y el parámetro de solubilidad, que están estrechamente relacionados con la interacción entre las superficies foliares y distintos líquidos, entre ellos el agua.

También se han documentado los efectos del aumento de la concentración de CO₂ en parámetros anatómicos relacionados a los estomas, tales como su densidad (Beerling et al. 1998, Marchi et al. 2004) y tamaño (Ogaya et al. 2011, Driscoll et al. 2006). Además, estudios a nivel de estructura interna (parénquima, mesófilo) y microestructura de cloroplastos se han visto modificados por diferentes factores de estrés tales como sequía (Mascher et al. 2005), déficit de nitrógeno (Bondada y Syvertsen 2003) o altas concentraciones de CO₂ (Pritchard et al. 1997). En relación a esto último, Pritchard et al. (1997) informaron que en plántulas de *Pinus palustris* se produjo un aumento en el tamaño de los cloroplastos y en el número de granos de almidón cuando se incrementó el nivel de CO₂ de 365 a 720 $\mu\text{mol mol}^{-1}$. En otro estudio, Velikova et al. (2009) también reportaron modificaciones en la microestructura de cloroplastos de plantas de *Platanus orientalis* cuando se les aumentó la concentración de CO₂ ambiental de 380 a 800 $\mu\text{mol mol}^{-1}$. Estos autores reportaron un aumento en el volumen de estroma y una reducción del sistema tilacoide en los cloroplastos de las plantas sometidas a mayores niveles de CO₂.

HIPÓTESIS

- 1) Aunque *N. antarctica* y *N. betuloides* se distribuyen en ambientes con distinta disponibilidad de agua, basado en la información existente, se propone que ambas especies no presentarán diferencias en su nivel de mojabilidad o repelencia al agua y por ende en su potencial absorción de agua a través de las

hojas, cuando crezcan con concentraciones de CO₂ como las existentes en la actualidad.

- 2) Una elevada concentración de CO₂ ambiental generará modificaciones anatómicas y de ultra-estructura foliares de mayor magnitud en *N. antarctica* que en *N. betuloides*, al ser esta última una especie siempreverde con estructuras foliares más robustas. Esto a su vez generaría diferencias entre estas especies en su interacción con el agua en cuanto a mojabilidad o repelencia.

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1) Identificar el potencial de absorción de agua a través de las hojas en las dos especies de *Nothofagus*.
- 2) Determinar potenciales modificaciones anatómicas y de ultra-estructura foliar ante un aumento del nivel de CO₂ en una especie siempreverde de *Nothofagus* y en una especie decidua del mismo género (*N. betuloides* y *N. antarctica*, respectivamente).

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental

Para este estudio se obtuvieron semillas de *Nothofagus antarctica* (decidua) y *N. betuloides* (siempreverde) provenientes de 3 rodales puros ubicados en Patagonia austral (entre 51° 13' y 51° 19' de latitud S y entre 72° 10' y 72° 15' de longitud O para *N. antarctica*; entre 54° 05' y 54° 50' de latitud S y entre 67° 15' y 68° 25' de longitud O para *N. betuloides*). En primer lugar se hizo una estratificación de las semillas seleccionadas, manteniéndolas a 4 °C durante 60 días (Premoli 1991). Posteriormente las semillas estratificadas fueron puestas en una cámara de germinación durante un periodo de 60 días (Bahamonde et al. 2011). Las semillas germinadas de cada especie fueron plantadas en macetas de 250 cm³ que contenían un sustrato de una mezcla 3:1 de turba (Floragard TKS2, Floragard Vertriebs gmbh, Old-enburg, Alemania) y arena de río lavada. El sustrato del suelo se suplementó con 2 kg m⁻³ de fertilizante Osmocote Plus (16-9-12 NPK + 2 micronutrientes, Scotts, Heerlen, Países Bajos). Las plántulas

obtenidas tuvieron una primera etapa de crecimiento en invernadero durante 6 meses con un régimen térmico 25/18° C día/noche, y bajo riego para mantener un estado hídrico sin déficit (Figura 4.1A). Posteriormente se trasladaron a macetas de 2000 cm³ con el mismo tipo de sustrato y se dividió el conjunto de plantas en dos y se distribuyeron en 2 cámaras de cultivo en condiciones controladas de fotoperiodo de 14/10 horas día/noche, temperatura de 25/20° C día/noche, 65% de humedad relativa y una densidad de flujo de fotones fotosintéticos (PPFD por su sigla en inglés) de 800 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ en la parte superior (Figura 4.1B). En cada cámara se colocaron 10 plantas de cada especie, siendo la diferencia entre las 2 cámaras su nivel de CO₂, con una de ellas bajo una concentración de 400 ppm (control) y la restante con 800 ppm (tratamiento de alto nivel de CO₂). Las plantas estuvieron en estas cámaras durante 5 meses y al final de este periodo se tomaron muestras de hojas a las que se les realizaron los análisis anatómicos como se detalla a continuación. De cada especie se tomaron 30 hojas frescas (3 de cada planta) totalmente expandidas de la parte superior del tallo principal que fueron escaneadas sin peciolo (Figura 4.1 C y D) y se les calculó el área usando el software libre ImageJ (Rasband 2004). Después de escaneadas, las hojas fueron secadas a 65° C hasta peso constante y pesadas para luego calcular su área foliar específica (AFE). Tanto el área como el peso se tomaron de las 3 hojas de cada planta por separado. También se tomaron muestras de 15 hojas completamente expandidas de cada especie y tratamiento a las que se les calculó el área sin peciolo con el software mencionado arriba. Posteriormente las hojas se seccionaron en trozos más pequeños que fueron sujetados con pinzas y lavados cuidadosamente aplicando cloroformo (Sigma-Aldrich) en ambos lados de cada trozo de hoja con una pipeta Pasteur (6 pipetas de aproximadamente 1,7 ml cada una por pieza de hoja) y almacenando el líquido en vasos de precipitado previamente pesados en balanza de precisión (0,001 gr). Estos vasos con los extractos de cloroformo fueron puestos en campana de laboratorio a 25 °C hasta que el cloroformo se evaporó. Finalmente, los vasos de cada muestra fueron pesados y descontando el peso del vaso se obtuvo la cantidad de lípidos cuticulares solubles de cada muestra y se expresaron en unidad de peso por unidad de área foliar.

Paralelamente, se efectuaron mediciones tendientes a determinar la mojabilidad o repelencia de agua de las superficies foliares de 60 hojas de cada especie, seleccionando 6 hojas totalmente expandidas de cada planta (2 en la parte superior, 2 en la parte de

media y 2 en la parte inferior). Para esto, se caracterizaron las propiedades físico-químicas de la cara adaxial (haz) y abaxial (envés) de las hojas. A cada superficie de cada hoja se le midió el ángulo de contacto de gotas de tres líquidos de diferente polaridad y apolaridad: agua destilada, glicerol y diiodometano. Para ello se utilizó un sistema de análisis de sombra de gota (DSA 100, Krüss, Alemania) (Figura 4.1E). Con una micro jeringa se depositaron gotas con un volumen de 2 μl de cada líquido sobre la superficie adaxial y abaxial de cada hoja, a las que a través de una cámara incorporada en el sistema se le tomaron imágenes laterales. De esta manera, el software de análisis de sombra pudo calcular los ángulos de contacto de cada líquido sobre las hojas (Figura 4.1F).

A partir de estas medidas y utilizando ecuaciones previamente desarrolladas (Fernández y Khayet 2015) se obtuvieron los siguientes parámetros físico-químicos que entregan mayor información acerca de la interacción entre las hojas y distintos líquidos: energía libre superficial, sus componentes no dispersivas (polares) y dispersivas (apolares), y su parámetro de solubilidad. La energía libre superficial o interfacial (γ , medida en J/m^2) se define como la energía almacenada por unidad de superficie en una interfaz, en este caso entre los líquidos, el aire y las superficies foliares bajo estudio. Basándose en la teoría termodinámica de superficies van Oss y Giese (1995) indican que la energía libre superficial entrega información cuantitativa de la afinidad que tiene una superficie por el agua. De esta manera, superficies con alta energía libre tendrán mayor probabilidad de ser mojables por el agua. Por otro lado, el parámetro de solubilidad está relacionado con la energía de cohesión, siendo esta una medida cuantitativa de las propiedades cohesivas de una sustancia en estado condensado (sólidos y líquidos), es decir, de la solidez de las fuerzas intermoleculares que mantienen unidas a sus moléculas. De esta manera, Hildebrand (1949) definió el parámetro de solubilidad de una sustancia como la raíz cuadrada de su energía de cohesión por unidad de volumen (medido en MJ m^{-3})^{1/2}. De acuerdo a esto, cuanto menor sea la diferencia entre los parámetros de solubilidad de dos sustancias (por ejemplo un sólido y un líquido), hay más probabilidades de que dichas sustancias tengan afinidad entre ellas. Los valores del parámetro de solubilidad varían desde 12 (MJ m^{-3})^{1/2} para sustancias no polares hasta 48 (MJ m^{-3})^{1/2} para el agua.

Este tipo de mediciones es considerada crucial para caracterizar las interacciones entre las superficies vegetales y las gotas de agua o agroquímicos como paso previo a la absorción foliar (Fernández et al. 2015).

Paralelamente, de cada muestra de hojas se tomaron 15 sub-muestras que fueron examinadas con un microscopio electrónico de barrido (SEM por su sigla en inglés) marca Hitachi S-3400 N (Tokyo, Japón). Posteriormente, las imágenes obtenidas a través del SEM fueron analizadas con el software ImageJ para medir los siguientes parámetros anatómicos superficiales de las hojas: densidad de estomas (número de estomas por mm^2 de área foliar), longitud y ancho de células guardas de estomas, longitud y ancho de apertura estomática (Figura 4.2). Al mismo tiempo con estas medidas se pudo calcular el área de célula guarda estomática, el área de apertura estomática, el índice de conductancia potencial (Holland y Richardson 2009) y el área relativa poro:estoma. Por otro lado, se cortaron secciones transversales de hojas semi-delgadas (1 micra de espesor), se montaron en portaobjetos de microscopio y se tiñeron con azul de toluidina antes de la observación con un microscopio de epifluorecencia (Axioplan-2, Zeiss, Alemania). De estas observaciones, a través del uso del software ImageJ (Rasband 2004) se derivaron los siguientes parámetros: espesor de lámina, espesor de epidermis del haz y del envés, y porcentaje (%) de área ocupada por distintos tejidos (epidermis superior e inferior, parénquima en empalizada y parénquima esponjoso) y restando al 100 % todas las superficies ocupadas por los distintos tejidos mencionados arriba se obtuvo el % de espacios inter celulares (Figura 4.3).

También a partir de otras 15 sub-muestras, se realizaron observaciones a través de microscopio electrónico de transmisión (TEM por su sigla en inglés). Para ello, las hojas fueron cortadas en piezas de 4 mm^2 y fijadas en 2,5 % glutaraldehído 4% formaldehído durante 6 horas a 4°C , luego se enjuagaron 4 veces en un periodo de 6 horas con un tampón de fosfato enfriado en hielo a pH 7,2, en el cual se dejaron toda la noche. Después de fijadas, las muestras fueron incluidas en una solución 1:1 2% tetróxido de osmio acuoso y 3% de ferrocianuro potásico por 1,5 horas. Posteriormente, las muestras fueron lavadas con agua destilada, deshidratadas en una serie graduada de 30, 50, 70, 80, 90, 95 y 100% de acetona. Posteriormente, las muestras fueron infiltradas con resina de acetona-Spurr's en proporciones 3:1 (2 h), 1:1 (2 h), 1:3 (3h) y resina pura (se dejaron las muestras 14 h). Luego, los tejidos totalmente infiltrados por la resina fueron colocados en bloques, los cuales fueron incubados por 3 días a 70°C ,

para su completa polimerización. Posteriormente, se cortaron secciones ultrafinas (50-100 nanómetros de espesor) de las hojas incluidas en los bloques, montándolas en rejillas de níquel y posteriormente fueron teñidas con citrato de plomo de Reynolds durante 5 minutos. Finalmente, los tejidos fueron observados con un TEMJeol 1010 (Tokyo, Japón) operado a 80 kV y equipado con una cámara CCD megaview. Los espesores de cutícula (de la cara adaxial y abaxial) y áreas de los cloroplastos se midieron usando el software libre ImageJ (Rasband 2004).



Figura 4.1. A) Plantas de *Nothofagus* creciendo en invernadero; B) Plantas de *Nothofagus* creciendo en cámara de cultivo; C y D) hojas de *Nothofagus* para cálculo de área foliar específica (AFE); E) equipo de análisis de sombra para medir ángulos de contacto de distintos líquidos con superficies foliares; F) imagen de una gota de agua sobre una superficie foliar y su ángulo de contacto (θ).

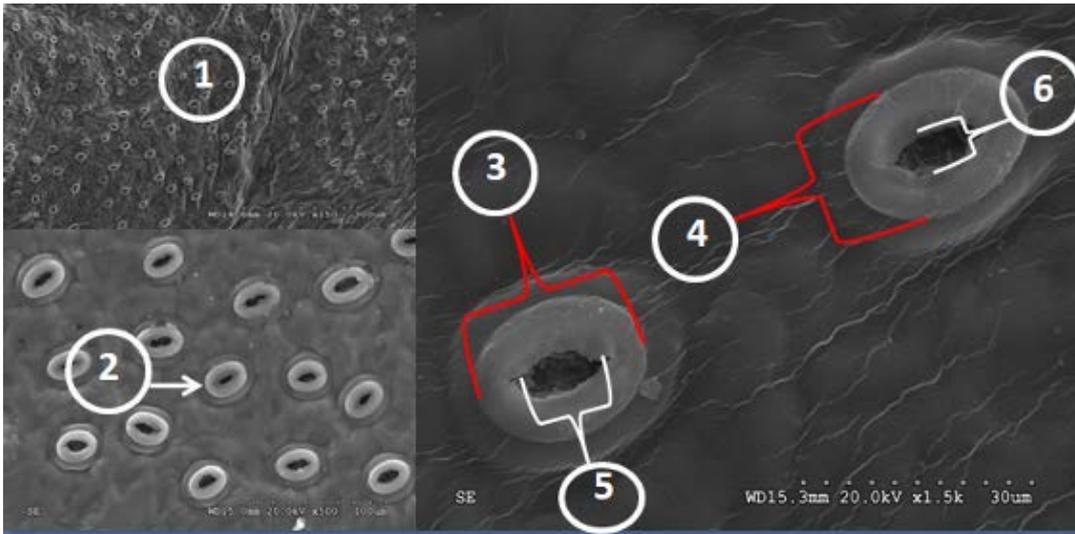


Figura 4.2. Imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) de envés de hojas de *Nothofagus* donde se pueden observar y cuantificar: número de estomas (1 y 2); longitud de células guarda (3); ancho de células guarda (4); longitud de apertura estomática (5) y ancho de apertura estomática (6).

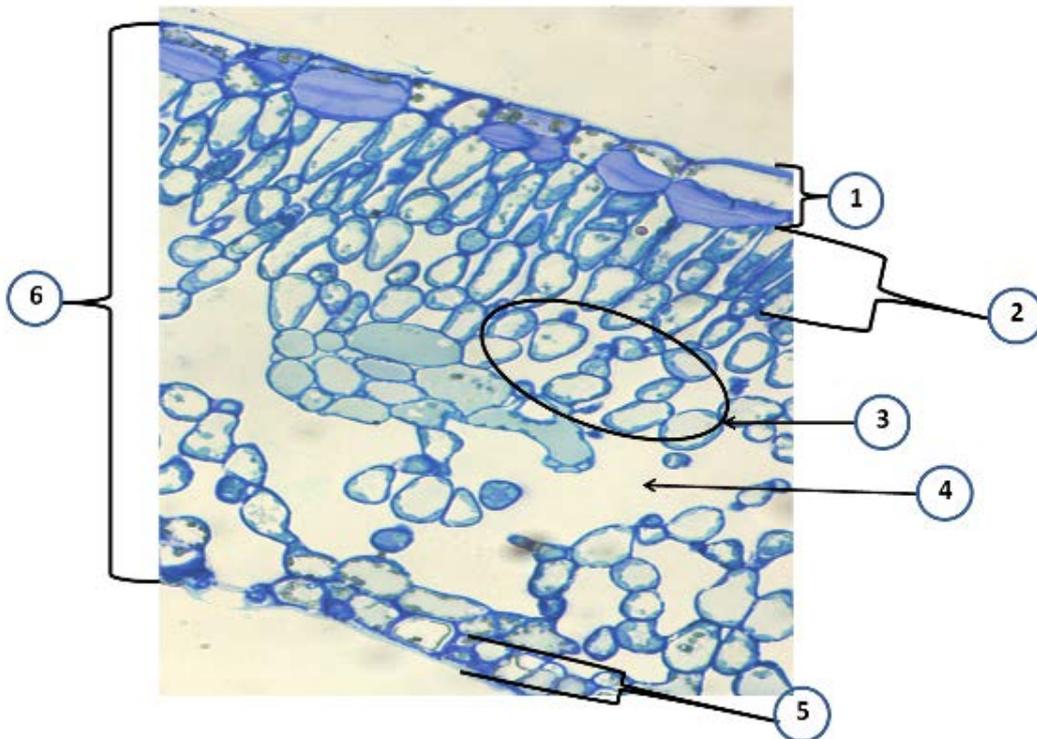


Figura 4.3. Imagen de microscopio óptico de hoja de *Nothofagus* donde se pudieron cuantificar los siguientes parámetros: grosor de epidermis adaxial (1), parénquima en empalizada (2), parénquima esponjoso (3), espacios intercelulares (4), grosor de epidermis abaxial (5) y espesor de lámina (6).

Análisis de datos

Al igual que en otros capítulos, en primera instancia se realizaron análisis exploratorios para verificar el cumplimiento de los supuestos de normalidad, homocedasticidad e independencia de los datos para cada situación evaluada. Para chequear la normalidad de los datos se realizó el test de Shapiro-Wilk, mientras que para evaluar la homocedasticidad se usó el test de Levene. La independencia de los datos se evaluó gráficamente a través de análisis de los residuales.

Las variables relacionadas con la determinación de mojabilidad y adherencia/repelencia (energía libre superficial, parámetro de solubilidad) de las superficies foliares fueron analizadas a través de ANOVA con 4 factores principales: especie, lado de la hoja, líquido y nivel de CO₂.

Todos los demás parámetros relativos a la anatomía externa e interna de las hojas se analizaron con ANOVA de dos factores: especie y nivel de CO₂.

Para evaluar las diferencias entre factores cuando los valores de la prueba F fueron significantes ($P < 0,05$) se usó el test de Tukey. Para evitar malas interpretaciones, cuando se encontraron interacciones significativas entre factores, se realizaron comparaciones múltiples (Willems y Raffaele 2001).

RESULTADOS

Topografía de las hojas desarrolladas con diferentes concentraciones de CO₂

En las figuras 4.4-4.7 se muestran las características de las superficies foliares de *N. antarctica* y *N. betuloides* tomadas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), tras analizar hojas de plantas crecidas a 400 y 800 ppm de CO₂ en condiciones de cámara de cultivo.

En la cara adaxial de las hojas de ñire sin estomas presenta pelos no-glandulares (marcados con una T en Figura 4.4 A, C) mayoritariamente dispuestos sobre las extensiones de la vaina del haz (nerviaciones menores que se generan a partir de los haces vasculares). Se observó mayor cantidad de pelos y mayor relieve de las extensiones de la vaina del haz que también parecían estar más juntas en el tratamiento con mayor nivel de CO₂, pero no se pudieron realizar medidas al respecto.

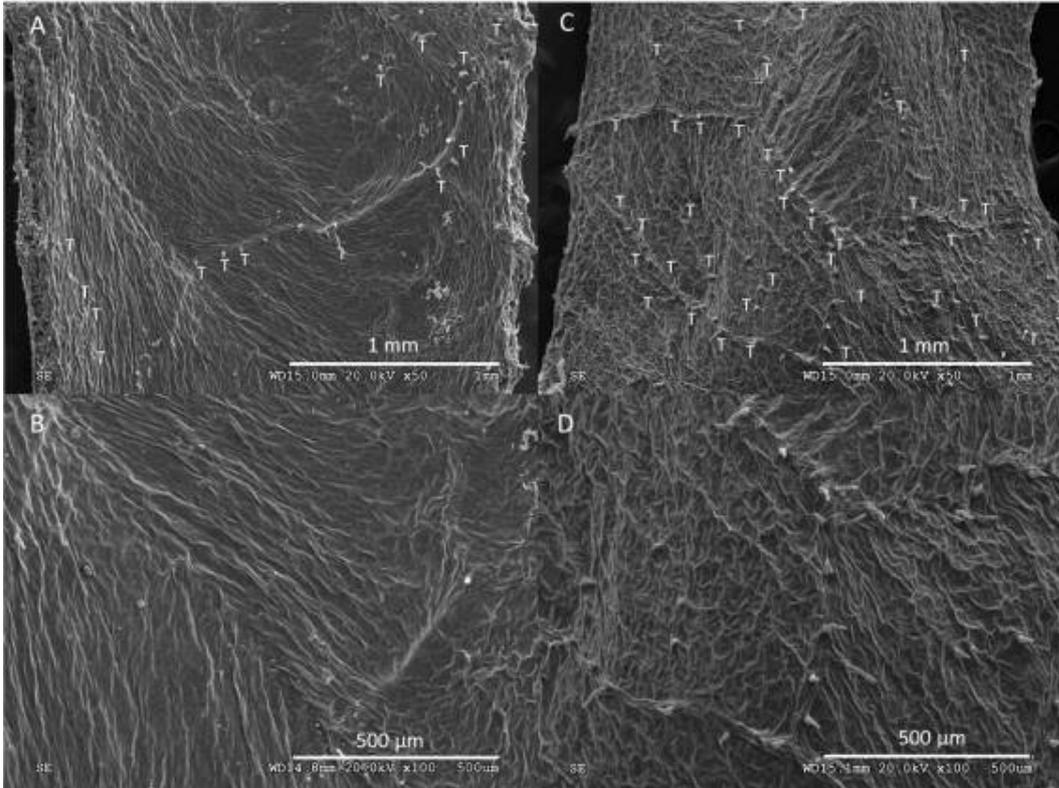


Figura 4.4. Micrografías obtenidas a través de microscopía electrónica de barrido (SEM) del haz de hojas de *N. antarctica* de plantas crecidas a 400 (A, B) u 800 ppm (C, D) de CO₂. (A, C) magnificación x50, (B, D) magnificación x100.

Por otro lado, no se observaron variaciones por efecto de un incremento del CO₂ del aire en la superficie adaxial (haz) de las hojas de *N. betuloides* (Figura 4.5) que, en general, tuvieron topografía suave, con presencia de venas y extensiones de la vaina del haz, además de presentar tricomas glandulares aislados, similares a los que se aprecian en el envés (Figura 4.7)

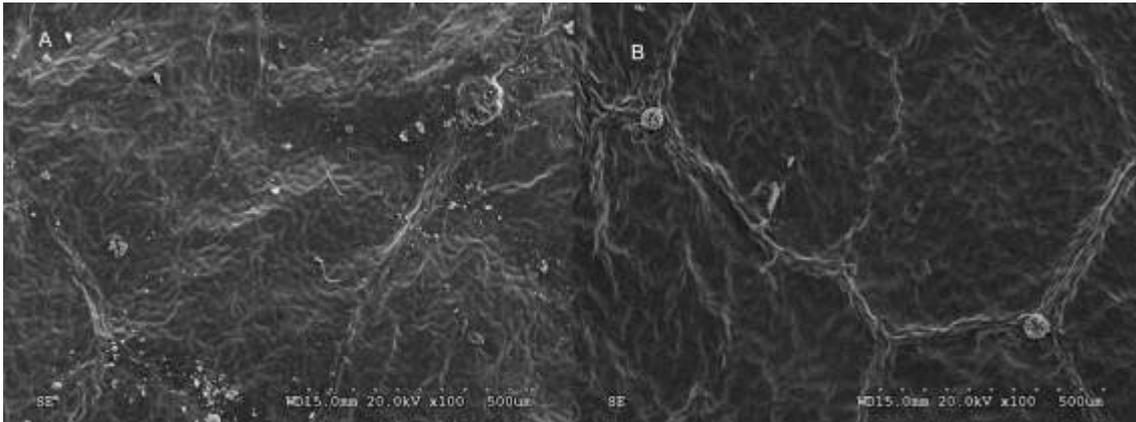


Figura 4.5. Micrografías obtenidas a través de microscopía electrónica de barrido (SEM) del haz de hojas de *N. betuloides* de plantas crecidas a 400 (A) u 800 ppm (B) de CO₂ (magnificación por x100).

En la cara abaxial (envés) de las hojas de ñire se aprecia que las hojas de plantas crecidas con mayor CO₂ (800 ppm) en el aire presentaron mayor cantidad de estomas que aquellas crecidas a 400 ppm de CO₂ (Figura 4.6 B frente a D).

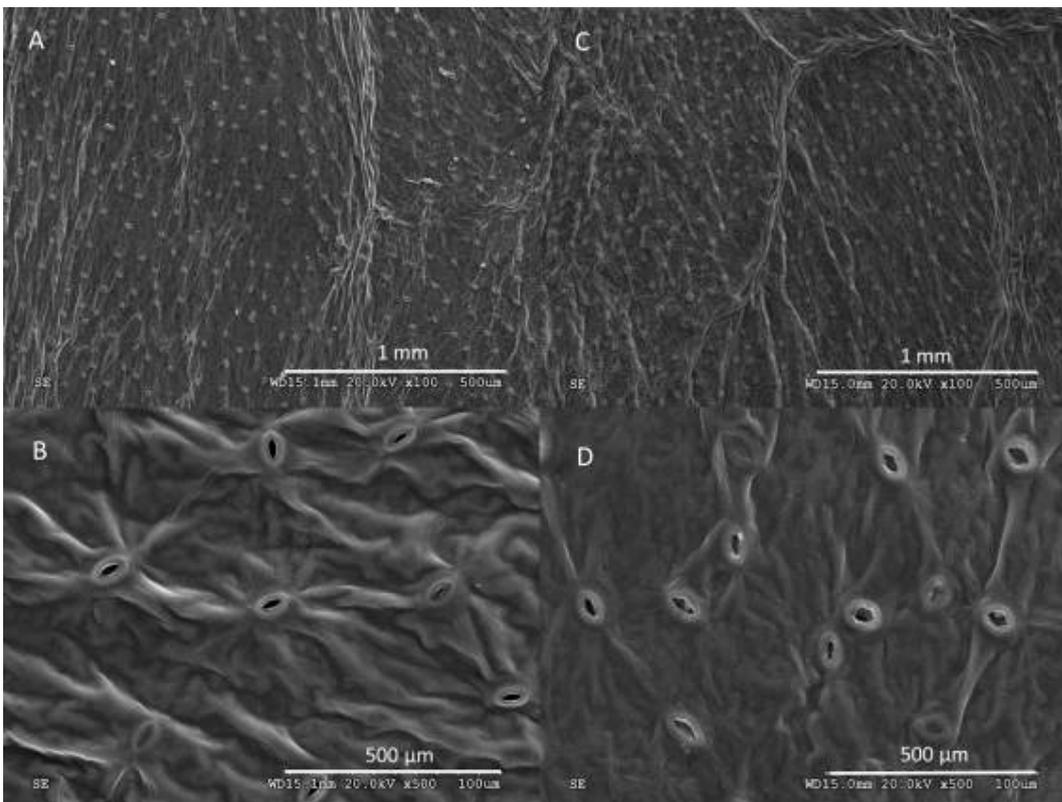


Figura 4.6. Micrografías obtenidas a través de microscopía electrónica de barrido (SEM) de la cara abaxial de hojas de *N. antarctica* de plantas crecidas a 400 (A, B) u 800 ppm (C, D) de CO₂. (A, C) magnificación x100), (B, D) magnificación x500.

En la cara abaxial de las hojas de *N. betuloides*, se observó gran presencia de estomas y tricomas glandulares aislados, sobre todo en las plantas crecidas con alto CO₂ en el aire (Figura 4.7). Para esta especie, si bien no hubo efecto del CO₂ alto en la densidad estomática, se apreció una reducción en el tamaño de poro (Figura 4.8), como se verá más adelante de forma cuantitativa.

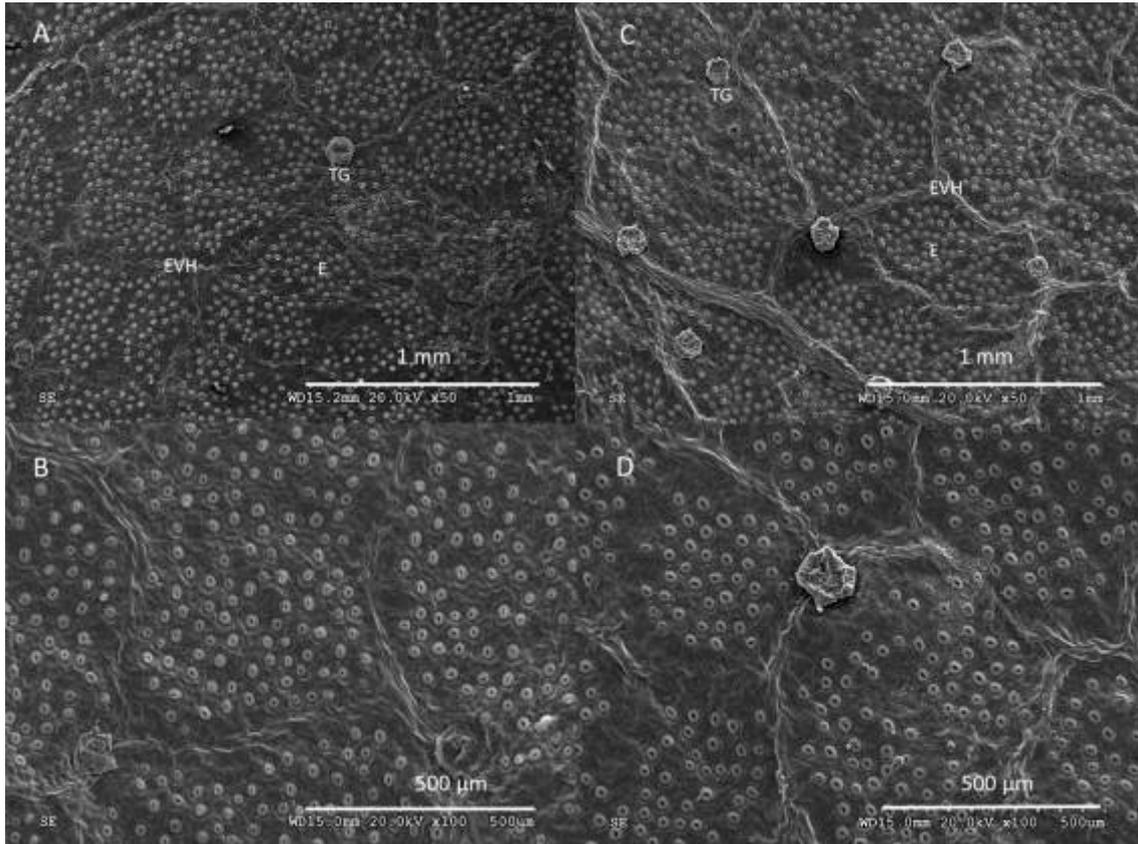


Figura 4.7 Micrografías obtenidas a través de microscopía electrónica de barrido (SEM) del envés de hojas de *N. betuloides* de plantas crecidas a 400 (A, B) u 800 ppm (C, D) CO₂. (A, C) magnificación por x50, (B, D) magnificación x100 aumentos. Los tricomas glandulares se han marcado con la letra TG, las extensiones de la vaina del haz como EVH y las áreas con acumulación de estomas como E.

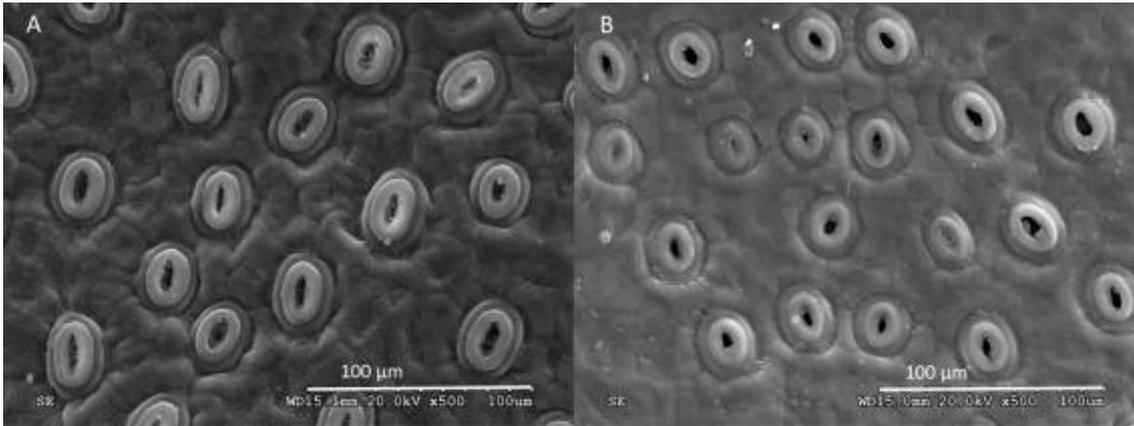


Figura 4.8. Micrografías obtenidas a través de microscopía electrónica de barrido (SEM) del lado abaxial de hojas de *N. betuloides* de plantas crecidas a 400 (A) u 800 ppm (B) CO₂, a una magnificación x500.

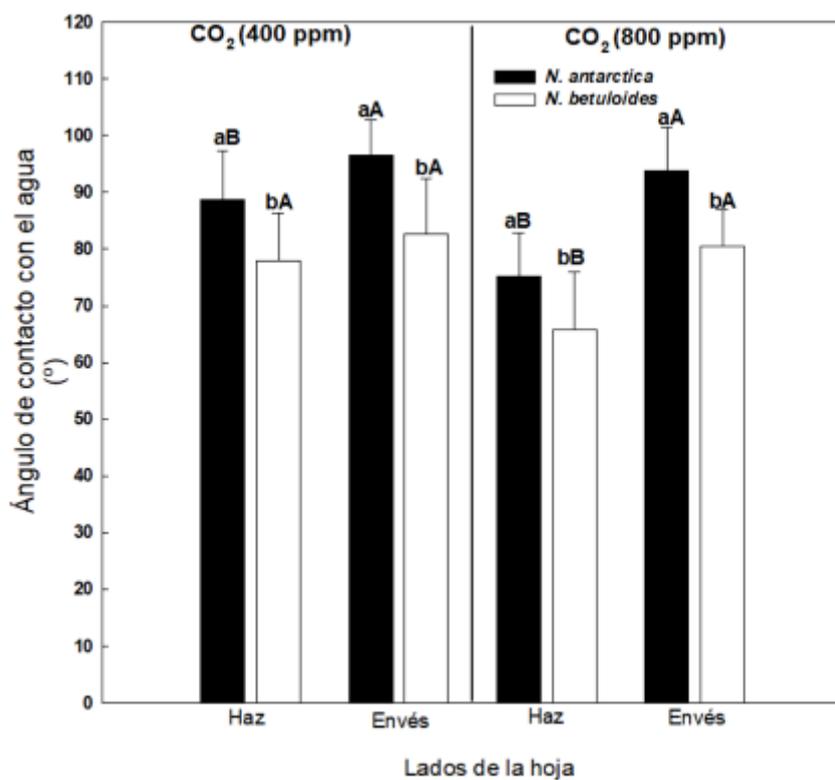
Características de mojabilidad en hojas de *N. betuloides* y *N. antarctica* creciendo a dos niveles de CO₂.

