



Universidad Austral de Chile

Facultad de Ciencias Forestales y Recursos Naturales

Fotosíntesis en los bosques a mayor elevación en el planeta: *Polylepis tarapacana* en un gradiente de elevación en los Andes de Arica y Parinacota, Chile

Patrocinante: Sr. Rafael Coopman Ruiz-Tagle

Documento Memoria de Titulación presentado como parte de los requisitos para optar al Título de **Ingeniero en Conservación de Recurso Naturales**. Programa de Pre-grado.

DAVID ALEJANDRO JARAMILLO AGUILAR
VALDIVIA
2015

| | | |
|--------|--|-----|
| i | Calificación del Comité de Titulación | i |
| ii | Agradecimientos | ii |
| iii | Dedicatoria | iii |
| iv | Resumen | iv |
| 1 | INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.1 | Antecedentes de investigación | 1 |
| 1.2 | Pregunta de investigación | 3 |
| 1.3 | Hipótesis de trabajo | 3 |
| 1.4 | Objetivo general | 3 |
| 1.5 | Objetivos específicos | 4 |
| 2 | ESTADO DEL ARTE | 4 |
| 2.1 | Bosques de elevación | 4 |
| 2.1.1 | Conceptos generales | 4 |
| 2.2 | Desempeño fotosintético | 5 |
| 2.2.1 | Alteraciones en la masa seca por unidad de área foliar | 5 |
| 2.2.2 | Limitaciones fotosintéticas | 6 |
| 2.2.3 | Relación fotosíntesis – Estrés de temperatura | 7 |
| 2.2.4 | Relación fotosíntesis – Estrés Hídrico | 7 |
| 2.2.5 | Relación fotosíntesis – Nutrición mineral | 8 |
| 2.3 | Género <i>Polylepis</i> | 9 |
| 2.3.1 | Características generales | 9 |
| 2.3.2 | <i>Polylepis tarapacana</i> Phillipi | 10 |
| 3 | MATERIALES Y MÉTODOS | 11 |
| 3.1 | Sitio de estudio | 11 |
| 3.2 | Caracterización del gradiente ambiental de elevación y material vegetal | 12 |
| 3.3 | Medición de intercambio de gases y fluorescencia de la clorofila | 13 |
| 3.4 | Análisis cuantitativo de la fotosíntesis y sus limitaciones | 14 |
| 3.5 | Estimación de g_m por intercambio de gases y fluorescencia de la clorofila | 15 |
| 3.6 | Análisis estadístico | 16 |
| 4 | RESULTADOS | 16 |
| 4.1 | Ciclo anual de variables ambientales | 16 |
| 4.2 | Condiciones ambientales en el gradiente de elevación | 17 |
| 4.3 | Morfología y propiedades de la hoja | 20 |
| 4.4 | Intercambio de gases de la hoja y cuantificación de la fotosíntesis | 21 |
| 4.5 | Análisis de limitaciones fotosintéticas | 26 |
| 5 | DISCUSIÓN | 26 |
| 5.1 | Altiplano Chileno de Los Andes central | 26 |
| 5.2 | Morfología y propiedades de la hoja | 27 |
| 5.3 | Desempeño fotosintético | 28 |
| 5.4 | Limitaciones fotosintéticas | 31 |
| 5.5 | CONCLUSIONES | 31 |
| 6 | REFERENCIAS | 34 |
| 7 | | 35 |
| Anexos | 1 Representación esquemática de los límites forestales de elevación | |
| | 2 Rutas difusivas de las concentraciones de CO ₂ | |

-
- 3 Ciclo de Calvin- Benson en plantas C3
 - 4 Corteza característica en individuos del género *Polylepis*
 - 5 Imagen de individuo de *P. tarapacana*
 - 6 Estructura foliar de *P. tarapacana*
 - 7 Tabla comparativa del curso climático para un ciclo anual
 - 8 Tabla de cambios porcentuales de los parámetros en el gradiente
 - 9 Gráficas de Ajuste de curvas de respuesta al CO₂ (Sharkey *et al.* 2007)
 - 10 Gráficas de Ajuste de curvas de respuesta al CO₂ (Farquhar *et al.* 1980)
 - 11 Tabla comparativa de asimilación de CO₂ en *treelines* mundiales
 - 12 Tabla comparativa de análisis de correlación estadística en los tratamientos del gradiente.

Calificación del Comité de Titulación

| | | |
|--------------|-------------------------------|------------|
| Patrocinante | Sr. Rafael Coopman Ruiz-Tagle | <u>6.6</u> |
| Informante | Sr. Roke Rojas | <u>6.5</u> |
| Informante | Sr. Duncan Christie | <u>6.3</u> |

El Patrocinante acredita que la presente Memoria de Titulación cumple con los requisitos de contenido y de forma contemplados en el Reglamento de Titulación de la Escuela. Del mismo modo, acredita que en el presente documento han sido consideradas las sugerencias y modificaciones propuestas por los demás integrantes del Comité de Titulación.

Sr. Rafael Coopman Ruiz-Tagle

Agradecimientos

- El siguiente contenido está expresado en función de toda mi trayectoria universitaria, mas no es un particular de esta tesis (...)

“No me agradezcas lo que te he dado, me ha sido dado para ti”.

Alejandro Jodorowsky

No puedo definir a ciencia cierta si este ha sido un largo o corto período, supongo que estando en el podio sólo queda mirar atrás y sonreír convencido que el sudor valió la lucha. Puedo garantizar con firmeza que en absolutamente todos los hitos importantes en mi joven carrera, me he sentido en un piso firme, carente de esa incertidumbre de caer sin poder levantarme. Me he formado y me he informado (proceso continuo e ilimitado). Muchos dicen que uno sólo cosecha lo que sembró, pero lo cierto es que cada acción tiene su reacción, no siempre se siembra para comer, a veces sólo basta ver cómo la vida se abre paso. Es éste uno de los mayores aprendizajes que he logrado en este trayecto. Habiendo resuelto esto, no me queda más que expresar profundamente mi gratitud a:

Mi familia, específicamente mi madre, abuela y hermano, cuya sangre y sudor han quedado plasmada en cada momento de esfuerzo que yo dispuse y seguiré desplegando en la vida. Porque gracias a ellos tengo lo que se define como “hogar” en todos sus constituyentes. Ahora sé que nunca me faltará fuerza, conocimiento, sabiduría y valor, porque debido a ellos ya son elementos vitales en mi persona.

Mis amigos, Andy, Basti, Edu, Flowers y Yass (en orden alfabético), con los cuales crecí, aprendí, me mandé cagadas, las repetí y nos apoyamos desde el primer momento que nos topamos. Honestamente son los incondicionales. En adición mencionar a mi polola, Carolina, ella la que en esta última etapa depositó toda su confianza en mis capacidades y me hizo ver lo que realmente tengo para entregar.

Además, agradecer al Laboratorio de Ecofisiología para la Conservación de Bosques (LECOB) quiénes me incluyeron como algo más que un simple estudiante memorista. Debo reconocer que me han enseñado cosas más trascendentales que los tópicos académicos, sino más bien, cómo enfrentarme y perfilarme como profesional.

Por último, reconocer a CONICYT por los fondos otorgados al proyecto FONDECYT N° N° 1120965; “CLIMATE VARIABILITY AND ECOLOGICAL PROCESSES IN HIGH ELEVATION FOREST FROM THE TROPICAL AND PATAGONIAN ANDES”.

Dedicatoria

“Nosotros, los mortales, logramos la inmortalidad en las cosas que creamos en común y que quedan después de nosotros.”

Albert Einstein

Dedico esta memoria de título a todos aquellos que creen en la posibilidad de mejorar nuestro trato con el planeta, en lograr el desarrollo del ser humano hacia un estado de armonía con todos los sistemas vivos existentes en nuestra biósfera... Dedico esta tesis a cualquiera que la lea y la utilice con fines constructivos.

Resumen

En climas de alta montaña, hacia latitudes tropicales el crecimiento vegetal está restringido a fenómenos térmicos con oscilaciones diarias de gran amplitud, baja fertilidad de suelos y descomposición biológica e intensa sequía, durante todo el año. Debido a la acción sinérgica de aquellos estreses sobre el balance de carbono, las plantas de estos ecosistemas recurren a mecanismos morfo-fisiológicos compensatorios, para adaptarse a las condiciones ambientales de ciclo anual y diario. Este estudio describió el funcionamiento fotosintético de *Polylepis tarapacana* en el Altiplano de los Andes Central (18°S) creciendo en estas elevaciones extremas, a través de un gradiente de elevación desde los 4,337 hasta los 4,905 m.s.n.m. La pregunta de cómo varía el funcionamiento fotosintético de *P. tarapacana* en un gradiente del bosque con mayor elevación en el planeta y en qué medida éstos cambios están moldeados por limitaciones hídricas y térmicas, aspira a resolver el objetivo principal de esta tesis el cual es contribuir con la primera caracterización cuantitativa del metabolismo de *P. tarapacana* acorde a sus tasas fotosintéticas y mecanismos compensatorios, para mejorar la comprensión del éxito de esta especie adaptada a condiciones ambientales de sequía y bajas temperaturas. Las mediciones se llevaron a cabo en el último tercio del período estival (1 al 20 de marzo del 2013). Las fluctuaciones térmicas anuales fueron del orden de $\approx 3^{\circ}\text{C}$ y las variaciones diurnas de $\approx 30^{\circ}\text{C}$. Las condiciones ambientales durante el período de medición en el gradiente indicaron un incremento de VPD y T° , y una disminución de RH, desde la mañana hacia el mediodía. Los análisis de N del suelo arrojaron valores constantes en el gradiente. Las tendencias observadas con la elevación fueron: Disminución de la asimilación neta de CO_2 (A_N), conductancia de CO_2 estomática (g_s), concentración de CO_2 sub-estomático (C_i) y cloroplasmático (C_c). Las características morfológicas de la hoja (LMA), el contenido de nitrógeno foliar (LNC) y la temperatura foliar (T°_L) no sufrieron variaciones importantes. La conductancia de CO_2 del mesófilo (g_m), la tasa máxima de regeneración de RuBP (J_{max}) y la tasa máxima de carboxilación de la enzima RuBisCO ($V_{c, \text{max}}$) incrementaron. Consecutivo al cálculo de las limitaciones fotosintéticas, se dedujo que la disminución de A_N se debe principalmente a la reducción de g_s con la elevación. En respuesta al gradiente ambiental impuesto por la elevación, los árboles de *P. tarapacana* presentan diferentes adecuaciones difusivas y metabólicas compensatorias, que definen altas tasas de asimilación sostenidas por un aparato fotosintético excepcionalmente bien adaptado al efecto de bajas temperaturas.

Palabras clave: Parámetros fotosintéticos, *treeline*, morfología foliar, Altiplano Chileno, *Polylepis tarapacana* Phill.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes de investigación

El límite altitudinal de los bosques, conocido globalmente como *treeline*, representa uno de los ecotonos más destacados del paisaje (Körner 1998, Körner & Paulsen 2004). Estos ecosistemas se caracterizan por presentar condiciones climáticas adversas que generalmente restringen el metabolismo vegetal. Hacia latitudes menores, las plantas de *treeline* están sometidas a la acción sinérgica del estrés por oscilaciones térmicas extremas, sequía, escasez de nutrientes y alta radiación (Arroyo & Cavieres 2013). Lo anterior, impacta los mecanismos fotosintéticos, restringiendo la tasa de asimilación de CO₂ (A_N). Las bajas temperaturas afectan la fotosíntesis en varias formas: (1) Reducción en la fluidez las membranas lipídicas, (2) disminución en la tasa máxima de transporte de electrones (J_{max}), y (3) reducción de la capacidad carboxílica de la enzima Rubisco ($V_{c, max}$) (Lambers *et al.* 2007). Sin embargo, la tasa fotosintética por unidad de nitrógeno (PNUE) se reduce al estar expuesta en hábitats con déficit de nutrientes y/o agua dada la menor asignación de Nitrógeno en Rubisco (Field *et al.*, 1983). A su vez, el mayor carbono asignado a tejidos estructurales (e.g. esclerénquima y colénquima) generalmente incrementa la densidad de la hoja, aumentando la masa foliar por área (LMA). En adición, la coexistencia de bajas temperaturas, sequía y déficit de N edáfico genera una mayor susceptibilidad a la fotoinhibición cuando las plantas están expuestas a alta densidad de flujo de fotones fotosintéticos (PPFD).

En relación a la sequía, el primer síntoma es el cierre estomático (g_s), que restringe el ingreso de CO₂ desde la atmósfera (C_a) hacia las cavidades sub-estomáticas (C_i). Esto disminuye la concentración de CO₂ en los sitios de carboxilación, reduciendo la utilización de ATP y NADPH⁺, incidiendo finalmente en el descenso de las tasas de transporte de electrones a través del fotosistema II (ETR_{II}). La conductancia del mesófilo al CO₂ (g_m) también se ve reducida concomitante con el cierre estomático, pero se ha demostrado que esta respuesta se puede desacoplar de la g_s en cuestión de minutos (Flexas *et al.* 2002, 2007). Actualmente se sabe que g_m es finita y puede ser similar o incluso mayor que aquellas limitaciones bioquímicas, ergo su estudio es importante para determinar los procesos que subyacen la capacidad fotosintética (Grassi & Magnani 2005).

Estos mecanismos han sido caracterizados de manera parcial en sitios donde los *treeline* oscilan en el rango de 1000 (o menos) a 4200 m s.n.m. y con una marcada estacionalidad térmica definida por inviernos largos y períodos de crecimiento breves (Körner & Paulsen 2004), principalmente en regiones templadas de Europa y Asia, en especies de coníferas, así como en climas mediterráneos de Sudamérica (Cabrera 2002, Piper *et al.* 2004). En el Altiplano Sudamericano el *treeline* de *Polylepis*

tarapacana se ubica a una elevación de hasta los 5200 m s.n.m. constituyendo el bosque a mayor elevación en el mundo (Kessler 1995, Braun 1997). Por otro lado, la baja latitud en la cual habitan genera patrones estacionales particulares en los regímenes de temperatura y precipitaciones, con inviernos fríos y secos (May-Oct) y veranos más cálidos y húmedos (Dic-Mar), que es cuando precipita más del 80% de la escasa pluviometría anual (Lieberman-Cruz *et al.* 1997, Garreaud *et al.* 2003). Los Andes Centrales (15°-24°S), se caracterizan por variaciones climáticas diurnas que sobrepasan las fluctuaciones estacionales ($\approx 28^{\circ}\text{C}$ vs $\approx 3^{\circ}\text{C}$, respectivamente), sugiriendo “un invierno cada noche y un verano cada día” (Rundel 1994, Young & León 2006). En el Altiplano, a diferencia de otras montañas de Los Andes ubicadas a latitudes más ecuatoriales como Venezuela (8° N), las plantas deben lidiar con largos períodos de aridez (humedad del aire extremadamente baja), episodios constantes de intensa luminosidad (alta radiación de onda corta), baja presión atmosférica (63 KPa) y temperaturas congelantes durante todo el año (Körner 2003). En estos ecosistemas de tan peculiares regímenes climáticos, dentro de las especies arbóreas, sólo las del género *Polylepis* han llegado a subsistir.

Polylepis (*Rosaceae*) es un género de árboles siempreverdes, compuesto por 28 especies con individuos de hasta 3 m de altura, formando bosques distribuidos en elevaciones sobre los 3000 m s.n.m., desde Venezuela hasta los Andes del norte de Argentina (8°N – 32°S) (Bitter 1911, Simpson 1979, Kessler 1995, Schmidt – Lebuhn *et al.* 2005). De este género, *Polylepis tarapacana* Phillipi (tribu: *Sanguisorbeae*) es la especie de mayor interés en estudios ecofisiológicos, dado que es capaz de formar los bosques a mayor elevación en el mundo. En los Andes semiáridos del Altiplano forma bosques abiertos sobre laderas rocosas, entre los 3900 y 5200 m s.n.m. (Kessler 1995, Braun 1997). En este ecosistema cumple múltiples roles ecológicos como brindar hábitat para especies de aves y mamíferos, incrementar la capacidad de retención hídrica del suelo, y reducir la erosión regulando la escorrentía del agua (Fjeldsa & Kessler 1996). En cuanto a su ecofisiología *P. tarapacana* ha demostrado gran tolerancia a las bajas temperaturas y a la sequía (Rada *et al.* 1996, Cabrera *et al.* 1998, Rada *et al.* 2001).

La caracterización del funcionamiento fotosintético de plantas en ambientes de *treeline* ha sido estudiada (James *et al.* 1994, Johnson *et al.* 2004, Kogami *et al.* 2001, Zhang *et al.* 2004, Shi *et al.* 2006, Hoch 2007), sin embargo reportes fisiológicos y bioquímicos cuantificados del desempeño fotosintético que incluyan el factor g_m aún no han sido examinados para climas tropicales y subtropicales. En el presente estudio se realiza una caracterización completa de los parámetros fotosintéticos, incluyendo relaciones morfológicas (LMA) y análisis de nitrógeno (N) de suelo y hoja, en árboles de *P. tarapacana* a través de su rango de distribución altitudinal. Adicionalmente, de

acuerdo a fines ecofisiológicos, se registraron los flujos anuales de temperatura (T°), humedad relativa (RH) y déficit de presión de vapor (VPD) para este *treeline*.

1.2 Pregunta de investigación

En revisión de la particular capacidad que *P. tarapacana* de permanecer en este tipo de ecosistemas extremos en la región del Altiplano con oscilaciones térmicas diurnas extremas, baja humedad en el suelo y en el aire y baja tasa de mineralización del suelo, se plantea las siguientes preguntas de investigación: ¿Cómo se adecua el funcionamiento fotosintético de *P. tarapacana* a lo largo de un gradiente de elevación?, y ¿en qué nivel estos parámetros, moldeados por limitaciones hídricas, térmicas y nutritivas, se comparan con los reportes previamente exhibidos en *treelines* más húmedos o más templados?

1.3 Hipótesis de trabajo

En este estudio se hipotetiza que: (1) Las tasas fotosintéticas de *P. tarapacana* marcarán variaciones con la elevación y éstas estarán supeditadas a las condiciones ambientales de sitio a lo largo del gradiente de elevación. Específicamente se espera que hacia la parte baja del gradiente la humedad relativa (RH) disminuya, incrementándose el déficit de presión de vapor (VPD), generando limitaciones difusivas del CO_2 , en la conductancia de las estomas (g_s) y en la conductancia del mesófilo (g_m). A su vez, el descenso de la temperatura del aire a medida que aumenta la elevación, reducirá la actividad enzimática ($V_{c, \max}$) reduciéndose los valores de asimilación de CO_2 producto de limitaciones bioquímicas.

1.4 Objetivo general

Incrementar la comprensión del desempeño de *P. tarapacana* frente a condiciones ambientales extremas de sequía y bajas temperaturas mediante la determinación de las limitaciones fotosintéticas en un rango de elevación en los Andes semiáridos del Altiplano.

1.5 Objetivos Específicos

1. Caracterizar el gradiente ambiental de temperatura, humedad relativa y déficit de presión de vapor en el rango de elevación estudiado.
2. Determinar las limitaciones fotosintéticas de *P. tarapacana* en el rango de elevación, para identificar los factores ambientales determinantes de su distribución y desempeño.

3. Comparar el funcionamiento fotosintético de *P. tarapacana* con otros bosques de elevación en ambientes tropicales y templados.

2. ESTADO DEL ARTE

2.1 Bosques de elevación y límite arbóreo

2.1.1 Conceptos generales

El límite de elevación de los ecosistemas de bosques, referido comúnmente como *treeline*, representa una de las fronteras vegetacionales más conspicuas en la naturaleza (Körner 1998, Körner & Paulsen 2004; Anexo 1). Sin considerar el lugar de ocurrencia o si el origen del estrés es por temperatura, sequía, viento, nutrición o salinidad, el límite arbóreo corresponde a un gradiente de fragmentación y reducción en tamaño de las poblaciones, que forma ecotonos abruptos desde el bosque continuo hacia sitios de parches boscosos segregados, donde los individuos moldeados por los estreses son denominados *kummholz* (Wieser & Tausz 2007). Las causas de su formación han sido ampliamente estudiadas a escala global (Troll 1973; Wardle 1974; Tranquillini 1979; Körner 1998; Holtmeier 2003; de Wieser & Tausz 2007), sobre todo para el hemisferio norte (Holtmeier 1974; Grace 1977). Actualmente son cinco las hipótesis, parcialmente interrelacionadas, las que dictaminan la formación del límite altitudinal de los bosques de elevación: (1) estreses ambientales, (2) los disturbios, (3) la reproducción, (4) el balance de carbono, y (5) la reducción del crecimiento (Körner 1998). Sin embargo, existe cierto consenso en que los treelines están supeditados a la temperatura, así como la influencia continental, especialmente en las zonas interiores templadas de América del Norte y Asia, donde el *treeline* es casi tan elevado como hacia los trópicos. En las regiones templadas los árboles entran en dormancia durante los períodos de bajas temperaturas y congelamiento. Estudios ecofisiológicos en los Alpes de Europa Central (2100 m s.n.m.; Friedel 1967) mostraron un período vegetativo de 128 días para *Larix decidua*. En contraste, las estaciones de crecimiento de los *treeline* tropicales y sub-tropicales presentan temperaturas congelantes en las noches y condiciones favorables durante el día durante gran parte del año (Rada *et al.* 1996). La temperatura es el determinante global clave que se relaciona de manera más estrecha con las limitantes fisiológicas y el crecimiento de las plantas en elevaciones extremas (Körner 1998, Weiser 2007). Así, se ha propuesto que la isoterma de 10 °C correspondiente a la temperatura media del mes más cálido del año, como límite ambiental determinante de la ocurrencia del treeline (Körner 1998, Weiser 2007). Por otro lado, a una escala global, recientemente se ha reportado la temperatura media estacional en el rango de 5.5° a 7.5 °C como determinante global de la formación de treelines (Körner & Paulsen 2004).

2.2 Desempeño fotosintético

2.2.1 Limitaciones fotosintéticas

Aproximadamente el 40% de la materia seca de las plantas está comprendido por el carbono fijado mediante el proceso de la fotosíntesis. Este proceso es vital para el crecimiento y sobrevivencia de prácticamente todas las plantas durante la mayor parte de su ciclo de vida. Más aún, la vida en la biósfera depende en su totalidad de la productividad asociada a la fotosíntesis de las plantas y organismos autótrofos. Las hojas, órganos estructurales altamente especializados, participan en la intercepción de luz necesaria para el proceso de síntesis. Esta luz es capturada por una vasta variedad de cloroplastos que están cercanos a las fases gaseosas y tejidos vasculares, encargados de suplir el agua y los productos para la fotosíntesis. El casi la totalidad de las plantas, la captura de CO₂ ocurre a través de cavidades porosas llamadas estomas, las cuales son capaces de rápidamente cambiar su rango de apertura. Una vez dentro de la hoja, la difusión del CO₂ desde los espacios intercelulares hacia los sitios de carboxilación en los cloroplastos (especies C₃) o en el citosol (especies C₄ and CAM), será llevado a cabo por el mesófilo.

Los factores ambientales impactan directa e indirectamente la fotosíntesis (disminución de A_{max}), resultando en la disminución del balance de carbono y finalmente del crecimiento (Flexas *et al.* 2006, Carriqui *et al.* 2014). Los abundantes estudios sobre las limitaciones del aparato fotosintético y sus componentes (Flexas & Medrano 2001, 2002; Bernacchi *et al.* 2002; Centritto *et al.* 2003; Flexas *et al.* 2013), se basan en el estudio de Grassi & Magnani (2005) quienes proponen una nomenclatura global para los componentes de las limitaciones fotosintéticas, dividiéndolas en difusivas del CO₂ y bioquímicas. Las dos primeras relativas a las restricciones difusivas del CO₂ hacia el cloroplasto (Anexo 2): (1) conductancia estomática (SL), (2) conductancia del mesófilo (MCL), y (3) las limitaciones asociadas a la tasa catalítica de enzimas claves en el metabolismo fotosintético e.g.: Ciclo de Calvin-Benson y ATP-sintetasa (Bioquímica: (BL), V_{cmax} y J_{max} ; Anexo 3).

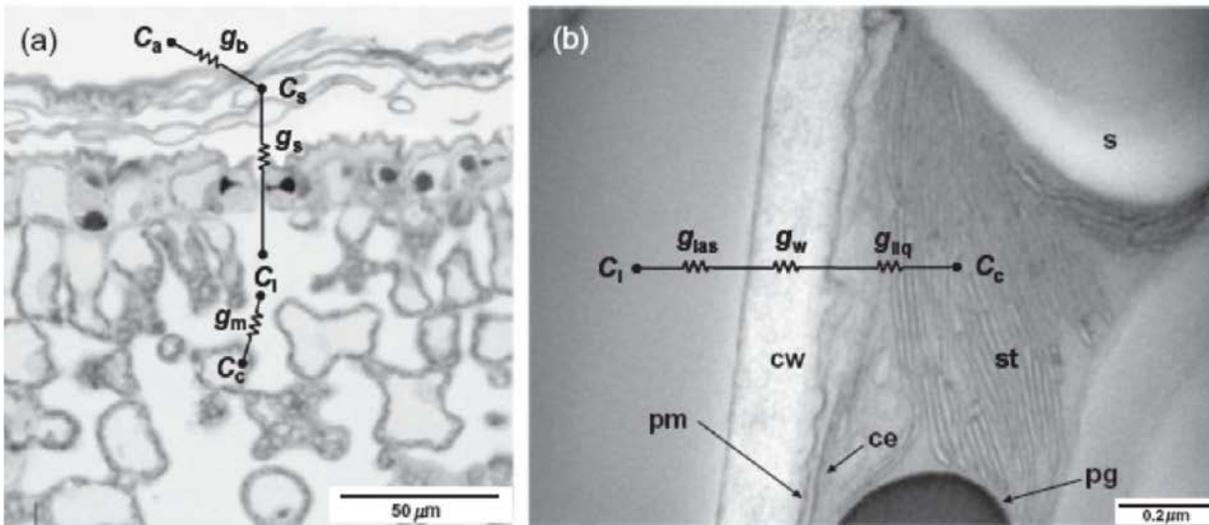


Figura 1. Componentes difusivos del CO_2 de las limitaciones fotosintéticas. (a) Ruta de tránsito intercelular del CO_2 en fase gaseosa (g_s) y (b) conductancia del mesófilo la cual implica transporte del CO_2 en fase líquida C_a : Concentración del CO_2 ambiental, C_i : concentración de CO_2 sub-estomática, C_c : Concentración de CO_2 cloroplasmática (Modificado de Flexas *et al.* 2012)

2.2.2 Respuestas morfo-anatómicas al estrés ambiental

Las hojas son los órganos fotosintéticos fundamentales, en cuyos tejidos (principalmente en el mesófilo) están contenidos la mayoría de los cloroplastos, donde ocurre la carboxilación fotosintética. La razón de la masa seca por unidad de área foliar (LMA, g m^{-2}) se ha considerado como el costo de la intercepción lumínica (Poorter *et al.* 2009) y puede también ser calculada a partir del producto entre la densidad de la hoja (masa seca por unidad de volumen), y su espesor (Niinemets 1999). En hábitats áridos expuestos a excesiva radiación diurna y temperaturas congelantes nocturnas, las especies perennes presentan hojas más pequeñas, gruesas y coráceas que en ambientes más templados (Wright *et al.* 2002). Una mayor biomasa fotosintética por unidad de área foliar sustenta la capacidad fotosintética a menor área de intercepción lumínica en ambientes de alta irradiación solar (Poorter *et al.* 2009). A bajas temperaturas la expansión celular se ve limitada, generando un mayor número de células por unidad de área, mayor masa en la pared celular y por consiguiente un mayor grado de empaquetamiento celular. Estos cambios morfo-anatómicos se han descrito como estrategias para reducir la severidad de estrés por congelamiento (Atkin *et al.* 2006). Las hojas que se desarrollan en ambientes de baja disponibilidad hídrica presentan una menor expansión foliar, reduciendo a su la transpiración foliar por superficie de hoja. El estrés hídrico genera que las células sean más pequeñas y con mayor agregación, resultantes en una menor fracción de espacios de aire intersticiales (Poorter *et*

al. 2009). En resumen, estos ajustes morfo-anatómicos de las hojas en respuesta al estrés ambiental reducen la difusión de CO₂ a través del mesófilo y hacia el cloroplasto (g_m), reduciendo la capacidad fotosintética por disponibilidad de sustrato carboxilativo (Niinemets *et al.* 2009). En general, plantas con mayor LMA presentan ventajas en adecuación biológica frente a condiciones adversas, pero a costas de su capacidad fotosintética y generalmente se encuentran en hábitats de baja productividad (Poorter *et al.* 2009).

2.2.3 Respuestas fotosintéticas al estrés por bajas temperaturas.

La baja temperatura suele considerarse como el factor más determinante de la formación del treeline, dado sus efectos en la morfología de los árboles y de disminución en la capacidad fotosintética. La exposición a bajas temperaturas reduce la fotosíntesis, en una etapa inicial principalmente por la reducción en la actividad enzimática. Sin embargo, los procesos fotofísicos asociados a la absorción de fotones no se ve afectada, mientras que la tasa máxima de transporte de electrones (J_{max}) y los procesos bioquímicos carboxilativos sí son directamente reducidos. En adición, el metabolismo del carbono, en específico el catabolismo de la sucrosa y/o la carga del floema se convierten en factores limitantes de la fotosíntesis, causando una inhibición por *feedback*, en la ocupación de las enzimas alostéricas por deficiencia de fosforo en el estroma. La fotoinhibición y fotooxidación ocurren como resultado del desbalance entre la reducción en los procesos bioquímicos, los cuales consumen electrones (Ciclo de Calvin y metabolismo del carbono) y la captura de fotones y transporte de electrones a través del fotosistema II (ETRII), los cual no se ven afectados. Esta pérdida de la homeostasis, genera una sobreexcitación del aparato fotosintético y un consecuente mayor nivel de fotodaño al fotosistema II (Wise *et al.* 2004). Sin embargo, la capacidad de aclimatación en especies cuyos hábitats involucran una dinámica reiterada de bajas temperaturas y/o oscilaciones diarias extremas (e.g. $\pm 25^\circ\text{C}$ en los Altiplano de los Andes Central), se ha reportado que las reducciones en J_{max} y $V_{c, max}$ disminuyen. La aclimatación, por tanto disminuye la reducción en la capacidad fotosintética producto del estrés, conjuntamente con el grosor de la hoja más no un aumento significativo de clorofila, causando el aumento de A_{max} por unidad de clorofila (Atkin *et al.* 2006).

Por otro lado, la aclimatación al frío involucra un decrecimiento en la saturación de los ácidos grasos, lo que incrementa la fluidez de las membranas bifosfolipídicas (Lambers *et al.* 2007). En rigor, aun cuando la disponibilidad de N en los suelos sea pobre, las tasas relativamente altas de fotosíntesis por unidad de área a bajas temperaturas, reflejan en gran porción las altas concentraciones de Rubisco, como síntoma de aclimatación. Esto probablemente, por la elevada concentración de N foliar, asociada

a la baja dilución del N en el tejido por la restricción de crecimiento en ambientes extremos (Körner & Larcher 1988).

2.2.4 Respuestas fotosintéticas al estrés hídrico

La escasez de agua es una de las principales preocupaciones no sólo para las zonas áridas y semi-áridas, sino que también se ha agudizado en las regiones templadas que hoy en día están sometidas a reiterados períodos de sequía y aumentos de temperatura. El primer síntoma fotosintético al estrés hídrico es el cierre estomático (Chaves 1991; Cornic 2000), que concomitante con limitaciones difusivas del mesófilo (g_m), conducen a una disminución del CO_2 disponible en el cloroplasto (Delfine *et al.* 1999; Flexas *et al.* 2008), y finalmente se traduce en la reducción de las tasas fotosintéticas en plantas C_3 (Flexas *et al.* 2004, 2009; Grassi & Magnani, 2005). El factor g_m es reconocido como un factor igualmente importante en la difusión del CO_2 a los sitios de carboxilación en presencia de estreses hídricos (Flexas *et al.* 2002; Warren 2008). Esta reducción se cree ligada a alteraciones físicas estructurales de los espacios intercelulares por la contracción de las hojas (Lawlor and Cornic 2002), cambios en el grosor y la porosidad de la pared celular (Niinemets *et al.* 2009) y/o en la distribución espacial de los cloroplastos en la célula (Geissler *et al.* 2009; Zelling *et al.* 2010). En general, se ha reportado una covariación entre la g_s y la g_m , aunque durante procesos de rehidratación algunos estudios han reportado un desacople de estos mecanismos, resultando en el mesófilo como principal restricción difusiva del CO_2 (Gálmes *et al.* 2008). Una vez ingresado el CO_2 al interior de los cloroplastos, las limitaciones bioquímicas consisten en la reducción en la capacidad de carboxilación de la enzima RuBisCO o Ribulosa- 1,5- bifosfato carboxilaza-oxigenasa, representada por la tasa máxima de carboxilación de la enzima ($V_{c, \max}$) y la regeneración del sustrato RuBP conocida como Ribulosa- 1,5- bifosfato (Grassi & Magnani 2005; Flexas *et al.* 2009). La disminución de g_s en situaciones de sequía, disminuye significativamente la síntesis de ATP y ETRII, por la baja actividad catalítica de la enzima Rubisco inducida por la baja disponibilidad de sustrato, aumentando la probabilidad de provocar fotoinhibición crónica del aparato fotosintético (Flexas & Medrano 2002). En adición, algunas especies (p.e. *Polylepis. tarapacana*) desarrollan una cutícula gruesa para reducir la pérdida de agua a través de la epidermis (transpiración cuticular). También depositan resinas en la superficie y entre cutícula-epidermis, esta última con mayor importancia en controlar la tasa de pérdida de agua. Una cutícula gruesa también decrece la permeabilidad del CO_2 pero la fotosíntesis no se ve afectada ya que las células protegidas por la cutícula presentan actividades fotosintéticas reducidas (Taiz & Zeiger 2014)

2.2.5 Respuestas fotosintéticas a la deficiencia de Nitrógeno

En general, las plantas sometidas a deficiencia o toxicidad de nutrientes disminuyen la fotosíntesis y desarrollan mecanismos de fotoprotección dirigidos a evadir el daño fotoinhibitorio (Taiz & Zeiger 2014). En algunas especies como *Pinus spp.* el crecimiento y productividad de las hojas están sincronizado con el suministro de nutrientes, de tal modo que el déficit-nutritivo foliar raramente se expresa (Warren *et al.* 2002). En particular, la escasez de nitrógeno resulta en una disminución de la fotosíntesis, ya que más de la mitad del nitrógeno foliar está contenido en el aparato fotosintético (Makino & Osmond 1991). Así, una baja concentración de N foliar se relaciona negativamente en la cantidad de Rubisco, impactando en la capacidad de carboxilación y la tasa de regeneración de RuBP (Lambers *et al.* 2007). El aumento en las tasa fotosintética con un alto suministro de N ha sido recientemente atribuido a las altas concentraciones de CO₂ cloroplasmático, relacionado a una alta g_m debido al incremento en el tamaño de los cloroplastos (Li *et al.* 2009). Las relaciones $A_{max} - N$ están fuertemente ligadas (Reich 1993). La clorofila (absorción de fotones) y la enzima Rubisco (carboxilación, $V_{c, max}$), componentes de la maquinaria fotosintética que trabajan de forma coordinada y por ende decrecen al disminuir el N. Los factores bioquímicos ($V_{c, max}$ y J_{max}), están acoplados independiente del suministro de N, dadas sus implicancias en la asignación de N en el aparato fotosintético (Walcroft *et al.* 1997). Al disminuir el N foliar, el número de cloroplastos, tilacoides y proteínas tilacoidales por cloroplasto, decrecen (Evans & Terashima 1987, 1988). La eficiencia fotosintética en el uso del nitrógeno (PNUE), se reduce con deficiencias de nutrientes y/o agua. Este estrés puede verse realzado en hojas que han sido estructuralmente reforzadas, lo que significa una mejora anatómica más no fisiológica. Una mayor asignación de carbono a tejidos estructurales (p.e. esclerénquima y colénquima) generalmente incrementa la densidad de la hoja y reduce la cantidad de tejido fotosintético del mesófilo, la cantidad por unidad de masa seca de agua/N y la asignación de N a la Rubisco. Otro factor que origina un descenso en la PNUE es una baja concentración de CO₂ sub-estomático (C_i) debido a la mayor eficiencia en el uso del agua (WUE) (Field *et al.*, 1983). Finalmente, los reportes del funcionamiento fotosintético son claves para comprender tanto los efectos singulares como combinados de los factores ambientales, en relación a los atributos fisiológicos de cada especie, y para determinar la participación de las limitaciones a la fotosíntesis en respuesta a gradientes ambientales.