Los análisis estadísticos de los ángulos de contacto de diferentes líquidos sobre distintos lados de hojas de las dos especies de *Nothofagus* y a dos niveles de concentración de CO₂ en el aire, indicaron que todos los factores principales (excepto el nivel de CO₂) mostraron efectos estadísticamente significativos, así como también la mayoría de las interacciones entre dichos factores (Tabla 4.1).

Al evaluar los ángulos de contacto con los diferentes líquidos entre especies y lados de las hojas se encontraron distintos valores dependiendo de cada concentración de CO₂, líquido y lado de la hoja evaluado. Cuando se compararon las dos especies a 400 ppm de CO₂, que representa el nivel de concentración atmosférico actual, la cara adaxial de las hojas de *N. antarctica* presentó mayores ángulos de contacto que las hojas de *N. betuloides* ($P < 0,05$) con los tres líquidos evaluados. Mientras que en la cara abaxial de las hojas de *N. antarctica* los ángulos de contacto fueron más altos solo con el agua (Figura 4.9). Cuando las plantas estuvieron con el mayor nivel de CO₂ (800 ppm), la cara adaxial de las hojas de *N. antarctica* mostró mayores ángulos de contacto que *N. betuloides* con el agua y con el glicerol, pero valores más bajos con el diyodometano ($P < 0,05$) (Figura 4.9). Por otro lado, a nivel de cada especie también se observaron variaciones en los ángulos de contacto entre los lados de las hojas, dependiendo de cada líquido medido y el nivel de CO₂ (Figura 4.9).

Tabla 4.1. ANOVA de los ángulos de contacto de 3 líquidos (agua, glicerol y diyodometano) sobre la cara adaxial y abaxial de hojas de dos especies de *Nothofagus* creciendo a dos niveles de CO₂.

Fuente	Gl	F (p)
Especie (E)	1	103,7 (p < 0,001)
Líquido (L)	2	510,9 (p < 0,001)
Lado de hoja (LH)	1	485,0 (p < 0,001)
Nivel de CO ₂ (N)	1	0,052 (p = 0,82)
Interacciones		
E x L	2	56,5 (p < 0,001)
E x LH	1	34,6 (p < 0,001)
E x N	1	26,6 (p < 0,001)
L x LH	2	5,7 (p = 0,04)
L x N	2	61,6 (p < 0,001)
LH x N	1	9,5 (p = 0,002)
E x L x LH	2	32,0 (p < 0,001)
E x L x N	2	4,3 (p = 0,014)
E x LH x N	1	2,2 (p = 0,141)
L x LH x N	2	21,5 (p < 0,001)
E x L x LH x N	2	3,9 (p = 0,022)



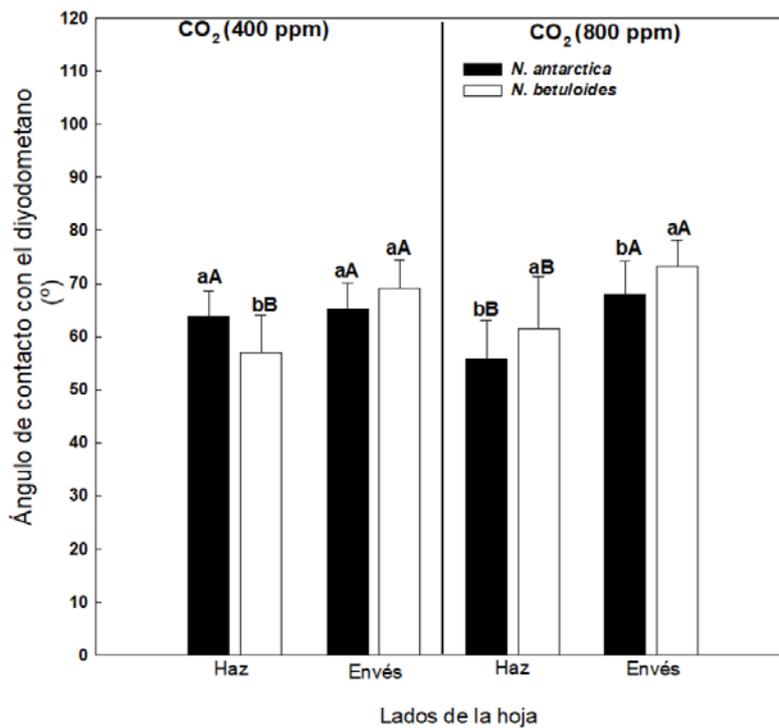
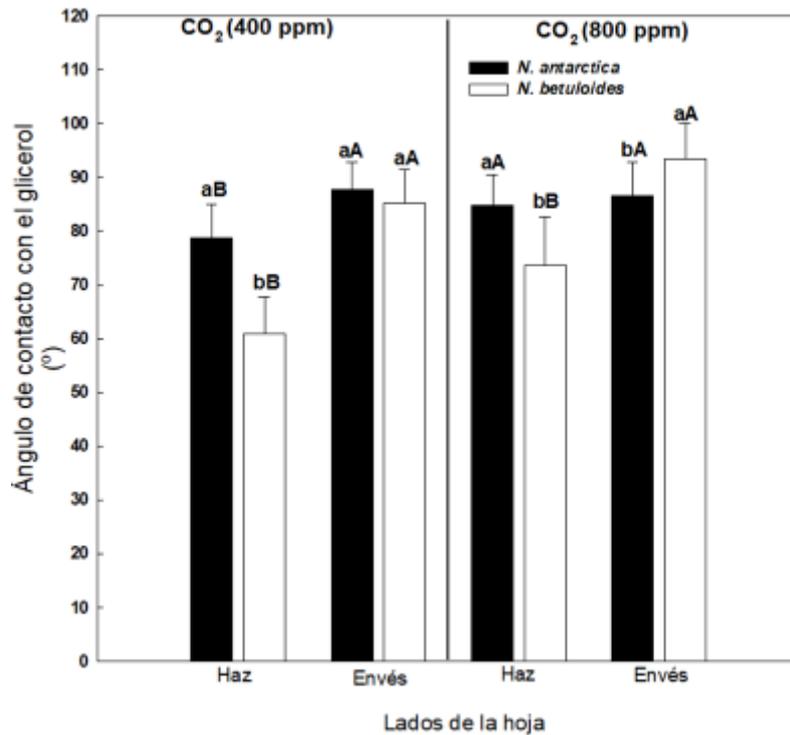


Figura 4.9. Ángulos de contacto entre tres líquidos (agua, glicerol y diyodometano) y dos lados (adaxial (haz) y abaxial (envés)) foliares en dos especies de *Nothofagus* (*N. antarctica* y *N. betuloides*) creciendo en dos niveles de concentración de CO₂ (400 y 800 ppm). Las barras indican el desvío estándar de las medias. Para un mismo nivel de CO₂ y lado de la hoja letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas (P < 0,05) entre especies. Para una misma especie y nivel de CO₂ letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas (P < 0,05) entre lados de la hoja.

El aumento de la concentración de CO₂ generó cambios en los ángulos de contacto entre los diferentes líquidos evaluados y las superficies de las hojas estudiadas, dependiendo la magnitud y el sentido de tales cambios, de cada especie y el lado de la hoja evaluada. En el caso del ángulo de las superficies con el agua en ambas especies se observó una disminución con el aumento de CO₂ en las caras adaxiales (haz) de las hojas, sin embargo en las caras abaxiales (envés) de las hojas no se apreciaron diferencias significativas ($P > 0,05$) (Tabla 4.2). Los ángulos de la superficies foliares con el glicerol fueron más altos en el mayor nivel de CO₂ en los dos lados de las hojas para ambas especies, excepto en la cara abaxial de *N. antarctica* donde no se observaron diferencias ($P > 0,05$) entre niveles de CO₂. Este aumento de ángulo de contacto con mayor concentración de CO₂ se repitió con el diyodometano en ambos lados de las hojas de *N. betuloides*, pero en *N. antarctica* se presentó un comportamiento inverso con mayor ángulo de contacto con la concentración más baja de CO₂ en la superficie adaxial de las hojas, mientras que en la cara abaxial no se encontraron diferencias ($P > 0,05$) (Tabla 4.2).

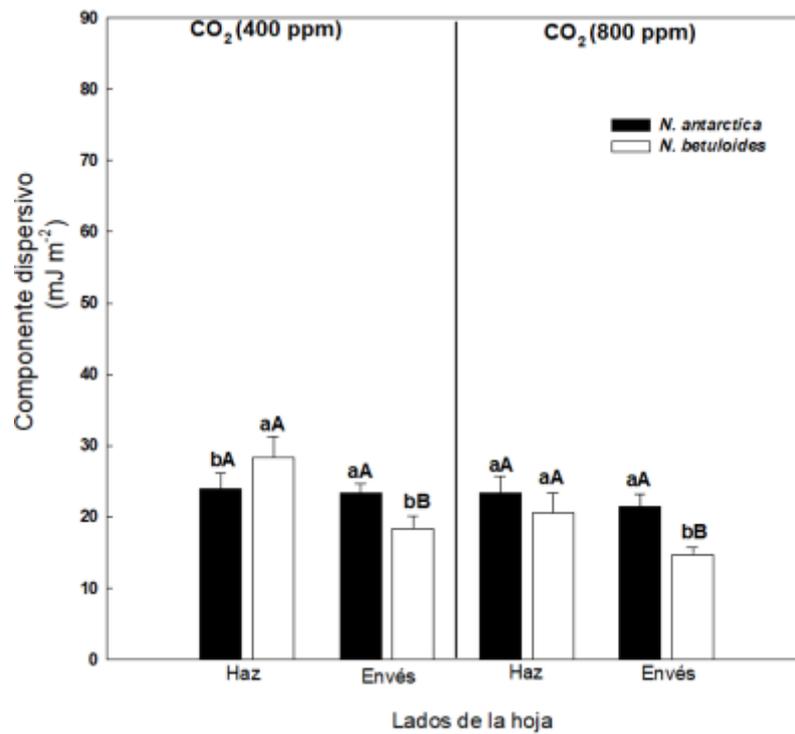
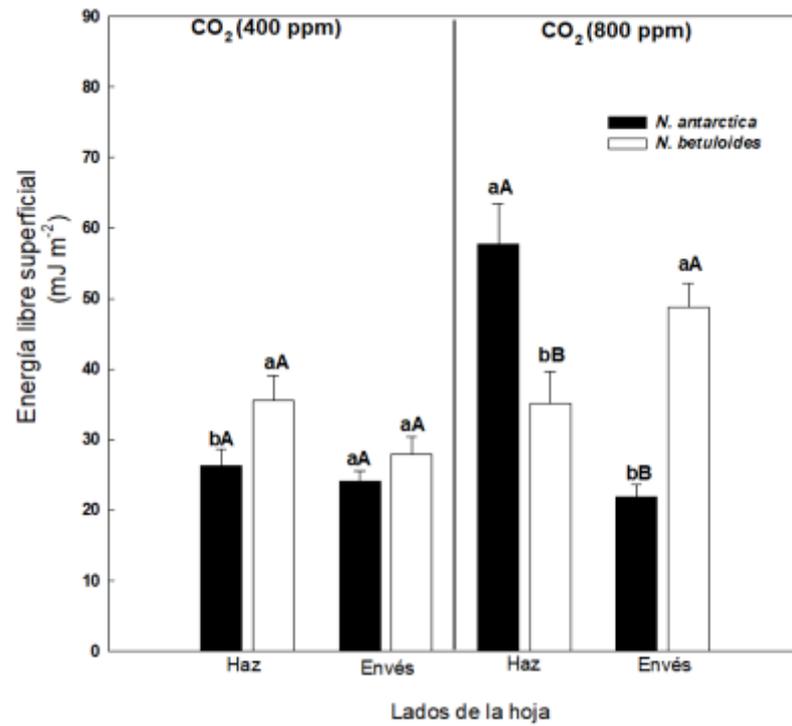
Tabla 4.2. Ángulos de contacto entre tres líquidos (agua (θ_w), glicerol (θ_g) y diyodometano (θ_d)) y dos lados (adaxial y abaxial) foliares en dos especies de *Nothofagus* (*N. antarctica* y *N. betuloides*) creciendo en dos niveles de concentración de CO₂ (400 y 800 ppm). Los valores son las medias \pm los desvíos estándar.

Especies	Lado de la hoja	Nivel de CO ₂ (ppm)	θ_w (°)	θ_g (°)	θ_d (°)
<i>N. betuloides</i>	adaxial	400	78,0 \pm 8,3a	60,9 \pm 6,8b	56,9 \pm 7,2b
		800	65,9 \pm 10,0b	73,7 \pm 9,0a	61,4 \pm 9,9a
	abaxial	400	82,6 \pm 9,8a	85,2 \pm 6,2b	69,2 \pm 5,3b
		800	80,5 \pm 6,5a	93,4 \pm 6,6a	73,3 \pm 4,8a
<i>N. antarctica</i>	adaxial	400	88,7 \pm 8,7a	78,8 \pm 6,2b	63,8 \pm 4,8a
		800	75,1 \pm 7,7b	84,8 \pm 5,7a	55,9 \pm 7,1b
	abaxial	400	96,5 \pm 6,3a	87,7 \pm 5,2a	65,3 \pm 4,8a
		800	93,7 \pm 7,7a	86,6 \pm 6,2a	67,9 \pm 6,4a

Para una misma especie y lado de la hoja letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre niveles de CO₂.

En cuanto a la energía libre superficial y sus diferentes componentes, al estar derivados directamente de los valores de los ángulos de contacto de las superficies foliares con diferentes líquidos, también se observaron distintas interacciones entre todos los factores evaluados. Al comparar las dos especies en niveles naturales de CO₂ (400 ppm), la energía libre superficial y sus componentes (dispersivos y no dispersivos) fueron más altos en *N. betuloides* para el lado adaxial de las hojas (Figura 4.10). En contraste, para el lado abaxial de las hojas no se encontraron diferencias entre especies en cuanto a la energía libre superficial, pero sí en sus componentes (Figura 4.10). Este patrón cambió con el aumento del CO₂, detectándose diferencias entre especies en ambas caras de las hojas y entre lados de la hoja para ambas especies (Figura 4.10). Por otro lado, el parámetro de solubilidad mostró el mismo patrón de valores que la energía libre superficial al comparar entre especies para un mismo nivel de CO₂ (Figura 4.10).

Por su parte, el aumento de concentración de CO₂ generó distintas repuestas dependiendo de cada especie y del componente evaluado (Figura 4.10 y Tabla 4.3). La energía libre superficial total se vio incrementada con el mayor nivel de CO₂ en el lado abaxial de *N. betuloides* y en el haz de *N. antarctica*, mientras que no varió en las otras caras foliares en ambas especies. La componente dispersiva o apolar (γ^{LW}) se vio significativamente disminuida en *N. betuloides*, tanto en el lado adaxial como abaxial de la hoja, mientras que en las hojas de *N. antarctica* no hubo variaciones de este parámetro con los distintos niveles de CO₂. Por su parte la componente no dispersiva o polar (γ^{AB}) se incrementó con el aumento de CO₂ en todas las combinaciones especies y caras de las hojas, excepto en el lado abaxial de *N. antarctica*. Finalmente, el parámetro de solubilidad (δ) aumentó con el mayor valor de CO₂ en el lado adaxial y abaxial de *N. betuloides* y *N. antarctica*, respectivamente, sin cambiar en las demás caras de las hojas de ambas especies.



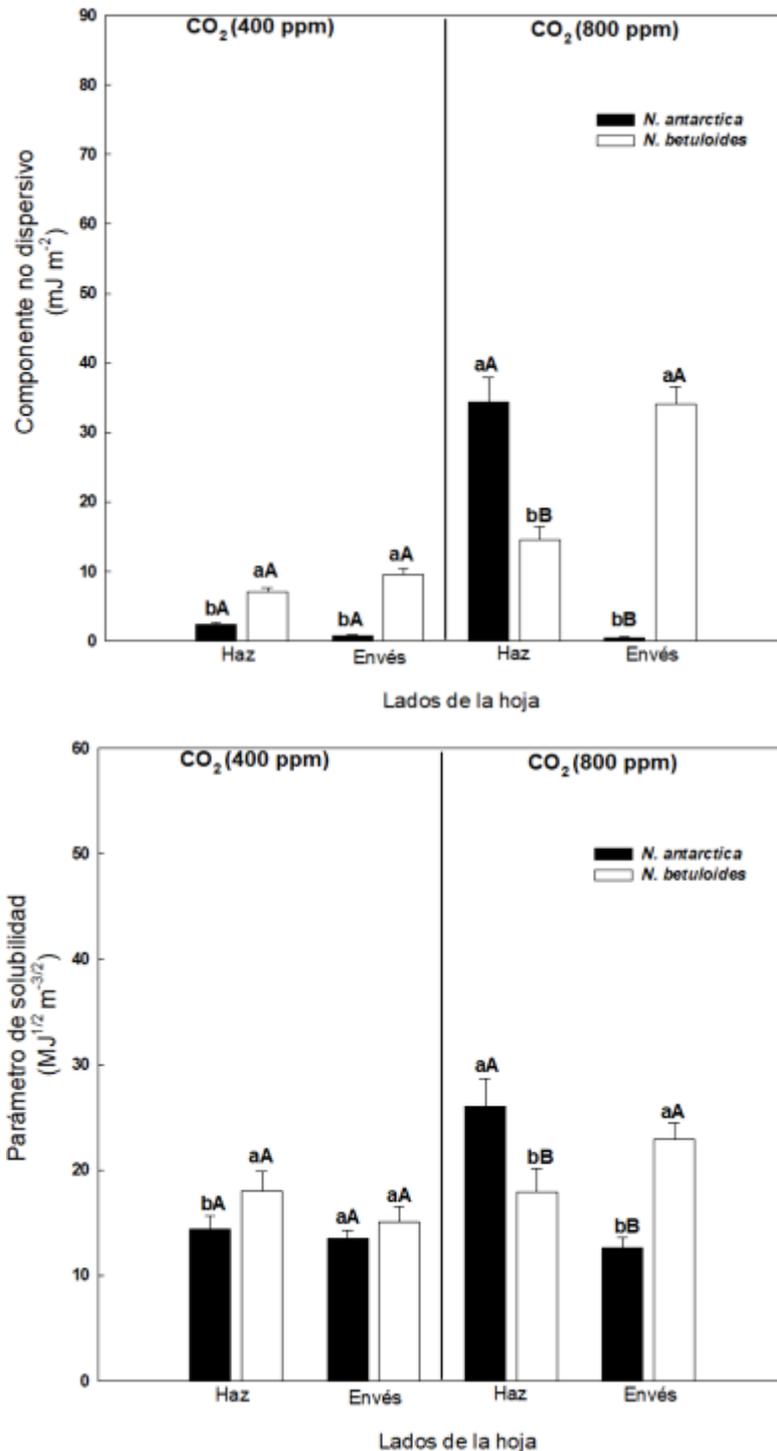


Figura 4.10. Valores de energía libre superficial total y sus componentes (dispersivos y no dispersivos), y parámetro de solubilidad en dos lados (adaxial (haz) y abaxial (envés)) foliares de dos especies de *Nothofagus* (*N. antarctica* y *N. betuloides*) creciendo en dos niveles de concentración de CO₂ (400 y 800 ppm). Las barras indican el desvío estándar de las medias. Para un mismo nivel de CO₂ y lado de la hoja letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre especies. Para una misma especie y nivel de CO₂ letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre lados de la hoja.

Tabla 4.3. Valores de energía libre superficial (γ) y sus componentes dispersivos (γ^{LW}) y no dispersivos (γ^{AB}), y parámetro de solubilidad (δ) en dos lados (adaxial y abaxial) foliares de dos especies de *Nothofagus* (*N. antarctica* y *N. betuloides*) creciendo en dos niveles de concentración de CO₂ (400 y 800 ppm). Los valores son las medias \pm los desvíos estándar.

Especies	Lado de la hoja	Nivel de CO ₂ (ppm)	γ^{LW} (mJ m ⁻²)	γ^{AB} (mJ m ⁻²)	γ (mJ m ⁻²)	δ (MJ ^{1/2} m ^{-3/2})
<i>N. betuloides</i>	adaxial	400	28,4 \pm 2,9a	7,1 \pm 0,6b	35,5 \pm 3,6a	18,0 \pm 1,9a
		800	20,6 \pm 2,7b	14,5 \pm 1,9a	35,1 \pm 4,6a	17,9 \pm 2,3a
	abaxial	400	18,4 \pm 1,7a	9,5 \pm 1,0b	27,9 \pm 2,5b	15,1 \pm 1,4b
		800	14,7 \pm 1,0b	34,1 \pm 2,4a	48,8 \pm 3,4a	22,9 \pm 1,6a
<i>N. antarctica</i>	adaxial	400	23,9 \pm 2,2a	2,4 \pm 0,2b	26,3 \pm 2,4b	14,4 \pm 1,3b
		800	23,3 \pm 2,4a	34,4 \pm 3,5a	57,7 \pm 5,8a	26,0 \pm 2,7a
	abaxial	400	23,3 \pm 1,4a	0,8 \pm 0,1a	24,1 \pm 1,4a	13,5 \pm 0,8a
		800	21,5 \pm 1,7a	0,5 \pm 0,1b	21,9 \pm 1,8a	12,6 \pm 1,0a

Para una misma especie y lado de la hoja letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre niveles de CO₂.

Concentración de lípidos cuticulares, área foliar específica en dos niveles de concentración de CO₂

Al comparar entre especies, las concentraciones de lípidos cuticulares solubles (ceras) fueron más altos ($P < 0,05$) en las hojas de *N. betuloides* en los dos niveles de CO₂ evaluados (Tabla 4.4). Los valores de área foliar específica (AFE) fueron más elevados en *N. antarctica* ($P < 0,05$) en las dos concentraciones de CO₂. El aumento de CO₂ generó un aumento significativo ($P < 0,05$) de los lípidos cuticulares solubles de las hojas de las dos especies estudiadas (Tabla 4.4). Por otro lado, el área foliar específica no se vio afectado por el cambio en la concentración de CO₂ en ninguna de las especies.

Tabla 4.4. Valores de concentración de lípidos cuticulares solubles (ceras), área foliar específica (AFE) de dos especies de *Nothofagus* (*N. antarctica* y *N. betuloides*) creciendo en dos niveles de concentración de CO₂ (400 y 800 ppm). Los valores son las medias \pm los desvíos estándar.

Especies (E)	Nivel de CO ₂ (N) (ppm)	Lípidos cuticulares solubles ($\mu\text{g cm}^{-2}$)	AFE ($\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$)
<i>N. betuloides</i>	400	131 \pm 15b	11.8 \pm 1.3a
	800	172 \pm 18a	10.8 \pm 1.1a
<i>N. antarctica</i>	400	27 \pm 3b	21.0 \pm 2.0a
	800	39 \pm 5a	22.8 \pm 2.1a
Diferencia entre especies		***	***
Interacción N x E		ns	*

Para una misma especie letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre niveles de CO₂.

Niveles de significancia estadística para especies y su interacción con nivel de CO₂ (N x E): * ($P < 0,05$); ** ($P < 0,01$); *** ($P < 0,001$); ns (no significativo).

Estructura de la epidermis y del mesófilo, densidad estomática y ultra-estructura de las hojas

El efecto de alta concentración de CO₂ en el aire causó cambios a nivel de la estructura y ultra-estructura de la epidermis y del mesófilo de las hojas (Figuras 4.11 a 4.14). Se observó que una alta concentración de CO₂ (800 ppm) causó cambios morfométricos y daños en las hojas de *N. antarctica* (Figura 4.11 B, D) que se ondularon, la epidermis de envés se deformó y la cantidad de espacio apoplástico subió en relación a las hojas desarrolladas a 400 ppm de concentración de CO₂ (Figura 4.11 A, C).

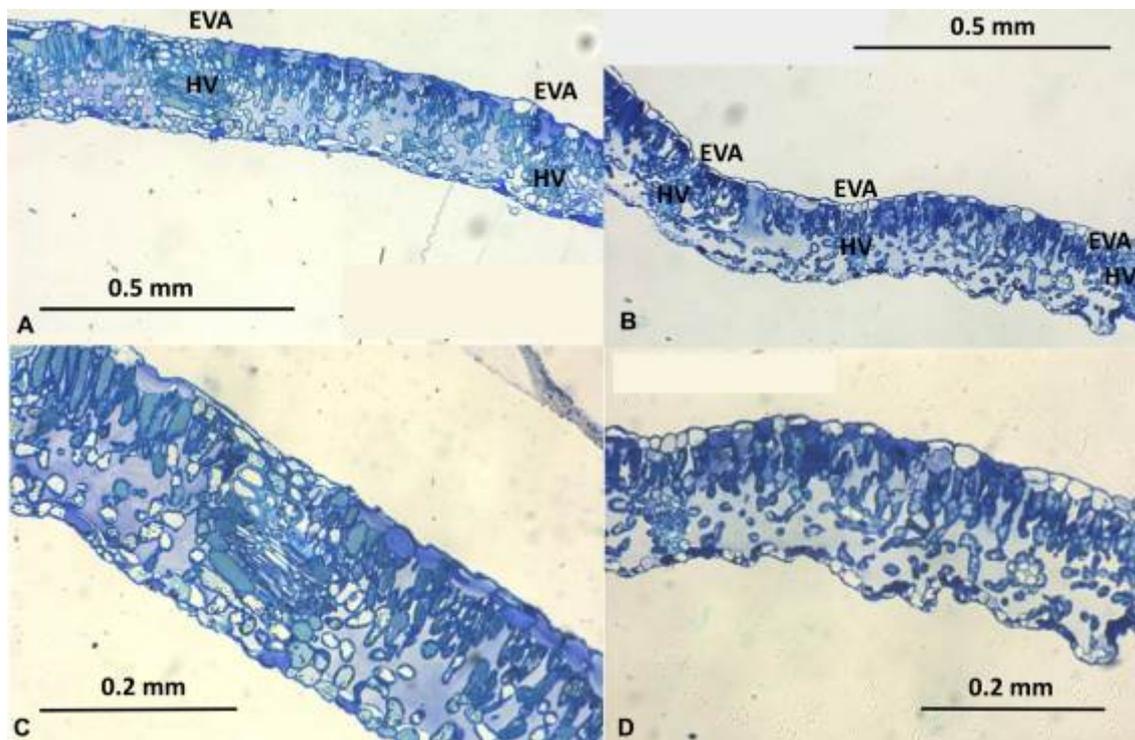


Figura 4.11. Cortes transversales de hojas de *N. antarctica* teñidos con azul de toluidina y observados mediante microscopía óptica (A, C, x 100 y C,D x 200 aumentos). Las plantas crecidas a 400 (A, C) u 800 ppm (B, D) de CO₂. En A y B se señalan los haces vasculares (HV) y extensiones de la vaina del haz (EVA).

La ultraestructura de la epidermis del lado adaxial y abaxial de hoja de ñire (Figura 4.12) se presenta solamente para plantas crecidas a 400 ppm de CO₂, ya que la idea fue

hacer una descripción general de la ultraestructura de la especie, que no cambia con los tratamientos. Esta imagen nos muestra que la cutícula del lado adaxial (haz) tiene una topografía suave (Figura 4.12 A y B), frente a la presencia de pliegues cuticulares en la cutícula del lado abaxial (envés) de las hojas (Figura 4.12 C y D).

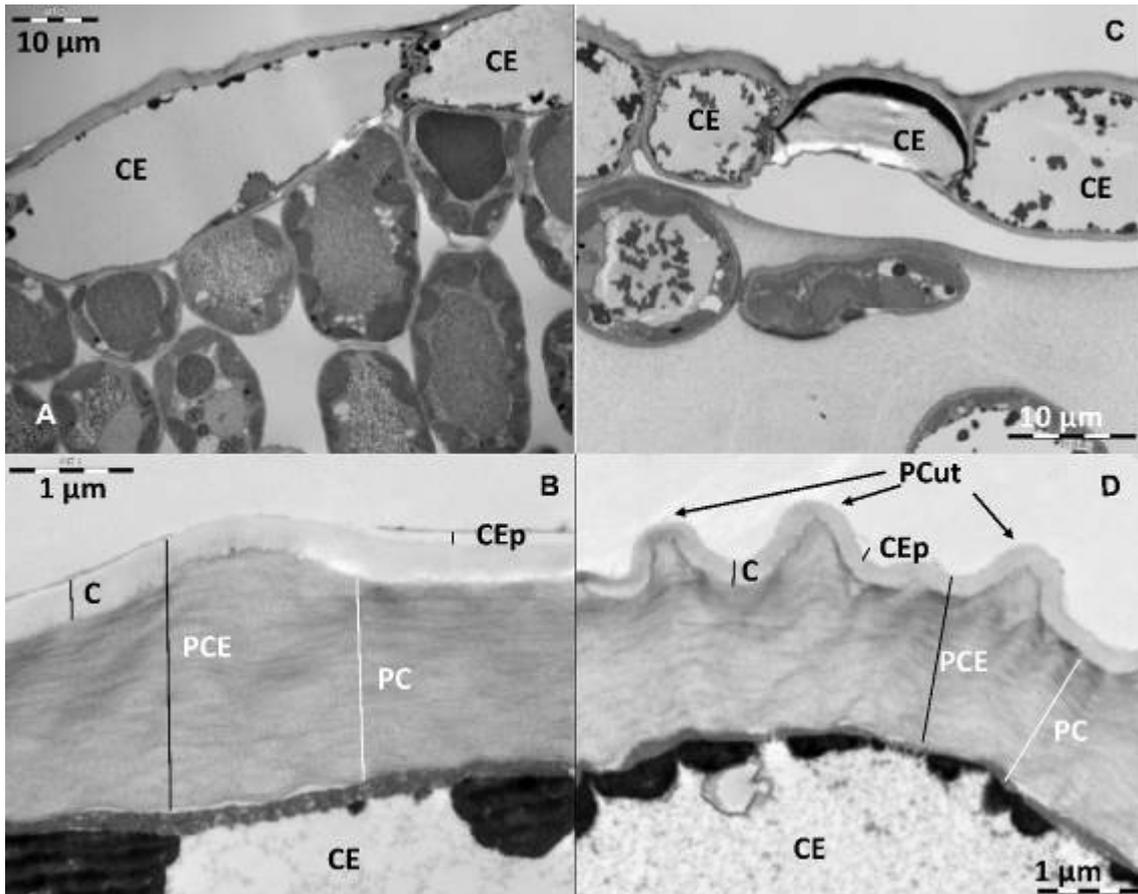


Figura 4.12. Cortes transversales de hojas de *N. antarctica* crecidas a 400 ppm de CO₂ observados mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM), con énfasis en la epidermis del lado adaxial (A, B) y abaxial (C, D). En B y D se muestra la cutícula (C), pared celular epidérmica (incluyendo la cutícula, PCE), pared celular (de polisacáridos, PC), ceras epicuticulares (CEp) y pliegues cuticulares (PCut) en el caso del lado abaxial (D). Por debajo de la pared celular epidérmica se observa la continuidad de las células epidérmicas (CE).

Respecto al *N. betuloides*, el crecimiento a 800 ppm de CO₂ (Figura 4.13 C y D) conllevó cambios a nivel de la epidermis y el mesófilo con un incremento del espacio

apoplástico en comparación con las plantas que crecieron a 400 ppm de CO₂ (Figura 4.13 A y B).

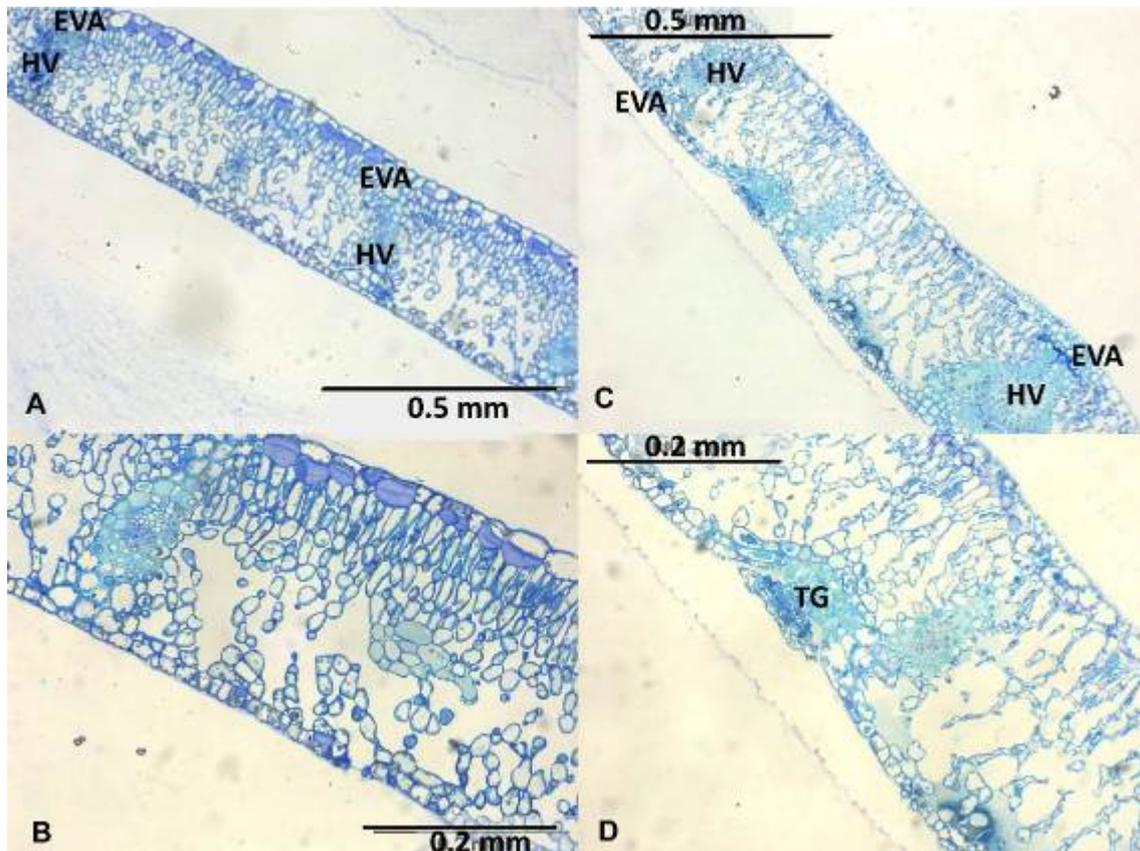


Figura 4.13. Cortes transversales de hojas de *N. betuloides* teñidos con azul de toluidina y observados mediante microscopía óptica (A, C x100 y B, D x200 aumentos). Las plantas fueron crecidas a 400 (A, C) u 800 ppm de CO₂ (B, D) CO₂. En A y C, se señalan los haces vasculares (HV) y extensiones de la vaina del haz (EVA). En D se observa un tricoma glandular (TG) cortado en sección transversal

Al igual que con las hojas de *N. antarctica*, la ultraestructura de la epidermis de las hojas de *N. betuloides* se muestra en la Figura 4.14 para plantas creciendo a 400 ppm de CO₂. La cutícula del lado adaxial fue mucho más gruesa que la de las hojas de ñire (Figura 4.12 A y B) y tanto la del lado adaxial como abaxial presentaron poca rugosidad pero muestra presencia de tricomas glandulares aislados (Figura 4.7).