2.3 Género *Polylepis*

2.3.1 Características generales

El nombre tiene su origen en la palabra Griega *poly* (mucho) *lepis* (capas), referencia a su corteza compuesta por múltiples capas fibrosas, comunes a todas las especies del género (Anexo 4). Taxonómicamente hablando, el género pertenece a la familia de Rosaceae, sub-familia Rosoideae, tribu Sanguisorbeae (Focke 1888, Robertson 1974). Incluye 28 especies distribuidas en los Andes, desde el estado de Lara, Venezuela hasta el sur de Tarapacá, Chile, y Córdoba, Argentina (Bitter 1911, Simpson 1979, Kessler 1995, Schmidt – Lebuhn *et al.* 2005). Alcanzan alturas de 5-10 m, con algunas especies de hábitos arbustivos (p.e. *P. microphylla*, *P. tarapacana*, *P. tomentella*) y otras que superan los 25 m (p.e. *P. lanata*, *P. pauta*). La corteza roja-oscura compuesta de múltiples capas exfoliadas funciona como estructura de aislamiento térmico. El crecimiento de sus troncos contorsionados y ramas se ajustan a los períodos más cálidos y húmedos. Posee tricomas foliares categorizados en dos tipos principales: *capilli resifineri* o *capilli pulverulenti* y *pili*. Las primeras, multicelulares, glandulares, con secreción de resinas. Las segundas, de una única célula, no glandulares. La densa capa de resina en la superficie foliar ayuda a prevenir la desecación. Presenta invaginaciones en la superficie inferior de manera que posee estomas en cripta rodeados por células secundarias. Todas estas variabilidades morfológicas son el sustento para la amplitud ecológica de los diferentes bosques formados por estas especies, que poseen relaciones autoecológicas y sinecológicas únicas entre las angiospermas (Simpson 1879, Kessler 1995). En los Andes tropicales y sub- tropicales, las especies arbóreas en elevaciones sobre los 3,000- 3,500 m s.n.m. son escasas, y se encuentra dominada por individuos del género *Polylepis* (Simpson 1979, Kessler 1995). Muchas especies de este género integran bosques de alta elevación (3,000 – 4,000 m s.n.m.). A mayores elevaciones ocurren como formaciones boscosas agrupadas, aislados de cualquier otro tipo de bosque, o rodeados de vegetación (4,300 – 5, 200 m.s.n.m.). *Polylepis* se homologa con las coníferas de las Montañas Himalaya como las presencias arborescentes naturales de mayor elevación en el mundo, en sus respectivas cordilleras (Bitter 1911, Simpson 1979).

2.3.2 *Polylepis tarapacana* Phillipi

P. tarapacana (Queñoa) es considerada la más resistente a condiciones extremas de temperatura y sequía, en concordancia con ser la especie arbórea que crece a mayor elevación en el planeta (3,900 - 5,200 m s.n.m). Habita la cordillera occidental del Altiplano entre el sur de Perú desde Tacna a Puno, hasta el norte de Argentina en la provincia de Jujuy, encontrándose la mayoría de sus poblaciones a lo largo de la frontera chileno-boliviana. Se compone por árboles pequeños de 1-4 m de altura (Anexo 5). Posee corteza gruesa compuesta por múltiples capas, hojas compuestas con 1 o 2 pares de folíolos, a

través o al final de las ramas, folíolos ovalados de 0.3-0.6 cm de ancho y 0.7-2.0 cm de largo, variables en grosor, color verde oscuro o verde-amarillento, tricomas glandulares en la superficie abaxial y tricomas unicelulares blancos-largos en la superficie glabra adaxial. 1-8 flores de 0.1-5.1 cm de largo, 0.4-0.6 diámetro, ovalada, de 3 sépalos, con tricomas blancos y glandulares (Anexo 6). Frutos cónicos, abultados, 0.2-0.78 cm amplitud, con estribaciones de 0.3-0.9 cm de largo (Simpson 1979, Kessler 1995).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Sitio de estudio

El estudio se realizó en un gradiente de elevación de un bosque de *Polylepis tarapacana* ubicado en el Cerro Chiguana en el Salar de Surire (18°93'S, 69°00'N), XV Región de Arica Parinacota, Chile (Fig. 2). El muestreo se realizó en la ladera norte del cerro Chiguana, entre los 4,337 y 4,905 m s.n.m. El piso bioclimático del altiplano está delimitado por las Cordilleras Occidental y Oriental generando un clima de estepa semiárida de alta montaña

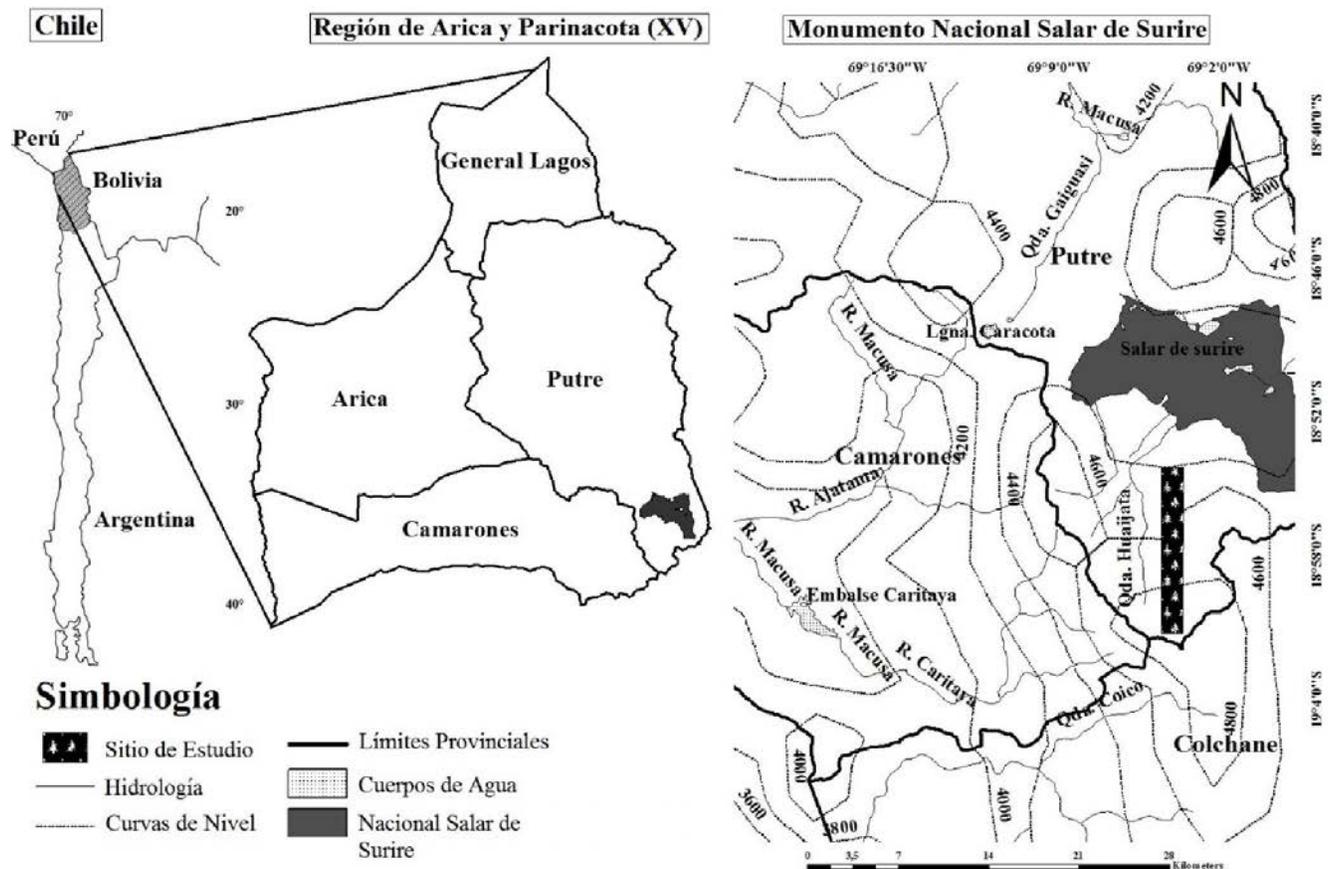


Figura 2. Mapa de división administrativa con la ubicación geográfica del área de estudio, Monumento Nacional Salar de Surire, y el sitio de estudio en el cerro Chiguana, Altiplano Chileno, XV Región de Arica y Parinacota, Chile.

La caracterización del ciclo anual de temperatura del aire (T_a °C), humedad relativa (RH) y déficit de presión de vapor (VPD) se llevó a cabo con una micro-estación HOBO H21-002, registrando datos cada 1 hora, y conectada a dos sensores S-LIA-M003 y S-THA-M0xx (Onset, MA, USA), en los extremos de distribución inferior y superior de la especie.

El cálculo del déficit de presión de vapor (VPD), se calculó de acuerdo a Murray (1967):

$$[1] \quad \text{VPD} = P_v - [(RH/100) * P_v]$$

, donde la presión de vapor de aire (P_v) se calculó de la siguiente manera:

$$[2] \quad P_v = 0.611^{[17.27 T_a / (T_a + 237.3)]}$$

La precipitación media anual en el área de estudio es del orden de los ≈ 320 mm, y la temperatura media anual oscila entre 5°C y -5°C (García- Plazaola *et al.* 2015). Existen también, condiciones desfavorables de suelo dado que las bajas temperaturas y la aridez limitan la descomposición de materia orgánica, y el ciclaje de nutrientes, sobre todo de nitrógeno y fósforo (Beck & Ellenberg 1977).

3.2 Caracterización del gradiente micro-ambiental de elevación

La caracterización ambiental y las mediciones fisiológicas se realizaron en poblaciones un gradiente de elevación: 4.337, 4.624 y 4.905 m s.n.m. Las mediciones se realizaron en marzo, correspondiente al inicio del último tercio del período de crecimiento del año 2013. La caracterización ambiental se realizó en los extremos de la distribución de esta especie en este sitio (4.337 y 4.905 m s.n.m.). La temperatura del aire (T_a °C) y humedad relativa del aire (HR) se registraron con un datalogger (U23-001, Onset, MA, USA), cada 15 min por un periodo de 20 días (1-20 de marzo 2013). El déficit de presión de vapor (VPD) se calculó de la misma forma que el ciclo anual, acuerdo a Murray (1967). El curso diario de la densidad de flujo de fotones fotosintéticos (PPFD) se registró cada 1 hora, con una micro-estación HOBO H21-002 conectada a dos sensores cuánticos S-LIA-M003 (Onset, MA, USA).

En adición, en las 3 poblaciones se colectaron tres muestras de suelo por elevación (0.045 m³). El cual, fue almacenado y transportado hacia el laboratorio para la determinación del contenido de nitrógeno. El

contenido de N del tejido seco (LNC, g g^{-1} DM) se determinó en el mismo tejido usado para el cálculo de LMA. Todas las muestras fueron secadas a $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta obtener peso constante y coladas a través de una malla de tamizado de 2 mm, previo análisis. El contenido de nitrógeno del suelo fue determinado por la oxidación en humedad de la materia orgánica del suelo utilizando el procedimiento de digestión N_t estandarizado de Kjeldahl (AOAC 1980).

3.3 Medición de intercambio de gases y fluorescencia de la clorofila

Las mediciones fueron realizadas con un analizador de gases infra-rojo (IRGA LI-6400XT) con cabezal integrado con cámara de fluorescencia de la clorofila *a* (Li-6400-40, Li-Cor Inc., Nebraska, USA). Se llevaron a cabo mediciones simultáneas de intercambio de gases y fluorescencia de la clorofila *a*, en individuos adultos de *Polylepis taracapanana*, en hojas totalmente expandidas del tercio superior del dosel y adaptadas al sol. Cuando la hoja no cubría la superficie total de la cubeta, se tomaba una fotografía digital inmediatamente post- medición utilizando una placa de espuma de igual tamaño a el área previamente medida; Se utilizó el software ImageJ (Wayne Rasband/NIH, Bethesda, MD, USA) para estimar el área foliar real. Los valores del intercambio de gases obtenidos por el Li-6400 XT se corrigieron con el ratio área cubeta/área real de la hoja.

El tamaño muestral fue de 8 a 9 ejemplares en cada una de las tres elevaciones. Se realizaron curvas de respuesta fotosintética a la luz ($A_N\text{-}Q$) y al CO_2 ($A_N\text{-}C_i$) entre las 09:00 y 13:00 h. Las condiciones de luz y temperatura dentro de la cámara fueron de $1000\text{ }\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, respectivamente. Dada las complicaciones operativos de realizar mediciones en ambientes extremos, las curvas de respuesta al PPFD y al CO_2 se realizaron en el laboratorio de campo montado en una carpa-domo, para lo cual ramas de los individuos fueron colectados durante la mañana e inmediatamente re-cortadas bajo agua y transportadas en tubos PVC saturados con agua dulce y mantenidos en oscuridad para evitar el embolismo. Las hojas de la rama se estimularon por 30 min con una PPFD de $1000\text{ }\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, proporcionada por un panel de luz LED (rojo: azul: naranja: amarillo; 79%: 15%: 2%: 2%), antes de ejecutar las mediciones fisiológicas y anatómicas. La validación del procedimiento se estableció a partir de la comparación de los valores obtenidos en las mediciones de intercambio de gases y fluorescencia en campo y laboratorio, corroborando la no existencia de diferencias significativas entre ambos métodos.

Las curvas $A_N\text{-}C_i$ se convirtieron en curvas $A_N\text{-}C_c$, al combinar las mediciones de intercambio de gases y fluorescencia de la clorofila (Harley *et al.* 1992). El factor de especificidad de la Rubisco (τ) fue determinada *in vitro* (Galmés *et al.* 2005). Los valores de A_N se registraron una vez que el estado-

estable de la fluorescencia (F_s') se estableció a un determinado C_a . Seguidamente, se aplicó un pulso saturante de luz blanca ($8.000 \mu\text{mol fotones mol}^{-1}\text{s}^{-1}$) para determinar la eficiencia cuántica real de PSII (ϕ_{PSII}): [3]

$$\phi_{\text{PSII}} = [(F_m' - F_s) / F_m']$$

Por consiguiente, la tasa de transporte de electrones (J_f), a través del PSII se determinó por:

[4]
$$J_f = \beta \cdot \phi_{\text{PSII}} \cdot \alpha \cdot \text{PPFD}$$

, donde PPFD corresponde a una densidad de flujo fotónico a saturación, β (0.5) es la partición teórica del PPFD absorbido entre los fotosistemas (descrito como variación entre 0.45 y 0.6; Laisk & Loreto, 1996), α es la absorbancia de la hoja, calculada con un espectroradiómetro EPP2000- HR (StellarNet Inc., FL, USA). Básicamente, el método consiste en medir la radiación normal incidente y la transmitida por encima y debajo de la superficie foliar, así como la luz reflectada 1 cm sobre la hoja, ubicando un sensor a 45° desde el ángulo perpendicular. Los resultados obtenidos concuerdan bien con aquellos de Schultz (1996), utilizando la técnica de esfera integrada para complementar los valores de Li- 6400 (0.85).

Los valores de los parámetros fotosintéticos $V_{c, \text{max}}$ (tasa de máxima de carboxilación de la Rubisco), J_{max} (tasa máxima de transporte de electrones), A_{max} (la tasa de asimilación neta de CO_2 bajo condiciones saturadas de PPFD y CO_2) fueron obtenidos por el ajuste del modelo mecanístico de asimilación de CO_2 propuesto por Farquhar, Von Caemmerer & Berry (1980). La concentración cloroplasmática de CO_2 (C_c) y la conductancia de CO_2 del mesófilo (g_m) se obtuvieron según el método de Harley *et al.* (1992). Posterior a realizar las mediciones de intercambio de gases, las hojas se ubicaron en una estufa de secado fijado sobre los 60°C , hasta lograr un peso constante, el cual fue utilizado para las estimaciones de la razón masa seca de la hoja por unidad de área (LMA).

3.4 Análisis cuantitativo de la fotosíntesis y sus limitaciones

Las limitaciones fotosintéticas fueron estimadas siguiendo las aproximaciones de Grassi & Magnani (2005), la cual estandariza una tasa máxima de asimilación como referencia y particiona las limitaciones fotosintéticas entre sus componentes difusivos del CO_2 : conductancia estomática (g_s), conductancia del mesófilo (g_m) y bioquímicos: velocidad máxima de carboxilación ($V_{c, \text{max}}$) o la tasa de transporte de electrones (J_{flu}).

Las tasas fotosintéticas a niveles saturantes de luz están generalmente limitadas por disponibilidad de sustrato (C_a) y por lo cual, el cálculo siguiendo a Farquhar *et al.* (1980) es el siguiente:

[5]
$$A = [(V_{c, \text{max}} \cdot C_c) / C_c + K_c \cdot (1 + O/K_o)] \cdot (1 - \Gamma^*/C_c) - R_d$$

, donde K_c y K_o (Bernacchi *et al.* 2001) son las constantes de Michaelis- Menten para el CO_2 y O_2 , y O es la concentración atmosférica de O_2 . Omitiendo cualquier cambio en la respiración foliar, un diminuto cambio en la asimilación de la hoja puede expresarse en términos de cambios continuos en $V_{c, \max}$ y C_c como:

$$[6] \quad dA = \partial A / \partial C_c \cdot dC_c + \partial A / \partial V_{c, \max} \cdot dV_{c, \max}$$

La disminución del CO_2 en la superficie foliar y los sitios de carboxilación, es una función de las conductancias estomáticas y del mesófilo en forma sucesivamente, así como de la propia asimilación:

$$[7] \quad C_c = C_a - A / g_{sc} - A / g_m$$

, donde C_a es la concentración de CO_2 atmosférico y g_{sc} es la conductancia estomática del CO_2 .

Finalmente, se calculan las limitaciones relativas a la fotosíntesis correspondiente el estoma (l_s), mesófilo (l_{mc}) y bioquímica fotosintética (l_b), al ajustar los valores de A_N observados:

$$[8] \quad \begin{aligned} l_s &= g_{\text{tot}} / g_{sc} \cdot \partial A / \partial C_c / g_{\text{tot}} + \partial A / \partial C_c \\ l_{mc} &= g_{\text{tot}} / g_m \cdot \partial A / \partial C_c / g_{\text{tot}} + \partial A / \partial C_c \\ l_b &= g_{\text{tot}} / g_{\text{tot}} + \partial A / \partial C_c \end{aligned}$$

, donde g_{tot} es la conductancia de CO_2 total entre la superficie de la hoja y los sitios de carboxilación (Grassi & Magnani 2005), determinado por $[1 / (1 / g_{s, \text{CO}_2}) + (1 / g_m)]$. En adición, se utilizó el método de ajuste iterativo de curvas de respuesta al CO_2 modificado por Sharkey *et al.* (2007) a modo de validación de la estimación de la g_m por Harley *et al.* (1992).

3.5 Estimación de g_m por intercambio de gases y fluorescencia de la clorofila

El cálculo la conductancia del mesófilo al CO_2 (g_m), se llevó a cabo acorde al “método variable de J ” propuesto por Harley *et al.* (1992). Este método estima J_{flu} a partir de la fluorescencia de la clorofila a y está basado en la comparación de J_{flu} y A_N , para estimar la tasa de foto-respiración, usando valores conocidos del factor de especificidad de la RuBisCO (τ , $S_{c/o}$) o el punto de foto-compensación (I^*), permitiendo el cálculo de C_c mediante la ecuación:

$$[9] \quad g_m = A / [C_i - (I^*(J_f + 8(A_N + R_d)) / ((J_f - 4(A_N + R_d)))]$$

Los valores obtenidos fueron usados para transformar las curvas de respuesta A_N-C_i en curvas A_N-C_c , según las tasas fotosintéticas foliares (Niinemets *et al.* 2009, Carriqui *et al.* 2015):

$$[10] \quad g_m = [(C_i - C_c) / A]$$

$$[11] \quad A = g_m (C_i - C_c)$$

El punto de foto-compensación (I^*) requerido en la ecuación 9, se derivó a partir de valor de factor de especificidad de la Rubisco ($S_{c/o}$) que fue determinada *in vitro* para esa especie (Galmés *et al.* 2005) como se indica:

$$[12] \quad I^* = [(0.5 \cdot O_2) / S_{c/o}]$$

3.6 Análisis Estadístico

El muestreo en cada elevación fue completamente aleatorio, considerando un tamaño de muestra de 8 a 9 individuos, dependiendo de la variable respuesta. Las diferencias entre elevaciones para los datos de clima, atributos foliares, suelo e intercambio de gases se determinaron con un ANOVA de una vía. Las análisis post hoc se efectuaron con un test LSD de Fisher ($P < 0.05$). Normalidad y homocedasticidad se evaluó utilizando el test de Shapiro-Wilk ($P < 0.05$) y Levene ($P < 0.05$), respectivamente. En caso de corresponder, las variables se transformaron para cumplir con los supuestos que rigen la estadística paramétrica (Quinn & Keough 2006). Todos los análisis estadísticos se evaluaron con el software R (versión 3.1.2, Copyright © 2014, The R Foundation for Statistical Computing), en la interface de escritorio R Studio (versión 0.98.1091- © 2009-2014 R Studio, Inc.).

4. RESULTADOS

4.1 Ciclo anual de variables ambientales

Las tendencias térmicas y de humedad del aire se corresponden con los atributos climáticos generales de aquellos sitios de elevación en los sub-trópicos, donde las fluctuaciones térmicas entre estaciones no son abruptas y la humedad aumenta hacia principios del verano (diciembre-febrero, Fig. 3a). Durante 12 meses, la temperatura mínima promedio registrada en los meses de invierno fue de -5.26°C para el sitio inferior y -7.63°C para el superior (datos no mostrados). Las máximas no superaron los 25°C y fueron un 15% superiores en la menor elevación. Las menores temperaturas a los 4, 905 m.s.n.m. fueron consistentes durante todo el año. Si bien la humedad relativa (RH) no varió entre los dos sitios, a excepción de los meses de enero a abril, cuando la aridez tiende a aumentar marcadamente a los 4,905 m s.n.m. más que a los 4,337 m s.n.m. (Fig. 3b). El déficit de presión de vapor (VPD) fue mayor en el sitio de mayor elevación, a excepción de los meses de verano (Fig. 3c). La amplitud térmica diaria promedio durante los días de medición en cada estrato alcanzó fluctuaciones en el rango de $29-32^{\circ}\text{C}$. En rigor, las fluctuaciones anuales entre el período de invierno-verano aquí expuestas, fueron del orden de $\approx 3^{\circ}\text{C}$, por el contrario las diurnas de $\approx 30^{\circ}\text{C}$; señalando abruptas diferencias entre las oscilaciones que ocurren durante un día por sobre las diferencias entre estaciones, en el Altiplano Chileno.

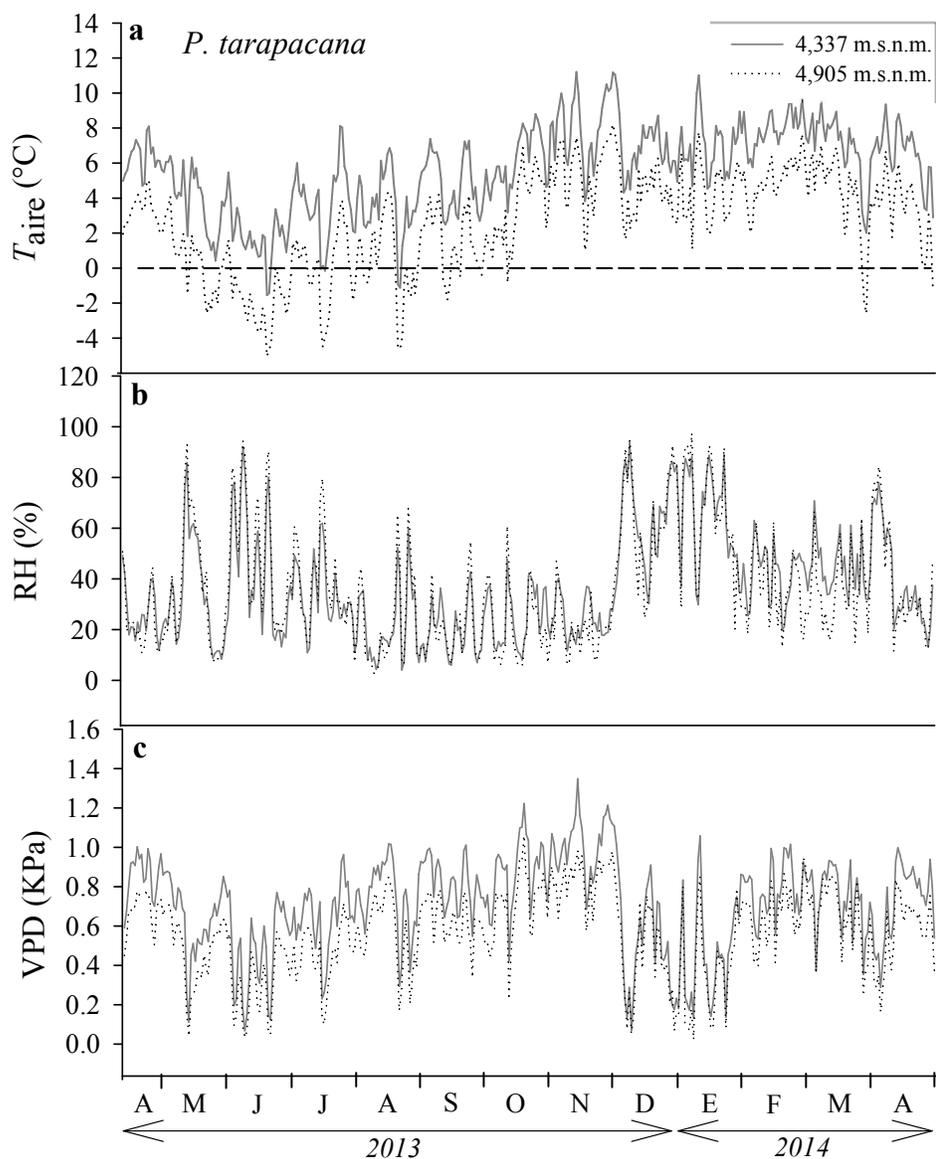


Figura 3. Ciclo climático anual en el bosque de *Polylepis tarapacana*. Los valores corresponden al promedio diario de temperatura del aire (*Taire*), humedad relativa (RH) y déficit de presión de vapor (VPD). Los valores fueron registrados para la elevación inferior (4,337 m.s.n.m.) y superior (4,905 m.s.n.m.) del sitio de estudio.

4.2 Condiciones ambientales en el gradiente de elevación

Las condiciones ambientales durante las horas de medición de intercambio de gases (10:00 – 13:00 h), presentaron valores consistentes con los registros de ciclo anual en el período estival, designado como

el período cálido y húmedo de crecimiento (Hoch & Körner 2005). Las cinéticas de temperatura del aire (Fig. 4a) y VPD (Fig. 4c) en el sitio inferior (4,337 m.s.n.m.) alcanzaron los valores máximos y mínimos entre los lugares del gradiente, indicando un marcado incremento desde la mañana hacia el mediodía. Lo anterior, determina la oportunidad de *P. tarapacana* para realizar la mayor ganancia de carbono durante una ventana de pocas horas al día. Por el contrario, RH descendió notablemente concomitante con el incremento del VPD (Fig. 4b). Las condiciones en el sitio superior del gradiente (4,905 m.s.n.m.) permanecieron más frías y húmedas durante todo el período de medición. Los valores medios mínimos-máximos de temperatura, entre las horas de medición, fueron 3.7°C (10:00 h) - 19.2°C (13:00 h) en el sitio bajo, y 6.7°C (10:00 h) - 14.5°C (13:00 h) en el superior. Para el caso del VPD, éste fue consistente con los cambios en la temperatura con valores máx.-mín. de 0.58 KPa (10:00 h)-2 KPa (13:00 h), en el sitio bajo, y 0.58 KPa (10:00 h)-1.56 (13:00 h) en el de mayor elevación. En promedio, las condiciones del sitio de menor elevación, respecto al de mayor, fueron un 33.5% mayor en RH, 13.6% un más frío y un 19.2% menor VPD ($P \leq 0.001$). El contenido de nitrógeno del suelo no mostro variaciones significativas en el gradiente de elevación ($P=0.98$), sin embargo las concentraciones fueron un 62% mayores en la parte media y 12.5% en la parte superior, respecto al sitio de más abajo (Fig. 5).

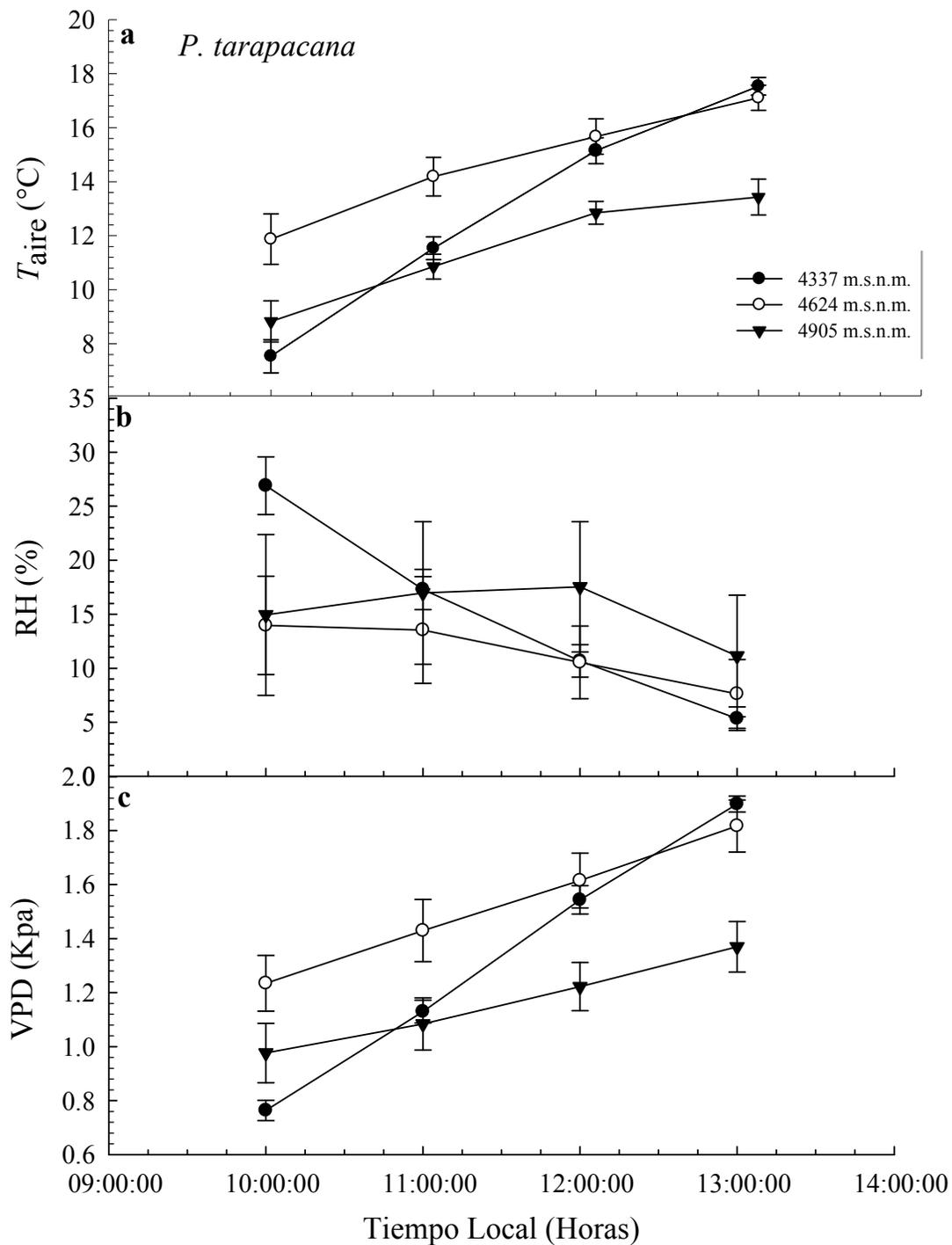


Figura 4. Condiciones micro-ambientales en el gradiente de elevación durante el periodo de medición de intercambio de gases. Media \pm SE de temperatura (a), humedad relativa (b) y déficit de presión de vapor (c) entre los sitios del gradiente de elevación. Las curvas corresponden a los registros obtenidos durante las horas de medición (10:00 – 13:00 horas) en el período de muestreo.

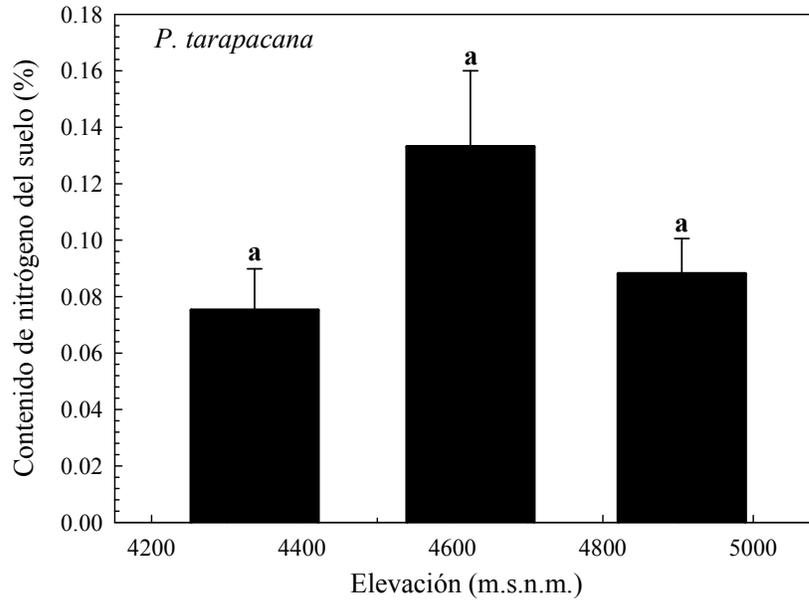


Figura 5. Contenido de nitrógeno del suelo en el gradiente de elevación. Los valores corresponden al valor porcentual medio \pm SE de cada sitio. La disimilitud en las letras denotan diferencias significativas (LSD-Fisher, $P < 0.05$, $n=3$).

4.3 Morfología y propiedades de la hoja

La aclimatación morfo-química de las hojas de *P. tarapacana* en el gradiente de elevación, se determinaron realizando análisis descriptivos donde se calculó la masa por área de hoja (LMA) y el contenido de nitrógeno (LNC) por área y masa foliar, a lo largo del gradiente, en marzo del 2013 (Tabla 1). A pesar de que el LMA descendió en un 5.4% con la elevación, las diferencias observadas no fueron significativas ($P < 0.05$).

Tabla 1. Propiedades foliares de *P. tarapacana* en el gradiente de elevación. Los valores corresponden a la media \pm SE de la temperatura foliar (T_L), masa seca por unidad de área (LMA), contenido de nitrógeno en la hoja por área foliar (LNC*LA) y contenido de nitrógeno en la hoja por masa foliar (LNC*LM) de nueve individuos por elevación. La disimilitud en las letras denotan diferencias estadísticamente significativas según el test LSD de Fisher ($P < 0.05$).

| <i>P. tarapacana</i> | | |
|----------------------|----------------|----------------|
| 4,337 m.s.n.m. | 4,624 m.s.n.m. | 4,905 m.s.n.m. |

| | | | |
|---|--------------|--------------|--------------|
| T_L (°C) | 20.5 ± 3.0a | 21.0 ± 3.4a | 21.5 ± 2.6a |
| LMA (g m⁻²) | 414 ± 11a | 403 ± 1a | 408.6 ± 6a |
| LNC * área foliar (g m⁻²) | 4.5 ± 0.4a | 3.6 ± 0.7a | 4.8 ± 0.3a |
| LNC* masa foliar (g g⁻¹) | 1.05 ± 0.08a | 1.11 ± 0.04a | 1.17 ± 0.09a |

El contenido de N por unidad de hoja se relacionó con el LMA, siendo menor en el sitio medio e independiente de los cambios térmicos en el gradiente, los resultados fueron cercanos entre la elevación inferior y superior ($P= 0.058$). Las mediciones de temperatura foliar (T_L) cuyos valores fueron constantes a lo largo del gradiente ($P= 0.68$). En general, las hojas de *P. tarapacana* mostraron un grosor consistente y una alta densidad foliar, debido a la baja área foliar individual que presentan (0.72 cm promedio).

4.4 Intercambio de gases de la hoja y modelamiento fotosintético

Las tasas de asimilación neta de CO₂ realizadas entre 10:00 – 13:00 horas (Fig. 6a) alcanzaron valores máximos de 19 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹ en la parte baja, 22 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹ en el medio y 18 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹ en el sitio superior. Los valores medios indicaron variaciones en el gradiente, disminuyendo en 12% con la elevación ($P=0.376$). Las tasas de A_N inferiores en la parte alta, fueron concomitantes con el cierre estomático (g_s) (Fig. 6c). Ésta fue 43% menor con la elevación y su valor máximo fue de 0.13 mol CO₂ m⁻² s⁻¹ obtenido en el sitio inferior (Fig.6c). La concentración sub-estomática de CO₂ siguió la misma tendencia que g_s , a pesar del VPD exhibido en el gradiente, el cual fue significativamente mayor para el sitio inferior. Contrario a lo manifestado por g_s , la conductancia del mesófilo (g_m) fue menor a los 4,337 m s.n.m. e incrementó hasta un 8.6% hacia los 4,905 m.s.n.m. El desacople de g_s con g_m ha sido previamente estudiado y se ha comprobado que las concentraciones de CO₂ sub-estomático difieren de las cloroplasmáticas, las que usualmente son menores.