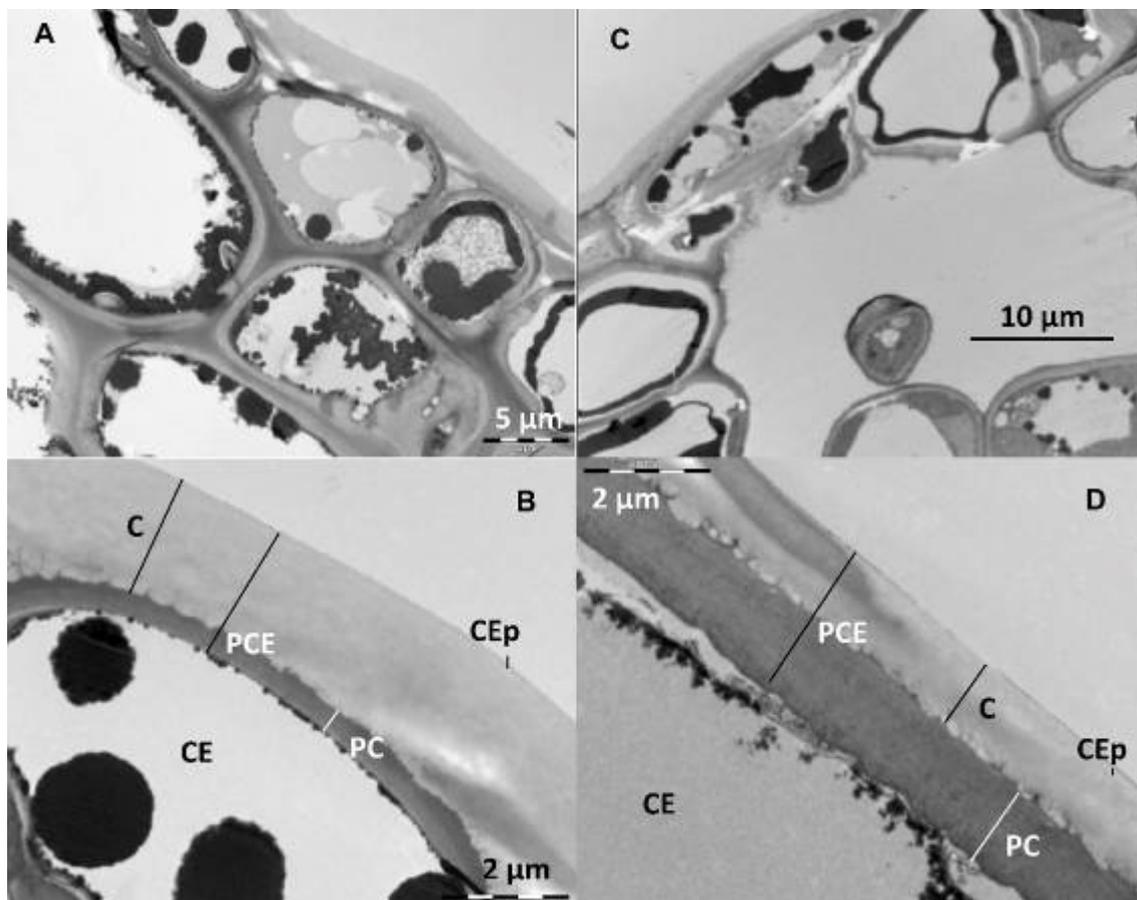


Figura 4.14. Cortes transversales de hojas de *N. betuloides* crecidas a 400 ppm de CO₂, observados mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM), con énfasis en la epidermis del lado adaxial (A, B) y abaxial (C,D). En B y C se muestra la cutícula (C), pared celular epidérmica (incluyendo la cutícula, PCE), pared celular (de polisacáridos, PC), ceras epicuticulares (CEp). Por debajo de la pared celular epidérmica se observa la continuidad de las células epidérmicas (CE).

La densidad estomática fue mayor ($P < 0,05$) en *N. betuloides* que en *N. antarctica* cuando las plantas crecieron a 400 ppm de CO₂, sin diferencias entre especies ($P > 0,05$) a 800 ppm. Todos los parámetros relacionados a la anatomía estomática presentaron un patrón similar entre especies. Cuando las plantas crecieron a 400 ppm de CO₂ las hojas de *N. betuloides* presentaron valores más altos en todos los parámetros evaluados, mientras que cuando el CO₂ se aumentó a 800 ppm las plantas de *N. antarctica*

mostraron mayores tamaños de parámetros estomáticos ($P < 0,05$) (Tabla 4.5). En el caso de la densidad estomática, la variación en CO_2 no produjo cambios en *N. betuloides*. Sin embargo, en *N. antarctica* las hojas de plantas desarrolladas en un ambiente enriquecido de CO_2 presentaron densidad estomática significativamente mayor ($P < 0,05$) (Tabla 4.5). Al comparar entre niveles de CO_2 para una misma especie, las plantas de *N. betuloides* vieron reducidos los tamaños de células guarda y poros estomáticos con el incremento de CO_2 (Tabla 4.5, Figura 4.8), mientras que las de *N. antarctica* aumentaron los tamaños de dichas células cuando crecieron con mayor nivel de CO_2 (Tabla 4.5, Figura 4.6).

Tabla 4.5. Valores de parámetros de anatomía estomática de dos especies de *Nothofagus* (*N. antarctica* y *N. betuloides*) desarrolladas en dos niveles de concentración de CO_2 (400 y 800 ppm). Los valores son las medias \pm los desvíos estándar.

Especie	Nivel de CO_2 (ppm)	Densidad estomática (estomas mm^{-2})	LCG (μm)	ACG (μm)	ArCG (μm^2)	LPE (μm)	APE (μm)	ArPE (μm^2)	ICP	Área relativa poro:estoma
<i>N. betuloides</i>	400	256 \pm 64a	27 \pm 2a	19 \pm 1a	400 \pm 40a	12 \pm 2a	6 \pm 1a	57 \pm 13a	19 \pm 7a	1,5 \pm 0,6a
	800	222 \pm 56a	16 \pm 2b	9 \pm 1b	115 \pm 17b	6 \pm 1b	3 \pm 1b	16 \pm 4b	6 \pm 2b	0,4 \pm 0,1b
<i>N. antarctica</i>	400	124 \pm 25b	17 \pm 1b	12 \pm 1b	155 \pm 22b	9 \pm 1b	4 \pm 1b	29 \pm 7b	4 \pm 1b	0,4 \pm 0,1b
	800	233 \pm 97a	28 \pm 2a	20 \pm 1a	440 \pm 52a	14 \pm 2a	7 \pm 1a	76 \pm 23a	19 \pm 10a	1,8 \pm 1,0a
Diferencia entre especies		***	*	***	***	***	***	***	**	**
Interacción N x E		***	***	***	***	***	***	***	***	***

LCG: longitud célula guarda; ACG: ancho celula guarda; ArCG: área célula guarda; LPE: longitud de poro estoma; APE: ancho de poro estoma; ArPE: área de poro estoma; ICP: índice de conductancia potencial. Para una misma especie letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre niveles de CO_2 . Niveles de significancia estadística para especies y su interacción con nivel de CO_2 (N x E): * ($P < 0,05$); ** ($P < 0,01$); *** ($P < 0,001$); ns (no siginificante).

Con respecto a los tamaños y proporciones de los distintos componentes de los tejidos foliares, con concentraciones de 400 ppm de CO_2 el espesor de lámina, epidermis adaxial (haz) y abaxial (envés) y el porcentaje de parénquima esponjoso fueron

significativamente más altos en hojas de *N. betuloides*, mientras que el porcentaje de epidermis adaxial y de parénquima en empalizada fueron superiores en *N. antarctica* (Tabla 4.6). No obstante, cabe aclarar que, aunque el porcentaje de parénquima en empalizada haya sido superior en *N. antarctica*, en *N. betuloides* el valor absoluto de este tejido sería más alto debido al espesor de lámina considerablemente mayor.

Por otro lado, en las hojas de *N. betuloides* aumentó la proporción de espacios intercelulares, mientras que disminuyó la proporción de epidermis adaxial, el parénquima en empalizada y esponjoso en respuesta a la mayor concentración de CO₂ (Tabla 4.6) (Figura 4 A y B). Otros parámetros como los espesores de lámina y epidermis (adaxial y abaxial) no variaron entre niveles de CO₂. En el caso de *N. antarctica* solo la proporción de espacios intercelulares de la hoja aumentaron con el incremento de CO₂ (Figura 4.11 A y C), en tanto que el espesor de lámina, espesor de epidermis abaxial, proporción de epidermis adaxial y abaxial y parénquima en empalizada se redujeron con la mayor concentración de CO₂ en aire (Tabla 4.6). Los restantes parámetros no se vieron modificados en esta especie.

Tabla 4.6. Valores de tamaños y proporciones de distintos tejidos foliares de dos especies de *Nothofagus* (*N. antarctica* y *N. betuloides*) al crecer en dos niveles de concentración de CO₂ (400 y 800 ppm). Los valores son las medias ± los desvíos estándar.

Especie (E)	Nivel de CO ₂ (N) (ppm)	EsLa (µm)	EsEh (µm)	EsEe (µm)	EpH (%)	EpE (%)	PaEm (%)	PaEs (%)	EsIn (%)
<i>N. betuloides</i>	400	288±8a	33±7a	23±7a	11±1a	8±2b	18±3a	22±4a	42±6b
	800	294±7a	32±5a	26±5a	9±1b	7±1b	13±5b	14±6b	56±8a
<i>N. antarctica</i>	400	186±9a	24±4a	19±4a	12±2a	10±2a	23±4a	14±4b	41±5b
	800	165±11b	20±3a	13±2b	10±3b	8±2b	18±7b	15±5b	49±8a
Diferencia entre especies		***	***	***	ns	**	***	***	*
Interacción N x E		***	ns	***	ns	ns	ns	***	ns

EsLa: espesor de lámina; EsEh: espesor de epidermis adaxial (haz); EsEe: espesor de epidermis abaxial (envés); EpH: epidermis adaxial (haz); EpE: epidermis abaxial (envés); PaEm: parénquima en empalizada; PaEs: parénquima esponjoso; EsIn: espacios intercelulares. Los porcentajes se refieren al total de la sección transversal de la hoja.

Para una misma especie letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre niveles de CO₂.

Niveles de significancia estadística para especies y su interacción con nivel de CO₂ (N x E): * ($P < 0,05$); ** ($P < 0,01$); *** ($P < 0,001$); ns (no significativo).

El espesor de la cutícula adaxial y abaxial fueron mayores ($P < 0,05$) en *N. betuloides*, tanto a niveles normales de CO_2 como a valores aumentados (800 ppm) respecto a *N. antarctica*. Por otro lado, cuando se compararon los valores para una misma especie a distintos niveles de CO_2 , se observó que en *N. betuloides* el incremento de CO_2 generó un aumento del espesor de la cutícula adaxial y una disminución de la cutícula abaxial, mientras que en *N. antarctica* no se generaron cambios en espesor de cutículas con el aumento de CO_2 (Tabla 4.7). Con respecto al área ocupada por cloroplastos, a niveles de 400 ppm de CO_2 no se encontraron diferencias entre especies ($P > 0,05$). Mientras que en *N. betuloides* no se produjeron cambios en el área de cloroplastos a causa del incremento en el nivel de CO_2 , en *N. antarctica* el aumento de CO_2 generó mayor área de cloroplastos (Tabla 4.7). En relación a esto, también se pudo observar a través de las imágenes de microscopía electrónica de transmisión (TEM) que en muchos casos los cloroplastos en *N. antarctica* y *N. betuloides*, se vieron dañados con el incremento de la concentración de CO_2 (Figura 4.15 y 4.16). Sin embargo, este daño no pudo ser cuantificado.

Tabla 4.7. Valores de espesor de cutícula adaxial (haz) y abaxial (envés) y área de cloroplastos de dos especies de *Nothofagus* (*N. antarctica* y *N. betuloides*) creciendo en dos niveles de concentración de CO_2 (400 y 800 ppm). Los valores son las medias \pm los desvíos estándar.

Especies (E)	Nivel de CO_2 (N) (ppm)	Espesor de cutícula del haz (μm)	Espesor de cutícula del envés (μm)	Área de cloroplastos (μm^2)
<i>N. betuloides</i>	400	1,07 \pm 0,09b	1,12 \pm 0,18a	7,6 \pm 3,2a
	800	1,7 \pm 0,31a	0,95 \pm 0,04b	6,6 \pm 2,7a
<i>N. antarctica</i>	400	0,26 \pm 0,02a	0,29 \pm 0,12a	7,5 \pm 3,2b
	800	0,28 \pm 0,04a	0,28 \pm 0,06a	12,2 \pm 5,5a
Diferencia entre especies		***	***	***
Interacción N x E		***	***	***

Para una misma especie letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre niveles de CO_2 .

Niveles de significancia estadística para especies y su interacción con nivel de CO_2 (N x E): * ($P < 0,05$); ** ($P < 0,01$); *** ($P < 0,001$); ns (no significativo).

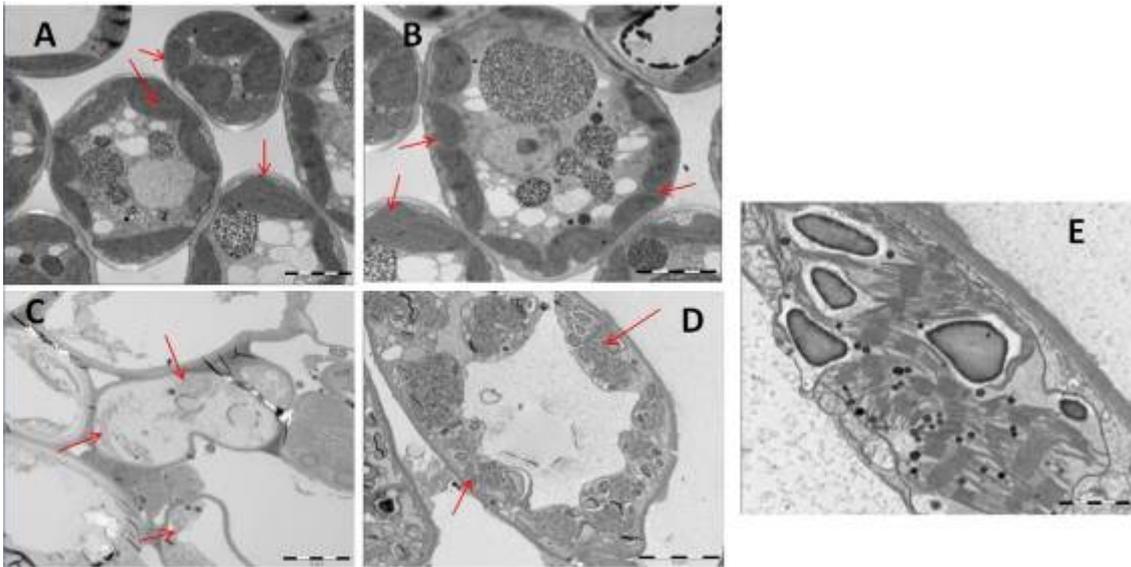


Figura 4.15. Imágenes de microscopía electrónica de transmisión (TEM) de cloroplastos de hojas de *Nothofagus antarctica* creciendo a 400 ppm de CO₂ (A y B); y creciendo a 800 ppm de CO₂ (C, D y E). Las flechas rojas señalan los cloroplastos.

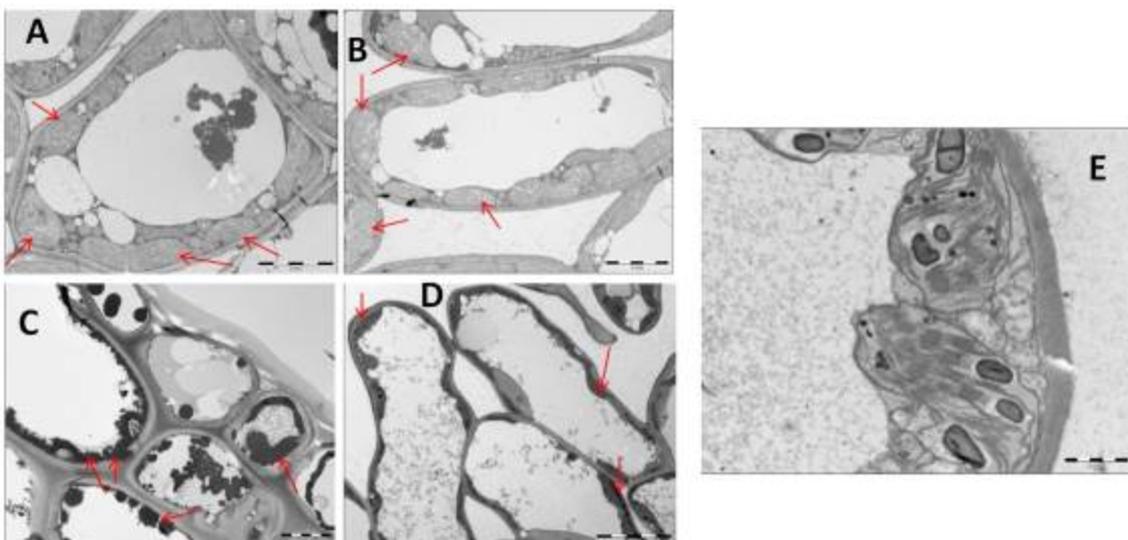


Figura 4.16. Imágenes de microscopía electrónica de transmisión (TEM) de cloroplastos de hojas de *Nothofagus betuloides* creciendo a 400 ppm de CO₂ (A y B); y creciendo a 800 ppm de CO₂ (C, D y E). Las flechas rojas señalan los cloroplastos.

DISCUSIÓN

Topografía de las hojas desarrolladas en diferentes concentraciones de CO₂

Entre los fenómenos asociados al cambio climático, se espera un incremento en la concentración de CO₂ atmosférico (informe IPCC, First 2019) por lo que un mayor conocimiento de los posibles mecanismos de respuesta a nivel ecofisiológico de estas dos especies de *Nothofagus* al estrés producido por un exceso de CO₂ puede ser importante para determinar su adaptabilidad a dicho incremento. En este contexto, en el presente capítulo se llevaron a cabo estudios en cámara de cultivo para evaluar el efecto de la concentración de CO₂ del aire en cuanto a la anatomía foliar de una especie de *Nothofagus* de hoja caduca (*N. antarctica*) y otra de hoja perenne (*N. betuloides*), siendo éste el primer estudio para especies de bosques nativos de Argentina. Para ello, se mantuvieron las plantas durante varios meses en condiciones de buena disponibilidad hídrica e irradiación, pero sujetas a concentraciones de 400 (control) o de 800 ppm de CO₂ en el aire. Cabe señalar que el efecto del crecimiento de las plantas a elevadas concentraciones de CO₂ en el aire ha sido evaluado a nivel de ultra-estructura, en pocos estudios realizados con un limitado número de especies (Leadley et al. 1987, Radoglou y Jarvis 1990, Griffin et al. 2001). Sin embargo, cabe destacar que en ninguno de los citados estudios se ha evaluado el efecto de la elevada concentración de CO₂ del aire en la estructura y características físico-químicas de las superficies foliares incluyendo su mojabilidad o energía libre superficial. A nivel de la anatomía foliar general cabe señalar que ambas especies poseen hojas heterobáricas, cuyo mesófilo está compartimentalizado en aerolos y dividido por las extensiones de la vaina del haz (Liakoura et al. 2009, Wylie 1943, 1952). Algunos estudios mostraron que las extensiones de la vaina del haz actúan como filtros para el transporte de luz a las células de mesófilo (Karabourniotis et al. 2000, Nikolopoulos et al. 2002), además de actuar como soporte mecánico o contribuir al transporte de agua (Wylie, 1943, 1952) e incluso nutrientes (Li et al. 2018). En el presente estudio, ambas especies presentaron un notable desarrollo de extensiones la vaina del haz como se observó a nivel de topografía (Figuras 4.4 a 4.7) o en la sección transversal (Figuras 4.10 y 4.12) de las hojas. En las hojas de las plantas sometidas a elevada concentración de CO₂ en el aire se observó una tendencia a que las extensiones de la vaina del haz estuvieran más juntas, sobresalientes y que aportaran más rugosidad a la superficie.

Características de mojabilidad creciendo a dos niveles de CO₂

Las superficies de las plantas y de las hojas juegan un papel crucial de protección contra diversos factores de estrés biótico y abiótico (Riederer 2006). Además, se está reconociendo la importancia ecofisiológica de la captación de agua por vía foliar para la economía de las plantas en los ecosistemas naturales de diversas zonas del mundo (Dawson y Goldsmith 2018, Berry et al. 2014, Binks et al. 2019). Por ejemplo, en varios estudios se han aportado pruebas de la absorción de agua líquida (Oliveira et al. 2005, Breshears et al. 2008, Fernández et al. 2014b), de la niebla (Limm y Dawson 2010, Eller et al. 2013, Berry et al. 2014, Guzmán-Delgado et al. 2018) o del rocío (Munné-Bosch et al. 1999, Konrad et al. 2012). La mojabilidad de las superficies foliares y la posible adherencia o repelencia de gotas de agua, por ejemplo, de lluvia, a priori facilitará o impedirá el proceso de absorción (Fernández et al. 2017, Bahamonde et al. 2018a). Las interacciones de las superficies de las hojas con el agua, microorganismos o aerosoles atmosféricos van a variar según su rugosidad, la cual puede deberse a la micro- y nano-estructura de las células epidérmicas, las ceras epicuticulares y/o la existencia de pliegues cuticulares (Koch y Barthlott 2009, Fernández et al. 2017). Por lo tanto, la micro y nano-rugosidad de las superficies foliares junto con su composición química determinarán las interacciones físico-químicas con las sustancias o materiales que se depositen sobre ellas (Khayet y Fernández 2012, Fernández y Khayet 2015).

En primer lugar se discutirán los parámetros evaluados con énfasis en las diferencias entre *Nothofagus antarctica* y *N. betuloides* desarrollándose a niveles normales de CO₂ (400 ppm), para luego centrar la discusión en el efecto asociado al aumento de la concentración de CO₂ (800 ppm) sobre dichos parámetros en ambas especies.

Las características de mojabilidad de las especies de *Nothofagus* se analizaron mediante la medición de ángulos de contactos de 3 líquidos de diferente grado de polaridad y apolaridad. En líneas generales, se observó que las superficies foliares adaxiales de las hojas de *N. antarctica* mostraron una tendencia a ángulos más altos que las de *N. betuloides*. Esto implica que las hojas de *N. betuloides* tienen mayor propensión a mojarse y retener agua en su superficie. Los valores obtenidos para el lado adaxial en *N. betuloides* son similares a los de otras superficies con poca rugosidad como la del olivo (Fernández et al. 2017). Los ángulos un poco más altos medidos para *N. antarctica* estarían en un rango similar al obtenido para el lado adaxial en hojas de *Ficus elastica*

(Fernández et al. 2015). En el caso de ambas especies de *Nothofagus*, el lado abaxial es algo más mojable que el de la hoja de *Fagus sylvatica* (Bahamonde et al. 2018a). No obstante, a pesar de las diferencias mencionadas, ambas especies presentaron valores que estarían en el rango de lo que se consideran superficies mojables ($<90^\circ$), a excepción del lado abaxial de la hoja de *N. antarctica* que supera los 90° y por lo tanto es no-mojable (Fernández et al. 2017). En el único estudio que incluye una especie de *Nothofagus* sudamericano en este tipo de medidas, Brewer y Nuñez (2007) observaron que las hojas de *N. dombeyi* tenían ángulos de contacto con el agua de 50 y 61° en su haz y envés, respectivamente, siendo este estudio realizado en Patagonia Norte, Argentina. En este mismo estudio, Brewer y Nuñez (2007) midieron los ángulos de contacto con el agua de 37 especies desarrollándose en distintos ambientes de la Patagonia, desde estepa hasta bosque andino, y encontraron una fuerte tendencia a que aquellas especies que crecen en lugares más áridos tuvieran ángulos de contacto más elevados con el agua en comparación con las plantas de bosques lluviosos. Esto estaría en concordancia con los valores más altos de ángulos de contacto con el agua en *N. antarctica* que en *N. betuloides* encontrados en nuestro estudio (Figura 4.9).

En relación a la energía libre superficial total (γ) calculada para el lado adaxial y abaxial de las hojas de *N. betuloides* y *N. antarctica*, los valores están dentro del rango promedio de 23 a 35 mJ m^{-2} estimado para superficies de parafina con poca rugosidad (Jańczuk y Białopiotrowicz 1988) y correspondiéndose con especies de poca rugosidad (Fernández et al. 2017). En general para el parámetro de solubilidad (δ) los valores obtenidos para las hojas de *Nothofagus betuloides* a través de la medición de ángulos de contacto están dentro del rango teórico descrito para las ceras epicuticulares (en torno 16 a $17 \text{ M}^{1/2} \text{ m}^{-3/2}$, Khayet y Fernández 2012). Las superficies abaxiales (envés) de la hoja de *N. antarctica* presentaron valores más bajos debido al efecto de la rugosidad conferida por los pliegues cuticulares (ver Figura 4.12), por la venación menor (extensiones de la vaina del haz) y también quizás debido a la presencia de tricomas no-glandulares (Figura 4.4). La presencia de pelos y la pubescencia pueden causar efectos notables a nivel de mojabilidad de las hojas y la posible adherencia o repelencia de las gotas de agua (Bickford 2016, Brewer et al. 1991).

El aumento de CO_2 generó variaciones en distintos sentidos (aumentos o disminuciones) de la mojabilidad de las superficies foliares de *N. betuloides*. Sin embargo, la tendencia fue que a mayores concentraciones de CO_2 disminuya la

mojabilidad (aumento de ángulos de contacto) con los líquidos evaluados, a excepción del lado adaxial donde aumentó la mojabilidad con el agua. En el caso de *N. antarctica*, hubo una tendencia a aumentar la mojabilidad en el lado adaxial de las hojas con el incremento de CO₂, sin que se vean modificaciones en el lado abaxial. Si bien no existen antecedentes del efecto del nivel de CO₂ sobre la mojabilidad de hojas con distintos líquidos, sí se ha visto la incidencia de otros factores ambientales en la interacción entre las superficies foliares y distintos líquidos a nivel intra-específico, donde por ejemplo se han encontrado variaciones debidas a distintos niveles de radiación (Bahamonde et al. 2018a) o diferentes tasas de fertilización (Fernández et al. 2014a). Relacionado a lo mismo en los valores de energía libre superficial total (γ) calculada, cabe destacar dos casos que exceden el rango normal estimado para las plantas crecidas a 400 ppm CO₂ en el aire, dígase, el envés de las hojas de *N. betuloides* y el haz de las hojas de *N. antarctica* de plantas crecidas a 800 ppm CO₂. Cabe destacar el incremento de energía libre superficial total y del parámetro de solubilidad de estas superficies que se debe al alto valor estimado para la componente polar de la energía libre (γ^{AB}). Esto sugiere la presencia de materiales polares en ambas superficies, que quizás pueden estar asociados a la topografía más marcada de extensiones de la vaina del haz en ambas especies, o a la presencia de tricomas no bien recubiertos de lípidos, siendo no-glandulares en el ñire y glandulares en el guindo. Sin embargo, estos aspectos no han podido ser evaluados en detalle en este estudio y la posible relación entre alto CO₂ atmosférico y modificaciones a nivel de desarrollo de tricomas o venación deberán ser evaluadas en detalles en futuras investigaciones.

Concentración de lípidos cuticulares, área foliar específica y densidad estomática foliar en dos niveles de concentración de CO₂

La presencia de lípidos cuticulares solubles (ceras) es crucial para el balance hídrico de las plantas, ya que se considera como la principal barrera para la transpiración cuticular (Riederer y Schreiber 2001) y también se asocia como una limitante para la entrada de moléculas de agua u otras sustancias (iónicas o químicas orgánicas) (Schreiber y Schönherr 2009). En el presente estudio *N. betuloides* mostró una concentración bastante más alta de ceras y mayor espesor de cutícula que *N. antarctica*, tanto en

niveles normales de 400 ppm CO₂ como cuando se duplicó dicha concentración. No existen datos sobre estos parámetros medidos en otros *Nothofagus*, pero los valores de *N. antarctica* fueron similares a los reportados para una Fagácea del hemisferio norte (*Fagus sylvatica*) (Bahamonde et al. 2018a). Considerando el potencial efecto “barrera” de estas ceras cuticulares a la entrada de agua, las hojas de *N. antarctica* presentarían mayor probabilidad de absorber agua que las de *N. betuloides*. El aumento de la concentración de lípidos con el incremento de CO₂ en ambas especies evidencia el efecto de este factor ambiental sobre la estructura cuticular de las hojas de las especies estudiadas. Aunque no se han encontrado otros estudios que relacionen la concentración de lípidos cuticulares con distintos niveles de CO₂ en el aire, sí se ha visto que otros factores ambientales pueden modificar este parámetro de la cutícula de las hojas, tales como radiación, temperatura y humedad (Bahamonde et al. 2018a, Shepherd y Wynne Griffiths 2006). La mayor área foliar específica (AFE) observada en *N. antarctica* se mantuvo en ambos niveles de CO₂. Los valores más bajos en *N. betuloides* se condicen con los valores publicados por Calabria y Puntieri (2008) para otro *Nothofagus* siempreverde (*N. dombeyi*) en Patagonia. Estas diferencias entre especies deciduas y siempreverdes también han sido informadas en otras publicaciones (Ackerly et al. 2002) y estarían asociadas a los parámetros celulares de las hojas. A diferencia de otros estudios donde se han observado disminuciones (Oksanen et al. 2005) o aumentos (Norby et al. 1999) de AFE al aumentar la concentración de CO₂, en este estudio el aumento de CO₂ no generó modificaciones en el AFE en las especies bajo estudio.

En las concentraciones de CO₂ atmosférico actual (400 ppm) *N. betuloides* presentó características estomáticas ventajosas en comparación a *N. antarctica*, desde el número de estomas a su tamaño, lo cual redundó en valores superiores de índice de conductancia potencial. Esto implicaría que, si ambas especies crecen en condiciones ambientales similares, *N. betuloides* podría mostrar mayor tasa de fotosíntesis como se ha visto en otras especies (Xu y Zhou 2008, Van Wittenberghe et al. 2012) y esto se debería principalmente a un aumento de la conductancia estomática (Maherali et al. 2002). Estos datos nos permiten especular que este tipo de caracteres anatómicos estomáticos podrían tener incidencia en los mayores tamaños que alcanzan en general los árboles de guindo en comparación con los de ñire en Patagonia austral, como se ha informado para otras especies arbóreas (Camargo y Marengo 2011). No obstante, para

poder corroborar esto se deben realizar ensayos que comparen las tasas fotosintéticas y el crecimiento de ambas especies en iguales condiciones ambientales.

El aumento de CO₂ se tradujo en un incremento en la densidad estomática y en todos los demás parámetros evaluados de *N. antarctica*, pero en *N. betuloides* aunque no varió la densidad estomática, disminuyeron todos los parámetros restantes. Respecto a esto existen diferentes resultados publicados donde en algunos casos se han informado aumentos (Marchi et al. 2004), disminuciones (Sekiya y Yano 2008) o invariabilidad (Ogaya et al. 2011) de la densidad de estomas de plantas a las que se les aumentó artificialmente la concentración de CO₂. Respecto a si la diferente respuesta entre las 2 especies de *Nothofagus* evaluadas aquí pueda deberse a que una es decidua y otra perenne, no se han encontrado antecedentes que permitan sostener esta especulación. Ogaya et al. (2011) compararon la densidad y tamaño estomáticos de 5 especies arbóreas (3 perennes y 2 deciduas) ante al aumento de concentración de CO₂ de 400 a 800 ppm, sin que se observen diferencias entre especies deciduas y perennes. En una revisión más reciente Klein y Ramon (2019) analizaron el efecto del aumento en la concentración de CO₂ atmosférico sobre la conductancia estomática de 57 especies arbóreas (deciduas y perennes). Estos autores encontraron una tendencia a que las especies perennes disminuyeran en mayor magnitud su conductancia estomática ante el aumento de CO₂, sin embargo al comparar por pares hubo especies deciduas que mostraban valores más bajos de conductancia estomática que algunas perennes. En relación con esto, existe evidencia publicada que indica que la formación de estomas tiene una fuerte influencia de distintos factores ambientales (temperatura, radiación, humedad, déficit de presión de vapor, concentración de CO₂) (Casson y Gray 2008) ya sea directamente o a través de modificaciones hormonales que implican cambios en la formación o tamaños de células estomáticas (Caspar et al. 2014). También se ha evidenciado que hay genes involucrados en la formación de estomas que son independientes de variaciones ambientales (Bergmann y Sack 2007). Esto nos sugiere que en *N. betuloides* podría haber un mayor control genético en la formación de estomas, no así en sus parámetros de crecimiento que se ven disminuidos con el aumento de CO₂.

Estructura de la epidermis y del mesófilo y ultra-estructura de las hojas

Respecto a los tejidos foliares, los valores absolutos (espesor de lámina, espesor de epidermis adaxial y abaxial) tendieron a ser mayores en *N. betuloides* cuando las dos especies bajo estudio crecieron en condiciones de 400 ppm de CO₂, aunque cuando esos parámetros (espesor de lámina, espesor de epidermis adaxial y abaxial) se calcularon en términos relativos, los porcentajes tendieron a ser mayores en *N. antarctica*. Aunque no se encontraron otras publicaciones sobre cuantificación de estos parámetros para las especies aquí estudiadas, Ivancich et al. (2012) reportaron datos de tejidos foliares de *N. pumilio*, una especie caducifolia que puede co-existir tanto con *N. antarctica* como con *N. betuloides* en ciertas zonas de transición o como bosques mixtos (Peri et al. 2019). Los valores informados por Ivancich et al. (2012) cuando las plantas de *N. pumilio* crecían a altos valores de irradiación (64 %) fueron similares a los encontrados para *N. antarctica* en nuestro estudio. Mayores valores de espesor de lámina y parénquima han sido asociados a tasas más altas de fotosíntesis en distintas especies (Niinemets et al. 2011). En nuestro caso, aunque el tamaño de cloroplastos no varió entre especies cuando crecieron a 400 ppm de CO₂, es esperable que, al tener una lámina y parénquima mayores, *N. betuloides* cuente con mayor cantidad de cloroplastos, lo cual podría implicar mayores tasas de fotosíntesis en esta especie, en concordancia con lo expuesto previamente en relación a la densidad y tamaño de estomas de las hojas de *N. betuloides*.