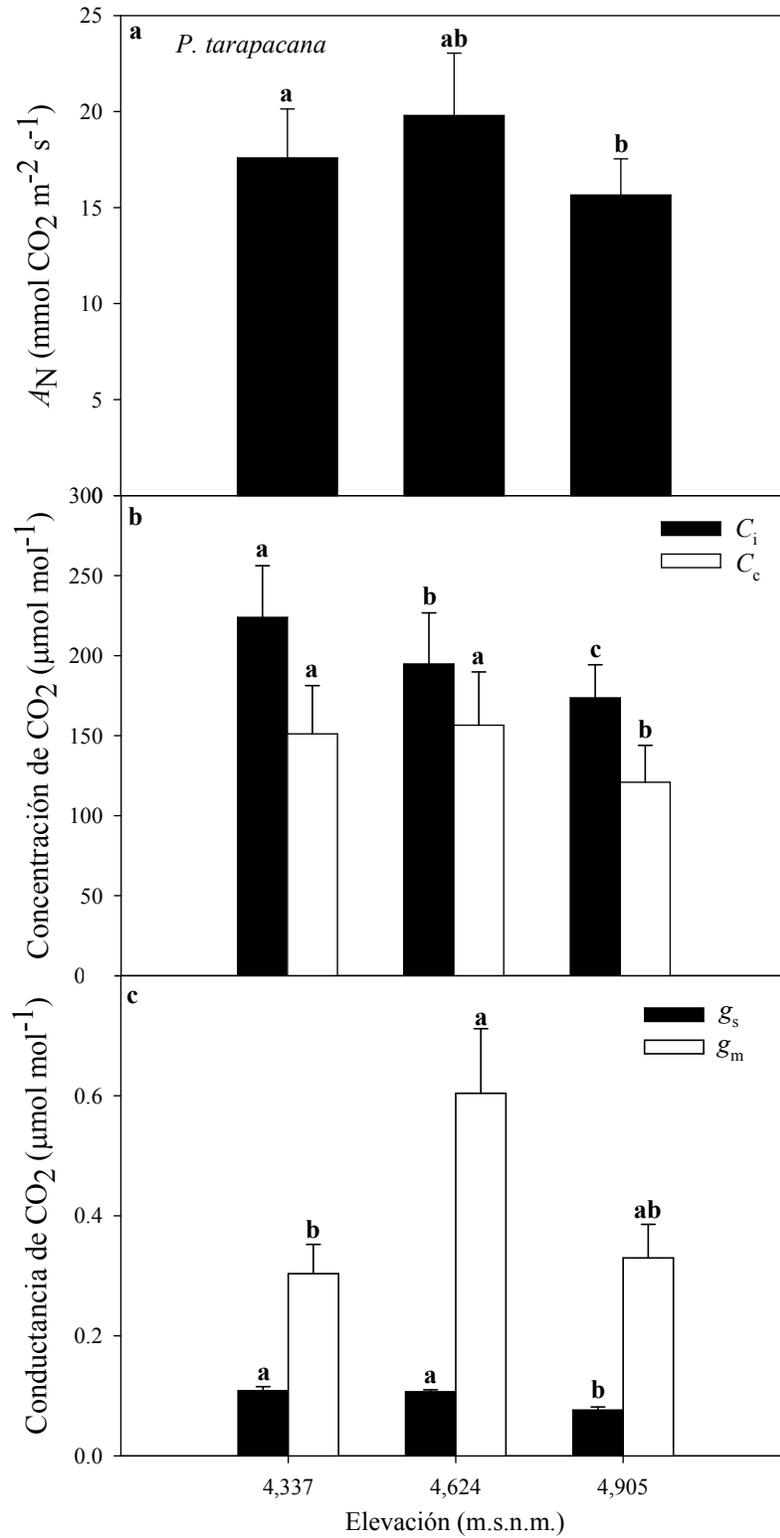


Figura 6. Asimilación neta de CO_2 (a), Concentración sub-estomática y cloroplasmática de CO_2 (b) y conductancia estomática y del mesófilo al CO_2 (c), medidos en laboratorio-domo a 400 ppm CO_2 y

25°C. Diferencias en las letras denotan diferencias estadísticamente significativas (LSD-Fisher $P < 0.05$; Media \pm SE).

La tasa de evapotranspiración (E) de las hojas (Fig. 7a) no varió estadísticamente a lo largo del gradiente, sin embargo ésta disminuyó 27.9% hacia el sitio superior ($P=0.62$), donde las condiciones de RH fueron mayores y el VPD se redujo. Por el contrario, los cálculos de eficiencia fotosintética intrínseca en el uso del agua (IWUE), obtenida por la razón de A_N/g_{s_s} , presentó variaciones significativas ($P \leq 0.001$) entre el sitio de menor y mayor elevación, aumentando un 25.3% (Fig. 7b).

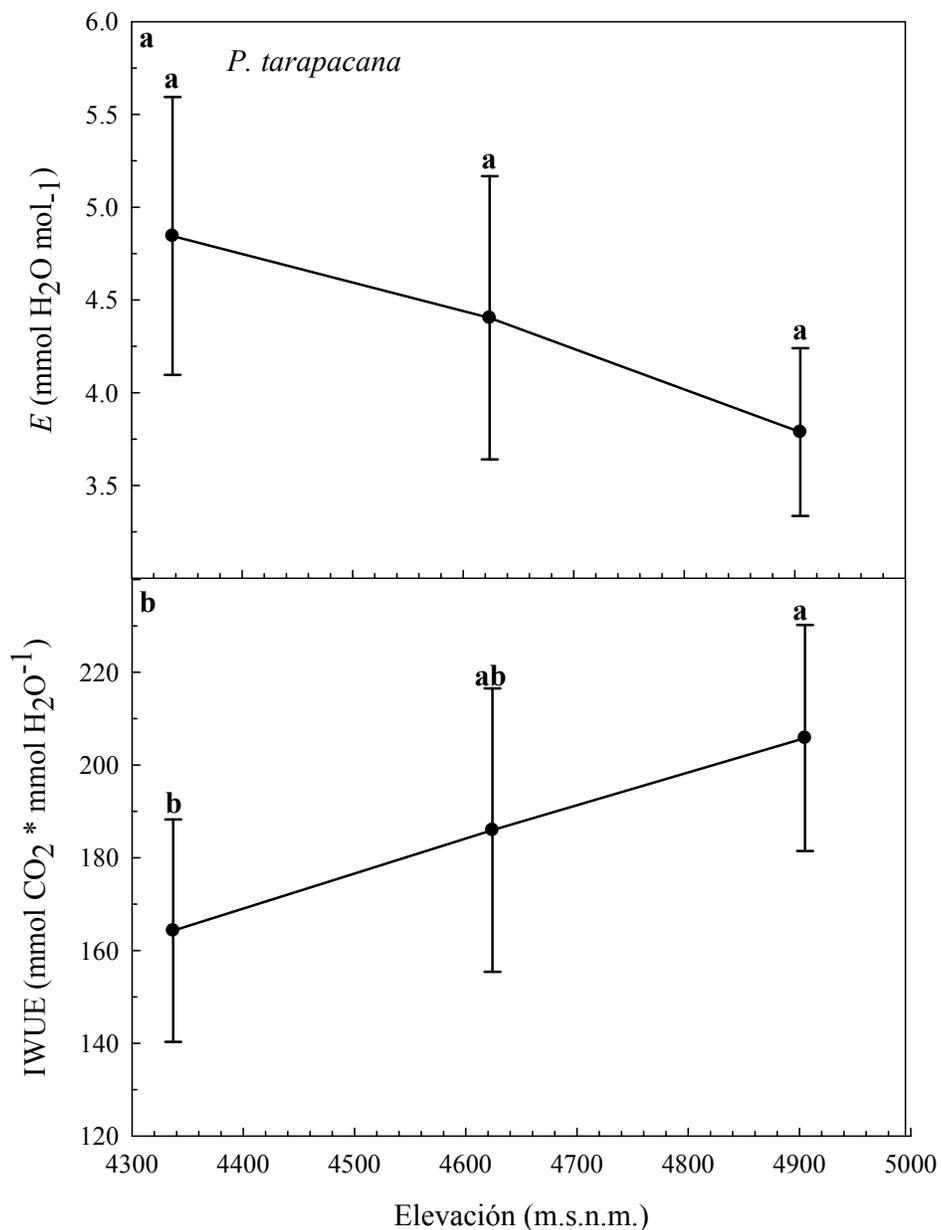


Figura 7. Evapotranspiración (a) y eficiencia fotosintética intrínseca en el uso del agua (IWUE) (b) de *P. tarapacana* a lo largo del gradiente de elevación. Los valores corresponden al valor porcentual medio \pm SE de cada sitio. La disimilitud en las letras denotan las diferencias estadísticamente significativas según el test LSD de Fisher ($P < 0.05$).

La tasa de transporte de electrones (J_{flu}) calculada de los datos durante las ventanas de mayor radiación del día, exhibió valores considerables de $174 \mu\text{mol electrones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Tabla 2.), aunque no sufrió variaciones significativas en el gradiente ($P > 0.05$). Acorde a Flexas *et al.* (2012), los valores observados son lo suficientemente altos para sostener la demanda de NADPH⁺/ATP de la asimilación de CO₂ reportada. Concomitante a ello, los cálculos post- medición revelaron diferencias en las tasas de fotorespiración. Éstas fueron 24.7% mayores hacia los 4,905 m s.n.m. ($P = 0.076$), naturalmente inversa a la carboxilación. Por otro lado, la respiración mitocondrial en oscuridad (R_d) aumento con la elevación en aproximadamente un 42% ($P \leq 0.01$) y su valor máximo de $-3.739 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ fue alcanzado en el sitio de mayor elevación.

Tabla 2. Parámetros fotosintéticos de *P. tarapacana* a un PPFD de $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, 25°C y $400 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$. g_m , $V_{c,max}$ y J_{max} se calcularon de acuerdo a la metodología propuesta por Farquhar *et al.* (1980), Harley *et al.* (1992) y el método iterativo de ajuste de curvas propuesto por Sharkey *et al.* (2007). Los valores corresponden a las medias \pm SE de siete a nueve réplicas por individuos medidas en un gradiente con tres elevaciones diferentes. La disimilitud en las letras denotan las diferencias estadísticamente significativas según el test LSD de Fisher ($P < 0.05$). J_{flu} es la tasa de transporte de electrones; P_r , la fotorespiración.

| Elevación | <i>P. tarapacana</i> | | |
|---|----------------------|-------------------|--------------------|
| | 4,337 m.s.n.m. | 4,624 m.s.n.m. | 4,905 m.s.n.m. |
| A_N ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) | $17.6 \pm 2.5ab$ | $19.8 \pm 3.2a$ | $15.7 \pm 1.9b$ |
| R_d ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) | $2.04 \pm 0.3b$ | $3.11 \pm 0.5a$ | $2.90 \pm 0.4a$ |
| g_s ($\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) | $0.109 \pm 0.02a$ | $0.107 \pm 0.02a$ | $0.076 \pm 0.01b$ |
| g_m Harley ($\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) | $0.304 \pm 0.05b$ | $0.604 \pm 0.1a$ | $0.330 \pm 0.04ab$ |
| g_m Ajuste de Curvas ($\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) | $0.750 \pm 0.02a$ | $0.767 \pm 0.03a$ | $0.816 \pm 0.02a$ |
| $V_{c,max}$ ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) | $85.0 \pm 12.5b$ | $96.9 \pm 16.1ab$ | $106.2 \pm 12.2a$ |
| $V_{c,max}$ Ajuste de Curvas ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) | $105.9 \pm 10.9a$ | $108.3 \pm 5.4a$ | $102 \pm 12.2a$ |
| J_{max} ($\mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) | $182.5 \pm 25.7b$ | $221.1 \pm 36.6a$ | $206.7 \pm 24.5ab$ |

| | | | |
|---|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| J_{\max} Ajuste de Curvas ($\mu\text{mol electrones m}^{-2} \text{s}^{-1}$) | $204.9 \pm 8.5\text{b}$ | $273.2 \pm 44\text{a}$ | $201.1 \pm 18.5\text{ab}$ |
| J_{flu} ($\mu\text{mol electrones m}^{-2} \text{s}^{-1}$) | $162.5 \pm 23.7\text{a}$ | $180.4 \pm 29.7\text{a}$ | $177.7 \pm 21.1\text{a}$ |
| P_r ($\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) | $7.3 \pm 1.1\text{b}$ | $7.9 \pm 1.3\text{ab}$ | $9.1 \pm 1.1\text{a}$ |

Se realizaron curvas $A-C_i$ (Fig. 8a) y $A-C_c$ (Fig. 8b) en 7-9 individuos por elevación. Acorde con Farquhar *et al.* 1980 y Harley *et al.* 1992 las gráficas de asimilación en respuesta al CO_2 sub-estomático y cloroplasmático, representan visualmente el grado en que cada factor bioquímico limita a la fotosíntesis. La porción lineal inicial de la curva indica que la asimilación está limitada por la tasa de carboxilación de la enzima Rubisco ($V_{c,\max}$). El segundo tramo, más curvilíneo, indica que la limitación está dada por la regeneración de ribulosa-1,5-bifosfato (J_{\max}). Una tercera porción, que ligeramente declina la curva de asimilación, indica la limitación por el uso de triosa fosfato (TPU). Los parámetros fotosintéticos de obtenidos por el ajuste de curvas de respuestas al CO_2 cloroplasmático arrojaron valores máximos de carboxilación efectivos ($V_{c,\max}$) de $116.5 \text{ mmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Grassi & Magnani 2005). Las diferencias en el gradiente ($P = 0.57$) indicaron un aumento del 25% con la elevación (Fig. 9b). Los menores valores se registraron en el estrato inferior, siguiendo la misma tendencia que P_r . Las tasas de regeneración de RuBP (J_{\max}) máximas fueron de $263.8 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (a los 4,624 m s.n.m.). Las estimaciones indican valores relativamente altos de actividad enzimática, por lo que supuestos de limitaciones a las tasas fotosintéticas acorde procesos bioquímicos podrían descartarse.

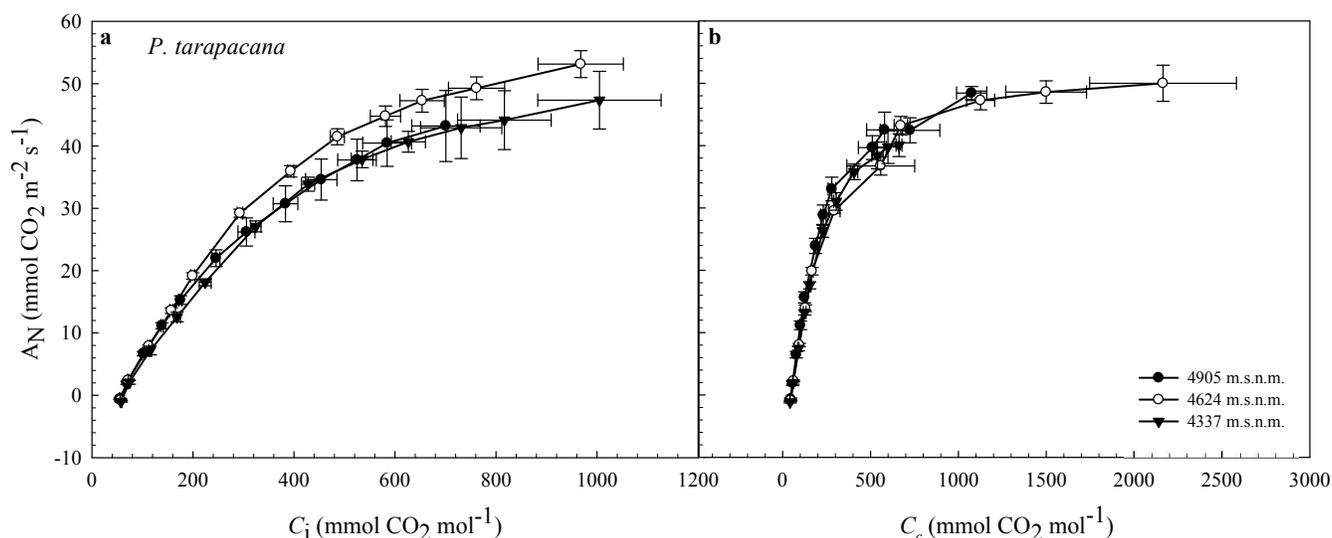


Figura 8. Curvas de asimilación al CO_2 sub-estomático (a) y cloroplasmático (b) de *P. tarapacana* en el gradiente de elevación. La información corresponde a la respuesta de 7-9 individuos por sitio. El C_c se estimó usando el factor de conductancia del mesófilo calculado a 25°C y PPFD de $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$

Las curvas se ajustaron según el modelo de Farquhar *et al.* 1980. Las esferas cerradas, abierta y triángulos invertidos, indican la asimilación de CO₂ observada a cada elevación.

4.5 Análisis de limitaciones fotosintéticas

Para resolver cuáles son los componentes fotosintéticos que subyacen al desempeño adaptativo de *P. tarapacana* en condiciones ambientales adversas, se llevó a cabo una evaluación cuantitativa de las limitaciones en sus mecanismos relacionados con la conductancia estomática (l_s), conductancia del mesófilo (l_m) y las características bioquímicas (l_b). La partición de los 3 componentes, utilizando el sitio de media elevación como factor control, revelaron valores totales de SC_L , MC_L y B_L de 21.5% (Alto: 17.4%; Bajo: 4.1%), 12.1% (Alto: 6.3%; Bajo: 5.8%) y 1.3% (Alto: 0%; Bajo: 1.5%), respectivamente. La estimación reveló que el cierre estomático en el sitio de mayor elevación, gatilló la disminución en A_N , aun cuando los valores de VPD fueron inferiores.

5. DISCUSIÓN

5.1 Variables Microambientales en el sitio de estudio

Estudios que reporten el funcionamiento fotosintético, incluyendo el factor g_m y el análisis de las limitaciones fotosintéticas sobre los 4,500 m s.n.m. en climas tropicales, aún no han sido llevados a cabo. El objetivo de este estudio ha sido contribuir con la primera caracterización cuantitativa del metabolismo fotosintético de *P. tarapacana*, para mejorar la comprensión del éxito de esta especie cuando es examinada bajo condiciones ambientales de sequía y bajas temperaturas, en el ambiente semiárido del Altiplano Chileno. Los registros de 3.1°C de oscilación térmica media anual entre la estación fría-seca y cálida-húmeda, fueron claramente inferiores a aquellos valores reportados con anterioridad para sitios más húmedos de los Andes Centrales (e.g. Volcán Sajama, Sur de Bolivia), donde la variación estacional está en el rango de 6-7°C (Rada *et al.* 2001, García-Núñez *et al.* 2004, Hoch & Körner 2005). Sin embargo, en relación a las variaciones diurnas de temperatura, éstas coincidieron con aquellos sitios subtropicales áridos de alta montaña que en general sobrepasan los 25°C, definiendo estos *treelines* por grandes fluctuaciones climáticas diarias más que marcados cambios estacionales (Young & León 2007). La disminución de la fotosíntesis está estrechamente ligada a las condiciones de VPD. Éste fenómeno tiende a intensificarse durante las horas de luz, sobretudo en la temporada estival (Fig. 3). Durante las horas de medición (10:00-13:00 horas) la temperatura no fluctuó más de 5°C y la mínima nunca descendió bajo los 7°C. En el gradiente, tanto la temperatura como el VPD disminuyeron al aumentar la elevación (Fig. 4). Sin embargo, en el Altiplano

las temperaturas congelantes ocurren más del 80% de la noches, restringiendo la actividad enzimática (Lambers *et al.* 2007).

5.2 Morfología y propiedades foliares

Estudios recientes en el Volcán Sajama, Bolivia no encontraron indicadores en la fisio-anatomía foliar que sugieran estrés hídrico a los 4,800 m s.n.m. (Hoch & Körner 2005). En general, los atributos foliares de las plantas de alta montaña, como LMA, LNC, pigmentos foto-protectores, reflectancia de PPFD, F_v/F_m y la T° foliar, tienden a cambiar (incrementando o disminuyendo) cuando son analizadas en gradientes de elevación (Körner 1989, Colmenares- Arteaga *et al.* 2005). Valores elevados de LMA en *P. cuspidatum* se atribuyeron al grosor del mesófilo, la pared celular y por la reducción en la porosidad de éste último (Kogami *et al.* 2001). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en el contenido de nitrógeno por masa, aunque sí en el nitrógeno por área. Es probable que sea resultante del incremento de N en la maquinaria fotosintética ya que la capacidad metabólica comprende casi un 75% de nitrógeno orgánico destinado a las enzimas (Arora *et al.* 2001). La capacidad fotosintética de las hojas está intrínsecamente relacionada con su contenido de nitrógeno, principalmente porque las proteínas que constituyen las enzimas del Ciclo de Calvin y los tilacoides representan la mayor parte del nitrógeno foliar. Sin embargo, las especies que crecen en lugares saturados de luz, no requieren grandes concentraciones de nitrógeno foliar, a diferencia de aquellas creciendo en sitios más sombríos (Colmenares- Arteaga 2005). La capacidad fotosintética en *Q. pannosa* incrementó con el LNC debido a las grandes cantidades de N en la enzima fotosintéticas RuBP carboxylasa (Zhang *et al.* 2004). Contrario a esto, las propiedades foliares medidas en *P. tarapacana* (LMA, LNC y T°_L) no mostraron plasticidad al ser comparadas entre los sitios y se mantuvieron prácticamente constantes en respuesta a la elevación. Estudios previos han arrojado la misma insensibilidad en las propiedades foliares a la elevación en *P. tarapacana* (González *et al.* 2007, Macek *et al.* 2009). El bajo incremento en la concentración de N en el tejido foliar parece estar asociado al incremento de la capacidad fotosintética enzimática a grandes elevaciones (Körner & Diemer 1987). En este sentido, las variaciones más importantes se reflejan en mecanismos funcionales difusivos y bioquímicos de *P. tarapacana* y desplegados para persistir en condiciones ambientales tan extremas. Dado que *P. tarapacana* es un árbol de hábito siempreverde, sus hojas requieren persistir a temperaturas congelantes y condiciones de sequía, además de concluir el ciclo anual con un balance de carbono positivo. En concordancia, Rada *et al.* (2001) señaló que *P. tarapacana* es probablemente tolerante al congelamiento nocturno durante gran parte del año debido a la acumulación de azúcares y

lípidos (sustancias que ayudan a tolerar el congelamiento de las hojas) a fines de la temporada de crecimiento (mar-abr). Conforme esto, los atributos ecofisiológicos de *P. tarapacana*, por sobre los caracteres morfológicos, son claves para precisar las variaciones en los mecanismos subyacentes a las condiciones de este bosque de alta elevación.

5.3 Desempeño fotosintético

A lo largo del gradiente de elevación, la capacidad fotosintética de *P. tarapacana* se vio reflejada en elevadas tasas de asimilación de CO₂ que alcanzaron valores medios y máximos de 18 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹ y 22 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹, respectivamente. Si bien la tendencia marcó el decline con la elevación, se ha establecido que las plantas a elevadas altitudes operan a muy alta capacidad fotosintética, compensando la reducción parcial de la presión de CO₂ (Körner 2003), lo cual confirma que la ganancia de carbono no es una limitación funcional a grandes elevaciones (Körner 1998, Germino & Smith 2000, Körner & Paulsen 2004, Hoch & Körner 2009). Este antecedente concuerda con estudios previos hechos para sitios de alta montaña subtropical (Cabrera *et al.* 1998, Rada *et al.* 2001, Hoch & Körner 2005, Young & León 2007). Mediciones anteriores para la misma especie hechos por Rada *et al.* (2001), García-Núñez *et al.* (2004) y Azócar *et al.* (2007) arrojaron valores diurnos de intercambio de gases notoriamente inferiores, que no pasaron de los 9 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹. A grandes elevaciones, la ganancia de carbono está limitada principalmente por restricciones térmicas, baja presión parcial de CO₂ y la baja disponibilidad de humedad (García-Núñez *et al.* 2004). Valores máximos de 11 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹ fueron reportados en rosáceas gigantes afroalpinas (Schulze *et al.* 1985). Registros de asimilación de CO₂ para coníferas del hemisferio norte no superaron valores de 12 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹ (James *et al.* 1994, Zhang *et al.* 2005). Así, *P. tarapacana* fue más bien semejante a aquellos reportes hechos en arbustos con tasas de 21 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹ (Shi *et al.* 2006).

En ecosistemas de alta montaña, la radiación solar suministra cantidades extremas de energía foto-lumínica a las plantas. Estas condiciones se intensifican hacia los Andes subtropical, donde la baja humedad genera cielos despejados gran parte del año (Hoch & Körner 2005). De acuerdo a esto, los valores medios máximos de J_{flu} observados en *P. tarapacana* fueron del orden de los 180.4 μmol electrones m⁻² s⁻¹ y no mostraron variaciones importantes a través del gradiente de elevación ($P=0.121$, Fig. 8a). Registros inferiores de J_{flu} para esta especie (96 μmol electrones m⁻² s⁻¹) fueron reportados a los 5,010 m s.n.m. por Macek *et al.* (2009) en Bolivia. Generalmente, la acción sinérgica de estreses por sequía y excesiva radiación suscitan fenómenos de fotoinhibición y fotooxidación. En este sentido, se ha demostrado que P_r juega un importante rol como una ruta alternativa de consumo de energía

cuando otros métodos disipadores de energía, como la asimilación al CO₂, están restringidas (Osmond *et al.* 1997, Flexas & Medrano 2002). Por otra parte, en ambientes de baja presión de CO₂ o altos niveles de O₂, cifras incrementadas de P_r pueden subestimar las observaciones de g_m (Evans & Loreto 2014). Combinando las mediciones de fluorescencia e intercambio de gases, se pudo obtener la partición de electrones usada en carboxilación (ETR_c) y en fotorespiración (ETR_o), respectivamente (Lawlor 2002) (Fig. 9a). Las tasas de fotorespiración en el Altiplano fueron notoriamente altas (> 6 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹), incluso cuando la actividad enzimática debió verse reducida por las bajas temperaturas (Streb *et al.* 2005). Al mismo tiempo, cuando los valores de fotosíntesis disminuyeron hacia el sitio más alto (4,905 m.s.n.m.), la fotorespiración alcanzó su valor máximo de 10.02 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹ (datos no mostrados). Análisis de disipación de energía fotoquímica mediante fotorespiración vegetal no habían sido publicados con anterioridad para esta planta, posiblemente por las implicancias instrumentales en la medición, las cuales requieren de un módulo de fluorescencia integrado en orden de estimar la ruta oxidativa de la cadena de electrones.

Es sabido que las plantas al estar expuestas a limitada disponibilidad de cualquier recurso requerido (e.g. agua, nutrientes) usualmente compensan las carencias con el incremento en la eficiencia del uso de los recursos (Mitchell & Hinckley 1993). Durante el ciclo diurno ambiental del Altiplano, el incremento del VPD significó una mayor demanda hídrica en los sitios de menor elevación. Otros reportes en *P. tarapacana* sobre transpiración foliar (E) en el Volcán Sajama, Bolivia (Macek *et al.* 2009) revelaron cifras aproximadamente 50% inferiores a las del Altiplano Chileno (2.07 ± 0.77 Volcán Sajama y 4.3 ± 0.7 Altiplano). El cierre estomático estimulado por E , genera un aumento en IWUE. Los hallazgos sobre IWUE (i.e. A_N/g_s) en *P. tarapacana* ratifican que las plantas tienen la capacidad de mantener valores consistentes con el incremento de la elevación, en el largo plazo. Esto producto de la secuencia coordinada en varios cambios morfológicos y fisiológicos frente a las condiciones ambientales circundantes (Bacon 2004, citado de Ponton *et al.* 2004). En concordancia con ello, García- Núñez *et al.* (2004) documentó valores superiores de IWUE para la temporada seca, por sobre la húmeda en *P. tarapacana*.

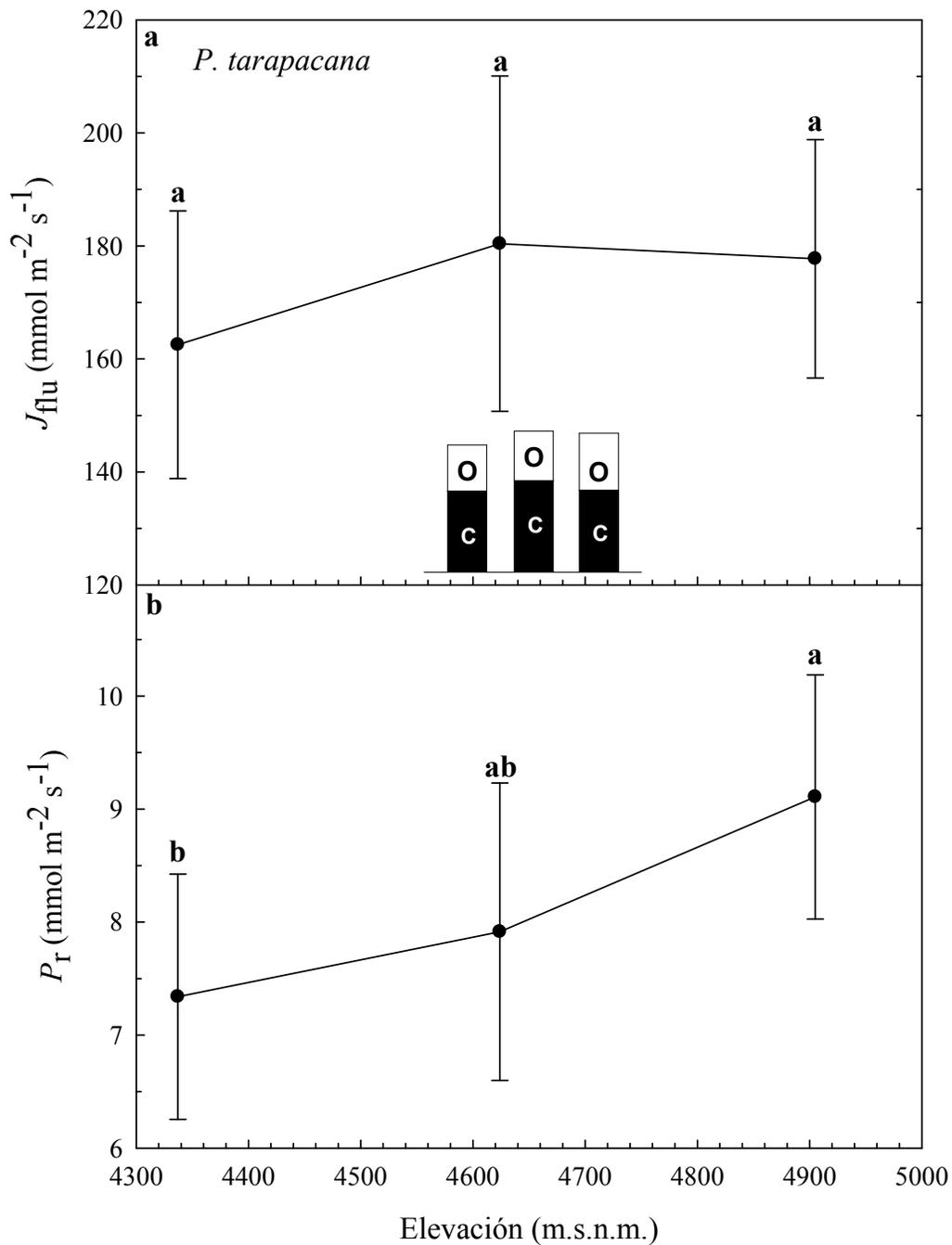


Figura 9. Tasa de transporte de electrones (a) y fotorespiración (b) de *P. tarapacana* en el gradiente de elevación. Los círculos cerrados indican la media \pm SE de cada sitio a lo largo del gradiente. El gráfico de barras inscrito en (a) indica la partición entre carboxilación (C) y oxidación (O) en el uso del transporte de electrones. La disimilitud en las letras denotan las diferencias estadísticamente significativas según el test LSD de Fisher ($P < 0.05$).

5.4 Limitaciones fotosintéticas

Estudios sobre la respuesta de las plantas en ambientes de alta montaña han sido ampliamente desarrollados, aunque los análisis sobre las limitaciones fotosintéticas subyacentes a los mecanismos de las especies son inexistentes. En este estudio se expone la primera cuantificación de las limitaciones fotosintéticas para un bosque de alta elevación tropical. El cálculo de las limitaciones estomáticas y no estomáticas permiten evaluar la hipótesis de que las tasas de asimilación neta de CO₂ en *P. tarapacana*, estarán supeditadas a las condiciones ambientales de sitio, específicamente, el aumento del VPD hacia la parte inferior del gradiente generaría limitaciones en g_s y por defecto, el decline en g_m . A su vez, el descenso de la temperatura hacia los sitios más elevados del gradiente reducirá la actividad enzimática, restringiendo las tasas fotosintéticas mediante la capacidad de carboxilación de Rubisco y regeneración de RuBP. Los efectos de las condiciones ambientales en la fotosíntesis foliar de *P. tarapacana* pueden ser resaltados entre el extremo superior e inferior del gradiente, en base a la comparación con el sitio de media elevación (sitio control) según el método de Grassi & Magnani (2005). En el gradiente de elevación, la fotosíntesis estuvo limitada principalmente por g_s (21.5%), sobretudo en el sitio superior (4,337 m.s.n.m.: 4, 905 m.s.n.m.; 4.1%: 17, 4%). Esto se correlaciona positivamente con la reducción en los valores medios de g_s con la elevación (Tabla 2.). Sin embargo, lo opuesto ocurre al establecer un patrón con el VPD y E. Se sabe que el cierre estomático (responsable de los cambios en g_s) es el primer síntoma de las plantas en presencia de sequía (Flexas *et al.* 2012) y su respuesta está relacionada a las fluctuaciones en la humedad del aire más que a la del suelo (Niinemets *et al.* 2009).

En relación a g_s disminuyendo de forma simultánea con la disminución de E y VPD es controversial, ya que se esperaría que la demanda de humedad hacia la planta incite una mayor contracción estomática en la parte inferior del gradiente. Esto probablemente porque el sitio superior, a diferencia del inferior, presentó tasas más estables de VPD durante el período completo de medición diurno, limitando de manera constante la apertura estomática. El sitio más bajo, por el contrario, presentó ventanas de bajo VPD durante las primeras horas de medición (las que incrementaron hacia el mediodía), por lo cual la diferencia de conductancia estomática diurna entre las horas de mayor y menor VPD fue mayor. García-Plazaola *et al.* 2015 en un estudio hecho para el mismo período, reveló que la limitación estomática a la fotosíntesis responde más bien al flujo de VPD diario (desde la mañana hacia el mediodía), que a valores medios de temperatura y humedad en los sitios del gradiente (Fig. 9a-b).

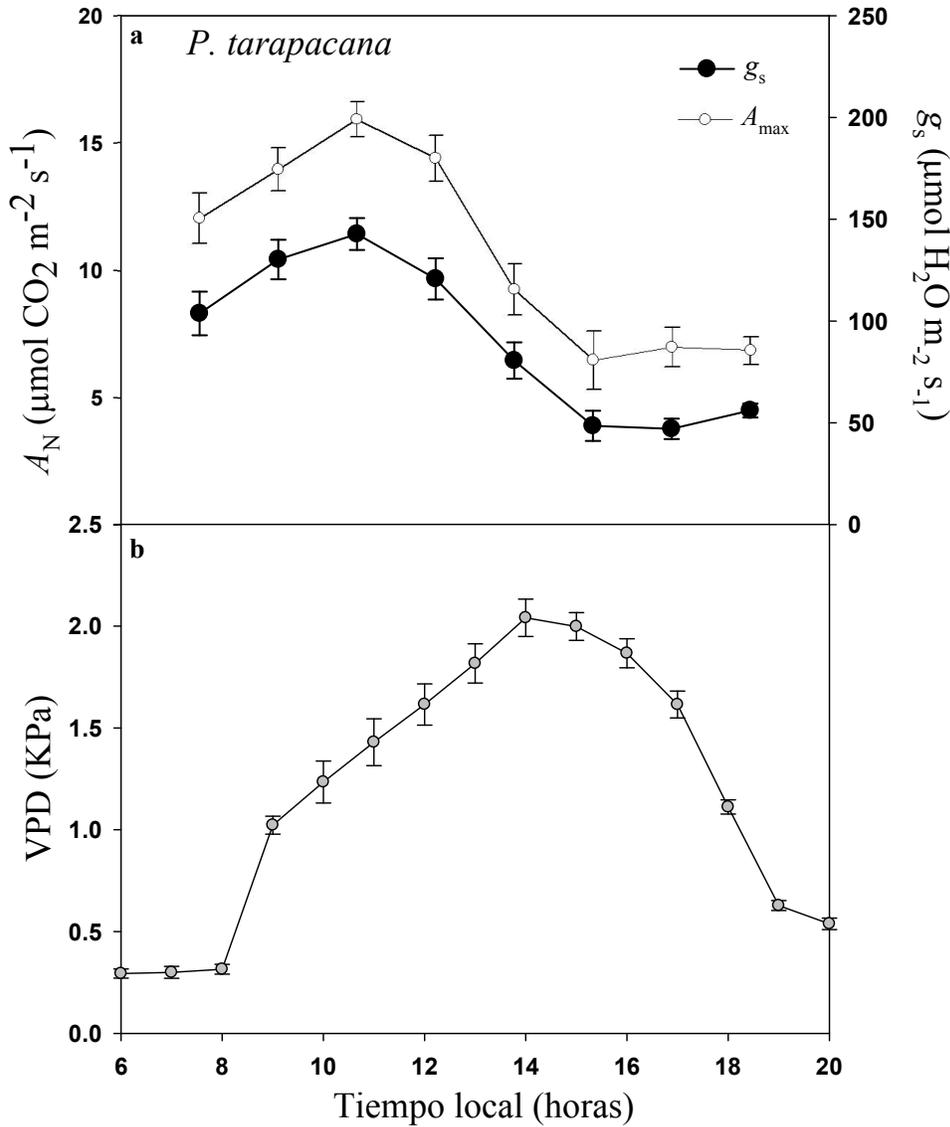


Figura 9. Curso diario climático y fotosintético de *P. tarapacana*. Las condiciones climáticas durante los días de medición. a) Asimilación neta de CO₂ (A_N) y conductancia estomática (g_s), b) déficit de presión de vapor (VPD). n= 5-10 días, desde el 10 al 20 de marzo del 2013. (Modificado de García-Plazaola *et al.* 2015).