Por otro lado, el efecto del aumento en la concentración de CO₂ sobre parámetros de la anatomía foliar ha sido estudiado para distintas especies incluyendo árboles, arbustos, gramíneas y leguminosas (Oksanen et al. 2005, Han et al. 2007, Tipping y Murray 2011). Sin embargo, en *Nothofagus* sudamericanos no se han encontrado antecedentes de este tipo. En este estudio, el aumento de CO₂ generó una disminución de la lámina foliar, epidermis y parénquima en empalizada en *N. antarctica*. Mientras que en *N. betuloides* si bien no cambiaron significativamente los valores absolutos, los porcentajes de epidermis superior, parénquima en empalizada y esponjoso disminuyeron con el aumento de CO₂. Es decir, en ambas especies se generaron disminuciones de tejidos anatómicos foliares, y en consecuencia un aumento de espacios intercelulares, pero en *N. antarctica* este efecto fue de mayor magnitud. Aunque no existe certeza respecto a

los mecanismos que generan una disminución de los tejidos foliares estudiados con el aumento de CO₂, algunos estudios han publicado que el incremento de CO₂ puede modificar las tasas de división y crecimiento celular de distintas partes de las plantas (Kinsman et al. 1997, Masle 2000). Relacionado a esto, hay evidencias que indican que el consecuente aumento de espacios inter celulares se traduce en un incremento en la conductancia del mesófilo al CO₂ y un potencial aumento de la fotosíntesis (Scafaro et al. 2011, Niinemets et al. 2011).

Si bien estas disminuciones de los tejidos foliares fueron significativas estadísticamente, no determinaron un aumento en los valores de AFE con el aumento de CO₂ como los incrementos (Conroy et al. 1986, Radoglou y Jarvis 1990, Pritchard et al. 1999, Oksanen et al. 2005) y disminuciones (Pushnik et al. 1995) reportados en distintos tejidos foliares de otras especies con el enriquecimiento de CO₂. El aumento de tejidos foliares con mayor concentración de CO₂ se debería a que se estimula la actividad enzimática de xyloglucan-endotransglucosilasa, una enzima estrechamente relacionada con la expansión de las paredes celulares (Ranasinghe y Taylor 1996). Los mecanismos que expliquen una reducción en los tejidos foliares a causa del incremento en la concentración de CO₂ no están claramente definidos.

El incremento en el tamaño de cloroplastos debido a la mayor concentración de CO₂ que encontramos en *N. antarctica* también ha sido medido en hojas de *Betula pendula* (Oksanen et al. 2005). Tanto el aumento de tamaño como el daño de cloroplastos a causa de elevadas concentraciones de CO₂ han sido relacionados a la acumulación de almidón en estas estructuras (Prior et al. 2004, Wang et al. 2004) y que en algunos casos provoca hinchamientos de las membranas tilacoides (Utriainen et al. 2000, Velikova et al. 2009). Sin embargo, en este estudio no apreciamos granos de almidón en las imágenes de TEM obtenidas.

Por otro lado, no se conocen antecedentes que hayan estudiado el efecto de la temperatura y/o la humedad, sobre los parámetros aquí evaluados, en las especies analizadas en el presente estudio. No obstante, existen investigaciones que han analizado el efecto de variaciones ambientales sobre las características anatómicas foliares de otras especies. Luomala et al. (2005) estudiaron el efecto del aumento de la temperatura del aire sobre distintas características de la anatomía foliar de *Pinus*

sylvestris en Finlandia. Las autoras indican que el incremento de 2,8 y 6,2 °C en el periodo de verano e invierno, respectivamente, generó una disminución en: el espesor de la epidermis, área de mesófilo y densidad estomática de las acículas. En otro estudio más reciente Hartikainen et al. (2020) han reportado que un incremento de entre 0,8 y 1,0 °C de la temperatura del aire causó la disminución de la densidad de tricomas no glandulares y del grosor de la epidermis de hojas de *Betula pendula*. En este mismo sentido Shepherd y Griffiths (2006) publicaron una extensa revisión que relaciona el efecto de distintos factores ambientales (temperatura, humedad, salinidad, etc) sobre la concentración y composición de lípidos cuticulares. En esta publicación los autores indicaron que el efecto del aumento de la temperatura sobre las ceras cuticulares dependía, entre otras cosas, de la especie estudiada, sin que se encontrase un patrón de respuesta similar en todos los estudios analizados.

En el presente estudio se han evaluado los efectos del incremento en la concentración de CO₂ en plantas desarrollándose en cámaras de cultivo con temperaturas que se consideraban no limitantes para su crecimiento. No obstante, estas temperaturas fueron superiores a las que suelen tener las especies bajo estudio en sus ambientes naturales. Considerando los antecedentes bibliográficos previamente descritos, es posible que la anatomía foliar de las especies del presente estudio cuando crecen en condiciones naturales sean diferentes a las observadas en las condiciones de cámara de cultivo aquí usadas. Por otro lado, si tenemos en cuenta la amplia distribución geográfica que tienen las especies del presente estudio, con las variaciones ambientales que eso conlleva, se hace prácticamente imposible definir un valor de temperatura a usar en un ensayo en cámara de cultivo, que sea representativo de la distribución natural de las especies evaluadas. Debido a esto, es necesario ser cautelosos en la interpretación de los resultados obtenidos, especialmente al comparar las dos especies en condiciones actuales de concentración de CO₂ (400 ppm) y su posible asociación a las condiciones de campo.

CONSIDERACIONES FINALES

Considerando los resultados obtenidos, las dos especies estudiadas mostraron que creciendo a 400 ppm de CO₂ presentan ángulos de contacto con 3 líquidos y parámetros derivados (energía libre superficial y parámetro de solubilidad) que estarían en un rango que permite su mojabilidad por parte del agua. Si bien *N. betuloides* presentó mayor mojabilidad que *N. antarctica*, la alta concentración de ceras epicuticulares implicarían que *N. antarctica* presente mayor potencial de absorción de agua a través de sus hojas. No obstante, para corroborar esto se deben realizar ensayos más específicos que evalúen la entrada del agua a través de las superficies foliares de estas especies y en condiciones ambientales de campo.

Con respecto al efecto del aumento de la concentración de CO₂ podemos concluir que las dos especies tuvieron modificaciones sobre distintos parámetros evaluados a nivel superficial, anatómico y de ultra-estructura de las hojas. En términos generales no se apreció mayor susceptibilidad de *N. antarctica* a los cambios propiciados por el aumento de CO₂, como se había hipotetizado.

Finalmente, los resultados obtenidos sugieren que, independientemente de algunas diferencias entre las especies estudiadas, ambas verán modificados varios parámetros anatómicos, tanto de sus superficies como internos con el aumento de CO₂, así como también algunos daños puntuales en los cloroplastos. Si consideramos que en este estudio los cambios anatómicos obtenidos se generaron duplicando la concentración de CO₂ del aire y que más allá de algunos daños puntuales no se apreciaron cambios que puedan suponer una pérdida importante de la capacidad funcional de estas especies, es esperable que ante un aumento gradual de la concentración de CO₂, estas especies generen respuestas que no pongan en riesgo su continuidad. No obstante, para corroborar esto se deben plantear más estudios que profundicen en este tema, así como también combinando factores climáticos que puedan verse modificados a causa del incremento de CO₂, principalmente agua y temperatura.

CAPITULO 5

REABSORCIÓN FOLIAR DE NUTRIENTES ESENCIALES Y ELEMENTOS TRAZA EN DOS ESPECIES DE *Nothofagus* COEXISTENTES, CRECIENDO EN DIFERENTES CONDICIONES AMBIENTALES, EN PATAGONIA AUSTRAL, ARGENTINA.

Bahamonde, H. A., Fernández, V., Gyenge, J., Mattenet, F., & Peri, P. L. (2019). Essential nutrient and trace element foliar resorption of two co-existing *Nothofagus* species grown under different environmental conditions in southern Patagonia. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 1542.

INTRODUCCIÓN

La productividad primaria neta en bosques templados está fuertemente asociada al reciclado interno de sus nutrientes (Schlesinger 1991). Relacionado a esto, el “movimiento” de nutrientes desde las hojas, previo a su abscisión, hacia otros tejidos y/o órganos de almacenamiento ha sido identificado como un componente clave de la estrategia de conservación de nutrientes en bosques de todo el mundo (Ares y Gleason 2007, Freschet et al. 2010), siendo el término “reabsorción de nutrientes” (RNu) el término más ampliamente aceptado para este proceso (Killingbeck 1996). Esta estrategia les permite a las plantas usar los nutrientes reabsorbidos para destinarlos a crecimiento y/o almacenamiento en tejidos vegetales para su uso posterior (Van Heerwaarden et al. 2003), y de esta manera minimizan la dependencia de la planta de los nutrientes del suelo, sobre todo en épocas de escasez. Muchos estudios de RNu en árboles se han focalizado en macronutrientes (mayoritariamente nitrógeno (N) y fósforo (P)) como los principales elementos limitantes del crecimiento en ecosistemas forestales (Hagen-Thorn et al. 2006). A escala global se considera que las plantas terrestres pueden reabsorber más del 60 % del N y P de sus hojas (Vergutz et al. 2012). En contraste, la reabsorción de otros macronutrientes (como calcio (Ca), potasio (K) y magnesio (Mg)) y micronutrientes (como cobre (Cu) o cinc (Zn), entre otros) ha sido muy poco estudiada (Vergutz et al. 2012) a pesar de que juegan un rol muy importante en el metabolismo de las plantas y en el funcionamiento de los ecosistemas (Vitousek y Howarth 1991, Liu et al. 2014). Por otro lado, algunos estudios sugieren que una mayor RNu es más común en plantas que crecen en suelos con baja disponibilidad de nutrientes (Pugnaire y Chapin 1993, Wang et al. 2018), mientras que otros han publicado que la RNu es mayor en suelos más ricos en nutrientes (Fisher y Binkley 2000). Aunque también hay estudios que no han encontrado relación entre RNu y las condiciones del suelo (Aerts 1996, Diehl et al. 2003). No obstante, el proceso de reabsorción de nutrientes parece ser afectado por cambios en las condiciones ambientales, tales como aumentos de temperatura o restricciones de agua en suelo (Lawrence y Melgar 2018). Algunos autores han reportado, por ejemplo, una fuerte influencia de la latitud, precipitación media anual y temperatura en la reabsorción de N y P (Yuan y Chen 2009, Zhao et al. 2017).

En la actualidad, se reconocen 17 elementos de la tabla periódica como macro- y micronutrientes esenciales para las plantas (Marschner 2012). También hay otros elementos tales como aluminio (Al, Pilon-Smits et al. 2009) o titanio (Ti, Lyu et al. 2017) que a bajas concentraciones son considerados beneficiosos para algunas especies. Por otro lado, otros elementos traza son considerados beneficiosos a bajas concentraciones y perjudiciales en altas cantidades. Por ejemplo, el agregado de bajas cantidades de litio (Li) en algunas especies ha mostrado una mejora en el crecimiento de esas plantas, pero también se han publicado muchos casos de toxicidad por litio en plantas de distintas zonas del mundo (Shahzad et al. 2016). También se conocen los efectos perjudiciales de muchos metales pesados, tales como plomo (Pb, Pourrut et al. 2011), talio (Tl, Mazur et al. 2016), o estroncio (Sr, Sasmaz y Sasmaz 2017), al ser absorbidos por plantas. El rubidio (Rb) a menudo ha sido usado como marcador para potasio (K) en estudios de nutrición de plantas, pero aparentemente las plantas pueden discriminar entre Rb y K de manera que cuando hay restricción de K se facilita la absorción de Rb (Nyholm y Tyler 2000). Todos los elementos esenciales, beneficiosos y traza pueden estar disponibles en suelo y ser absorbidos por las plantas, pero la información acerca de la ocurrencia y potencial tasa de reabsorción en ecosistemas forestales es muy limitada.

En Patagonia austral, Argentina (Santa Cruz y Tierra del Fuego; 46° - 55° latitud sur), los bosques nativos cubren aproximadamente 1,2 millones de hectáreas, donde *Nothofagus pumilio* (lenga) y *N. antarctica* (ñire) son las especies mayoritarias con 95 % del total (Collado 2001, Peri et al. 2019). En términos generales, estas dos especies caducifolias crecen en sitios distintos, con condiciones ambientales más bien contrastantes. Como se mencionó al comienzo de esta tesis, los bosques de *N. pumilio* son encontrados mayoritariamente como bosques puros (aunque en Tierra del Fuego se pueden encontrar también asociados con la especie siempreverde *N. betuloides* en zonas de transición), en suelos bien desarrollados y con buen drenaje. En contraste, los bosques puros de *N. antarctica* (una especie con mayor plasticidad ecológica) suelen ser encontrados en sitios con diferentes factores limitantes para el crecimiento de las plantas, tales como suelos rocosos y pobremente drenados, o ambientes xéricos en el límite con la estepa patagónica (Frangi et al. 2004). Las diferencias en las tasas de crecimiento entre estas dos especies de *Nothofagus*, siendo más altas en *N. pumilio*, determinan pequeñas áreas de transición donde ambas especies pueden coexistir. En un

ensayo bajo condiciones controladas, Peri et al. (2009) encontraron tasas más altas de fotosíntesis y de conductancia estomática en plántulas bien regadas de *N. pumilio* en comparación con plántulas de *N. antarctica*. Sin embargo, cuando el agua se convirtió en un factor de estrés (ya sea por sequía o por inundación) las plántulas de *N. antarctica* mostraron mejores índices de crecimiento. De manera similar, Dettmann et al. (2013) reportaron que en un estudio regional con varias especies de *Nothofagus* en Patagonia, *N. antarctica* presentó diámetros de vaso de xilema más pequeños, lo cual le ayudaría a reducir la pérdida de conductancia hidráulica causada por embolismo inducido por frío. Este tipo de características podría explicar parcialmente la menor tasa de crecimiento de los árboles de ñire en comparación *N. pumilio* y la distribución de ambas especies en condiciones naturales; sin embargo, el conocimiento de la ecofisiología de ambas especies continúa siendo muy limitado. Por otro lado, tales diferencias entre las dos especies también podrían vincularse a sus capacidades para absorber nutrientes del suelo y su posterior reabsorción previo a la caída de las hojas. Los aspectos nutricionales de ambas especies han sido poco estudiados y se han enfocado principalmente en algunos macro nutrientes; no obstante, existen estudios que han reportado mayores concentraciones de N y K y tasas más altas de reabsorción de N, P y K en árboles de *N. pumilio* que en *N. antarctica*, en bosques de Patagonia Norte (Diehl et al. 2003).

En otro estudio llevado a cabo en bosques de *N. pumilio* creciendo en un gradiente altitudinal en Tierra del Fuego, donde la productividad de los rodales disminuye a mayores altitudes (Barrera et al. 2000), Frangi et al. (2005) sugirieron que la retranslocación de nutrientes móviles sería incrementada en sitios de mayor elevación. De acuerdo a los resultados obtenidos por Peri et al. (2006, 2008), las concentraciones de N, P, K y S en hojas verdes de *N. antarctica* fueron más altas en rodales creciendo en sitios de mayor calidad (en condiciones más favorables de suelo y clima) lo cual se tradujo en mayores productividades aéreas (representada por una altura promedio de árboles maduros de 8 m o más, en comparación con sitios marginales donde los árboles no superaban los 5,3 m de altura). Similarmente, Bahamonde et al. (2018b) reportaron que los bosques de *N. antarctica* de mayor productividad en la Patagonia austral estuvieron relacionados principalmente a sitios con menores altitudes, amplitudes térmicas (diferencias entre temperaturas máximas y mínimas) más reducidas y mayores

profundidades de suelo. Con respecto a la eficiencia de reabsorción de nutrientes de *Nothofagus* spp. de los bosques de Patagonia, algunas investigaciones han indicado diferencias entre especies creciendo bajo las mismas condiciones ambientales. Por ejemplo, Hevia et al. (1999) midieron diferentes valores de reabsorción de N y P entre la perennifolia *Nothofagus dombeyi* y las caducifolias *N. pumilio* y *N. obliqua*, pero también indicaron diferencias de reabsorción entre las dos especies caducifolias estudiadas. Similarmente, Diehl et al. (2003) publicaron la existencia de alta variabilidad intraespecífica en reabsorción de nutrientes, lo cual podría ser atribuido a diferentes condiciones ambientales (principalmente climáticas). Fajardo y Piper (2015) también informaron alta variabilidad en la reabsorción de nutrientes en las especies siempreverdes *N. betuloides* y *N. dombeyi*, creciendo en seis sitios ambientalmente contrastantes, con un rango de precipitaciones desde 600 a 3000 mm por año. Sin embargo, la reabsorción de una especie particular bajo las condiciones climáticas en cada parcela experimental no fueron especificadas en ese estudio.

En este estudio, además de los elementos esenciales, la reabsorción de algunos elementos traza que pueden considerarse beneficiosos o perjudiciales para las plantas, serán evaluados por primera vez en bosques de Patagonia.

HIPÓTESIS

- 1) Debido a su mayor potencial de crecimiento, los árboles de *N. pumilio* presentarán una menor reabsorción de nutrientes en comparación con los de *N. antarctica* cuando ambas especies se desarrollen en las mismas condiciones de suelo.
- 2) Para ambas especies las tasas de reabsorción de nutrientes serán más altas en aquellos rodales creciendo bajo condiciones ambientales más restrictivas (mayor altitud, menores temperaturas y precipitaciones).

OBJETIVO PARTICULAR

Comparar la reabsorción foliar de macro y micro nutrientes y elementos traza en bosques coexistentes de *N. pumilio* y *N. antarctica* creciendo en sitios de productividad contrastante en Patagonia austral.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Los tres sitios de estudio (Tabla 5.1, Imagen 5.1) son parte de la red PEBANPA (Parcelas de ecología y biodiversidad de ambientes naturales en Patagonia Austral) (Peri et al. 2016b) y representan un gradiente ambiental que incluye altitudes, precipitación y temperatura media anual contrastantes, lo cual se traduce en rodales con árboles dominantes maduros con diferentes alturas (como aproximación a productividad del rodal). Esto implica que los sitios con árboles dominantes más altos se localizan a altitudes más bajas y están expuestos a temperaturas y precipitaciones más elevadas (Tabla 5.1). Otros parámetros bioclimáticos también difieren entre los sitios bajo estudio. Por ejemplo, las temperaturas medias durante el trimestre más húmedo del año son más altas en los sitios más productivos. Además, en las áreas con árboles dominantes más altos las temperaturas a lo largo del año son más homogéneas (menores diferencias entre las temperaturas máximas y mínimas mensuales) en comparación con sitios de menor productividad (árboles dominantes más bajos).

En cada sitio de muestreo las dos especies bajo estudio crecen juntas como rodales mixtos. Los datos de altitud y variables climáticas de cada sitio fueron obtenidos de Farr et al. (2007) y del set de datos de WorldClim (www.worldclim.org, Hijmans et al. 2005), respectivamente. En cada sitio se midió la altura de 6 árboles dominantes y maduros de cada especie. Basado en la altura promedio de árboles dominantes (H) e investigaciones previas la calidad de los sitios será definida como: alta (CSA), media (CSM) y baja (CSB). El uso de H como una aproximación de productividad se basa en

las investigaciones de Martínez Pastur et al. (2000) e Ivancich et al. (2011) con *N. pumilio* y *N. antarctica*, respectivamente. Estos autores midieron la altura y el área de árboles, estimando el volumen maderable de estos bosques de *Nothofagus* creciendo en una amplia variedad de condiciones ambientales representativas de Patagonia austral. Para tal propósito introdujeron ecuaciones de índice de sitio y obtuvieron modelos precisos que relacionaban la altura de árboles dominantes con su productividad maderera. De manera que a mayor altura de los árboles dominantes más alta es la productividad del sitio. De acuerdo a Oliva et al. (2001) los suelos de los 3 sitios son Haploboroles (Molisoles), se componen de un perfil A11 de 14 cm de espesor, un perfil A12 de 21 cm, ambos con textura franco arenosa con estructura en bloques, y un perfil AC de 65 cm sin estructura definida.

Tabla 5.1. Características principales de tres bosques de *Nothofagus* ubicados en sitios ambientalmente contrastantes en Patagonia austral.

PMA: precipitación media anual; TMA: temperatura media anual; H: altura dominante

Calidad de Sitio	Coordenadas geográficas	Altitud (m s.n.m.)	PMA (mm año ⁻¹)	TMA (°C)	H (m)	
					Na	Np
CSA	50°32'55" S - 72°48'59" O	233	610	7,2	12,3	18,5
CSM	51°13'21" S - 72°16'52" O	300	450	5,9	10,2	15,2
CSB	51°33'07" S - 72°07'26" O	550	440	5,5	7,2	12,6

de árboles maduros; Na: *Nothofagus antarctica*; Np: *Nothofagus pumilio*.

CSA: alta calidad de sitio; CSM: media calidad de sitio; CSB: baja calidad de sitio.

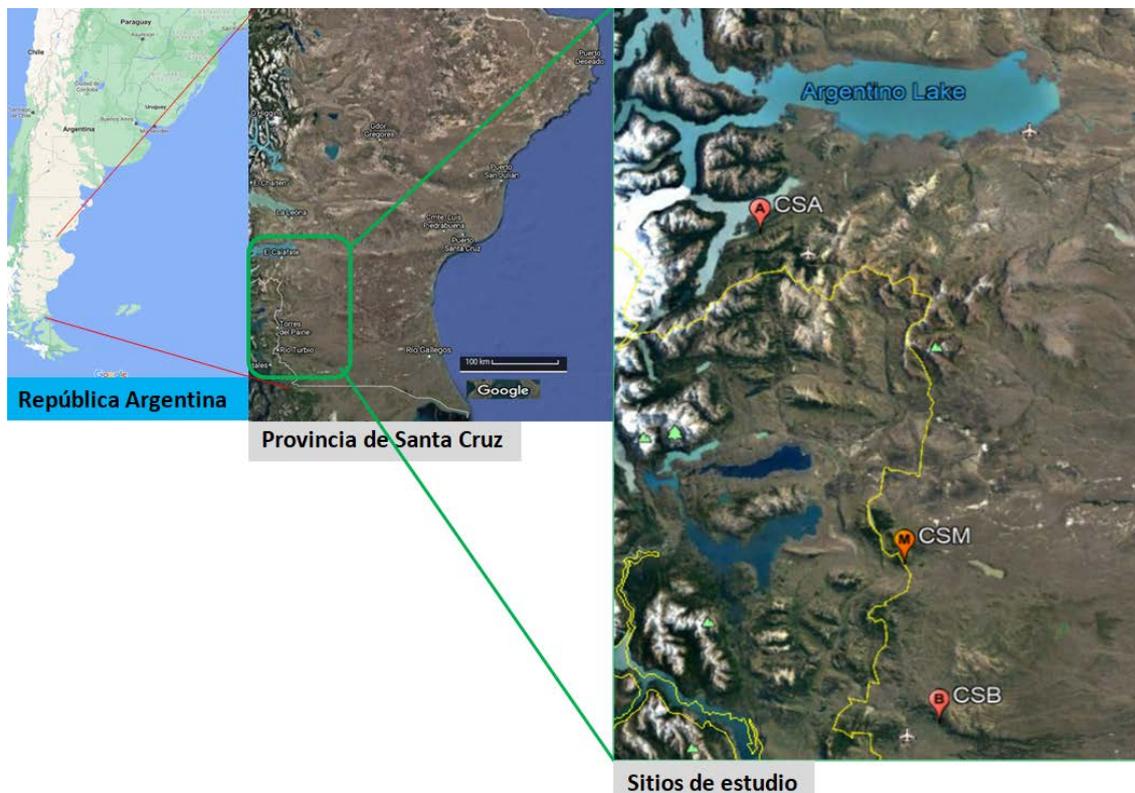


Imagen 5.1 Ubicación geográfica de los sitios (CSA, CSM y CSB) descritos en la tabla 5.1

Muestreo y análisis de hojas y suelo

A fines de febrero de 2015 (pico de periodo de crecimiento en el área de estudio) se colectaron al azar 1000 hojas (de 5 árboles, 200 hojas por árbol) totalmente expandidas, maduras y verdes, de cada especie y sitio bajo estudio, dejándose marcados los árboles muestreados. Posteriormente, en otoño (a fines de mayo) se llevó a cabo un segundo muestreo en los mismos árboles muestreados en febrero, colectando 1000 hojas por sitio que mostraban claramente un avanzado nivel de senectud previo a su caída al suelo, lo que se evidenciaba por el color amarillo de las hojas. En las dos fechas de muestreo, se colectaron hojas totalmente expuestas al sol a una altura de entre 2 y 2,5 m sobre el nivel del suelo. Asimismo, las hojas muestreadas en cada fecha fueron inmediatamente transportadas al laboratorio en bolsas plásticas cerradas y mantenidas a 3 °C en heladera. Posteriormente, las hojas fueron cuidadosamente lavadas con detergente (Cif,

Argentina) al 0,1 % para remover partículas potencialmente contaminantes, luego enjuagadas con abundante agua destilada y puestas a secar a temperatura ambiente en el laboratorio (aproximadamente a 25 °C) durante 48 horas. Luego, las hojas fueron puestas a secar en estufa a 70 °C durante 48 horas, después de lo cual fueron pesadas en balanza analítica (0,1 gr de precisión) y molidas previo a la determinación de sus elementos minerales. El nitrógeno fue medido con un analizador elemental (TruSpec). Todos los elementos restantes (Ca, K, Mg, P, S, B, Cu, Fe, Mn, Zn, Al, Li, Ni, Pb, Rb, Sr, Ti y Tl) fueron determinados a través de análisis de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) (Wheal et al. 2011) (Optima 3000, PerkinElmer) siguiendo los estándares de calibración y testeo de laboratorios de la Unión Europea (UNE-EN ISO/IEC 17025). Todos los análisis mencionados fueron realizados el laboratorio del CEBAS-CSIC (Centro de edafología y biología aplicada del segura-Consejo superior de investigaciones científicas) de Murcia, España.

Las concentraciones de nutrientes en hojas maduras (N_{mad}) y senescentes (N_{sen}) fueron usadas para calcular la eficiencia de reabsorción de nutrientes (ERN), de acuerdo a la siguiente fórmula (Aerts 1996):

$$ERN = ((N_{mad} - N_{sen}) / N_{mad}) \times FCPM \times 100$$

Donde FCPM es el factor de corrección por pérdida de masa, específicamente la relación entre masa seca hojas senescentes y la masa seca de hojas maduras (van Heerwaarden et al. 2003). Para cada sitio de muestreo y especie el FCPM fue calculado para cada árbol muestreado.

Para cada fecha y sitio de muestreo, se escanearon 10 hojas frescas de cada especie sin peciolo y se usó el software ImageJ (Rasband 2004) para calcular el área de cada muestra de hojas. Posteriormente, las hojas fueron secadas a 65 °C durante 3 días y pesadas para calcular el área foliar específica (AFE).

Adicionalmente, durante los muestreos a campo se colectaron 3 muestras de suelo (compuestas de 5 sub muestras a 20 cm de profundidad) de cada sitio donde se muestrearon las hojas. Esta profundidad de muestreo fue definida en base a datos previos que indicaban que en estos suelos el 70 % de las raíces finas se encontraban en

los primeros 20 cm de suelo (Bahamonde et al. 2016b). Estas muestras fueron transportadas al laboratorio en bolsas plásticas y mantenidas a 3 °C. Luego de una semana se procedió a tamizar las muestras en tamices con grilla de 2 mm y se pusieron a secar las muestras a 65 °C durante 3 días. Con estas muestras procesadas, en laboratorio se obtuvieron las siguientes medidas, según se indica. El pH se determinó usando pasta de suelo saturada (30 ml de agua destilada por 100 g de suelo). El contenido de materia orgánica (MO) fue medido de acuerdo al método de pérdida por ignición, quemando el suelo a 600 °C durante 2 horas y realizando pesadas previas y posteriores a la ignición para determinar la proporción de MO (Nadal et al. 2004). Las concentraciones de nutrientes del suelo se determinaron según se indica: el contenido de nitrógeno total fue medido por espectrofotometría; el fósforo disponible se determinó por el método Olsen; magnesio, calcio, potasio y sodio fueron extraídos con acetato de amonio y determinados a través de espectroscopia de absorción atómica (EAA); similarmente, las concentraciones de hierro extraíble y manganeso también fueron determinados por EAA. Todos los análisis de suelo fueron realizados en el laboratorio AQM, Madrid, España.

Análisis de datos

En primera instancia, se llevaron a cabo pruebas exploratorias para verificar el cumplimiento de los supuestos de normalidad, homocedasticidad e independencia de los datos para cada situación evaluada. Para verificar la normalidad de los datos se utilizó el test de Shapiro-Wilk, mientras que para verificar la homocedasticidad se hizo la prueba de Levene. La verificación de independencia de los datos se realizó a través del análisis visual de gráficos de residuales. Posteriormente, el área foliar específica y la concentración de nutrientes de las hojas fueron analizados con ANOVA para medidas repetidas, con las especies como factor inter-sujetos y cada fecha de medición como factor intra-sujeto. Este análisis fue realizado porque los datos no eran independientes del tiempo. Los valores promedio de reabsorción de nutrientes y concentración de MO y minerales del suelo fueron evaluados con ANOVAs de dos vías, con las especies y sitios de estudio como factores principales. Para evaluar las diferencias entre factores cuando los valores F fueron significativos ($P < 0,05$) se realizaron pruebas de Tukey.

Para analizar si hay alguna asociación entre la concentración de nutrientes en suelo y en hojas maduras con la posterior reabsorción de nutrientes, se realizaron análisis de correlación de Pearson entre cada una de las variables mencionadas (concentración en suelo y concentración en hojas maduras) con la reabsorción de nutrientes.

RESULTADOS

El área foliar específica (AFE), fue similar entre ambas especies evaluadas. Sin embargo, para ambas especies los valores de AFE fueron más altos en hojas senescentes que en hojas maduras (Tabla 5.2). No se encontraron diferencias en AFE entre sitios en ninguna de las dos especies ($P > 0,05$). Solo en el sitio de baja calidad (CSB) se encontraron diferencias entre especies ($P < 0,05$), siendo los valores de AFE más altos en hojas maduras de *N. pumilio*.

Tabla 5.2. Área foliar específica (AFE) de hojas maduras y senescentes de *N. pumilio* y *N. antarctica* colectadas en tres sitios contrastantes (CSA, CSAM y CSB).

Sitios	Especies	AFE (m ² kg ⁻¹)	
		Hojas maduras	Hojas senescentes
CSA	<i>N. pumilio</i>	14,2±2,2b	16,9±1,5a
	<i>N. antarctica</i>	14,7±2,4a	14,7±2,7a
Significancia		sd	sd
CSM	<i>N. pumilio</i>	14,8±1,5b	18,0±1,8a
	<i>N. antarctica</i>	12,2±1,3b	16,9±3,0a
Significancia		sd	sd
CSB	<i>N. pumilio</i>	15,3±2,7b	18,7±3,1a
	<i>N. antarctica</i>	12,0±2,9b	16,6±0,6a
Significancia		*	sd

CSA: alta calidad de sitio; CSM: media calidad de sitio; CSB: baja calidad de sitio.

Letras distintas para una misma especie y sitio indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre época de muestreo (madurez o senescencia).

Las diferencias significativas entre especies para una misma época de muestreo y sitio se indican como *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$; sd: sin diferencias significativas.

Concentración de nutrientes y elementos traza en tejidos foliares y suelo

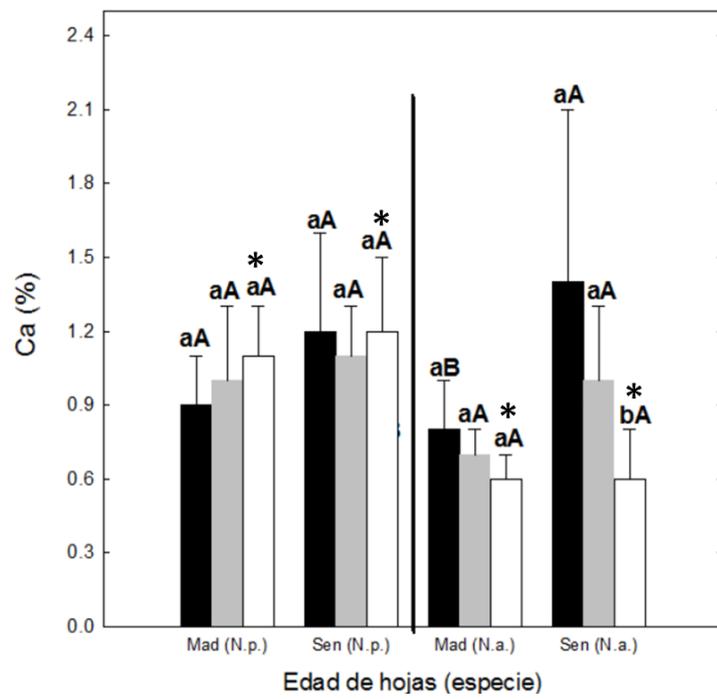
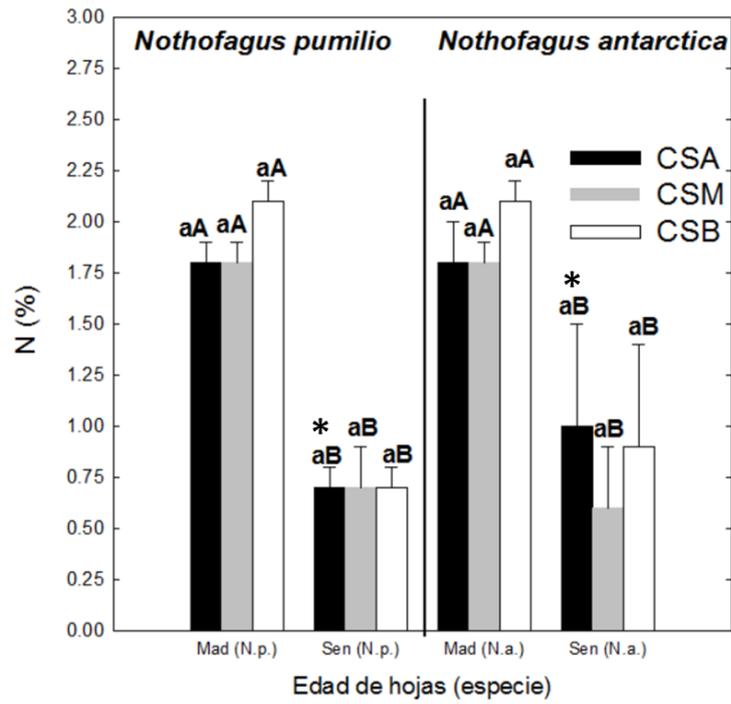
En el caso de las concentraciones en suelo, solo la materia orgánica y el nitrógeno fueron diferentes entre sitios ($P < 0,05$), siendo más altos en CSB (Tabla 5.3).

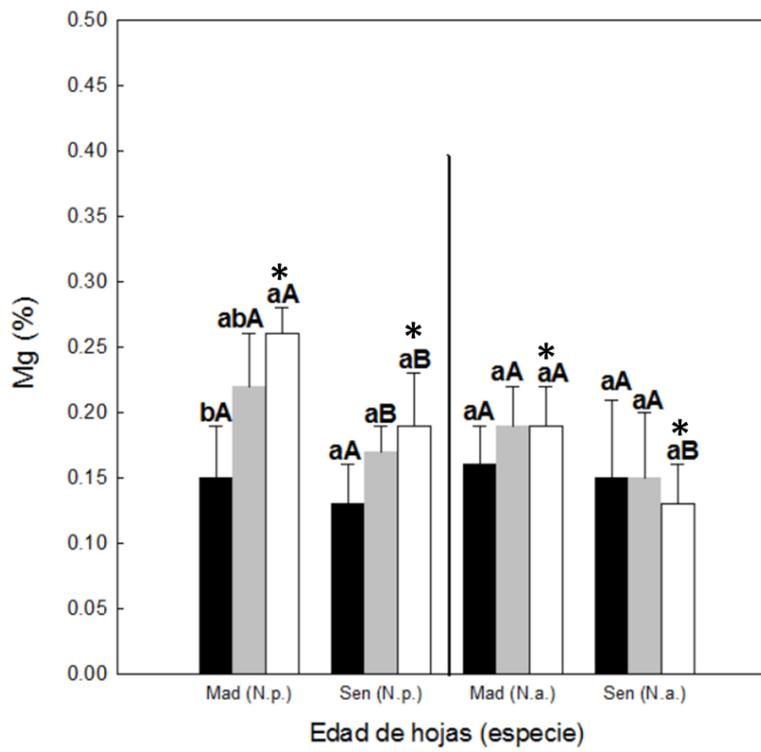
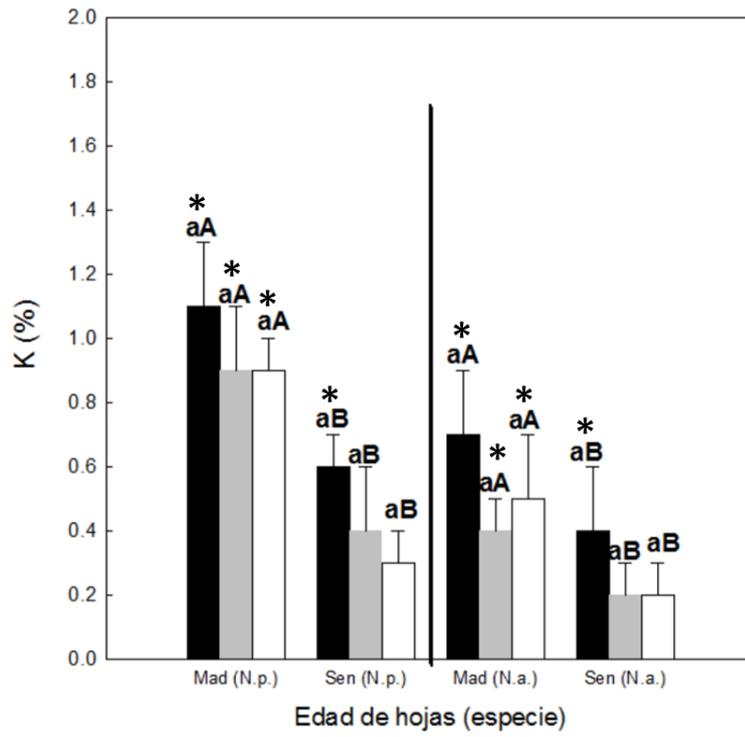
Tabla 5.3. Concentración de macro y micronutrientes en suelo (0-20 cm) de bosques de *Nothofagus pumilio* y *N. antarctica* creciendo en tres sitios con condiciones ambientales contrastantes. La concentración de materia orgánica (MO) y nitrógeno (N) son expresadas como %, mientras los demás elementos son expresados en mg kg^{-1} .

Sitios	MO	N	P	K	Ca	Mg	Mn	Fe	Na	pH
CSA	13±6ab	0,6±0,2b	59±40	776±429	8219±505	5190±2050	31±25	170±14	523±26	6,3±0,1
CSM	11±2b	0,5±0,1b	18±2	419±29	5610±560	8443±4200	11±1	175±8	542±21	6,4±0,1
CSB	30±11a	1,0±0,2a	64±45	506±59	6468±4514	10523±4100	16±10	195±49	534±63	6,1±0,5

CSA: alta calidad de sitio; CSM: media calidad de sitio; CSB: baja calidad de sitio.

En general, para ambas especies la concentración de macronutrientes en hojas colectadas en una misma fecha no mostraron diferencias entre sitios. Solo las concentraciones de Mg y P fueron significativamente más bajas ($P < 0,05$) en CSA que en CSM y CSB en hojas maduras de *N. pumilio* (Figura 5.1). En *N. antarctica*, solo las concentraciones de Ca y S en hojas senescentes fueron más altas ($P < 0,05$) en CSA en comparación a CSB y CSM, respectivamente. Por otro lado, cuando comparamos hojas de distintas fechas de colección (maduras o senescentes) para una especie y un sitio en particular, para la mayoría de los macro-nutrientes las concentraciones fueron significativamente más bajas en hojas senescentes (Figuras 5.1). Al comparar la concentración de macro-nutrientes entre especies para un mismo sitio y edad de hojas, las diferencias dependieron de cada situación (Figura 5.1). Por ejemplo, la concentración de N fue mayor en *N. antarctica* en el sitio CSA en hojas senescentes, mientras que en otros elementos las concentraciones fueron mayores en *N. pumilio* para determinadas edades de hojas y sitios (Figura 5.1). La relación N:P en hojas en todas las situaciones evaluadas presentaron valores iguales o menores a 9 (datos no mostrados). No se encontraron diferencias en la relación N:P de las hojas entre sitios para una misma especie y edad de las hojas (época de colección), ni entre edad de las hojas para una misma especie y sitio.





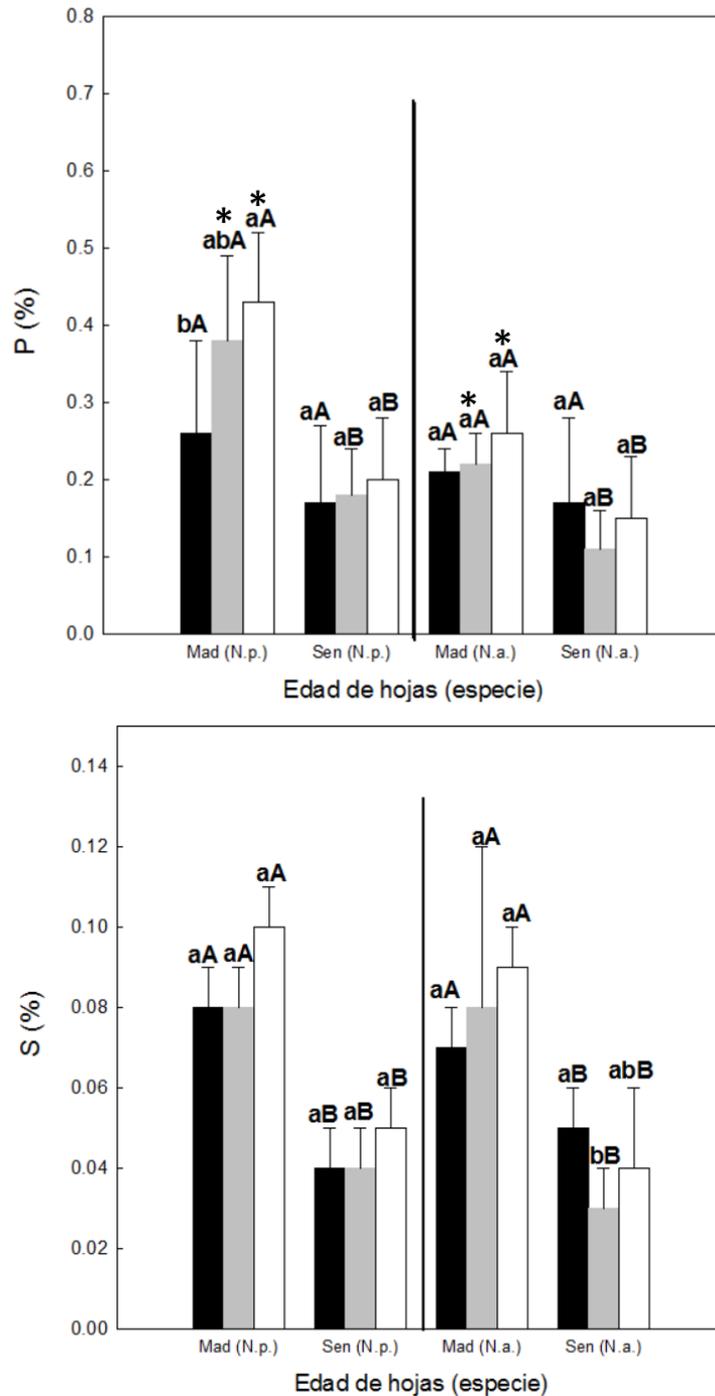
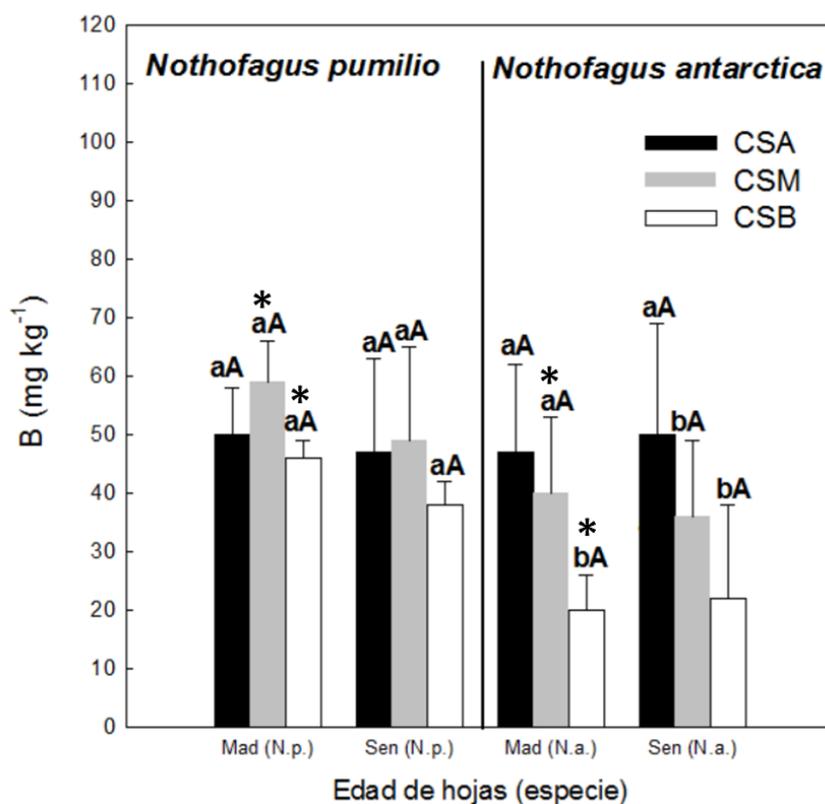
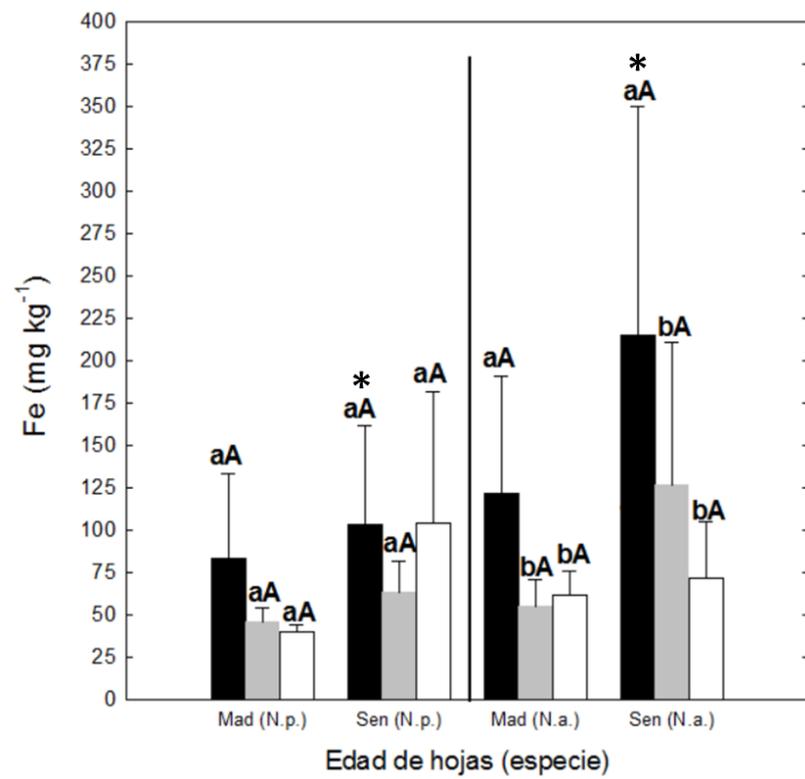
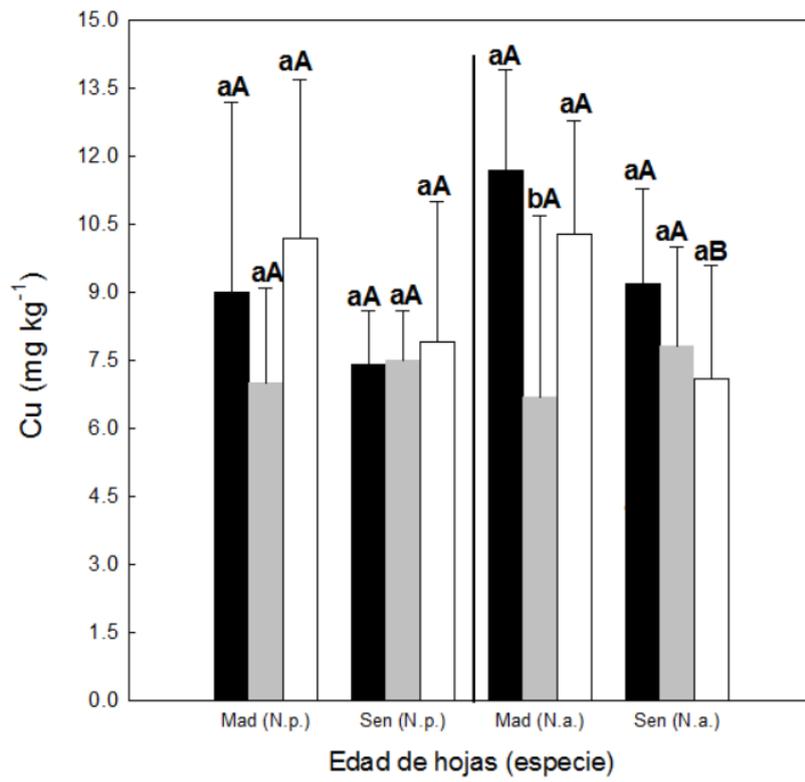


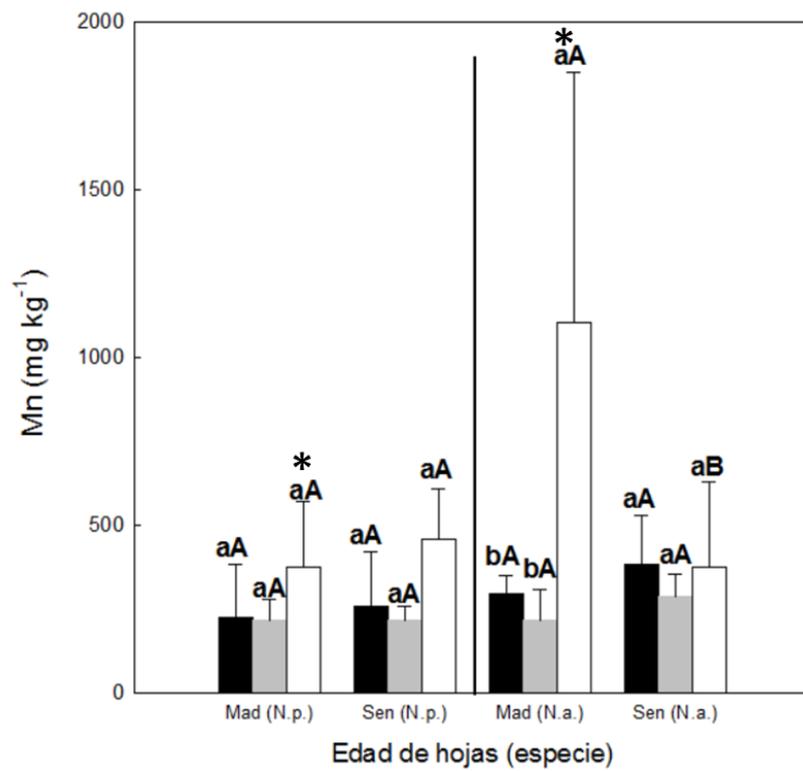
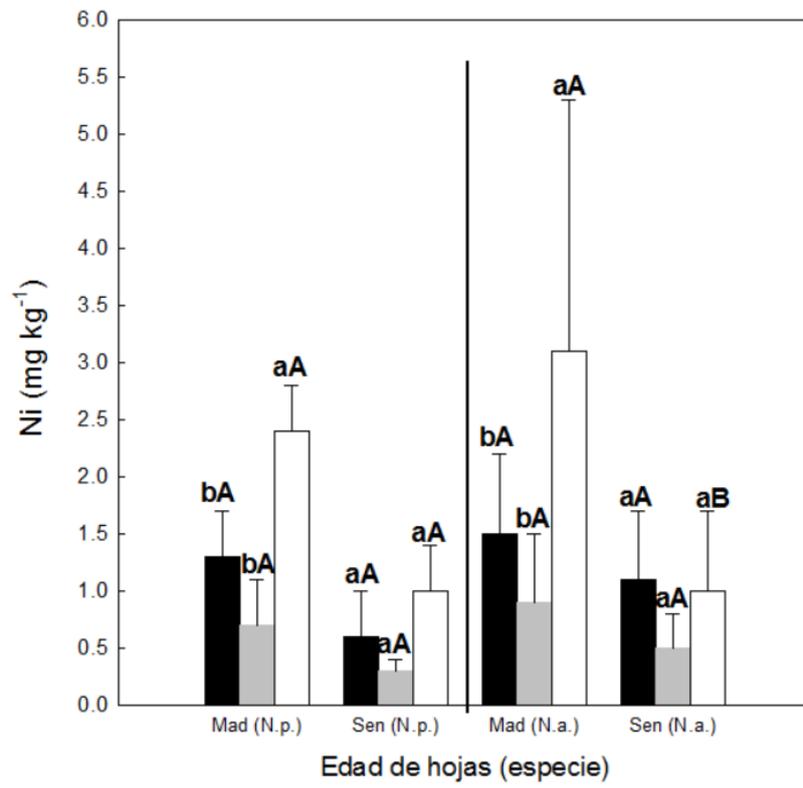
Figura 5.1 Concentración de macronutrientes (N, Ca, K, Mg, P and S) de hojas de *N. pumilio* y *N. antarctica* creciendo en tres sitios contrastantes, recolectadas durante dos momentos o edades de las hojas (maduras y senescentes). CSA: alta calidad de sitio; CSM: media calidad de sitio; CSB: baja calidad de sitio. N.p., *Nothofagus pumilio*; N.a., *Nothofagus antarctica*; Mad, hojas maduras; Sen, hojas senescentes.

Letras minúsculas diferentes para la misma especie y edad de hojas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre sitios. Letras mayúsculas diferentes para una misma especie y sitio indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre edades de hojas. Las barras representan la desviación estándar de las medias. Asteriscos (*) indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre especies para un mismo sitio y edad de hojas.

En el caso de los micronutrientes, hubo diferencias entre sitios ($P < 0,05$) que dependieron de cada elemento (Figura 5.2). Por ejemplo, en el caso de hojas maduras de ambas especies las concentraciones de hierro (Fe) y cinc (Zn), en general fueron más altas en el sitio de mejor calidad (CSA), mientras que las concentraciones de níquel (Ni) fueron más altas en hojas de árboles creciendo en el sitio de más baja calidad (CSB). Con respecto a la concentración de micronutrientes en hojas de distintas edades, solo se encontraron diferencias entre hojas maduras y senescentes en *N. antarctica* creciendo en el sitio CSB (para Cu, Mn y Ni), y para *N. pumilio* (para Zn) en el mismo sitio, con valores más elevados en hojas maduras. También se observaron algunas diferencias entre especies para un mismo sitio y edad de hojas (Figura 5.2). Por ejemplo, las concentraciones B y Zn en algunos sitios y edades de hojas fueron más altas en *N. pumilio*, mientras que las concentraciones de Fe y Mn fueron más elevadas en hojas de *N. antarctica* en determinados sitios (Figura 5.2).







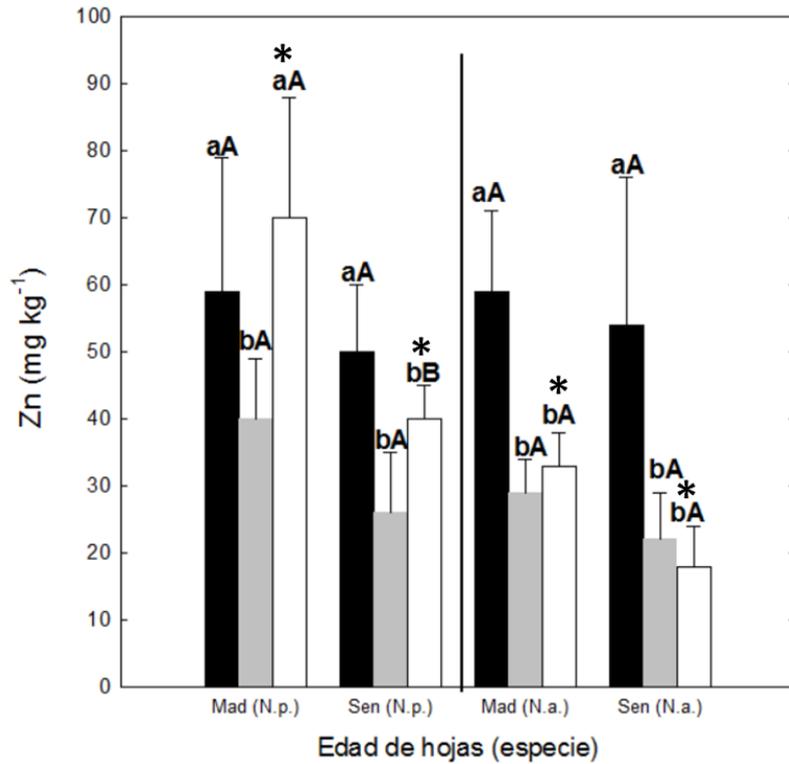
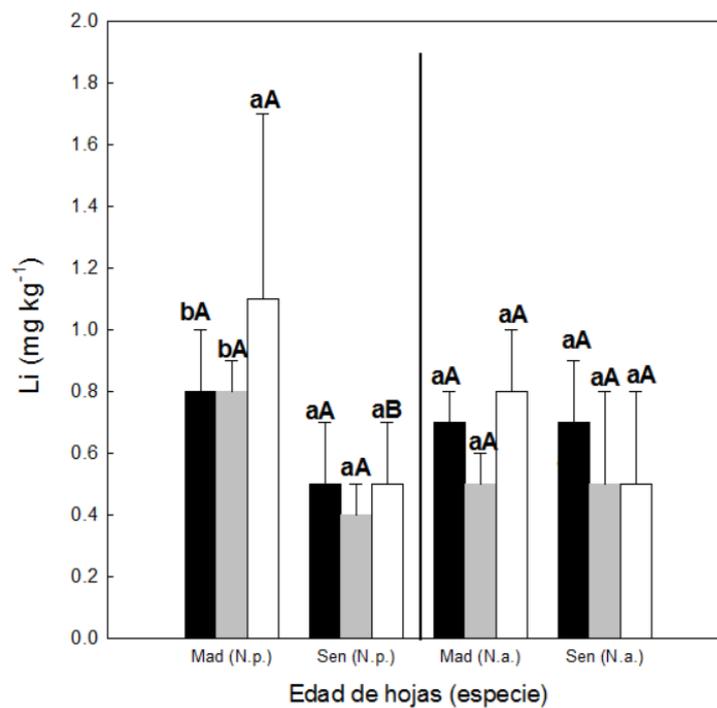
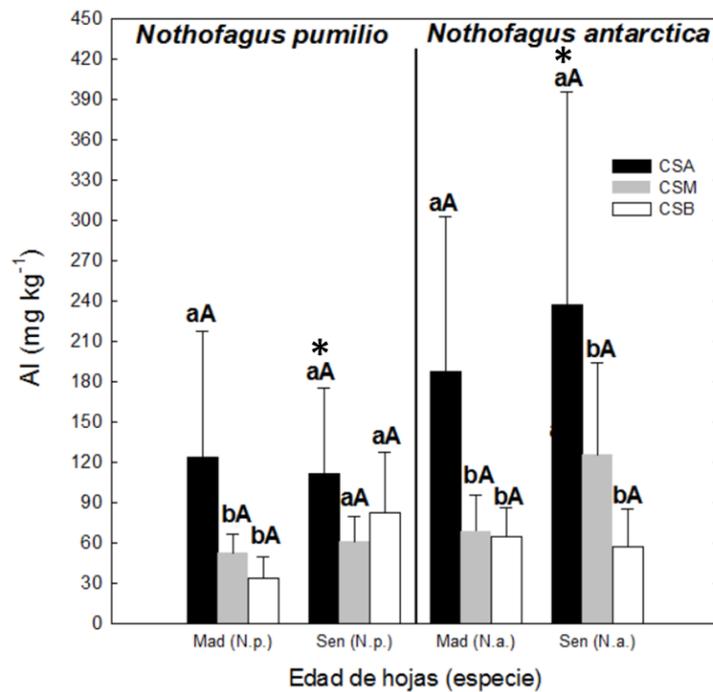


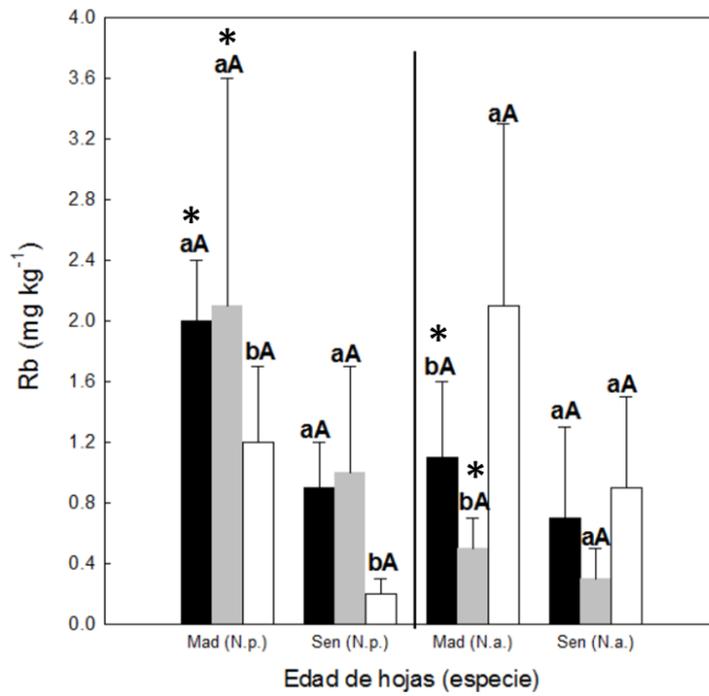
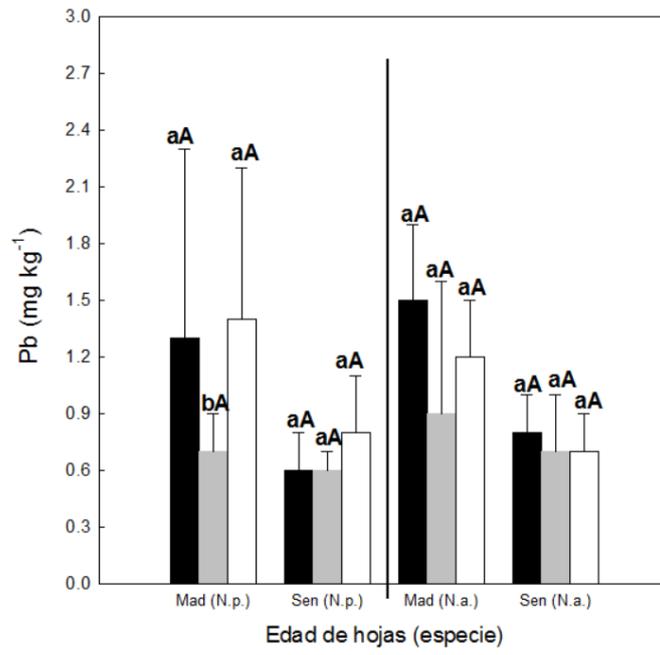
Figura 5.2. Concentración de Micronutrientes (B, Cu, Fe, Ni, Mn y Zn) de hojas de *N. pumilio* y *N. antarctica* creciendo en tres sitios contrastantes, recolectadas durante dos momentos o edades de las hojas (maduras y senescentes). CSA: alta calidad de sitio; CSM: media calidad de sitio; CSB: baja calidad de sitio. N.p., *Nothofagus pumilio*; N.a., *Nothofagus antarctica*; Mad, hojas maduras; Sen, hojas senescentes.

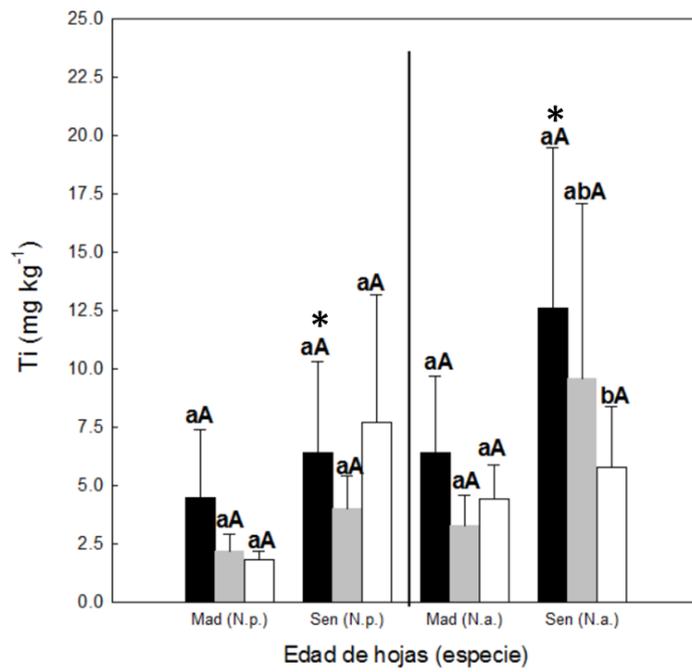
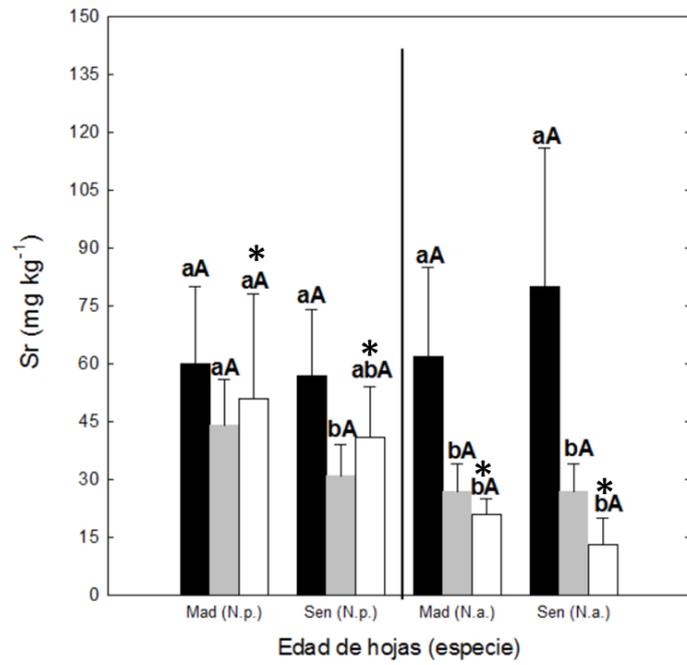
Letras minúsculas diferentes para la misma especie y edad de hojas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre sitios. Letras mayúsculas diferentes para una misma especie y sitio indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre edades de hojas. Las barras representan la desviación estándar de las medias. Asteriscos (*) indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre especies para un mismo sitio y edad de hojas.

En relación a los elementos traza (Figura 5.3), en hojas maduras de ambas especies las concentraciones de Al y Sr fueron generalmente más altas ($P < 0,05$) en el sitio de mejor calidad (CSA), mientras que en el sitio CSB se registraron concentraciones mayores de Tl. Los únicos elementos traza que variaron significativamente ($P < 0,05$) entre hojas maduras y senescentes fueron Li en *N. pumilio* (en CSB) y Tl en las dos especies en los sitios de calidad media (CSM) y baja (CSB), siendo las concentraciones más altas en hojas maduras para todos los casos. En lo referido a diferencias entre especies para un

mismo sitio y edad de hojas, la concentración de Al y Ti fueron mayores en *N. antarctica* en CSA y hojas senescentes, mientras que otros elementos traza fueron mayores en *N. pumilio* en algunos sitios y edades de hojas (Figura 5.3).