En adición, se ha documentado que atributos foliares de *P. tarapacana* como tricomas, resinas y cutícula gruesa, actúan como estrategias de retención de humedad al estar expuestas a gradientes de sequía (Simpson 1978, Kessler 2006), rasgo que puede explicar el porqué de los valores superiores en el sitio relativamente más seco (Variables no cuantificadas). De acuerdo a Terashima *et al.* (1995) la

fotosíntesis en plantas de montaña debería estar limitada mayoritariamente por la reducción en la difusión de CO₂. Esta hipótesis fue confirmada por Kogami *et al.* (2001) quién observó que g_s decrece marcadamente con la elevación. García- Núñez *et al.* 2004 ya había reportado para *P. tarapacana* que la asimilación de CO₂ estaría restringida principalmente por g_s y que la correlación linear denota un buen acoplamiento entre el aparato estomático y la capacidad de fijar CO₂. Respecto a g_m , esta incrementó con la elevación (Tabla 2). Shi *et al.* 2006 estableció que el aumento de g_m con la elevación en *Buddleja davidii*, se debe a una respuesta homeostática para compensar el decline en g_s y mantener los valores de presión parcial interna de gases. Se pensaba que g_m disminuía de forma ineludible en hojas más robustas (Evans & Loreto 2000, Warren 2008). Sin embargo, datos experimentales recientes han dado cuenta que las hojas con mayor g_m presentan menor limitación a la fotosíntesis, ya sea a mayor o menor LMA (Niinemets *et al.* 2009) (Fig. 7b). Estudios recientes han demostrado que responde rápidamente y su cinética es reversible sobre todo en especies adaptadas a condiciones adversas (Centritto *et al.* 2003). El desacople de g_s con g_m ha sido previamente estudiado (Grassi & Magnani 2005, Flexas *et al.* 2007, Flexas *et al.* 2012, Evans & Loreto 2014). En relación a ello, los resultados sugieren que los cambios de g_m pueden ser tan ligeros como los de g_s (Fig. 8b). En el citoplasma la reducida permeabilidad de la bicapa fosfo-lipídica debiese ocluir el paso de CO₂ hacia los cloroplastos, sin embargo, se ha demostrado que la acción de las aquaporinas (proteínas facilitadoras) incrementan la permeabilidad de la membrana al agua y en gran parte al CO₂ (Bernacchi *et al.* 2002).

Frente a la sequía y la reducción atmosférica de la presión parcial de gases, la disminución de la asimilación de CO₂ debido a la disminución de g_s y por defecto C_i , puede significar una desactivación de la actividad enzimática basada en la regeneración de RuBP (J_{max}) y la carboxilación de Rubisco ($V_{c,max}$) (Bota *et al.* 2005). En adición, las bajas temperaturas a menudo reducen la capacidad de regeneración de RuBP debido, particularmente, al componente asociado a la regeneración de fosfato inorgánico durante la síntesis de azúcares (Sharkey *et al.* 1980). Sin embargo, la temperatura foliar media en las horas de medición no bajó de los 20°C (Tabla 1) y los registros metabólicos de *P. tarapacana* para $V_{c,max}$ y J_{max} fueron consistentes y revelaron que la capacidad fotosintética radicaría tanto en la eficiencia de carboxilación, como en la síntesis de ATP y NADPH⁺ (Tabla 2). En especies aclimatadas como aquellas presentes en los Andes Centrales de Sudamérica, tanto J_{max} como $V_{c,max}$ incrementan generando tasas sustanciales de A_N . Conforme a esto, el análisis de las limitaciones bioquímicas arrojó porcentajes marcadamente bajos a la asimilación de CO₂. Otros análisis sobre atributos bioquímicos en elevación (Shi *et al.* 2006) arrojaron valores congruentes con los de *P. tarapacana*, evidenciando que el sustento para la capacidad fotosintética radicaría principalmente en

J_{\max} . Específicamente, el incremento en la funcionalidad de los componentes no-estomáticos hacia la parte superior del gradiente, pueden responder a como mecanismo compensatorios del decline en g_s i.e. el input de CO_2 hacia los sitios de carboxilación en los cloroplastos.

5.5 CONCLUSIONES

La región de estudio del Altiplano se caracteriza por presentar condiciones ambientales extremas de temperatura y humedad, donde la única especie arbórea que ha tenido éxito para desarrollarse es *P. tarapacana*. La distribución altitudinal de *P. tarapacana* se genera por su capacidad para adaptarse a las condiciones del gradiente de temperatura, y de desarrollar componentes estructurales para combatir la sequía. Acorde a esto, no cabe duda que los resultados revelados en este estudio podrían ubicar a *P. tarapacana* en una posición excepcional comparada con otras especies de *treeline*, ya que ciertamente se han seleccionado las características mejor adaptadas para abrirse paso en estos ambientes, como lo es la tolerancia al congelamiento de las hojas, así como tricomas y resinas presentes en éstas, las cuales posibilitan la retención de humedad frente a las condiciones semiáridas.

En respuesta al gradiente ambiental impuesto por la elevación, los árboles de *P. tarapacana* presentan diferentes adecuaciones difusivas y metabólicas compensatorias, que definen altas tasas de asimilación sostenidas por un aparato fotosintético excepcionalmente bien adaptado al efecto de bajas temperaturas y sequía. Estos mecanismos actúan de forma coordinada para mantener un balance de carbono positivo de *P. tarapacana*, estrategias que contrastan con aquellas de coníferas y fagáceas presentes en *treelines* del hemisferio norte, las cuales responden a una marcada estacionalidad típica de climas templados, donde una marcada disponibilidad de agua se emplaza durante el período cálido. Específicamente la oportunidad de *P. tarapacana* para hacer su “*negocio*” en términos de ganancia de carbono se logra tan sólo en las horas de la mañana, momento en que las restricciones por VPD no son tan severas. Concomitante a ello, la actividad bioquímica y difusiva dentro de la hoja (g_s), compensando el descenso de g_s , son factores imprescindibles para el funcionamiento fisiológico de esta planta, asegurando sólidas tasas fotosintéticas.

Respecto a su actual estado de conservación, *P. tarapacana* es considerada como una especie vulnerable (Benoit 1989), y una de las principales amenazas para su persistencia futura son las actuales proyecciones climáticas de disminución de precipitaciones y aumento de temperaturas para la región del Altiplano (Neukom *et al.* 2015; Cuyckens *et al.* enviado). La presencia de estos bosques de elevación en sitios de condiciones ambientales extremas, brinda múltiples bienes y servicios ecosistémicos, actuando como fuente madera y leña para las comunidades humanas, incremento de

capacidad de retención hídrica del suelo, reducción de la erosión al regular la escorrentía del agua, secuestro de carbono producto de la longevidad de la especie y los bajos niveles de descomposición de los individuos muertos y provisión de hábitat para especies acompañantes.

6. REFERENCIAS

- Argollo J., Soliz C., Villalba R. 2004. Potencialidad dendrocronológica de *Polylepis tarapacana* en los Andes Centrales de Bolivia. *Ecol en Bol. Instituto de Investigaciones Geológicas y del Medio Ambiente*. 39(1): 5-24.
- Armesto, J.J., Villagrán, C., Kalin, M. 1996. *Ecología de los bosques nativos de Chile*. Editorial Arora, A, Singh V. P., Mohan J. 2001. Effects of nitrogen and water stress on photosynthesis and nitrogen content in wheat. Brief Communication. Division of Plant Physiology, Indian Agricultural Research Institute, India. *Biol Plant*. 44 (1): 135-155.
- Arroyo, TK. M., Cavieres, L. 2013. *High-Elevation Andean Ecosystems*. Elsevier. Instituto de Ecología y Biodiversidad. Universidad de Chile- Concepción. Pp. 96-107.
- Atkin OK, Loveys BR, Atkinson LJ, Pons. TL. 2006. Phenotypic plasticity and growth temperature: understanding interspecific variability. *J. of Exp. Bot*. 57: 267–281.
- Azócar A., Rada F., García- Núñez C. 2007. Functional characteristics of the arborescent genus *Polylepis* along a latitudinal gradient in the high Andes. *Interciencia Vol. 32*. Universidad Central de Venezuela. Pp. 663-668.
- Beck E. H., Fettig S., Knake C., Hartig K., Bhattarai T. 2007. Specific and unspecific responses of plants to cold and drought stress. *J Biosci. Department of Plant Physiology, University of Bayreuth, Germany*. 32: 501-510.
- Beck, S. G. & H. Ellenberg. 1977. *Entwicklungsmöglichkeiten im Andenhochland in ökologischer Sicht*. Göttingen.
- Benoit, I. 1989. *Libro Rojo de la Flora Terrestre de Chile*. Corporación Nacional Forestal, CONAF. Santiago, Chile. 157p.
- Bernacchi C. J., Portis A. R., Nakano H., Von Caemmerer S., Stephen P. L. 2002. *P Pyshiol, Vol. 32*. Departments of Plant Biology and Crop Sciences, University of Illinois, Urbana, Illinois.
- Bitter, G. 1911. Revision der Gattung *Polylepis*. *Bot Jahrb. Syst*. 45

- Bota J., Medrano H., flexas J. 2004. Is photosynthesis limited by decreased Rubisco activity and RuBP content under progressive water stress? *New Phyt.* Universitat de les Illes Balears, Palma de Mallorca, Spain. 162: 671-681.
- Cabrera H. M. 2002. Respuestas ecofisiológicas de plantas en ecosistemas de zonas con clima mediterráneo y ambientes de altamontaña. *Revista Chilena de historia Natural.* Instituto de Biología (Botánica), Facultad de Ciencias Básicas y Matemáticas, Universidad Católica de Valparaíso, Chile. 75: 625-637.
- Cabrera H. M., Rada F., Cavieres L. 1998. Effects of temperature on photosynthesis of two morphologically contrasting plants species along an altitudinal gradient in the tropical high Andes. *Springer- Verlag. Oecol.* 114: 145-152.
- Cabrera, M. 1996. Temperaturas bajas y límites altitudinales en ecosistemas de plantas superiores: respuestas de las especies al frío en montañas tropicales y subtropicales. *Revista Chilena de Historia Natural* 69: 309-320.
- Camarero J. J., Gutiérrez E. 1999. Patrón espacial de un ecotono bosque subalpino-pastos alpinos (Las Cutas, Ordesa, Pirineos Centrales). *Invest. Agr.: Recur. For.* Vol. 8. Depto. De Ecología, Facultas de Biología. Universidad Barcelona, España. Pp. 172-205
- Carriqui M., Cabrera H. M., Conesa M. À., Coopman R. E., Douthe C., Gago J., Gallé A., Galmés., Ribas- Carbo M., Tomás M., Flexas J. 2015. Diffusional limitations explain the lower photosynthetic capacity of ferns as compared with angiosperms in a common garden study. *Plant, cell and Env. Research Group on Plant Biology under Mediterranean Conditions, Departament de Biologia, Universitat de les Illes Balears.* 38, 448-460.
- Cavieres L. A., Piper I. F. 2004. Determinantes ecofisiológicos del límite altitudinal de los árboles. *Fisiol Ecol en Plant.* EUV Valparaíso, Chile. Pp. 221- 234.
- Centritto M., Loreto F., Chartzoulakis K. 2003. The use of low [CO₂] to estimate diffusional and non-diffusional limitations of photosynthetic capacity of salt-stressed olive saplings. *Plant, Cell and Env.* Istituto di Biologia Agroambientale e Forestale (IBAF), Italy. 26, 858-594.
- Cen Y-P., Sage R. F. 2005. The Regulation of Rubisco Activity in Response to Variation in Temperature and Atmospheric CO₂ Partial Pressure in Sweet Potato ¹[w]. *Plant Physiol.* Department of Botany, University of Toronto, Canada. 139: 979-990.
- Cuyckens, G.A.E., Christie, D.A., Domic, A.I., Malizia, L.R. & Renison, D. 2015. Climate change and the distribution and conservation of the world's highest elevation woodlands in the South American Altiplano. *Global and Planetary Change* (enviado).

- Evans J. R. 1989. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C₃ plants. CSIRO, Division of Plant Industry, Australia. *Oecol.* 78: 9-19.
- Evans J.R. & Loreto F. 2014. Mesophyll conductance with a twist (Commentary). *Plant, Cell and Env.* Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands. 37: 2456-2458.
- Flexas J., Barbour M. M., Brendel O., Cabrera H. M., Carriquí M., Díaz-Espejo A., Douthe C., Dreyer E., Ferrio J. P., Gago J., Gallé A., Galmés J., Kodama N., Medrano H., Niinemets Ü., Peguero-Pina J. J., Pou A., Ribas-Carbó M., Tomás M., Tosens T., Warren C. R. 2012. Mesophyll diffusion conductance to CO₂: An unappreciated central player in photosynthesis. *Plant Scien.* Research Group on Plant Biology under Mediterranean Conditions, Universitat de les Illes Balears, Spain. 194: 70-84.
- Flexas J., Bota J., Galmés J., Loreto F., Cornic G., Sharkey T. D. 2004. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C₃ plants. *Plant Biol.* Universitat de les Illes Balears, Palma de Mallorca, Spain. 6: 269-279.
- Flexas J., Bota J., Galmés J., Medrano H., Ribas-Carbo M. Keeping. 2006. A positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. *Phys. Plant.* Grup de Recerca en Biologia de les Plantes en Condicions Mediterrànies, Departament de Biologia, Universitat de les Illes Balears, Spain. 127: 343-352.
- Flexas J., Díaz-Espejo A., Galmés J., Kaldenhoff R., Medrano H., Ribas-CARBO M. 2007. Rapid variations of mesophyll conductance in response to changes in CO₂ concentration around leaves. *Plant, Cell and Env.* Grup de Recerca en Biologia de les Plantes en Condicions Mediterrànies, Departament de Biologia, Universitat de les Illes Balears. 30: 1284-1298.
- Flexas J., Loreto F., Medrano H. 2012. Terrestrial photosynthesis in a changing environment. A molecular, physiological and ecological approach. Universitat de les Illes Balears, Palma de Mallorca, Spain. Cambridge university press.
- Flexas J., Medrano H. 2002. Drought- inhibition of photosynthesis in C₃ plants: Stomatal and non-stomatal limitations revisited. *Laboratori di Fisiología Vegetal*, Department de Biología, Universitat de les Illes Balears- Instituto Mediterráneo de Estudios Avanzados (UIB-IMEDEA), Spain. 89: 189-2002.
- Flexas J., Scoffoni C., Gago J., Sack L. 2013. Leaf mesophyll conductance and leaf hydraulic conductance: an introduction to their measurement and coordination. *J of Exp Bot*, Vol. 64. Research Group on Plant Biology under Mediterranean Conditions, Universitat de les Illes Balears, Spain. 13: 3965-3981.

- Gago J., Coopman R. E., Cabrera H. M., Hermida C., Molins A., Conesa M. A., Galmés J., Ribas-Carbo M., Flexas J. 2013. Photosynthesis limitations in three fern species. *Pyshiol Plant. Scandinavian Plant Physiology Society*, ISSN 0031-9317.
- Galmés J., Flexas J., Keys A. J., Cifre J., Mitchell R. A. C., Madgwick P. J., Haslam R. P., Medrano H., Parry M. A. J. 2005. Rubisco specificity factor tends to be larger in plant species from drier habitats and in species with persistent leaves. *Plant, Cell and Env. Grup de Biología de les Plantes en Condicions Mediterrànies, Universitat de les Illes Balears*. 28, 571-579.
- Galmés J., Medrano H., Flexas J. 2007. Photosynthetic limitations in response to water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms. *N Phytol. Grup de Recerca en Biologia de les Plantes en Condicions Mediterrànies, Departament de Biologia, Universitat de les Illes*.
- García-Núñez C., Rada F., Boero F., González J., Gallardo M., Azócar., Liberman-Cruz M., Hilal M., Prado F. 2004. *Photosynthetica*. ICAE, Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela. 42(1): 133-138.
- Grassi, G & Magnani, F. 2005. Stomatal, mesophyll conductance and biochemical limitations to photosynthesis as affected by drought and leaf ontogeny in ash and oak trees. *Plant, Cell and Env. Dipartimento di Colture Arboree, Università di Bologna, Italy*. 28, 834–849.
- Harley P. C., Loreto F., Di Marco G., Sharkey T. D. 1992. Theoretical Considerations when Estimating the Mesophyll Conductance to CO₂ Flux by Analysis of the Response of Photosynthesis to CO₂. *Plant Physiol. Systems Ecology Research Group, San Diego State University, San Diego, California*. 1429-1436.
- Hoch G. 2008. The carbon supply of *Picea abiestrees* at a Swiss montane permafrost site. *Plant Ecol & Div, Vol. 1. Taylor & francis. Institute of Botany, University of Basel, Basel, Switzerland*. 1: 13-20.
- Hoch G., Körner C. 2003. The carbon charging of pines at the climatic treeline: a global comparison. *Springer- Verlag. Oeco*. 135: 10-21.
- Hoch G., Körner C. 2005. Growth, demography and carbon relations of *Polylepis* trees at the world's highest treeline.
- Hoch G., Körner C. 2009. Growth and carbon relations of treeline forming conifers at constant vs. variable low temperatures. *J of Ecol. Institute of Botany, University of Basel, Switzerland*. 97, 57-66.

- James J. C., Grace J., Hoad S. P. 1994. Growth and photosynthesis of *Pinus sylvestris* at its altitudinal limit in Scotland. *J of Ecol*, vol. 82. British Ecological Society. 2: 297-306.
- Jones H.G. 1985. Partitioning stomatal and non-stomatal limitations to photosynthesis. *Plant, Cell and Environment* 8, 95–104.
- Johnson D. M., Germino M. J., Smith W. K. 2004. Abiotic factors limiting photosynthesis in *Abies lasiocarpa* and *Picea engelmannii* seedlings below and above the alpine timberline. *Tree Physiol.* Heron Publishing—Victoria, Canada. Department of Biology, Wake Forest University, USA. 24: 377-386.
- Kessler M. 2006. Bosques de *Polylepis*. Albrecht-von-Haller-Institut für Pflanzenwissenschaften, Abteilung Systematische Botanik, Alemania. Universidad Mayor de san Andrés, La Paz. Pp. 110-120.
- Kogami H., Kibe T., Terashima I., Masuzawa T. 2001. CO₂ transfer conductance, leaf structure and carbon isotope composition of *Polygonum cuspidatum* leaves from low and high altitudes. *Plant, Cell and Ev. Graduate School of Science and Engineering, Shizuoka University, Japan.* 24: 529-538.
- Körner C. 2003. Carbon limitation in trees. *J of Ecol.* Institute of botany, University of Basel, Switzerland. 91, 4-17.
- Körner C., Paulsen J. 2004. A world-wide study of high altitude treeline temperatures. *J of Biogeo.* Institute of Botany, University of Basel, Switzerland. 31, 713-732.
- Körner, C. 1998. A re-assessment of high elevation treeline positions and their explanation. *Oecol.* Springer- Verlag. 115:445-459.
- Körner, C. 2006. Plant CO₂ responses: an issue of definition, time and resource supply. *New Phyt* 172: 393–411.
- Laik A., Loreto F. 1996. Determining Photosynthetic Parameters from Leaf CO₂, Exchange and Chlorophyll Fluorescence'; Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase Specificity Factor, Dark Respiration in the Light, Excitation Distribution between Photosystems, Alternative Electron Transport Rate, and Mesophyll Diffusion Resistance. *Plant Physiol.* Istituto di Biochimica ed Ecofisiologia Vegetali, Italy. 110: 903-912.
- Lambers H., Chapin III S. F., Pons L. T. 2008. *Plant Physiological Ecology*. Second edition. Springer. New York. 604p.
- Lawlor D. W. 2002. Limitation to photosynthesis in Water-stressed leaves: -stomata vs. Metabolism and the role of ATP. *An. of Bot. IACR- Rothamsted, Harpenden, UK.* 89: 871-885.