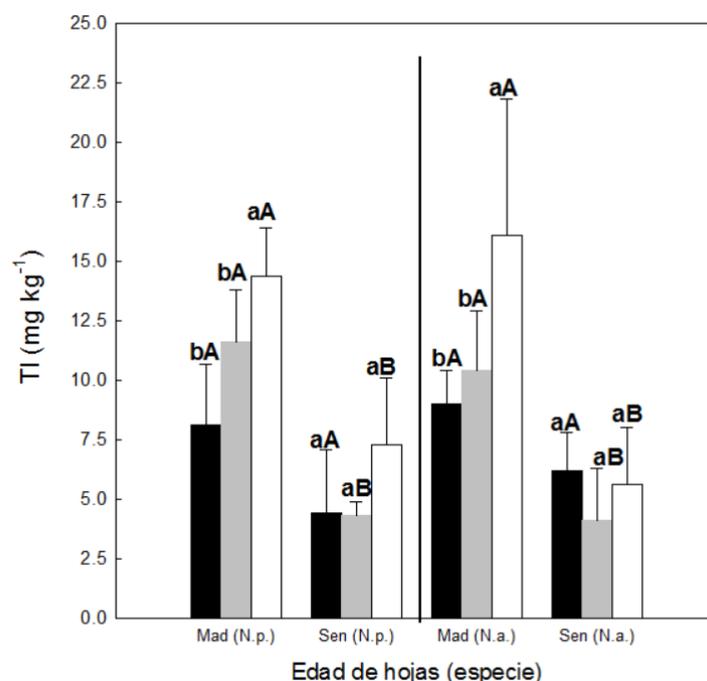


Figura 5.3. Concentración de elementos traza (Al, Li, Pb, Rb, Sr, Ti y Tl) de hojas de *N. pumilio* y *N. antarctica* creciendo en tres sitios contrastantes, recolectadas durante dos momentos o edades de las hojas (maduras y senescentes). CSA: alta calidad de sitio; CSM: media calidad de sitio; CSB: baja calidad de sitio. N.p., *Nothofagus pumilio*; N.a., *Nothofagus antarctica*; Mad, hojas maduras; Sen, hojas senescentes.

Letras minúsculas diferentes para la misma especie y edad de hojas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre sitios. Letras mayúsculas diferentes para una misma especie y sitio indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre edades de hojas. Las barras representan la desviación estándar de las medias. Asteriscos (*) indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre especies para un mismo sitio y edad de hojas.

Reabsorción de macronutrientes, micronutrientes y elementos traza

En términos generales, y haciendo un promedio de todos los sitios y especies, la reabsorción de macronutrientes mostró un patrón decreciente para $N > S = K > P > Mg$, siendo el Ca el único macronutriente con valores negativos (es decir sin reabsorción) (Tabla 5.4). En relación a las diferencias de reabsorción de macronutrientes entre sitios, solo se encontraron diferencias para las hojas de *N. antarctica*, siendo menor la reabsorción en el sitio de mayor productividad (CSA) (Tabla 5.4). Por otro lado, al comparar para un mismo sitio, no se encontraron diferencias de reabsorción entre especies en ninguno de los macro nutrientes evaluados.

Tabla 5.4. Eficiencia de reabsorción (%) de macronutrientes en hojas de bosques de *Nothofagus pumilio* y *N. antarctica* recolectadas en tres sitios con condiciones ambientales contrastantes en Patagonia austral.

Especies	Sitios	Ca	K	Mg	N	P	S
<i>N. pumilio</i>	CSA	-37±21aA	44±16aA	14±20aA	63±9aA	31±26aA	51±8aA
	CSM	-16±23aA	47±31aA	21±18aA	62±9aA	52±13aA	53±7aA
	CSB	-18±25aA	68±5aA	23±21aA	63±10aA	54±11aA	53±11aA
<i>N. antarctica</i>	CSA	-76±73bA	34±32aA	17±15aA	46±19bA	16±18bA	36±18bA
	CSM	-47±42abA	50±16aA	22±24aA	66±15aA	49±24aA	55±11aA
	CSB	1±14aA	66±20aA	25±28aA	59±23abA	46±23aA	56±19aA

Para una misma especie y nutriente, letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre sitios. Para un mismo nutriente y sitio, letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre especies.

CSA: alta calidad de sitio; CSM: media calidad de sitio; CSB: baja calidad de sitio.

Para todos los elementos evaluados se encontraron interacciones significativas ($P < 0,05$) entre sitios y especies. Por otro lado, la reabsorción de la mayoría de los elementos no varió entre especies para cualquier sitio evaluado, a excepción del Mn en el sitio CSB que se reabsorbió mayormente en hojas de *N. antarctica* (Tabla 5.5). En las hojas de *N. pumilio* la concentración de micronutrientes y elementos traza siguieron una misma tendencia, sin diferencias ($P > 0,05$) en las tasas de reabsorción entre sitios. En el caso de hojas de *N. antarctica*, algunos micronutrientes (por ejemplo Zn) y elementos traza (como Sr y Tl) fueron reabsorbidos a menores tasas en el sitio CSA (Tablas 5.5 y 5.6, respectivamente). En los elementos traza, al igual que con los macro nutrientes, no se detectaron diferencias de reabsorción entre especies cuando se compararon en un mismo sitio (Tabla 5.6). Por otro lado, independientemente del sitio o las especies, algunos micronutrientes (como Fe) y elementos traza (por ejemplo, Al y Ti) no fueron reabsorbidos.

Tabla 5.5. Eficiencia de reabsorción (%) de micronutrientes en hojas de bosques de *Nothofagus pumilio* y *N. antarctica* recolectadas en tres sitios con condiciones ambientales contrastantes en Patagonia austral.

Especies	Sitios	B	Cu	Fe	Mn	Ni	Zn
<i>N. pumilio</i>	CSA	4±31aA	4±28aA	-26±25aA	-21±24aA	51±24aA	15±23aA
	CSM	17±21aA	-19±49aA	-35±22aA	-3±12aA	41±39aA	32±18aA
	CSB	15±7aA	10±45aA	-178±300aA	-56±85aB	54±16aA	36±16aA
<i>N. antarctica</i>	CSA	-17±71aA	17±21aA	-100±160aA	-30±39bA	23±44aA	1±63bA
	CSM	6±19aA	-41±58bA	-161±305aA	-52±70bA	35±34aA	26±13ab A
	CSB	2±46aA	30±23aA	-31±78aA	63±31aA	45±64aA	42±24aA

Para una misma especie y nutriente, letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre sitios. Para un mismo nutriente y sitio, letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre especies.

CSA: alta calidad de sitio; CSM: media calidad de sitio; CSB: baja calidad de sitio.

Tabla 5.6. Eficiencia de reabsorción (%) de elementos traza en hojas de bosques de *Nothofagus pumilio* y *N. antarctica* recolectadas en tres sitios con condiciones ambientales contrastantes en Patagonia austral.

Especies	Sitios	Al	Li	Pb	Rb	Sr	Ti	Tl
<i>N. pumilio</i>	CSA	1±29aA	34±31aA	10±93aA	54±23aA	2±17aA	-45±31aA	56±20aA
	CSM	-21±47aA	45±12aA	-5±63aA	54±13aA	27±26aA	-89±28aA	62±8aA
	CSB	-157±94aA	45±31aA	-97±297aA	78±13aA	-2±48aA	-408±666aA	48±22aA
<i>N. antarctica</i>	CSA	-53±141aA	-3±43aA	47±16aA	37±61aA	- 38±77bA	-136±210aA	34±14b A
	CSM	-123±96aA	3±53aA	- 105±60bA	52±38aA	- 8±49abA	-264±438aA	59±19aA
	CSB	-4±72aA	30±43aA	41±21aA	42±42aA	34±45aA	-60±110aA	69±4aA

Para una misma especie y nutriente, letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre sitios. Para un mismo nutriente y sitio, letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre especies.

CSA: alta calidad de sitio; CSM: media calidad de sitio; CSB: baja calidad de sitio.

También se encontró una correlación positiva ($P < 0,05$) entre la concentración en hojas maduras y la reabsorción en el caso de algunos micronutrientes y elementos traza (por ej., Cu, Li, Mn, Ni y Pb). En el caso de las concentraciones en suelo y en hojas maduras, solo se encontraron correlaciones significativas ($P < 0,05$) para N, Mg y Fe, siendo la correlación positiva en N y Mg, y negativa en Fe (Tabla 5.7).

Tabla 5.7. Coeficiente de correlación de Pearson (R) y valor p entre concentración de elementos en suelo, en hojas maduras y reabsorción de nutrientes, en hojas de bosques de *Nothofagus pumilio* y *N. antarctica* recolectadas en tres sitios con condiciones ambientales contrastantes en Patagonia austral.

Elemento	Correlación entre concentración en hojas maduras y reabsorción		Correlación entre concentración en suelo y en hojas maduras	
	R	p	R	p
N	0.24 (+)	0.21	0.68 (+)	<0.001
Al	0.23 (+)	0.23		
B	0.18 (+)	0.34		
Ca	0.18 (+)	0.36	0.05 (-)	0.781
Cu	0.86 (+)	<0.001		
Fe	0.18 (+)	0.353	0.40 (-)	0.030
K	0.22 (+)	0.255	0.35 (+)	0.059
Li	0.49 (+)	0.008		
Mg	0.36 (+)	0.057	0.62 (+)	<0.001
Mn	0.48 (+)	0.009	0.10 (-)	0.617
Ni	0.44 (+)	0.018		
Pb	0.66 (+)	<0.001		
P	0.33 (+)	0.086	0.01 (-)	0.993
Rb	0.23 (+)	0.249		
S	0.12 (+)	0.542		
Sr	0.09 (+)	0.648		
Ti	0.30 (+)	0.109		
Tl	0.24 (+)	0.265		
Zn	0.01 (+)	0.945		

Los símbolos entre paréntesis indican si la correlación fue positiva (+) o negativa (-).

DISCUSIÓN

Concentración y reabsorción de macronutrientes

Este estudio se focalizó en el análisis de concentración y reabsorción de nutrientes y elementos traza de dos especies altamente representativas de los bosques de Patagonia austral, como son *Nothofagus antarctica* y *N. pumilio*. Los resultados obtenidos en tres sitios de estudio con condiciones ambientales contrastantes son relevantes, para la comprensión de cómo y en qué magnitud, la dinámica de nutrientes de estas especies es afectada por las condiciones de suelo y ambiente.

El incremento observado en los valores de AFE en hojas senescentes con respecto a las hojas maduras estaría relacionado con la disminución en la concentración de nutrientes de las hojas a través del tiempo, y también a la disminución en los niveles de radiación entre verano y otoño, lo cual ha sido informado como factor relacionado con cambios en el AFE tanto para especies del género *Nothofagus* como para otras *Fagaceas* (Bahamonde et al. 2014b, 2018b).

En general, en ambas especies y en los tres sitios evaluados las concentraciones de macronutrientes en hojas maduras estuvieron en un rango considerado adecuado para un buen crecimiento de las plantas (Epstein y Bloom 2005). Las concentraciones de macronutrientes en hojas maduras y senescentes de *N. pumilio* fueron similares a las informadas por Frangi et al. (2005) en bosques de lenga de Tierra del Fuego. De forma similar, las concentraciones de macronutrientes determinadas en este trabajo para hojas maduras de *N. antarctica* estuvieron en el rango descrito por Peri et al. (2006, 2008) para la misma especie en Patagonia austral. En este estudio, las diferencias de condiciones ambientales entre sitios no se vieron reflejadas en la concentración de nutrientes en hojas en ninguna de las dos especies estudiadas. Esto también es consistente con los resultados reportados para *N. pumilio* en Tierra del Fuego, donde las concentraciones de macronutrientes en hojas maduras no variaron significativamente entre rodales creciendo en un gradiente altitudinal (Frangi et al. 2005). En nuestro estudio no encontramos mayores diferencias en los elementos minerales del suelo, exceptuando la concentración de N en suelo que varió entre sitios; sin embargo, tales

diferencias no se vieron reflejadas en la concentración foliar. En el mismo sentido, es muy probable que la falta de diferencias en las concentraciones de macronutrientes en hojas entre sitios esté relacionada con la falta de diferencias en suelo. En contraste, Peri et al. (2006, 2008) encontraron concentraciones de macronutrientes más altas en hojas de ñire de rodales creciendo en una mejor calidad de sitio (árboles maduros de 7,8 m de altura promedio) en comparación con un sitio de inferior calidad (árboles maduros que no superaban los 5 m de altura en promedio), en Patagonia austral. Los autores atribuyeron esos resultados a las concentraciones de nutrientes en suelo de los sitios estudiados. No obstante, Bahamonde et al. (2015) informaron concentraciones similares de nutrientes en hojas senescentes de *N. antarctica* que provenían de calidades de sitio contrastantes. Pareciera que las concentraciones de macronutrientes en suelo y hojas no estarían directamente relacionadas a las diferencias en altura de árboles dominantes maduros (como aproximación de productividad) y esto podría estar dado por los mecanismos de absorción de las raíces y translocación en las plantas, como se ha visto para varios nutrientes (Marschner y Rengel 2012), y por su interacción con variables climáticas. Por ejemplo, Lawrence y Melgar (2018) encontraron que un incremento de 5 °C en la temperatura del aire retrasó la senescencia de hojas de durazneros y que las concentraciones de N y P fueron más bajas en las hojas senescentes retrasadas. Relacionado a esto, cuando estudiaron las principales variables climáticas, espaciales y de suelo que incidían en la productividad de los bosques de *N. antarctica* en Patagonia austral, Bahamonde et al. (2018b) concluyeron que la temperatura del aire y la textura del suelo, pero no la concentración de nutrientes del suelo, fueron las variables de mayor importancia para explicar la altura final de árboles maduros dominantes.

La importancia de las concentraciones de N y P en suelos de bosques como un factor limitante para el crecimiento de los árboles es considerablemente reconocida (Aerts y Chapin 2000, Fisher y Binkley 2000). La estequiometría entre las concentraciones de N y P en hojas ha sido ampliamente usada como un indicador de nutriente limitante del crecimiento a nivel de especie (Van den Driessche 1974). Los rangos reportados por Aerts y Chapin (2000) y que suelen ser los más recomendados por la literatura especializada indican que valores de N:P foliar mayores a 16 son indicativos de limitación por P, valores inferiores a 14 limitación por N y valores de N:P entre 14 y 16 limitación por ambos macro nutrientes. En este estudio, los 2 especies de *Nothofagus*

estudiadas en todos los sitios mostraron valores marcadamente menores a 14, lo cual indicaría una limitación por N generalizada en todos los rodales evaluados. Similarmente, Diehl et al. (2008) encontraron limitación por N en bosques de *N. antarctica* y limitación por N y P en *N. pumilio* en Patagonia norte. También Fajardo y Piper (2015) encontraron limitación por N en varias especies, incluyendo 2 *Nothofagus* siempreverdes, en Patagonia chilena.

La información disponible en la literatura sobre reabsorción de nutrientes en especies de *Nothofagus* de Patagonia son escasos y se han enfocado principalmente en C, N, P, Ca y K (Diehl et al. 2003, 2008, Fajardo y Piper 2015). Los valores de reabsorción que obtuvimos para N, P y K estuvieron en un rango similar al reportado por Diehl et al. (2003) en árboles de *N. antarctica* y *N. pumilio* creciendo en Patagonia norte, quienes tampoco observaron diferencias entre esas dos especies. Asimismo, Hevia et al. (1999) publicaron tasas similares de reabsorción para bosques de *N. pumilio* en la zona central de Chile. Sin embargo, en contraste con nuestra primera hipótesis, en ambas especies se encontraron valores similares de eficiencia de reabsorción de macro-nutrientes. Esto implica que las diferencias anatómicas y fisiológicas descritas entre ambas especies de *Nothofagus* (Peri et al. 2009, Dettmann et al. 2013) no parecieron influir en su eficiencia de reabsorción bajo las condiciones ambientales existentes en los sitios de estudio. Además, esto podría estar relacionado al hecho de que las condiciones ambientales restrictivas (principalmente bajas temperaturas) en la Patagonia austral son más importantes que las diferencias mencionadas entre especies. De esta manera, ambas especies creciendo bajo las mismas condiciones ambientales podrían experimentar limitaciones similares en los procesos de absorción y conservación de nutrientes.

Por otro lado, las variaciones debido a los diferentes sitios estudiados fueron diferentes para cada especie. Mientras que en *N. pumilio* no hubo diferencias de reabsorción entre sitios, en el caso de *N. antarctica* la reabsorción de macro-nutrientes (exceptuando K y Mg) fue más baja en el sitio más productivo. De acuerdo a esos resultados, debemos rechazar parcialmente nuestra hipótesis (no totalmente para *N. antarctica*), ya que las condiciones más restrictivas para el crecimiento del bosque no se tradujo en mayor eficiencia de reabsorción de nutrientes. No existen antecedentes que comparen tasas de reabsorción de nutrientes de *N. antarctica* y *N. pumilio* creciendo en sitios con diferentes condiciones ambientales. No obstante, Frangi et al. (2005) reportaron

concentraciones similares de N, K, Mg y P en hojas maduras y senescentes de *N. pumilio* creciendo a 220 y 540 m s.n.m., en Tierra del Fuego, lo cual implicaría valores similares de reabsorción entre esos bosques desarrollándose en condiciones contrastantes, tal como se observó en el presente estudio. En el caso de *N. antarctica*, Peri et al. (2006, 2008) evaluaron la concentración de nutrientes de diferentes componentes arbóreos (hojas, ramas, corteza, albura, duramen y raíces) de bosques creciendo en distintas condiciones ambientales en Patagonia austral. Los autores reportaron que aquellos árboles creciendo en mejores condiciones ambientales tuvieron concentraciones de nutrientes más elevadas. Mayor acumulación de nutrientes en tejidos leñosos podría ayudar a explicar en parte la menor reabsorción en los mejores sitios encontrada en nuestro estudio, ya que los nutrientes acumulados en tallo y raíces podrían actuar como reservas para ser usados cuando haya nuevo crecimiento (Jonasson 1995).

Respecto a la reabsorción de nutrientes, Diehl et al. (2003) encontraron una correlación positiva entre la concentración de N en hojas maduras y su reabsorción y contenido de N en suelo, sugiriendo que en sitios con baja disponibilidad de N en suelo de bosques patagónicos, las plantas podrían reducir su tasa de absorción y acumulación de N, más que incrementar su reabsorción para suplir dicha baja disponibilidad. En nuestro estudio, encontramos correlaciones positivas entre la concentración de N y Mg en suelo y en hojas maduras, pero ninguna correlación entre concentración foliar y reabsorción, para ningún macro-nutriente.

En el caso del Ca, la mayor concentración en hojas senescentes (reabsorción nula) en todas las situaciones estudiadas, también ha sido ampliamente documentada por otros estudios para distintas especies y condiciones ambientales, incluyendo bosques de *Nothofagus* en Patagonia (Frangi et al. 2005, Farahat y Linderholm 2015, Yan et al. 2015) y estaría relacionado al rol estructural que cumple este elemento en las células y a su inmovilidad en floema (Fife et al. 2008, Marschner 2012).

Concentración y reabsorción de micro-nutrientes y elementos traza

Los resultados presentados en este trabajo representan los primeros datos publicados sobre concentración de micro nutrientes y elementos traza para *N. antarctica* y *N. pumilio*. La mayoría de los micro-nutrientes evaluados (B, Cu, Mn, Ni y Zn) estuvieron

en los valores considerados como suficientes para el crecimiento de las plantas (Lambers et al. 2008, Kirkby 2012). La única excepción en ambas especies fue la concentración de Fe en hojas de los sitios de menor productividad (CSM y CSB), con concentraciones por debajo de lo considerado valores óptimos (Lambers et al. 2008, Kirkby 2012). En la única publicación con datos de concentración de micro-nutrientes y elementos traza en la región patagónica, Bahamonde et al. (2016c) evaluaron gramíneas creciendo en el sotobosque de *N. antarctica* en fechas similares a las de este estudio durante la estación de crecimiento. Comparados con esos datos, las concentraciones en hojas maduras de ñire evaluadas aquí fueron más altas para B y Zn, mientras que fueron similares para Cu, Mn y Ni. Por otro lado, en algunos casos la concentración de micro nutrientes en hojas varió entre sitios aun cuando la concentración de esos micro nutrientes no eran significativamente diferentes entre los suelos de aquellos sitios. Esto se debería a que la concentración mineral de las hojas no solamente depende de la disponibilidad en suelo, sino que obedece a mecanismos más complejos como estado fisiológico de las plantas, disponibilidad hídrica del suelo y condiciones climáticas, entre otras (Marschner 2012).

Con respecto a la reabsorción, Mn y Fe mostraron una tendencia general a ser inmovilizados en hojas (sin reabsorción) independiente del sitio o de la especie. Sin embargo, excepcionalmente en las hojas de *N. antarctica* se produjo una reabsorción del 60 % de Mn en el sitio de más baja productividad (CSB). Por otro lado, la alta concentración de Mn medida en hojas maduras de *N. antarctica* en el sitio CSB podría estar relacionada a la mayor absorción de este elemento por los árboles de ñire en comparación con *N. pumilio*. En este mismo sentido, hay reportes que indican correlaciones positivas entre la concentración de Mn en plantas y el contenido de materia orgánica del suelo (Kabata-Pendias 2011), tal como encontramos en el sitio CSB. Killingbeck y Costigan (1988) informaron reabsorción de Fe de aproximadamente un 30 % en hojas de *Quercus* y *Vaccinium*. En este estudio no hubo relación entre concentraciones en hojas maduras y reabsorción de Fe, lo cual estaría relacionado a la muy baja o nula movilidad de este elemento en muchas especies (Marschner 2012).

Por otro lado, B, Cu, Li, Ni, Rb, Pb, Tl y Zn fueron elementos mayoritariamente reabsorbidos. Los valores de reabsorción de Cu, Li y Ni estuvieron positivamente correlacionados con sus concentraciones en hojas maduras, lo cual es consistente con

Killingbeck y Costigan (1988), quienes publicaron valores de reabsorción similares de estos elementos.

Similarmente, los elementos traza evaluados (Al, Li, Pb, Rb, Sr, Ti y Tl) presentaron concentraciones por debajo de los rangos considerados como tóxicos en la literatura especializada (Kabata-Pendias 2011). En comparación con los resultados publicados por Bahamonde et al. (2016c) las concentraciones en hojas maduras de *N. antarctica* evaluadas aquí fueron más altas para Al, Sr y Ti, más bajas para Rb y similares para Pb.

Un aspecto a tener en cuenta es que algunos elementos traza pueden reemplazar el rol de algunos nutrientes esenciales, tales como el Rb con el K (Nyholm y Tyler 2000), o el Li y Sr reemplazando el Ca (Shahzad et al. 2016, Sasmaz y Sasmaz 2017). Los resultados obtenidos en este estudio por ejemplo para Rb mostraron una tasa de reabsorción similar al K, lo cual coincide con otros estudios de movilidad de este elemento (por ejemplo, Nyholm y Tyler 2000).

Respecto a la tasa de reabsorción de algunos elementos traza, Al y Ti fueron inmovilizados en hojas sin reabsorción en ningún sitio ni especie. El aluminio y el titanio son constituyentes comunes del tejido de las plantas, pero sus potenciales fisiológicos y sus funciones metabólicas aún no están totalmente claros (Kabata-Pendias 2011). No existe información preliminar acerca de la reabsorción de Al y Ti en la literatura. En este trabajo especulamos con que la nula reabsorción de estos elementos podría estar relacionada con su baja capacidad de translocación y a su alto riesgo de toxicidad para las plantas (especialmente Al) (Kabata-Pendias 2011, Marschner 2012). Por otro lado, Li, Rb, Pb y Tl fueron reabsorbidos. Los valores de reabsorción de Li estuvieron positivamente correlacionados con su concentración en hojas maduras y fueron similares a los reportados por Killingbeck y Costigan (1988).

Implicancias ecológicas

Independientemente de las diferencias anatómicas y fisiológicas documentadas en la literatura entre las dos especies estudiadas en esta investigación (Peri et al. 2009, Dettmann et al. 2013), sus tasas de reabsorción de macro-nutrientes fueron similares. Esto implicaría que la conservación de nutrientes en estas especies podría estar más

relacionada con la fertilidad del suelo que a un rasgo específico intrínseco. De esta manera, la co-ocurrencia de *N. antarctica* y *N. pumilio* en los mismos suelos y condiciones ambientales, estaría dada en un marco donde la competencia por nutrientes no es evidente. Esto es consistente con los hallazgos de Diehl et al. (2003), quienes reportaron que las concentraciones y tasas de reabsorción se diferenciaron más marcadamente entre formas de vida (por ejemplo, deciduas de hoja ancha, coníferas y siempreverdes), pero no entre distintas especies deciduas, en un estudio desarrollado en un bosque multi-específico (que incluyó *N. antarctica* y *N. pumilio*, entre otras) en Patagonia norte.

Por otro lado, la menor tasa de reabsorción en el sitio más productivo de *N. antarctica* y la falta de diferencias entre sitios para *N. pumilio* podrían estar relacionadas a la plasticidad ecológica de estas especies. Es ampliamente aceptado que *N. antarctica* tiene la mayor amplitud ecológica de los *Nothofagus* sudamericanos (Donoso et al. 2006). Esta especie se distribuye desde los 36° 30` a los 56° 00` de latitud y desde los 0 a 2000 m s.n.m. (Veblen et al. 1996). En contraste, *N. pumilio* se desarrolla en suelos con alta disponibilidad hídrica y su distribución está más restringida a condiciones ambientales más acotadas (Veblen et al. 1996). Similarmente, Peri et al. (2009) publicaron que *N. antarctica* tuvo mejor respuesta a estrés hídrico, tanto por déficit como por exceso, que *N. pumilio*. Por ende, la diferencia en plasticidad ecológica entre estas especies podría explicar parcialmente sus diferentes tasas de reabsorción de nutrientes en relación con los cambios ambientales. Esta información puede ser útil para comprender la potencial respuesta de estas especies ante un escenario de cambio climático.

De acuerdo a nuestros resultados, tanto *N. antarctica* como *N. pumilio* en la zona de estudio usarían la reabsorción de elementos traza como una estrategia de conservación, lo cual estaría relacionado a la baja disponibilidad o a restricciones para la adquisición de tales elementos. En relación a las variaciones entre sitios, contrariamente a lo visto con N y P, cuyas reabsorciones ocurrieron en la mayoría de las situaciones en altas cantidades, la escasa información disponible sobre reabsorción de elementos traza muestra alta variabilidad entre especies en un mismo sitio y entre años para una misma especie o planta individual (ver Killingbeck 2004).

CONSIDERACIONES FINALES

Contrariamente a nuestras hipótesis preliminares, ambas especies se comportaron de manera similar en cuanto a su estrategia de conservación de nutrientes, representado en este caso valores similares de reabsorción de nutrientes cuando ambas especies crecían en el mismo suelo y bajo las mismas condiciones climáticas. Similarmente, no encontramos mayor reabsorción de nutrientes en los sitios más limitados desde el punto de vista de fertilidad de suelo y clima. La mayor limitación por N (que por P) vista en este estudio parece ser un comportamiento generalizado en los bosques de Patagonia. Este estudio representa la primera publicación de datos de concentración de micronutrientes y elementos traza para estas dos especies de *Nothofagus* de Patagonia. Las concentraciones de micronutrientes en hojas en general estuvieron en el rango considerado como suficiente en la literatura. De manera similar, las concentraciones de elementos traza encontradas estuvieron por debajo de los rangos considerados tóxicos para el crecimiento de las plantas. Se concluye además que son necesarios nuevos estudios bajo condiciones controladas y a campo que incluyan condiciones más contrastantes en lo referido a la disponibilidad de nutrientes, para mejorar nuestra comprensión sobre la eficiencia del uso de nutrientes en especies de bosques patagónicos.

CAPITULO 6

DISCUSIÓN FINAL

PRINCIPALES HALLAZGOS, IMPLICANCIAS Y PERSPECTIVAS

En esta tesis se han estudiado distintos aspectos relacionados con la respuesta anatómica y/o fisiológica de las especies de *Nothofagus* que se desarrollan en Patagonia austral en un amplio gradiente ambiental. En el capítulo 2 se llevó a cabo un análisis del efecto de distintos parámetros edáficos y climáticos sobre la productividad de los bosques de *N. antarctica* que se desarrollan en Santa Cruz y Tierra del Fuego, siendo éste el primer estudio de este tipo para una especie de *Nothofagus* de Sudamérica. Al analizar en forma conjunta los rodales de ñire de Santa Cruz y Tierra del Fuego (objetivo N° 1), las variables que más incidencia tuvieron sobre la productividad de estos bosques fueron la profundidad del suelo y su textura, resultando que los bosques más productivos se encontraban en suelos más profundos y de texturas más gruesas (arenosos a arenosos limosos). Desde el punto de vista climático las variables de mayor importancia relativa fueron las relacionadas a la variabilidad de la temperatura en el tiempo, siendo más productivos los bosques de ñire creciendo en sitios con mayor isothermalidad (menores amplitudes térmicas a lo largo del año). A nivel de relieve, la altitud sobre el nivel del mar fue la variable de mayor relevancia, siendo los rodales más productivos los ubicados en sitios con menor altitud. Esto último estaría relacionado con las combinaciones de suelos más profundos y menores amplitudes térmicas encontrados en lugares de menor altitud. Por otro lado, con respecto al objetivo N° 2, se encontró que los rodales de Tierra del Fuego se diferencian de los de Santa Cruz porque crecen en condiciones de menor altitud, temperaturas más homogéneas (menor amplitud) y evapotranspiraciones potenciales más bajas. Esto sugiere que hay una tendencia a que los rodales de *N. antarctica* que crecen en Tierra del Fuego presenten mayores productividades.

La relación entre la isothermalidad y la mayor productividad primaria también ha sido encontrada en un estudio reciente de modelización de carbono en suelo en el sur de Patagonia continental (Provincia de Santa Cruz) donde se incluyeron los bosques de *Nothofagus antarctica* estudiados en esta tesis (Peri et al. 2018). En dicha modelización los autores encontraron una correlación positiva significativa entre la isothermalidad y la acumulación de carbono orgánico en los primeros 30 cm de suelo. Esta mayor acumulación de carbono en suelo en zonas con menor amplitud térmica en el caso de los bosques de ñire podría deberse a que, como hemos encontrado en esta tesis, en esas condiciones climáticas estos bosques logran mayores crecimientos, lo cual está

directamente relacionado a un mayor aporte de hojarasca al suelo (Bahamonde et al. 2015) y a las bajas tasas de descomposición existentes en estos bosques (Bahamonde et al. 2012a, Gargaglione et al. 2019).

También existen modelos de predicción climática que indican que en Patagonia austral (Santa Cruz y Tierra del Fuego) en los próximos 60 años las temperaturas máximas del aire se incrementarán entre 2 y 3 °C (Kreps et al. 2012). En el mismo sentido, aunque no existen estudios predictivos sobre la variabilidad entre las temperaturas máximas y mínimas para la región patagónica, publicaciones a escala global indican que en el aumento de las temperaturas medias globales tiene más peso relativo el aumento de las temperaturas mínimas que el de las máximas (Folland et al. 2001, Vose et al. 2005). Si esto se replica en Patagonia implicaría que el aumento de las temperaturas medias y máximas (Kreps et al. 2012) de la región serían acompañadas por una disminución en la amplitud térmica o lo que es lo mismo mayor isothermalidad. Si a esto le agregamos un aumento en las precipitaciones en las zonas de crecimiento de *Nothofagus antarctica*, como lo predicen los modelos existentes para Patagonia austral (Kreps et al. 2012, Pabón-Caicedo et al. 2020), es esperable un aumento en la productividad de los bosques de ñire de la región estudiada. Esto a su vez podría implicar un aumento en la fijación de carbono, pero a la vez con el incremento de temperatura aumentaría la respiración del suelo (Peri et al. 2016c). No obstante, para tener mayor certeza sobre estas predicciones es necesario realizar líneas de investigación futuras a distintas escalas espaciales y temporales tales como estudios a nivel plántula en condiciones controladas de temperatura, luz y disponibilidad hídrica; estudios en rodales de distintas edades a mediano y largo plazo.

En el capítulo 3 se evaluó la respuesta funcional de plántulas de *N. antarctica* de diferentes procedencias de Patagonia ante la escasez de agua. Cabe destacar que se estudiaron plántulas de semillas obtenidas de 4 procedencias de condiciones contrastantes de altitud, precipitaciones, temperaturas y evapotranspiración. Tal como se ha visto en el capítulo 2 de esta tesis, estas condiciones están directamente relacionadas con la productividad de los bosques de *N. antarctica* en Patagonia Austral. Al dar cumplimiento al objetivo de este capítulo se encontró que al analizar el promedio de plasticidad fenotípica de todos los parámetros evaluados, no se observaron diferencias entre las distintas procedencias. Si bien las procedencias analizadas en este estudio no

presentaron diferencias de ajuste osmótico ante el déficit hídrico al que fueron sometidas, se pudo apreciar cierto nivel de ajuste osmótico al ver conjuntamente las 4 procedencias. Esto sugiere que este tipo de respuestas estarían más asociadas a la magnitud de las variaciones del ambiente que a un elemento genético diferente entre las procedencias evaluadas. Estudios de este tipo en especies de la región patagónica se han hecho mayoritariamente en la zona norte en especies como *Nothofagus obliqua* y *N. nervosa* (Varela et al. 2010, Varela et al. 2012, Torres et al. 2018). La información obtenida en este capítulo puede ser relevante para complementar el conocimiento existente relacionado con las modificaciones climáticas que se prevén en la región Patagónica. En relación a esto, las predicciones de los modelos climáticos sugieren un aumento en las precipitaciones en las zonas de crecimiento de los bosques de ñire en el sur de Patagonia (Kreps et al. 2012, Pabón-Caicedo et al. 2020). Sin embargo, en dichos modelos solo se hace referencia a las precipitaciones anuales totales, desconociéndose las posibles modificaciones en la distribución mensual o estacional de las lluvias. Modelizaciones a escala continental han encontrado que las precipitaciones en el sur de Sudamérica presentarían tendencias a ser menos uniformes a lo largo del año (Rajah et al. 2014), lo que podría implicar que un aumento de las precipitaciones anuales no necesariamente se traduzcan en mayor disponibilidad de agua para la vegetación en las estaciones de mayores requerimientos (primavera-verano). Por otro lado, considerando que la magnitud de las variaciones de factores ambientales es importante para poder observar la respuesta de las plantas ante factores que generen estrés (Valladares et al. 2004, Mody et al. 2009), es necesario profundizar este tipo de estudios con distintos niveles de estrés, de manera de poder obtener los rangos de factores ambientales más adecuados para el desarrollo y sobrevivencia de estas especies ante los cambios que puedan ocurrir en el futuro. En el mismo sentido, es necesario realizar estudios combinando niveles de las principales variables ambientales que se están modificando con el cambio climático (temperatura y disponibilidad de agua).

En el capítulo 4 se analizó el potencial de absorción de agua por vía foliar y se compararon las características anatómicas y ultrasestructurales de hojas de una especie caducifolia (*N. antarctica*) y una perenne (*N. betuloides*) que crecen en los bosques de Patagonia austral. También se evaluó el efecto producido por el aumento de la concentración de CO₂ del aire en dichas características para ambas especies.

En relación al objetivo N° 1, tanto las hojas de *N. antarctica* como las de *N. betuloides* resultaron ser mojables por agua y con poca rugosidad de acuerdo a los parámetros evaluados cuando ambas especies crecieron a valores de 400 (control) y 800 ppm de CO₂ en el aire. Sin embargo, las hojas de *N. antarctica* presentaron valores más bajos de espesor de cutícula y concentración de ceras epicuticulares, lo que les da mayor probabilidad de absorber y/o perder agua a través de las superficies foliares. Si bien el aumento en la concentración de CO₂ generó un incremento en el espesor de cutícula y concentración de ceras epicuticulares, se mantuvieron las diferencias entre ambas especies.

Respecto al objetivo N° 2, se encontró que las 2 especies estudiadas respondieron de manera inversa al aumento de CO₂ en aire a 800 ppm en algunos parámetros anatómicos (como densidad y tamaño de estomas), aumentándolos en *N. antarctica* y reduciéndolos en *N. betuloides*. Mientras que en otros parámetros, como los relacionados a los tejidos foliares ambas especies mostraron modificaciones similares con el aumento de CO₂, por ejemplo reduciendo la epidermis y la proporción de tejidos foliares internos. A nivel de ultraestructura, las dos especies mostraron distintas respuestas al incremento de CO₂, aumentando el tamaño de cloroplastos solamente en *N. antarctica*.

Los resultados encontrados en este capítulo aportan información original en cuanto a las características anatómicas y ultraestructurales de las hojas de ñire y guindo, cuyas implicancias pueden ser relevantes para diferentes aspectos de la eco-fisiología de estas especies. En relación a esto, en el ámbito de la eco-hidrología se han estudiado los efectos que superficies foliares con distintas características tienen sobre la repelencia o retención de agua en el canopeo cuando ocurren precipitaciones (Holder 2007) con la incidencia que esto puede tener en los balances hídricos de los ambientes boscosos. Si tenemos en cuenta que los estudios vinculados al balance hídrico en bosques de *Nothofagus* de Patagonia son escasos (Gyenge et al. 2009, 2011) y que no se incluyen estos aspectos de características foliares de repelencia de agua, la información obtenida en esta tesis representa un aporte de conocimiento a esta particular vacancia. Por otro lado, las modificaciones observadas en algunos de los parámetros evaluados, a causa del incremento en la concentración de CO₂, contribuyen al conocimiento de las potenciales modificaciones que se puedan dar en estas especies en escenarios de cambios ambientales de importante magnitud, como el aumento en los niveles de CO₂

atmosférico. No obstante, para una mayor comprensión de cómo podrían responder estas especies arbóreas nativas de la Patagonia ante los cambios ambientales que se prevén en la región (Kreps et al. 2012, Pabón-Caicedo et al. 2020), es necesario realizar futuros estudios que incluyan factores ambientales como temperatura y disponibilidad de agua y su incidencia en estos parámetros anatómicos y ultraestructurales. Asimismo, como se sugiere en el capítulo 3 de esta tesis, la magnitud de las variaciones ambientales también deben tenerse en cuenta al intentar modelar la respuesta de estas especies a todas estas modificaciones atmosféricas. Los datos publicados sobre el efecto del aumento de la temperatura en otras regiones frías del mundo indican que la respuesta anatómica ante estos cambios ambientales puede variar dependiendo de cada especie (Hartikainen et al. 2020, Scollert et al. 2015). En un sentido similar, la información existente para *N. pumilio* indica que la disponibilidad de agua puede interactuar con otros factores ambientales produciendo modificaciones en la anatomía foliar de la especie (Ivancich et al. 2012).

En el capítulo 5 se estudió la concentración y reabsorción de nutrientes esenciales y elementos traza en bosques coexistentes de *Nothofagus antarctica* y *N. pumilio*, creciendo en distintas condiciones ambientales. En respuesta al objetivo planteado se encontró que la reabsorción de macronutrientes no varió entre especies cuando crecían en un mismo sitio, mientras que entre sitios hubo diferencias solo en *N. antarctica*.

Respecto a los micronutrientes, mientras que algunos elementos como el Fe y el Mn mostraron tendencia a no ser reabsorbidos, los demás microelementos fueron en su mayoría reabsorbidos independientemente de la especie y el sitio. Este estudio es el primero en su tipo que incluye la gran mayoría de elementos esenciales y elementos traza en plantas de Patagonia en general y para especies del género *Nothofagus* en particular. Por esta razón, la información surgida en este estudio representa una contribución relevante en lo referido al conocimiento del ciclado de nutrientes en estos sistemas boscosos. Por otro lado, tal como se planteó para los capítulos previos, este tipo de estudios debieran ser profundizados en futuras líneas de investigación en el marco de escenarios de cambios ambientales, especialmente en lo referido a temperatura, disponibilidad de agua y concentración de CO₂ en el aire. Estudios de este tipo en otras regiones del mundo indican que los cambios ambientales mencionados pueden tener incidencia en el metabolismo microbiano del suelo (Borken y Mantzner

2009), la capacidad de las raíces para absorber nutrientes (Gessler et al. 2005), la expresión de transportadores de iones (Seki et al. 2007), la asimilación de carbono (Flexas y Medrano 2002). Todas estas modificaciones pueden afectar tanto la disponibilidad de nutrientes en suelo como la fisiología de las plantas para la adquisición de dichos nutrientes (Lynch et al. 2004, Rennenberg et al. 2009, Kreuzwieser y Gessler 2010).

Como conclusión final, de la información generada en esta tesis se puede destacar que se ha generado conocimiento nuevo respecto a la respuesta de las principales especies que forman los bosques de la Patagonia Austral, ante cambios ambientales que están ocurriendo a nivel global.

BIBLIOGRAFÍA

Achten W.M.J., Maes W.H., Reubens B., Mathijs E., Singh V.P., Verchot L., Muys B., 2010. Biomass production and allocation in *Jatropha curcas* L. seedlings under different levels of drought stress. *Biomass and Bioenergy*. 34, 667-676.

Ackerly D., Knight C., Weiss S., Barton K., Starmer K., 2002. Leaf size, specific leaf area and microhabitat distribution of chaparral woody plants: contrasting patterns in species level and community level analyses. *Oecologia*. 130(3), 449-457.

Aerts R., 1996. Nutrient resorption from senescing leaves of perennials: are there general patterns? *Journal of Ecology*. 84, 597-608. doi: 10.2307/2261481.

Aerts R., Chapin III F.S., 2000. The mineral nutrition of wild plants revisited: a re-evaluation of processes and patterns. *Advances in Ecological Research*. 30, 1-68. doi: 10.1016/S0065-2504(08)60016-1.

Allen M., Antwi-Agyei P., Aragon-Durand F., Babiker M., Bertoldi P., Bind M., Cramer W., 2019. Technical Summary: Global warming of 1.5° C. An IPCC Special Report on the impacts of global warming of 1.5° C above pre-industrial levels and related global greenhouse gas emission pathways, in the context of strengthening the global response to the threat of climate change, sustainable development, and efforts to eradicate poverty. http://pure.iiasa.ac.at/id/eprint/15716/1/SR15_TS_High_Res.pdf

Aranda I., Gil L., Pardos J.A., 2004. Osmotic adjustment in two temperate oak species [*Quercus pyrenaica* Willd and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl] of the Iberian Peninsula in response to drought. *Forest Systems*. 13, 339-345.

Arend M., Kuster T., Günthardt-Goerg M.S., Dobbertin M., 2011. Provenance-specific growth responses to drought and air warming in three European oak species (*Quercus robur*, *Q. petraea* and *Q. pubescens*). *Tree Physiology*. 31, 287-297.

Ares A., Gleason S.M., 2007. Foliar nutrient resorption in tree species. In: *New research on forest ecology*. Nova Science Publishers, Inc. Pp. 1-35. ISBN: 1-60021-434-7.

Atzmon N., Moshe Y., Schiller G., 2004. Ecophysiological response to severe drought in *Pinus halepensis* Mill. Trees of two provenances. *Plant Ecology*. 171, 15-22.

Bahamonde H.A., Peri P.L., Monelos L.H., Martínez Pastur G., 2011. Aspectos ecológicos de la regeneración por semillas en bosques nativos de *Nothofagus antarctica* en Patagonia Sur, Argentina. *Bosque*. 32, 20-29.

Bahamonde H.A., Peri P.L., Alvarez R., Barneix A., Moretto A., Martínez Pastur G., 2012a. Litter decomposition and nutrients dynamics in *Nothofagus antarctica* forests under silvopastoral use in Southern Patagonia. *Agroforestry Systems*. 84, 345-360.

Bahamonde H.A., Peri P.L., Alvarez R., Barneix A., 2012b. Producción y calidad de gramíneas en un gradiente de calidades de sitio y coberturas en bosques de *Nothofagus antarctica* (G. Forster) Oerst. en Patagonia. *Ecología Austral*. 22, 62-73.

Bahamonde H.A., Peri P.L., Alvarez R., Barneix A., Moretto A., Martínez Pastur G., 2013a. Silvopastoral use of *Nothofagus antarctica* in Southern Patagonian forests, influence over net nitrogen soil mineralization. *Agroforestry Systems*. 87, 259-271.

Bahamonde H.A., Peri P.L., Monelos L.H., Martínez Pastur G., 2013b. Regeneración por semillas en bosques nativos de *Nothofagus antarctica* bajo uso silvopastoril en Patagonia Sur, Argentina. *Bosque*. 34, 89-101.

Bahamonde H.A., Peri P.L., Mayo J.P., 2014a. Modelo de simulación de producción de materia seca y concentración de proteína bruta de gramíneas creciendo en bosques de *Nothofagus antarctica* (G. Forster) Oerst. bajo uso silvopastoril. *Ecología Austral*. 24, 111-117.

Bahamonde H.A., Sánchez-Gómez D., Gyenge J., Peri P.L., Aranda I., 2014b. Interaction of light and water stress on the ecophysiological response of *Nothofagus antarctica* (G. Forster) Oerst. Book of proceedings XII Portuguese-Spanish Symposium on Plant Water relations. Pp. 101-104.

Bahamonde H.A., Peri P.L., Martínez Pastur G., Monelos L.H., 2015. Litterfall and nutrients return in *Nothofagus antarctica* forests growing in a site quality gradient with different management uses in Southern Patagonia. *European Journal of Forest Research*. 134(1), 113-124.

Bahamonde H.A., Lencinas M.V., Martínez Pastur G., Monelos L., Soler R., Peri P.L., 2016a. Ten years of seed production and establishment of regeneration measurements in *Nothofagus antarctica* forests under different crown cover and quality sites, in Southern Patagonia. *Agroforestry Systems*. 93, 623-635. Doi: 10.1007/s10457-016-9999-7.

Bahamonde H.A., Sosa Lovato S., Gesto E., Martínez Pastur G., Lencinas M.V., Soler R., Peri P.L., 2016b. Variación temporal y espacial de la humedad de suelo y las raíces finas en bosques de ñire bajo uso silvopastoril en la Patagonia sur. Book of proceedings V Jornadas Forestales, Esquel, Argentina, 9-11 de Noviembre de 2016. Pp 33-37.

Bahamonde H.A., Fernández V., Mattenet F., Peri P.L., 2016c. Mineral elements in grasses growing in contrasting environmental conditions in southern Patagonia. *New Zealand Journal of Agricultural Research*. 59(3), 235-249. doi: 10.1080/00288233.2016.1188132

Bahamonde H.A., Gil L., Fernández V., 2018a. Surface properties and permeability to calcium chloride of *Fagus sylvatica* and *Quercus petraea* leaves of different canopy heights. *Frontiers in plant science*. 9, 494.

Bahamonde H.A., Martínez Pastur G., Lencinas M.V., Soler R., Rosas Y.M., Ladd B., Duarte Guardia S., Peri P.L., 2018b. The relative importance of soil properties and regional climate as drivers of productivity in southern Patagonia's *Nothofagus antarctica* forests. *Annals of Forest Science*. 75(2), 45. doi: 10.1007/s13595-018-0725-7

Barber V.A., Juday G.P., Finney B.P., 2000. Reduced growth of Alaskan white spruce in the twentieth century from temperature-induced drought stress. *Nature*. 405(6787), 668-673.

Barrera M.D., Frangi J.L., Richter L.L., Perdomo M.H., Pinedo L.B., 2000. Structural and functional changes in *Nothofagus pumilio* forests along an altitudinal gradient in Tierra del Fuego, Argentina. *Journal of Vegetal Science*. 11(2), 179-188.

Beerling D.J., McElwain J.C., Osborne C.P., 1998. Stomatal responses of the 'living fossil' *Ginkgo biloba* L. to changes in atmospheric CO₂ concentrations. *Journal of Experimental Botany*. 49(326), 1603-1607.

Bergmann D.C., Sack F.D., 2007. Stomatal development. *Annual Review of Plant Biology*. 58, 163–181.

Berry Z.C., Hughes N.M., Smith W.K., 2014. Cloud immersion: an important water source for spruce and fir saplings in the southern Appalachian Mountains. *Oecologia*. 174 (2), 319-326.

Bickford C.P., 2016. Ecophysiology of leaf trichomes. *Functional Plant Biology*. 43(9), 807-814.

Binks O., Mencuccini M., Rowland L., da Costa A.C., de Carvalho C.J.R., Bittencourt P., Ferreira L., 2019. Foliar water uptake in Amazonian trees: Evidence and consequences. *Global change biology*. 25(8), 2678-2690.

Bohnert H.J., Jensen R.G., 1996. Strategies for engineering water-stress tolerance in plants. *Trends in Biotechnology* 14,89-96.

Boisvenue C., Running S.W., 2006. Impacts of climate change on natural forest productivity – evidence since the middle of the 20th century. *Global change biology*. 12, 1-21.

Bondada B.R., Sybertsen J.P., 2003. Leaf chlorophyll, net gas exchange and chloroplast ultrastructure in citrus leaves of different nitrogen status. *Tree Physiology*. 23, 553-559.

Borken W., Matzner E., 2009. Reappraisal of drying and wetting effects on C and N mineralization and fluxes in soils. *Global Change Biology*. 15, 808–824.

Borrello A., 1972. Cordillera Fueguina. In: Leanza, H. (ed.), *Geología Regional Argentina*. Academia Nacional de Ciencias de Córdoba. Córdoba, Argentina, 741–754.

Bréda N., Huc R., Granier A., Dreyer E., 2006. Temperate forest trees and stands under severe drought: a review of ecophysiological responses, adaptation processes and long-term consequences. *Annals of Forest Science*. 63, 625–644.

Breshears D.D., McDowell N.G., Goddard K.L., Dayem K.E., Martens S.N., Meyer C. W., Brown K.M., 2008. Foliar absorption of intercepted rainfall improves woody plant water status most during drought. *Ecology*. 89(1), 41-47.

Brewer C.A., Smith W.K., Vogelmann T.C., 1991. Functional interaction between leaf trichomes, leaf wettability and the optical properties of water droplets. *Plant Cell and Environment*. 14, 955–962.

Brewer C.A., Nunez C.I., 2007. Patterns of leaf wettability along an extreme moisture gradient in western Patagonia, Argentina. *International Journal of Plant Sciences*. 168(5), 555-562.

Bucci S.J., Scholz F.G., Campanello P.I., Monti L., Jimenez-Castillo M., Rockwell F.A., La Manna L., Guerra P., Lopez Bernal P., Troncoso O., Enricci J., Holbrook M.N., Goldstein G., 2013. Hydraulic differences along the water transport system of South American *Nothofagus* species: do leaves protect the stem functionality? *Tree Physiology*. 32, 880-893.

Burger J.A., Kelting D.L., 1999. Using soil quality indicators to assess forest stand management. *Forest Ecology and Management*. 122, 155-156.

Burgess S.S.O., Dawson T.E., 2004. The contribution of fog to the water relations of *Sequoia sempervirens* (D. Don): foliar uptake and prevention of dehydration. *Plant Cell and Environment*. 27, 1023-1034.

Calabria C., Puntieri J., 2008. Desarrollo foliar y caulinar de las unidades de alargamiento de *Nothofagus dombeyi* (Nothofagaceae) en condiciones de alta y baja luminosidad. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*. 43, 19–30.

Caldentey J., Ibarra M., Hernández J., 2001. Litter fluxes and decomposition in *Nothofagus pumilio* stands in the region of Magallanes, Chile. *Forest Ecology and Management*. 148, 145-157.

Camargo M.A.B., Marengo R.A., 2011. Density, size and distribution of stomata in 35 rainforest tree species in Central Amazonia. *Acta Amazonica*, 41(2). 205-212.

Carabelli E., Peri P.L., 2005. Criterios e Indicadores de sustentabilidad (C&I) para el Manejo Sustentable de los Bosques Nativos de Tierra del Fuego – Una herramienta metodológica para la determinación de los C&I en Patagonia, 88 pp. Ediciones INTA, Buenos Aires. ISBN 987-521-178-8.

Caspar C.C.C., Oliver J., Casson S., Gray J.E., 2014. Putting the brakes on: abscisic acid as a central environmental regulator of stomatal development. *New Phytologist*. 202, 376–391.

Casson S., Gray J.E., 2008. Influence of environmental factors on stomatal development. *New Phytologist*. 178, 9–23.

Castro-Díez P., Puyravaud J.P., Cornelissen J.H.C., 2000. Leaf structure and anatomy as related to leaf mass per area variation in seedlings of a wide range of woody plant species and types. *Oecologia*. 124(4), 476-486.

Cellini J.M., 2010. Estructura y regeneración bajo distintas propuestas de manejo de bosques de *Nothofagus pumilio* (Poepp et. Endl) Krasser en Tierra del Fuego, Argentina. Tesis doctorado en Biología de Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Argentina.

Churkina G., Running S.W., 1998. Contrasting climatic controls on the estimated productivity of global terrestrial biomes. *Ecosystems*. 1, 206–215.

Collado L., 2001. Los Bosques de Tierra del Fuego. Análisis de su estratificación mediante imágenes satelitales para el inventario forestal de la Provincia. *Multequina*. 10, 1–16.

Collado L., 2009. Clasificación de los ñirantales de Tierra del Fuego. En: Relevamiento de los bosques nativos de ñire (*Nothofagus antarctica*) de Tierra del Fuego (Argentina) como herramienta para el manejo sustentable. Ediciones INTA, Buenos Aires. Pp: 10-27.

Conroy J., Barlow E.W.R., Bevege D.I., 1986. Response of *Pinus radiata* seedlings to carbon dioxide enrichment at different levels of water and phosphorus: growth, morphology and anatomy. *Annals of Botany*. 57, 165-177.

- Corcuera L., Camarero J.J., Gil-Pelegrín E., 2002. Functional groups in *Quercus* species derived from the analysis of pressure-volume curves. *Trees*. 16(7), 465–472. <https://doi.org/10.1007/s00468-002-0187-1>
- Coronato A.M., Coronato F., Mazzoni E., Vázquez M., 2008. The physical geography of Patagonia and Tierra del Fuego. *Developments in Quaternary Sciences*. 11, 13-55.
- Curt T., Coll L., Prévosto B., Balandier P., Kunstler G., 2005. Plasticity in growth, biomass allocation and root morphology in beech seedlings as induced by irradiance and herbaceous competition. *Annals of Forest Science*. 62, 51-60.
- Dalal R.C., Henry R.J., 1986. Simultaneous determination of moisture, organic carbon, and total nitrogen by near infrared reflectance spectrophotometry. *Soil Science Society of America Journal*. 50(1), 120-123.
- Dawson T.E., Goldsmith G.R., 2018. The value of wet leaves. *New Phytologist*. 219(4), 1156-1169.
- del Valle H.F., 1998. Patagonian soils: a regional synthesis. *Ecología Austral*. 8(02), 103-123.
- Denman K.L., *et al.*, 2007: The Physical Science Basis. *In IPCC Climate Change* (eds Solomon, S. *et al.*), 499–587 (Cambridge Univ. Press, 2007).
- Dettmann S., Pérez C.A., Thomas F.M., 2013. Xylem anatomy and calculated hydraulic conductance of four *Nothofagus* species with contrasting distribution in South-Central Chile. *Trees*. 27, 685-696.
- Diehl P., Mazzarino M.J., Funes F., Fontenla S., Gobbi M., Ferrari J., 2003. Nutrient conservation strategies in native Andean-Patagonian forests. *Journal of Vegetable Science*. 14, 63–70. doi: 10.1111/j.1654-1103.2003.tb02128.x
- Diehl P., Mazzarino M.J., Fontenla S., 2008. Plant limiting nutrients in Andean-Patagonian woody species: effects of interannual rainfall variation, soil fertility and mycorrhizal infection. *Forest Ecology and Management*. 255(7), 2973-2980. doi: 10.1016/j.foreco.2008.02.003

Donoso C., Donoso P., 2006. *Nothofagus betuloides* (Mirb) Oerst. Coigue de Magallanes, Ouchpaya (onas), Guindo (zona Austral), Coigue Colorado (Tierra del Fuego). In: Donoso Zegers C ed. Las especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina. Autoecología. Valdivia, Chile, pp 411-422.

Donoso C., Steinke L., Premoli A., 2006. *Nothofagus antarctica* (G. Forster) Oerst. In: Donoso Zegers C ed. Las especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina. Autoecología. Valdivia, Chile, pp 401-410.

Doran J.W., Parkin T.B., 1994. Defining and assessing soil quality. In: Doran, J.W., Coleman, D.C., Bezdick, D.F., Stewart, B.A. (Eds.), Defining Soil Quality for a Sustainable Environment. Soil Science Society of America, Special Publication No. 35, pp. 3-21.

Driscoll S.P., Prins A., Olmos E., Kunert K.J., Foyer C.H., 2006. Specification of adaxial and abaxial stomata, epidermal structure and photosynthesis to CO₂ enrichment in maize leaves. *Journal of experimental botany*. 57(2), 381-390.

Echeverria C., Lara A., 2004. Growth patterns of secondary *Nothofagus obliqua*-*N. alpina* forests in southern Chile. *Forest Ecology and Management*. 195(1-2), 29-43.

Eller C.B., Lima A.L., Oliveira R.S., 2013. Foliar uptake of fog water and transport belowground alleviates drought effects in the cloud forest tree species, *Drimys brasiliensis* (Winteraceae). *New Phytologist*. 199(1), 151-162.

Enrique G., Olmo M., Poorter H., Ubera J.L., Villar R., 2016. Leaf mass per area (LMA) and its relationship with leaf structure and anatomy in 34 Mediterranean woody species along a water availability gradient. *PloS one*. 11(2).

Epstein E., Bloom A., 2005. *Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives*, second edition (Oxford University Press).

Fajardo A., Piper F.I., 2015. High foliar nutrient concentrations and resorption efficiency in *Embothrium coccineum* (Proteaceae) in southern Chile. *American Journal of botany*. 102(2), 208-216. doi: 10.3732/ajb.1400533

Farahat E., Linderholm H.W., 2015. Nutrient resorption efficiency and proficiency in economic wood trees irrigated by treated wastewater in desert planted forests. *Agricultural Water Management*. 155, 67-75. doi: 10.1016/j.agwat.2015.03.008

Farr T.G., Rosen P.A., Caro E., Crippen R., Duren R., Hensley S., Kobrick M., Paller M., Rodriguez E., Roth L., Seal D., Shaffer S., Shimada J., Umland J., Werner M., Oskin M., Burbank D., Alsdorf D., 2007. The shuttle radar topography mission. *Reviews of Geophysics*. 45, RG2004.

Fernández M.E., Gyenge J.E., Schlichter T., 2009. Water flux and canopy conductance of natural vs. planted forests in Patagonia, South-America. *Trees*. 23, 415-427.

Fernández V., Guzmán P., Peirce C.A.E., McBeath T.M., Khayet M., McLaughlin M.J., 2014a. Effect of wheat phosphorus status on leaf surface properties and permeability to foliar applied phosphorus. *Plant and Soil*. 384, 7-20.

Fernández V., Sancho-Knapik D., Guzmán P., Peguero-Pina J.J., Gil L., Karabourniotis G., Khayet M., Fasseas C., Heredia-Guerrero J.A., Heredia A., Gil-Pelegrín E., 2014b. Wettability, Polarity, and Water Absorption of Holm Oak Leaves: Effect of Leaf Side and Age. *Plant Physiology*. 166, 168-180.

Fernandez V., Khayet M., 2015. Evaluation of the surface free energy of plant surfaces: towards standardizing the procedure. *Frontiers in Plant Science*. 6, 510.

Fernández V., Sotiropoulos T., Brown P., 2015. Fertilización foliar: Principios científicos y práctica de campo. Asociación Internacional de la Industria de Fertilizantes (IFA). ISBN 979-10-92366-03-7. 159 pp.

Fernández V., Bahamonde H.A., Peguero-Pina J.J., Gil-Pelegrín E., Sancho-Knapik D., Goldbach H.E., Gil L., Eichert T., 2017. Physico-chemical properties of plant cuticles and their functional and ecological significance. *Journal of Experimental Botany*. 68 (19), 5293–5306.

Fife D.N., Nambiar E.K.S., Saur E., 2008. Retranslocation of foliar nutrients in evergreen tree species planted in a Mediterranean environment. *Tree Physiology*. 28,187–196. doi: 10.1093/treephys/28.2.187

First P.J., 2019. Global Warming of 1.5 °C An IPCC Special Report on the Impacts of Global Warming of 1.5 °C Above Pre-Industrial Levels and Related Global Greenhouse Gas Emission Pathways, in the Context of Strengthening the Global Response to the Threat of Climate Change. Sustainable Development and Efforts to Eradicate Poverty. <https://www.ipcc.ch/sr15/> Accessed April 2019.

Fisher R.F., Binkley D., 2000. Ecology and management of forest soils, 3rd edn. Wiley, New York.

Flexas J., Escalona J.M., Medrano H., 1999. Water stress induces different levels of photosynthesis and electron transport rate regulation in grapevines. *Plant, Cell and Environment*. 22, 39-48.

Flexas J., Medrano H., 2002. Drought-inhibition of photosynthesis in C-3 plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. *Annals of Botany*. 89, 183–189.

Folland C.K., Karl T.R., Christy J.R., Clarke R.A., Gruza G.V., Jouzel J., Wang S.W., 2001. Observed climate variability and change. *Climate change*. 2001, 99.

Frangi J.L., Barrera M.D., Puigdefábregas J., Yapura P.F., Arambarri A.M., Richter L.L., 2004. Ecología de los bosques de Tierra del Fuego. In: Arturo, M., Frangi, J., Goya, J.F. (Eds). *Ecología y Manejo de los Bosques de Argentina*. Web documents. http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/15915/Ecol%C3%ADa_de_los_bosques_de_Tierra_del_Fuego_Jorge_L._Frangi_Marcelo_D._Barrera_Juan_Puigdef%C3%A1bregas_Pablo_F._Yapura_Ang%C3%A9lica_M._Arrambarri_y_Laura_Richter_.pdf?sequence=20. Visto el 17 de Noviembre de 2019.

Frangi J.L., Barrera M.D., Richter L.L., Lugo A.E., 2005. Nutrient cycling in *Nothofagus pumilio* forests along an altitudinal gradient in Tierra del Fuego,

Argentina. Forest Ecology and Management. 217(1), 80-94. doi:
[10.1016/j.foreco.2005.05.051](https://doi.org/10.1016/j.foreco.2005.05.051)

Freschet G.T., Cornelissen J.H.C., van Logtestijn R.S.P., Aerts R., 2010. Substantial nutrient resorption from leaves, stems and roots in a subarctic flora: what is the link with other resource economics traits? *New Phytologist*. 186, 879–89. [10.1111/j.1469-8137.2010.03228.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03228.x)

García-Plazaola J.I., Becerril J.M., 2000. Effects of drought on photoprotective mechanisms in European beech (*Fagus sylvatica* L.) seedlings from different provenances. *Trees*. 14, 485–490.

Gargaglione V., Peri P.L., Rubio G., 2013. Partición diferencial de nutrientes en árboles de *Nothofagus antarctica* creciendo en un gradiente de calidades de sitio en Patagonia Sur. *Bosque*. 34, 291-302.

Gargaglione V., Bahamonde H.A., Peri, P.L., 2019. Decomposition and nutrient release of grass and tree fine roots along an environmental gradient in southern Patagonia. *Austral Ecology*. 44(2), 276-289.

Gessler A., Jung K., Gasche R., Papen H., Heidenfelder A., Borner E., Metzler B., Augustin S., Hildebrand E., Rennenberg H., 2005. Climate and forest management influence nitrogen balance of European beech forests: microbial N transformations and inorganic N net uptake capacity of mycorrhizal roots. *European Journal of Forest Research*. 124, 95–111.

Girma F.S., Krieg D.R., 1992. Osmotic Adjustment in Sorghum I. Mechanisms of Diurnal Osmotic Potential Changes. *Plant Physiology*. 99, 577-582.

Golding A.J., Johnson G.N., 2003. Down-regulation of linear and activation of cycling electron transport during drought. *Planta*. 218, 107-114.

Grammatikopoulos G., Manetas Y., 1994. Direct absorption of water by hairy leaves of *Phlomis fruticosa* and its contribution to drought avoidance. *Canadian Journal of Botany*. 72, 1805-1811.

Griffin K.L., Anderson O.R., Gastrich M.D., Lewis J.D., Lin G., Schuster W., Whitehead D., 2001. Plant growth in elevated CO₂ alters mitochondrial number and chloroplast fine structure. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 98(5), 2473-2478.

Guzmán-Delgado P., Mason Earles J., Zwieniecki M.A., 2018. Insight into the physiological role of water absorption via the leaf surface from a rehydration kinetics perspective. *Plant, Cell & Environment*. 41(8), 1886–1894.

Gyenge J., Fernández M.E., Schlichter T., 2009. Effects on site water balance of conversion from native mixed forest to Douglas-fir plantation in NW Patagonia. *New Forests*. 38(1), 67-80.

Gyenge J.E., Fernandez M.E., Licata J.A., Weigandt M.N., Bond B.J., Schlichter T., 2011. Uso del agua y productividad de los bosques nativos e implantados en el NO de la Patagonia: aproximaciones desde la ecohidrología y la ecofisiología. *Ecología Austral*. 21(3), 271-284.

Hagen-Thorn A., Varnagiryte I., Nihlgård B., Armolaitis K., 2006. Autumn nutrient resorption and losses in four deciduous forest tree species. *Forest Ecology and Management*. 228(1-3), 33-39. doi: [10.1016/j.foreco.2006.02.021](https://doi.org/10.1016/j.foreco.2006.02.021)

Han M., Ji C., Zuo W., He J., 2007. Interactive effects of elevated CO₂ and temperature on the anatomical characteristics of leaves in eleven species. *Frontiers of Biology in China*. 2(3), 333-339.

Hanba Y.T., Kogami H., Terashima I., 2002. The effect of growth irradiance on leaf anatomy and photosynthesis in *Acer* species differing in light demand. *Plant, Cell & Environment*. 25(8), 1021-1030.

Hartikainen K., Kivimäenpää M., Nerg A. M., Mäenpää M., Oksanen E., Rousi M., Holopainen T., 2020. Elevated temperature and ozone modify structural characteristics of silver birch (*Betula pendula*) leaves. *Tree Physiology*. 40(4), 467-483.

Hetherington A.M., Woodward F.I., 2003. The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature*. 424 (6951), 901-908.

Hevia F., Decker K.L., Boerner R.E., 1999. Foliar nitrogen and phosphorus dynamics of three Chilean *Nothofagus* (Fagaceae) species in relation to leaf lifespan. *American Journal of Botany*. 86(3), 447-455. doi: [10.2307/2656765](https://doi.org/10.2307/2656765)

Hijmans R.J., Cameron S.E., Parra J.L., Jones P.G., Jarvis A., 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*. 25, 1965–1978.

Hildebrand J.H., 1949. A critique of the theory of solubility of non-electrolytes. *Chemical reviews*. 44(1), 37-45.

Holder C.D., 2007. Leaf water repellency of species in Guatemala and Colorado (USA) and its significance to forest hydrology studies. *Journal of Hydrology*. 336,147–154. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2006.12.018>

Holder C.D., 2020. Advances and Future Research Directions in the Study of Leaf Water Repellency. *In Forest-Water Interactions* (pp. 261-278). Springer, Cham.

Holland N., Richardson A.D., 2009. Stomatal Length Correlates with Elevation of Growth in Four Temperate Species. *Journal of Sustainable Forestry*. 28, 63–73.

Hovenden M.J., Brodribb T., 2000. Altitude of origin influences stomatal conductance and therefore maximum assimilation rate in Southern Beech, *Nothofagus cunninghamii*. *Australian Journal of Plant Physiology*. 27, 451-456.

Hovenden M.J., Vander Schoor J.K., 2006. The response of leaf morphology to irradiance depends on altitude of origin in *Nothofagus cunninghamii*. *New Phytology*. 169, 291-297.

Ignazi G., Bucci S.J., Premoli A.C., 2020. Stories from common gardens: Water shortage differentially affects *Nothofagus pumilio* from contrasting precipitation regimes. *Forest Ecology and Management*. 458, 117796.

Ivancich H., Martínez Pastur G., Peri P.L., 2011. Modelos forzados y no forzados para el cálculo de índice de sitio en bosques de *Nothofagus antarctica* en Patagonia Sur. *Bosque*. 32, 135-145.

Ivancich H.S., Lencinas M.V., Martínez Pastur G.J., Soler Esteban R.M., Hernández L., Lindstrom I., 2012. Foliar anatomical and morphological variation in *Nothofagus pumilio* seedlings under controlled irradiance and soil moisture levels. *Tree Physiology*. 32, 554-564.

Jackson R.B., Jobbagy E.G., Avissar R., Roy S.B., Barrett D.J., Cook C.W., Farley K.A., Le Maitre D.C., McCarl B.A., Murray B.C., 2005. Trading water for carbon with biological carbon sequestration. *Science* 310, 1944-1947.

Jańczuk B., Białopiotrowicz T., 1988. Components of surface free energy of some clay minerals. *Clays and Clay Minerals*. 36(3), 243-248.

Jobbágy E., 2011. Servicios hídricos de los ecosistemas y su relación con el uso de la tierra en la llanura Chaco-pampeana. *In: Valoración de servicios ecosistémicos conceptos, herramientas y aplicaciones para el ordenamiento territorial*. Eds. Pedro Laterra, Esteban G. Jobbágy, José Paruelo, Ediciones INTA. 726 PP.

Jonasson S., 1995. Resource allocation in relation to leaf retention time of the wintergreen *Rhododendron lapponicum*. *Ecology*. 76 (2), 475-485. doi: [10.2307/1941206](https://doi.org/10.2307/1941206)

Kabata-Pendias A., 2011. Trace elements in soils and plants. 4th ed (Boca Raton FL: CRC Press).

Karabourniotis G., Bornman J.F., Nikolopoulos D., 2000. A possible optical role of the bundle sheath extensions of some heterobaric leaves. *Plant, Cell & Environment*. 23, 423–430.

Khayet M., Fernández V., 2012. Estimation of the solubility parameters of model plant surfaces and agrochemicals: a valuable tool for understanding plant surface interactions. *Theoretical biology and medical modelling*. 9 (1), 45.

Killingbeck K.T., 1986. The terminological jungle revisited: making a case for use of the term resorption. *Oikos*. 46, 263-264.

Killingbeck K.T., Costigan S.A., 1988. Element resorption in a guild of understory shrub species: niche differentiation and resorption thresholds. *Oikos*. 366-374. doi: 10.2307/3565537

Killingbeck K.T., 1996. Nutrients in senesced leaves: key to search for potential resorption and resorption proficiency. *Ecology*. 77, 1716–1727. doi: [10.2307/2265777](https://doi.org/10.2307/2265777)

Killingbeck K.T., 2004. Nutrient resorption. In *Plant cell death processes* (pp. 215-226).

Kinsman E.A., Lewis C., Davies M.S., Young J.E., Francis D., Vilhar B., Ougham H.J., 1997. Elevated CO₂ stimulates cells to divide in grass meristems: a differential effect in two natural populations of *Dactylis glomerata*. *Plant, Cell & Environment*. 20(10), 1309-1316.

Kirkby E., 2012. Introduction, definition and classification of nutrients. In *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants (Third Edition)* (pp. 3-5).

Klein T., Ramon U., 2019. Stomatal sensitivity to CO₂ diverges between angiosperm and gymnosperm tree species. *Functional Ecology*. 33(8), 1411-1424.

Koch K., Barthlott W., 2009. Superhydrophobic and superhydrophilic plant surfaces: an inspiration for biomimetic materials. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*. 367(1893), 1487-1509.

Konrad W., Ebner M., Traiser C., Roth-Nebelsick A., 2012. Leaf surface wettability and implications for drop shedding and evaporation from forest canopies. *Pure and applied geophysics*. 169(5-6), 835-845.

Konrad W., Ebner M., Traiser C., Roth-Nebelsick A., 2014. Leaf surface wettability and implications for drop shedding and evaporation from forest canopies. *Pure and Applied Geophysics*. 169, 835-845.

Kozlowski T.T., Pallardy S.G., 1997a. *Physiology of Woody Plants*. Second Edition. Academic Press, San Diego. 411 pp.

Kozlowski T.T., Pallardy S.G., 1997b. *Growth Control in Woody Plants*. Academic Press, San Diego. 641 pp.

Kreps G., Martínez Pastur G., Peri P.L., 2012. Cambio climático en Patagonia Sur. Escenarios futuros en el manejo de los recursos naturales. Ediciones INTA. 101 pp.

Kreuzwieser J., Gessler A., 2010. Global climate change and tree nutrition: influence of water availability. *Tree physiology*. 30(9), 1221-1234.

Kumar G., Prabhu K.N., 2007. Review of non-reactive and reactive wetting of liquids on surfaces. *Advances in colloid and interface science*. 133(2), 61-89.

Ladd B., Bonser S.P., Peri P.L., Larsen J.R., Laffan S.W., Pepper D.A., Cendón D.I., 2009. Towards a physical description of habitat: quantifying environmental adversity (abiotic stress) in temperate forest and woodland ecosystems. *Journal of Ecology*. 97, 964-971.

Ladd B., Peri P.L., Pepper D.A., Silva L.C.R., Sheil D., Bonser S.P., Laffan S.W., Amelung W., Ekblad A., Eliasson P., Bahamonde H., Duarte Guardia S., Bird M., 2014. Carbon isotopic signatures of soil organic matter correlate with leaf area index across woody biomes. *Journal of Ecology*. 102(6), 1606-1611.

Lajtha K., Getz J., 1993. Photosynthesis and water use efficiency in pinyon-juniper communities along an elevation gradient in northern New Mexico. *Oecologia*. 94, 95-101.

Lambers H., Stuart Chapin III F., Pons T.L., 2008. *Plant Physiological Ecology*. Springer Science & Business Media. ISBN: 978-0-387-78340-6. 591 pp.

Lawrence B.T., Melgar J.C., 2018. Variable fall climate influences nutrient resorption and reserve storage in young peach trees. *Frontiers in Plant Science*. 9, 1819. doi: [10.3389/fpls.2018.01819](https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01819)

Leadley P.W., Reynolds J.A., Thomas J.F., Reynolds J.F., 1987. Effects of CO₂ enrichment on internal leaf surface area in soybeans. *Botanical gazette*. 148(2), 137-140.

Levitt J., 1980. *Responses of plants to environmental stresses*. 2nd Edn. Academic Press, Orlando, Florida, 497 pp.

Li C., Wang P., Lombi E., Wu J., Blamey F.P.C., Fernández V., Howard D.L, Menzies N.W., Kopittke, P.M., 2018. Absorption of foliar applied Zn is decreased in Zn deficient sunflower (*Helianthus annuus*) due to changes in leaf properties. *Plant and soil*. 433, 309-322

Liakoura V., Fotelli M.N., Rennenberg H., Karabourniotis G., 2009. Should structure–function relations be considered separately for homobaric vs. heterobaric leaves? *American Journal of Botany*. 96(3), 612-619.

Limm E.B., Simonin K.S., Bothman A.G., Dawson T.E., 2009. Foliar water uptake: A common water acquisition strategy for plants of the redwood forest. *Oecologia*. 161, 449-459.

Limm E.B., Dawson T.E., 2010. *Polystichum munitum* (*Dryopteridaceae*) varies geographically in its capacity to absorb fog water by foliar uptake within the redwood forest ecosystem. *American Journal of Botany*. 97, 1121-1128.

Liu F., Stützel H., 2004. Biomass partitioning, specific leaf area, and water use efficiency of vegetable amaranth (*Amaranthus* spp.) in response to drought stress. *Scientia Horticulturae*. 102, 15-27.

Liu C.C., Liu Y.G., Guo K., Wang S., Yang Y., 2014. Concentrations and resorption patterns of 13 nutrients in different plant functional types in the karst region of southwestern China. *Annals of Botany*. 113, 873-885.

Luomala E., Laitinen M., Sutinen K., Kellomäki S., Vapaavuori E., 2005. Stomatal density, anatomy and nutrient concentrations of Scots pine needles are affected by elevated CO₂ and temperature. *Plant, Cell & Environment*. 28(6): 733-749.

Lynch J.P., Clair S.B.S., 2004. Mineral stress: the missing link in understanding how global climate change will affect plants in real world soils. *Field Crops Research*. 90(1), 101-115.

Lyu S., Wei X., Chen J., Wang C., Wang X., Pan D., 2017. Titanium as a Beneficial Element for Crop Production. *Frontiers in Plant Science*. 8, 597. doi: 10.3389/fpls.2017.00597

Maherali H.C.D.R., Reid C.D., Polley H.W., Johnson H.B., Jackson R.B., 2002. Stomatal acclimation over a subambient to elevated CO₂ gradient in a C3/C4 grassland. *Plant, Cell & Environment*., 25(4), 557-566.

Mansilla P.R., 2012. Evaluación de la alteración y restauración de los ciclos biogeoquímicos de *Nothofagus pumilio* de Tierra del Fuego afectados por prácticas de manejo forestal. Tesis Doctoral en Ciencias Biológicas, Universidad de Buenos Aires, Argentina. 150 pp.

Marchi S., Tognetti R., Vaccari F.P., Lanini M., Kaligarić M., Miglietta F., Raschi A., 2004. Physiological and morphological responses of grassland species to elevated atmospheric CO₂ concentrations in FACE-systems and natural CO₂ springs. *Functional Plant Biology*. 31, 181-194.

Marschner P., 2012. *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*, ed P. Marschner (San Diego: Academic Press).

Marschner P., Rengel Z., 2012. "Nutrient availability in soils", in *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*, ed P. Marschner (San Diego: Academic Press).

Martin C.E., von Willert D.J., 2000. Leaf epidermal hydathodes and the ecophysiological consequences of foliar water uptake in species of *Crassula* from the Namib Desert in Southern Africa. *Plant Biology*. 2, 229-242.

Martínez Pastur G.M., Cellini J.M., Peri P.L., Vukasovic R.F., Fernández M.C., 2000. Timber production of *Nothofagus pumilio* forests by a shelterwood system in Tierra del Fuego (Argentina). *Forest Ecology and Management*. 134(1-3), 153-162.

Martínez Pastur G., Soler Esteban R., Cellini J.M., Lencinas M.V., Peri P.L., Neyland M., 2014. Survival and growth of *Nothofagus pumilio* seedlings under several microenvironments after variable retention harvesting in southern Patagonian forests. *Annals of Forest Science*. 71, 349-362.

Mascher R., Nagy E., Lippmann B., Hornlein S., Fischer S., Scheiding W., Neagoe A., Bergmann H., 2005. Improvement of tolerance to paraquat and drought in barley (*Hordeum vulgare* L.) by exogenous 2-aminoethanol: effects on superoxide dismutase activity and chloroplast ultrastructure. *Plant Science*. 168, 691-698.

Masle J., 2000. The effects of elevated CO₂ concentrations on cell division rates, growth patterns, and blade anatomy in young wheat plants are modulated by factors related to leaf position, vernalization, and genotype. *Plant Physiology*. 122(4), 1399-1416.

Massaccesi G., Roig F.A., Martínez Pastur G., Barrera M., 2008. Growth patterns of *Nothofagus pumilio* trees along altitudinal gradients in Tierra del Fuego, Argentina. *Trees*. 22, 245-255.

Mazur R., Sadowska M., Kowalewska Ł., Abratowska A., Kalaji H.M., Mostowska A., Garstka M., Krasnodębska-Ostręga B., 2016. Overlapping toxic effect of long term thallium exposure on white mustard (*Sinapis alba* L.) photosynthetic activity. *BMC Plant Biology*. 16, 191. doi: 10.1186/s12870-016-0883-4

McCune B., Mefford M.J., 1999. Multivariate analysis of ecological data. MjM Software, Glenden Beach, Oregon, USA.

MESD (Ministry of environment and sustainable development of Argentina), 2015. Third national communication about climate change. <http://www.ambiente.gov.ar/archivos/web/ProyTerceraCNCC/file/02-Sumario.pdf>

Mody K., Eichenberger D., Dorn S., 2009. Stress magnitude matters: different intensities of pulsed water stress produce non-monotonic resistance responses of host plants to insect herbivores. *Ecological Entomology*. 34(1), 133-143.

Munné-Bosch S., Nogues S., Alegre L., 1999. Diurnal variations of photosynthesis and dew absorption by leaves in two evergreen shrubs growing in Mediterranean field conditions. *New Phytologist*. 144(1), 109-119.

Nadal M., Schuhmacher M., Domingo J.L., 2004. Levels of PAHs in soil and vegetation samples from Tarragona country, Spain. *Environmental Pollution*. 132, 1–11. doi: 10.1016/j.envpol.2004.04.003.

Nemani R.R., Keeling C.D., Hashimoto H., Jolly W.M., Piper S.C., Tucker C.J., Myseni R.B., Running S.W., 2003. Climate-driven increases in global terrestrial net primary production from 1982 to 1999. *Science*. 300, 1560–1563.

Nguyen-Queyrens A., Bouchet-Lannat F., 2003. Osmotic adjustment in three-year-old seedlings of five provenances of maritime pine (*Pinus pinaster*) in response to drought. *Tree Physiology*. 23, 397-404.

Niinemets Ü., Cescatti A., Rodeghiero M., Tosens T., 2005. Leaf internal diffusion conductance limits photosynthesis more strongly in older leaves of Mediterranean evergreen broad-leaved species. *Plant, Cell & Environment*. 28(12), 1552-1566.

Niinemets Ü., Flexas J., Peñuelas J., 2011. Evergreens favored by higher responsiveness to increased CO₂. *Trends in Ecology & Evolution*. 26(3), 136-142.

Nikolopoulos D., Liakopoulos G., Drossopoulos I., Karabourniotis G., 2002. The relationship between anatomy and photosynthetic performance of heterobaric leaves. *Plant Physiology*. 129(1), 235-243.

Norby R.J., Wullschlegel S.D., Gunderson C.A., Johnson D.W., Ceulemans R., 1999. Tree response to rising CO₂ in field experiments: implications for the future forest. *Plant Cell and Environment*. 22, 683–714.

Nyholm N.E.I., Tyler G., 2000. Rubidium content of plants, fungi and animals closely reflects potassium and acidity conditions of forest soils. *Forest Ecology and Management*. 134, 89-96. doi: 10.1016/S0378-1127(99)00247-9

Ogaya R., Peñuelas J., 2003. Comparative field study of *Quercus ilex* and *Philly realatifolia*: photosynthetic response to experimental drought conditions. *Environmental and Experimental Botany*. 50, 137–148.

Ogaya R., Llorens L., Peñuelas J., 2011. Density and length of stomatal and epidermal cells in "living fossil" trees grown under elevated CO₂ and a polar light regime. *Acta Oecologica*. 37(4), 381-385.

Oksanen E., Riikonen J., Kaakinen S., Holopainen T., Vapaavuori E., 2005. Structural characteristics and chemical composition of birch (*Betula pendula*) leaves are modified by increasing CO₂ and ozone. *Global Change Biology*. 11(5), 732-748.

Oliva G., González L., Rial P., Livraghi E., 2001. El ambiente en la Patagonia Austral. Cap. 2 pp 19-82. En: Ganadería Ovina Sustentable en la Patagonia Austral. Borrelli, P. y G. Oliva Ed. INTA Reg. Pat. Sur. 272 pp.

Oliveira R.S., Dawson T.E., Burgess S.O., 2005. Evidence for direct water absorption by the shoot of the desiccation-tolerant plant *Vellozia flavicans* in the savannas of central Brazil. *Journal of Tropical Ecology*. 21, 585-588.

Olsen S.R., Cole C.V., Watanabe, F.S., Dean, L.A., 1954. Estimation of available phosphorus in soil by extraction with sodium bicarbonate. Department of Agriculture. Circular 939. U.S. Washington, D. C.

Oyarzún C.E., Nahuelhual L., Núñez D., 2005. Los servicios ecosistémicos del bosque templado lluvioso: producción de agua y su valoración económica. *Revista Ambiente y Desarrollo del CIPMA* 21 (1), 88-95.

Pabón-Caicedo J.D., Arias P.A., Carril A.F., Espinoza J.C., Goubanova K., Lavado W., Villalba R., 2020. Observed and projected hydroclimate changes in the Andes. *Frontiers in Earth Science*. 8, 61.

Pallardy S.G., 2008. *Physiology of woody plants*. 3rd edition. Elsevier. 441 pp.

Paruelo J.M., Beltrán A., Jobbágy E., Sala O.E., Golluscio R.A., 1998. The climate of Patagonia: general patterns and control on biotic processes. *Ecología Austral*. 8, 85-101.

Peri P.L., Gargaglione V., Martínez Pastur G., 2006. Dynamics of above- and below-ground biomass and nutrient accumulation in an age sequence of *Nothofagus antarctica* forest of Southern Patagonia. *Forest Ecology and Management*. 233, 85–99. doi: 10.1016/j.foreco.2006.06.009.

Peri P.L., Gargaglione V., Martínez Pastur G., 2008. Above- and belowground nutrients storage and biomass accumulation in marginal *Nothofagus antarctica* forests in Southern Patagonia. *Forest Ecology and Management*. 233, 85-99.

Peri P.L., Martínez Pastur G., Lencinas M.V., 2009. Photosynthetic response to different light intensities and water status of two main *Nothofagus* species of southern Patagonian forest, Argentina. *Journal of Forest Science*. 55, 101-111.

Peri P.L., Gargaglione V., Martínez Pastur G., Lencinas M.V., 2010. Carbon accumulation along a stand development sequence of *Nothofagus antarctica* forests across a gradient in site quality in Southern Patagonia. *Forest Ecology and Management*. 260, 229-237.

Peri P.L., Ladd B., Pepper D.A., Bonser S.P., Laffan S.W., Amelung W., 2012. Carbon (d13C) and nitrogen (d15N) stable isotope composition in plant and soil in Southern Patagonia's native forests. *Global Change Biology* 18, 311-321.

Peri P.L., Ormaechea S.G., 2013. Relevamiento de los bosques nativos de ñire (*Nothofagus antarctica*) en Santa Cruz: base para su conservación y manejo. Ediciones INTA web. <https://inta.gob.ar/documentos/relevamiento-de-los-bosques-nativos-de-ñire-nothofagus-antarctica-en-santa-cruz-base-para-su-conservacion-y-manejo>

Peri P.L., Bahamonde H., Christiansen R., 2015. Soil respiration in Patagonian semiarid grasslands under contrasting environmental and use conditions. *Journal of Arid environments*. 119, 1-8.

Peri P.L., Bahamonde H.A., Lencinas M.V., Gargaglione V., Soler R., Ormaechea S., Pastur G.M., 2016a. A review of silvopastoral systems in native forests of *Nothofagus antarctica* in southern Patagonia, Argentina. *Agroforestry Systems*. 90(6), 933-960.

Peri P.L., Lencinas M.V., Bousson J., Lasagno R., Soler R., Bahamonde H., Pastur G., 2016b. Biodiversity and ecological long-term plots in Southern Patagonia to support sustainable land management: the case of PEBANPA network. *Journal for Nature Conservation*. 34, 51-64.

Peri P.L., Ladd B., Lasagno R.G., Martínez Pastur G., 2016c. The effects of land management (grazing intensity) vs. the effects of topography, soil properties, vegetation type, and climate on soil carbon concentration in Southern Patagonia. *Journal of arid environments*. 134, 73–78.

Peri P.L., Rosas Y.M., Ladd B., Toledo S., Lasagno R.G., Martínez Pastur G., 2018. Modelling soil carbon content in South Patagonia and evaluating changes according to climate, vegetation, desertification and grazing. *Sustainability*. 10(2), 438.

Peri P. L., Monelos L., Díaz B., Mattenet F., Huertas L., Bahamonde H. A., Rosas Y.M., Lencinas M.V., Cellini J.M., Martínez Pastur G., 2019. Estado y uso de los bosques nativos de lenga, siempre verdes y mixtos en Santa Cruz: base para su conservación y manejo. Ed. Revisada CAP (Buenos Aires, Argentina: Ediciones

https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_libro_estado_y_usos_de_los_bosques_de_leng_a_siempreverdes_y_mixtos_de_santa_cruz.pdf.

Pfautsch S., Peri P.L., Macfarlane C., van Ogtrop F., Adams M.A., 2014. Relating water use to morphology and environment of *Nothofagus* from the world's most southern forests. *Trees*. 28(1), 125-136.

Pilon-Smits E.A., Quinn C.F., Tapken W., Malagoli M., Schiavon M., 2009. Physiological functions of beneficial elements. *Current Opinion in Plant Biology*. 12(3), 267-274. doi: 10.1007/978-1-4419-9860-6_4

Piper F.I., Corcuera L.J., Alberdi M., Lusk C., 2007. Differential photosynthetic and survival responses to soil drought in two evergreen *Nothofagus* species. *Annal of Forest Science*. 64, 447-452.

Pourrut B., Shahid M., Dumat C., Winterton P., Pinelli E., 2011. Lead uptake, toxicity, and detoxification in plants. In *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 213* (pp. 113-136). Springer, New York, NY.

Prémoli A., 1991. Morfología y capacidad germinativa en poblaciones de *Nothofagus antarctica* (Forster) Oerst del noroeste andino patagónico. *Bosque*. 12, 53–59

Prémoli A.C., Brewer C.A., 2007. Environmental v. genetically driven variation in ecophysiological traits of *Nothofagus pumilio* from contrasting elevations. *Australian journal of Botany*. 55, 585-591.

Prémoli A.C., Mathiasen P., Acosta M.C., Ramos V.A., 2012. Phylogeographically concordant chloroplast DNA divergence in sympatric *Nothofagus* ss How deep can it be? *New Phytologist*. 193(1), 261–275.

Prior S.A., Pritchard S.G., Runion G.B., 2004. Leaves and the effects of elevated carbon dioxide levels. *Dekker Encyclopedia of Plant and Crop Science*. 648-650.

Pritchard S.G., Peterson C.M., Prior S.A., Rogers H.H., 1997. Elevated atmospheric CO₂ differentially affects needle chloroplast ultrastructure and phloem anatomy in *Pinus palustris*: interaction with soil resource availability. *Plant, Cell and Environment*. 20, 461-471.

Pritchard S.G., Rogers H.H., Prior S.A., Peterson C.M., 1999. Elevated CO₂ and plant structure: a review. *Global Change Biology*. 5(7), 807-837.

Promis A., Cruz G., Reif A., Gärtner S., 2008. *Nothofagus betuloides* (Mirb.) Oerst. 1871 (Fagales: Nothofagaceae) forests in southern Patagonia and Tierra del Fuego. *Anales del Instituto Patagonia* 36(1), 53-67.

Pugnaire F.I., Chapin III F.S., 1993. Controls over nutrient resorption from leaves of evergreen Mediterranean species. *Ecology*. 74(1), 124-129. doi: 10.2307/1939507

Pushnik J.C., Demaree R.S., Houppis J.L.J., Flory W.B., Bauer S.M., Anderson P.D., 1995. The effect of elevated carbon dioxide on a Sierra-Nevadan dominant species: *Pinus ponderosa*. *Journal of Biogeography*. 22, 249-254.

Radoglou K.M., Jarvis P.G., 1990. Effects of CO₂ enrichment on four poplar clones. I. growth and leaf anatomy. *Annals of Botany*. 65, 617-626.

Rajah K., O'Leary T., Turner A., Petrakis G., Leonard M., Westra S., 2014. Changes to the temporal distribution of daily precipitation. *Geophysical Research Letters*. 41(24), 8887-8894.

Ramírez-Valiente J.A., Sánchez-Gómez D., Aranda I., Valladares F., 2010. Phenotypic plasticity and local adaptation in leaf ecophysiological traits of 13 contrasting cork oak populations under different water availabilities. *Tree Physiology*. 30, 618-27.

Ramos V., 1999. Las provincias geológicas del territorio argentino. In: SEGEMAR (ed.), *Geología Argentina*, Instituto de Geología y Recursos Minerales, Buenos Aires, *Anales*. 29, 341-96.

Ranasinghe S., Taylor G., 1996. Mechanism for increased leaf growth in elevated CO₂. *Journal of Experimental Botany*. 47(3), 349-358.

Rasband W.S., 1997–2004. ImageJ. <http://rsb.info.nih.gov/ij/> ed. Bethesda, Maryland: National Institutes of Health.

Read J., Farquhar G., 1991. Comparative studies in *Nothofagus* (Fagaceae). I. Leaf carbon isotope discrimination. *Functional Ecology*. 5, 684–695.

Read J., Hill R.S., Hope G.S., 2010. Contrasting responses to water deficits of *Nothofagus* species from tropical New Guinea and high-latitude temperate forests: can rainfall regimes constrain latitudinal range? *Journal of Biogeography*. 37, 1962-1976.

Rennenberg H., Dannenmann M., Gessler A., Kreuzwieser J., Simon J., Papen H., 2009. Nitrogen balance in forest soils: nutritional limitation of plants under climate change stresses. *Plant Biology*. 11, 4-23.

Riederer M., Schreiber L., 2001. Protecting against water loss: analysis of the barrier properties of plant cuticles. *Journal of Experimental Botany*. 52, 2023–2032. doi: 10.1093/jexbot/52.363.2023

Riederer M., 2006. Introduction: biology of the plant cuticle. In M. Riederer, & C. Muller (Eds.), *Annual Plant Reviews* (Vol. 23, pp. 1–10). Oxford: Blackwell.

Rosas Y.M., Peri P.L., Carrasco J., Lencinas M.V., Pidgeon A.M., Politi N., Martinuzzi S., Martínez Pastur G., 2021. Improving Potential Biodiversity and Human Footprint in *Nothofagus* Forests of Southern Patagonia through the Spatial Prioritization of their Conservation Values. In: Shit P.K., Pourghasemi H.R., Das P., Bhunia G.S. (eds) *Spatial Modeling in Forest Resources Management*. Environmental Science and Engineering. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-56542-8_19

Roth-Nebelsick A., Ebner M., Miranda T., Gottschalk V., Voigt D., Gorb S., Stegmaier T., Sarsour J., Linke M., Konrad W., 2012. Leaf surface structures enable the endemic

Namib Desert grass *Stipagrostis sabulicola* to irrigate itself with fog water. *Journal of the Royal Society interface*. 9, 1965-1974.

Roy J., Saugier B., Mooney H.A., 2001. *Terrestrial global productivity*. Academic Press. San Diego, USA. 573 pp.

SAyDS, 2005. *Primer Inventario Nacional de Bosques Nativos*. Ministerio de Salud y Ambiente de la Nación. Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable, Buenos Aires, 126 pp. https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/primer_inventario_nacional_-_informe_nacional_1.pdf.

Sánchez-Gómez D., Robson T.M., Gascó A., Gil-Pelegrín E., Aranda I., 2013. Differences in the leaf functional traits of six beech (*Fagus sylvatica*) populations are reflected in their response to water limitation. *Environmental and Experimental Botany*. 87, 110-119.

Sasmaz M., Sasmaz A., 2017. The accumulation of strontium by native plants grown on Gumuskoy mining soils. *Journal of Geochemical Exploration*. 181, 236-242. doi: 10.1016/j.gexplo.2017.08.001

Satti P., Mazzarino M.J., Gobbi M., Funes F., Roselli L., Fernandez H., 2003). Soil N dynamics in relation to leaf litter quality and soil fertility in north-western Patagonian forests. *Journal of Ecology*. 91(2), 173-181.

Scafaro A.P., Von Caemmerer S., Evans J.R., Atwell B.J., 2011. Temperature response of mesophyll conductance in cultivated and wild *Oryza* species with contrasting mesophyll cell wall thickness. *Plant, Cell & Environment*. 34(11), 1999-2008.

Schlesinger W.H., 1991. *Biogeochemistry: An Analysis of Global Change* (San Diego; Academic Press, Inc.)

Schoenholtz S.H., Van Miegroet H., Burger J.A., 2000. A review of chemical and physical properties as indicators of forest soil quality: challenges and opportunities. *Forest Ecology and Management*. 138, 335-356.

Schreiber L., Schönherr J., 2009. Water and Solute Permeability of Plant Cuticles. Measurement and Data Analysis. Berlin: Springer-Verlag.

Seki M., Umezawa T., Urano K., Shinozaki K., 2007. Regulatory metabolic networks in drought stress responses. *Current Opinion in Plant Biology*. 1, 296–302.

Sekiya N., Yano K., 2008. Stomatal density of cowpea correlatos with carbon isotope discrimination in different phosphorus, water and CO₂ environments. *New Phytologist*. 179, 799e807.

Seppala R., Buck A., Katila P., 2009. Adecuar los bosques al cambio climático. Una perspectiva global de los efectos del cambio climático sobre los bosques y las poblaciones y opciones de adaptación al mismo. Publicado por Ministerio de relaciones Exteriores de Finlandia, unión internacional de organizaciones de investigación Forestal (IUFRO). ISBN: 978-3-901347-82-5. 21 pp. <http://www.fao.org/forestry/17678-0587c8aae9bacc94ad21f6210c91593e6.pdf>

Shahzad B., Tanveer M., Hassan W., Shah A.N., Anjum S.A., Cheema S.A., Ali I., 2016. Lithium toxicity in plants: Reasons, mechanisms and remediation possibilities–A review. *Plant Physiology and Biochemistry*. 107, 104-115.

Shepherd T., Wynne Griffiths D., 2006. The effects of stress on plant cuticular waxes. *New Phytologist*. 171, 469–499. doi: 10.1111/j.1469-8137.2006.01826.x

Skovsgaard J.P., Vanklay J.K., 2008. Forest site productivity: a re-view of the evolution of dendrometric concepts for even-aged stands. *Forestry: an international journal of forest research*. 81, 13-31.

Soler R., Martínez Pastur G., Peri P.L., Lencinas M.V., Pulido F., 2013. Are silvopastoral systems compatible with forest regeneration? An integrative approach in southern Patagonia. *Agroforestry Systems*. 87, 1213-1227.

Soto D.P., Donoso P.J., Puettmann K.J. 2014. Mortality in relation to growth rate and soil resistance varies by species for underplanted *Nothofagus* seedlings in scarified shelterwoods. *New forests*. 45(5), 655-669.

Strahler A., Strahler A.N., 2000. *Introducing Physical Geography*. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, Inc.

Tanai T., 1986. Phylogeographic and phylogenetic history of the genus *Nothofagus* Bl. (Fagaceae) in the southern hemisphere. *Journal of the Faculty of Science, Hokkaido University*, series 4, 21, 505–582.

Tian M., Yu G., He N., Hou J., 2016. Leaf morphological and anatomical traits from tropical to temperate coniferous forests: Mechanisms and influencing factors. *Scientific reports* 6, 19703.

Tipping C, Murray D., 2011. Effects of Elevated Atmospheric CO₂ Concentration on Leaf Anatomy and Morphology in *Panicum* Species Representing Different Photosynthetic Modes. *International Journal of Plant Science*. 160, 1063–1073.

Toro Manríquez M.D., Cellini J.M., Lencinas M.V., Peri P.L., Rojas K.A.P., Pastur G., 2019. Suitable conditions for natural regeneration in variable retention harvesting of southern Patagonian *Nothofagus pumilio* forests. *Ecological processes*. 8(1), 18.

Torres C.D., Magnin A., Varela S.A., Stecconi M., Grosfeld J.E., Puntieri J.G., 2018. Morpho-physiological responses of *Nothofagus obliqua* to light intensity and water status, with focus on primary growth dynamics. *Trees*. 32(5), 1301-1314.

Utriainen J., Janhunen S., Helmisaari H.S., Holopainen T., 2000. Biomass allocation, needle structural characteristics and nutrient composition in Scots pine seedlings exposed to elevated CO₂ and O₃ concentration. *Trees*. 14, 475–484.

Valladares F., Vilagrosa A., Peñuelas J., Ogaya R., Camarero J.J., Corchera L., Sisó S., Gil-Pelegrín E., 2004. Estrés hídrico: ecofisiología y escalas de la sequía. En: *Ecología*

del bosque mediterráneo en un mundo cambiante. Valladares, F. (Ed.). Naturaleza y Parques Nacionales. Madrid: Ministerio de Medio Ambiente.

Valladares F., Sanchez-Gomez D., Zavala M.A., 2006. Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology*. 94, 1103–1116.

Van den Driessche R., 1974. Prediction of mineral nutrient status of trees by foliar analysis. *The Botanical Review*. 40, 347–394. doi: 10.1007/BF02860066

Van Heerwaarden L.M., Toet S., Aerts R., 2003. Current measures of nutrient resorption efficiency lead to a substantial underestimation of real resorption efficiency: facts and solutions. *Oikos*. 101, 664-669. doi:10.1034/j.1600-0706.2003.12351.x

Van Oss C.J., Giese R.F., 1995. The hydrophilicity and hydrophobicity of clay minerals. *Clays and Clay minerals*. 43(4), 474-477.

Van Wittenberghe S., Adriaenssens S., Staelens J., Verheyen K., Samson R., 2012. Variability of stomatal conductance, leaf anatomy, and seasonal leaf wettability of young and adult European beech leaves along a vertical canopy gradient. *Trees*. 26(5), 1427-1438.

Varela S.A., 2010. Respuestas morfológico-fisiológicas ante distintos tipos e intensidades de estrés en dos especies patagónicas del género *Nothofagus* con aptitud comercial. Tesis de Maestría, Universidad de Buenos Aires. 157 pp.

Varela S.A., Fernandez M.E., Gyenge J.E., Aparicio A., Bruzzone O., Schlichter T.M., 2012. Physiological and morphological short-term responses to light and temperature in two *Nothofagus* species of Patagonia, South America. *Photosynthetica*. 50(4), 557-569.

Veblen T.T., Donoso C., Kitzberger T., Rebertus A.J., 1996. Ecology of Southern Chilean and Argentinean *Nothofagus* forests. *In*: Veblen TT, Hill RS, Read J (eds) The ecology and biogeography of *Nothofagus* forests. Yale University Press, New Haven, pp 293–353.

Velikova V., Tsonev T., Barta C., Centritto M., Koleva D., Stefanova M., Busheva M., Loreto F., 2009. BVOC emissions, photosynthetic characteristics and changes in chloroplast ultrastructure of *Platanus orientalis* L. exposed to elevated CO₂ and high temperature. *Environmental pollution*. 157, 2629-2637.

Vergutz L., Manzoni S., Porporato A., Novai R.F., Jackson R.B., 2012. Global resorption efficiencies and concentrations of carbon and nutrients in leaves of terrestrial plants. *Ecology Monographs*. 82, 205–220.

Videla S.L., Rostagno C.M., Toyos M.A., 2008. La materia orgánica particulada: comparación de métodos para su determinación y su valor como indicador de calidad de suelos del Chubut. *Asociación argentina de ciencia del suelo*. 26 (2), 219-227.

Vitousek P.M., Howarth R.W., 1991. Nitrogen limitation on land and in the sea: how can it occur? *Biogeochemistry*. 13(2), 87-115. doi: 10.1007/BF00002772.

Vose R.S., Easterling D.R., Gleason B., 2005. Maximum and minimum temperature trends for the globe: An update through 2004. *Geophysical Research Letters*. 32(23).

Wang X., Anderson O.R., Griffin K.L., 2004. Chloroplast numbers, mitochondrion numbers and carbon assimilation physiology of *Nicotiana sylvestris* as affected by CO₂ concentration. *Environmental and Experimental Botany*. 51(1), 21-31.

Wang Z., Fan Z., Zhao Q., Wang M., Ran J., Huang H., Niklas K.J., 2018. Global data analysis shows that soil nutrient levels dominate foliar nutrient resorption efficiency in herbaceous species. *Frontiers in Plant Science*. 9, 1431. doi: [10.3389/fpls.2018.01431](https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01431)

Wheal M.S., Fowles T.O., Palmer L.T., 2011. A cost-effective acid digestion method using closed polypropylene tubes for inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) analysis of plant essential elements. *Analytical Methods*. 3(12), 2854-2863.

Willems P., Raffaele E., 2001. Implicancias del efecto de las interacciones en la interpretación de experimentos factoriales en biología. *Ecología Austral*. 11, 131–138.

Wylie R.B., 1943. The role of the epidermis in foliar organization and its relations to the minor venation. *American Journal of Botany*. 30, 273 – 280.

Wylie R.B., 1952 . The bundle sheath extension in leaves of dicotyledons. *American Journal of Botany*. 39, 645 – 651.

Xu Z., Zhou G., 2008. Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass. *Journal of experimental botany*. 59(12), 3317-3325.

Yan T., Lü X., Yang K., Zhu J., 2015. Leaf nutrient dynamics and nutrient resorption: a comparison between larch plantations and adjacent secondary forests in Northeast China. *Journal of Plant Ecology*. 9(2), 165-173. doi: 10.1093/jpe/rtv034

Yin Ch., Peng Y., Zang R., Zhu Y., Li Ch., 2005. Adaptative responses of *Populus kangdingensis* to drought stress. *Physiologia Plantarum*. 123, 445–451.

Yuan Z.Y., Chen H.Y., 2009. Global-scale patterns of nutrient resorption associated with latitude, temperature and precipitation. *Global Ecology and Biogeography*. 18(1), 11-18. doi: 10.1111/j.1466-8238.2008.00425.x

Zhao G., Shi P., Wu J., Xiong D., Zong N., Zhang X., 2017. Foliar nutrient resorption patterns of four functional plants along a precipitation gradient on the Tibetan Changtang Plateau. *Ecology and Evolution*. 7(18), 7201-7212. doi: 10.1002/ece3.3283

Zomer R.J., Trabucco A., Bossio D.A., van Straaten O., Verchot L.V., 2008. Climate change mitigation: A spatial analysis of global land suitability for clean development mechanism afforestation and reforestation. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 126:67-80.