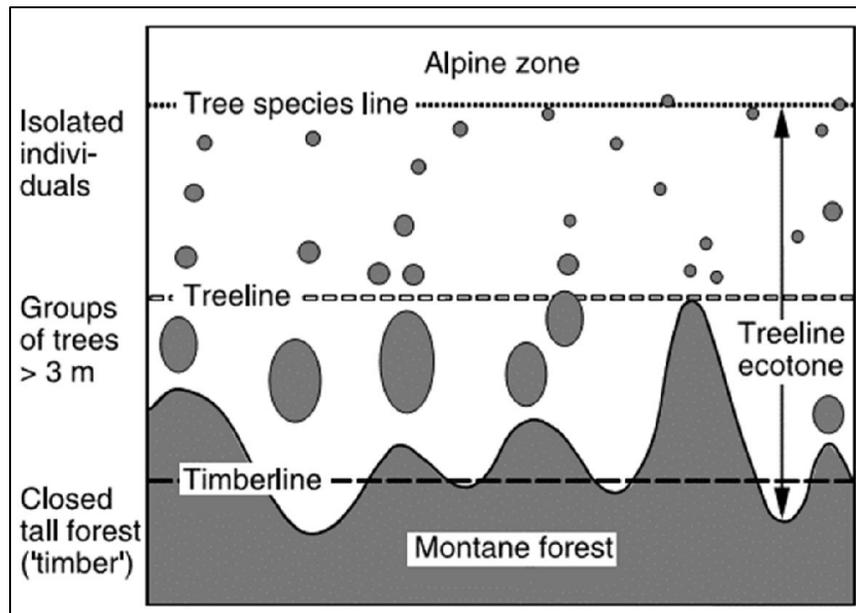
- Long S. P., Bernacchi C. J. 2003. Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. *J of Exp Bot*, Vol. 54. Review Art. Departments of Crop Sciences and Plant Biology, University of Illinois at Urbana-Champaign, Edward R Madigan Laboratory, USA. 392: 2393-2401.
- Macek P., Macková J., De Bello F. 2009. Morphological and ecophysiological traits shaping altitudinal distribution of three *Polylepis* treeline species in the dry tropical Andes. *Act Oecol*. Elsevier. Department of Botany, Faculty of Science, University of South Bohemia, Czech Republic. 35: 778-785.
- Neukom, R., Rohrer, M., Calanca, P., Salzmann, N., Huggel, C., Acuña, D., Christie, D.A. & Morales, M.S. 2015. Facing unprecedented drying of the Central Andes? Precipitation variability over the period AD 1000-2100. *Environmental Research Letters* (aceptado).
- Murray FW. 1967. On the computation of saturation vapor pressure. *Journal 567 of Applied Meteorology* 6:203-204. 568
- Niinemets Ü. 1999. Components of leaf dry mass per area - thickness and density - alter leaf photosynthetic capacity in reverse directions in woody plants. *New Phytol*. Department of Ecophysiology, Institute of Ecology, Tallinn University of Educational Sciences, Estonia. 144: 35 – 47.
- Niinemets Ü., Díaz-Espejo A., Flexas J., Galmés J., Warren C. R. 2009. Role of mesophyll diffusion conductance in constraining potential photosynthetic productivity in the field. *J of Exp Bot*, Vol. 60. Institute of Agricultural and Environmental Sciences, Estonian University of Life Sciences, Estonia. 8: 2249-2270.
- Perez-Martin A., Michelazzo C., Torres-Ruiz J. M., Flexas J., Fernández J. E., Sebastiani L., Diaz-Espejo A. 2014. Regulation of photosynthesis and stomatal mesophyll conductance under water stress and recovery in olive trees: correlation with gene expression of anhydrase and aquaporins. *J of Exp Bot*. Group of Irrigation and Crop Ecophysiology, Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología, IRNAS-CSIC, Sevilla, España. Pp. 1-14.
- Piper F. I., Cavieres A. L., Reyes-Díaz M., Corcuera L. J. 2006. Carbon sink limitation and frost tolerance control performance of the tree *Kageneckia angustifolia* D. Don (Rosaceae) at the treeline in central Chile. Springer. Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Chile. *Plant Ecol*. 185: 29-39.

- Poorter H., Niinemets Ü., Poorter L., Wright I. J., Villar R. 2009. Causes and consequences of variation in leaf mass per area (LMA): a meta-analysis. *New Phyt.* Institute of Agricultural and Environmental Sciences, Estonian University of Life Sciences, Estonia. 182: 565–588.
- Rada F., Azócar A., Briceño B., González J., García-Núñez C. 1996. Carbon and water balance in *Polylepis sericea*, a tropical treeline species. *Springer-Verlag. Trees.* 10: 218-222.
- Rada F., García-Núñez C., Boero C. 2001. Low temperature resistance in *Polylepis tarapacana*, a tree growing at the highest altitudes in the world. *Plant, Cell & Env*24, 377-381.
- Rundel P. W., Smith A. P., Meinzer F. C. 1994. *Tropical Alpine Environments. Plant form and function.* Cambridge University Press.
- Rennenberg H., Loreto F., Polle A., Brill F., Fares S., Beniwal R.S., Gessler A. 2006. Physiological responses of forest trees to heat and drought. Review Article. Institute of Forest Botany and Tree Physiology, Chair of Tree Physiology, Albert Ludwigs University Freiburg, Germany. Pp. 576-570.
- Schmidt-Lebuhn A. N., Kumar N., Kessler M. 2005. Science Direct. Elsevier. Abteilung Systematische Botanik, Albrecht-von-Haller-Institut für Pflanzenwissenschaften, Universität Göttingen, Germany. Pp. 317-325.
- Farquhar, G.D., von Caemmerer, S., Berry, J.A., 1980. A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta* 149, 78–90
- Sharkey T. D., Bernacchi C. J., Farquhar G. D., Singaas E. L. 2007. Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C₃ leaves. *Plant, Cell and Env.* Department of Botany, University of Wisconsin-Madison, USA. 30: 1035-1040.
- Shi Z., Liu S., Liu X., Centritto M. 2006. Altitudinal variation in photosynthetic capacity, diffusional conductance and $\delta^{13}\text{C}$ of butterfly bush (*Buddleja davidii*) plants growing at high elevations. *Physiol Plant.* Institute of Forest Ecology, Environment and Protection, Chinese Academy of Forestry; Key Laboratory on Forest Ecology and Environment of State Forestry Administration, China. 128: 722-731.
- Simpson, B. 1979. A Revision of the Genus *Polylepis* (Rosaceae: Sanguisorbeae). *Smithsonian contributions to botany* vol. 43. Smithsonian Institution Press. Pp. 1-50.
- Smith W. K., Germino M. J., Hancock T. E. Johnson D. M. 2003. Another perspective on altitudinal limits of alpine timberlines. *Tree Phy.* Heron Publishing—Victoria, Canada. 23, 1101-1112.

- Streb P., Eve-Marie J., Gallouët E., Baptist F., Kuntz M., Cornic G. 2005. Evidence for alternative electron sinks to photosynthetic carbon assimilation in the high mountain plant species *Ranunculus glacialis*. Plant, Cell and Env. Laboratoire d'Ecophysiologie Végétale, UFR Scientifique d'Orsay Université Paris XI, Orsay Cedex, France. 28: 1123-1135.
- Squeo, F.; Rada, F.; García, C.; Ponce, M., Rojas, A. 1996. Cold resistance mechanisms in high desert Andean plants. Oecol. 105:552-555.
- Taiz L., Zeiger E. 2010. Plant Physiology. Sinauer Associates; Third edition. Annals of Botany Company. 690 p.
- Warren C. R. 2008. Stand aside stomata, another actor deserves centre stage: the forgotten role of the internal conductance to CO₂ transfer. Journal of Experimental Botany 59:1475–1487.
- Wieser T., Tausz M. 2007. Trees at Their Upper Limit: Treelife Limitation at the Alpine Timberline. Springer Vol. 5, Dordrecht: 1-35.
- Wright I. J., Westoby M., Reich P. B. 2002. Convergence towards higher leaf mass per area in dry and nutrient-poor habitats has different consequences for leaf life span. J of Ecol. Department of Biological Sciences, Macquarie University, Australia. 90: 534 – 543.
- Young K.; León B. 2007. Tree-line changes along the Andes: implications of spatial patterns and dynamics. Phil. Trans. R. Soc. B 362, 263–272.
- Zhang S-B. 2010. Temperature acclimation of photosynthesis in *Meconopsis horridula* var. *racemosa* Prain. Bot. Studies. Key Laboratory of Tropical Forest Ecology, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, China. 51: 457-464.
- Zhang S-B., Zhou Z-K., Hu H., Xu K., Yan N., Li S-Y. 2005. Photosynthetic performances of *Quercus pannosavary* with altitude in the Hengduan Mountains, southwest China. F Ecol and Manag. Elsevier. Kunming Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences, China. 212: 291-301.

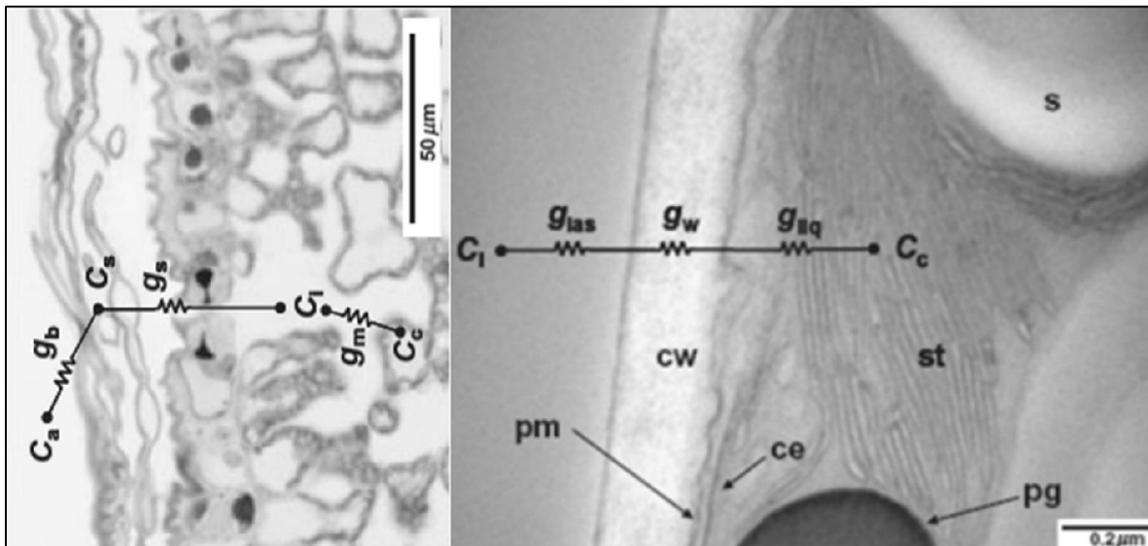
ANEXOS

Anexo 1. Representación esquemática de los ecotonos del límite forestal de elevación.



Fuente: Tomado de Körner & Paulsen (2004).

Anexo 2. Rutas difusivas para la fijación de carbono en los sitios de carboxilación.



Fuente: Tomado de Flexas *et al.* 2012.

Anexo 4. Fotografía de corteza característica en individuos de *Polylepis*.



Anexo 5. Fotografía de individuo de P. tarapacana.



Anexo 6. Fotografía de estructura foliar de *P. tarapacana*.



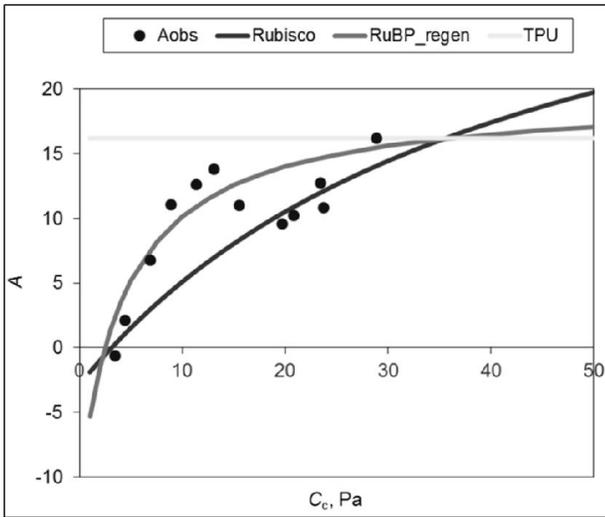
Anexo 7. Tabla 1. Comparación de condiciones climáticas entre la sección inferior y superior del gradiente acorde al curso de un año. Se calculó el promedio mensual de la media, valor máximo, valor mínimo y valor integrado (acumulada) para la humedad relativa (RH), temperatura del aire (Ta) y el déficit de presión de vapor (VPD).

| Cerro Chiguana, Altiplano de Los Andes Central, Chile | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|----------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | | 4,337 | | | | | | | | | | | | Elevación (m.s.n.m.) | | | | | | | | | 4,905 | | |
| Año | Mes | T°Med. | T°Máx. | T°Mín. | T°Int. | RHMed. | RHMáx. | RHMín. | RHInt. | VPDMed. | VPDMáx. | VPDMín. | VPDInt. | T°Med. | T°Máx. | T°Mín. | T°Int. | RHMed. | RHMáx. | RHMín. | RHInt. | VPDMed. | VPDMáx. | VPDMín. | VPDInt. |
| 2 | Abril | 6.34 | 18.58 | -3.74 | 152.10 | 26.09 | 48.73 | 8.66 | 626.23 | 0.87 | 1.96 | 0.27 | 20.90 | 3.49 | 14.27 | -3.87 | 83.76 | 23.66 | 41.24 | 11.10 | 567.84 | 0.70 | 1.44 | 0.30 | 16.73 |
| 0 | Mayo | 4.52 | 15.00 | -2.98 | 108.41 | 35.15 | 55.28 | 15.60 | 843.70 | 0.66 | 1.45 | 0.23 | 15.73 | 1.03 | 11.21 | -5.72 | 24.79 | 36.38 | 55.06 | 19.44 | 873.13 | 0.49 | 1.09 | 0.19 | 11.80 |
| 1 | Junio | 1.95 | 11.36 | -4.65 | 46.78 | 42.12 | 61.63 | 21.60 | 1010.99 | 0.49 | 1.10 | 0.16 | 11.77 | -1.74 | 7.20 | -7.63 | -41.69 | 47.93 | 66.19 | 29.96 | 1150.27 | 0.34 | 0.76 | 0.12 | 8.10 |
| 3 | Julio | 3.65 | 14.00 | -4.13 | 87.70 | 32.79 | 53.91 | 13.54 | 787.05 | 0.64 | 1.40 | 0.22 | 15.38 | -0.12 | 9.59 | -6.79 | -2.98 | 37.56 | 57.91 | 19.00 | 901.45 | 0.45 | 0.98 | 0.16 | 10.84 |
| | Agosto | 3.51 | 14.66 | -5.26 | 84.20 | 22.32 | 41.98 | 7.59 | 535.66 | 0.73 | 1.57 | 0.26 | 17.64 | 0.33 | 10.91 | -6.93 | 7.91 | 23.64 | 40.68 | 10.42 | 567.25 | 0.56 | 1.18 | 0.23 | 13.55 |
| | Septiembre | 4.94 | 15.72 | -3.86 | 118.67 | 19.87 | 41.47 | 5.87 | 476.81 | 0.82 | 1.68 | 0.30 | 19.66 | 1.50 | 12.30 | -6.60 | 36.03 | 20.57 | 38.34 | 8.51 | 493.78 | 0.63 | 1.30 | 0.25 | 15.04 |
| | Octubre | 5.98 | 17.39 | -3.24 | 143.48 | 23.98 | 46.88 | 7.81 | 575.63 | 0.86 | 1.84 | 0.28 | 20.65 | 3.03 | 14.25 | -5.42 | 72.69 | 22.31 | 40.51 | 10.35 | 535.47 | 0.69 | 1.46 | 0.28 | 16.59 |
| | Noviembre | 7.73 | 20.64 | -2.92 | 185.45 | 24.27 | 48.41 | 6.76 | 582.46 | 1.00 | 2.26 | 0.30 | 24.05 | 5.28 | 17.24 | -4.24 | 126.71 | 19.55 | 39.57 | 6.75 | 469.30 | 0.83 | 1.78 | 0.31 | 19.87 |
| | Diciembre | 7.18 | 17.83 | -0.19 | 172.37 | 60.79 | 88.92 | 27.06 | 1458.91 | 0.54 | 1.52 | 0.07 | 13.08 | 4.60 | 15.41 | -2.60 | 110.28 | 58.22 | 83.02 | 30.51 | 1397.16 | 0.46 | 1.23 | 0.10 | 10.95 |
| 2 | Enero | 6.98 | 17.29 | 0.05 | 167.43 | 64.72 | 90.56 | 31.33 | 1553.18 | 0.48 | 1.37 | 0.07 | 11.41 | 4.33 | 14.49 | -2.31 | 104.00 | 64.51 | 90.46 | 34.19 | 1548.28 | 0.39 | 1.11 | 0.06 | 9.35 |
| 0 | Febrero | 7.91 | 19.80 | -1.15 | 189.77 | 42.07 | 74.81 | 15.37 | 1009.64 | 0.79 | 1.94 | 0.16 | 18.85 | 5.02 | 16.75 | -3.13 | 120.53 | 37.34 | 65.72 | 16.76 | 896.20 | 0.65 | 1.56 | 0.20 | 15.64 |
| 1 | Marzo | 7.00 | 19.16 | -2.29 | 168.01 | 44.45 | 81.50 | 12.85 | 1066.70 | 0.75 | 1.92 | 0.11 | 17.92 | 4.35 | 16.19 | -3.99 | 104.33 | 34.36 | 67.10 | 12.84 | 824.55 | 0.66 | 1.58 | 0.19 | 15.87 |
| 4 | Abril | 6.58 | 18.25 | -1.63 | 157.83 | 40.27 | 65.87 | 14.13 | 966.59 | 0.72 | 1.79 | 0.20 | 17.32 | 3.43 | 14.70 | -4.18 | 82.33 | 40.05 | 62.11 | 17.40 | 961.24 | 0.56 | 1.37 | 0.19 | 13.46 |

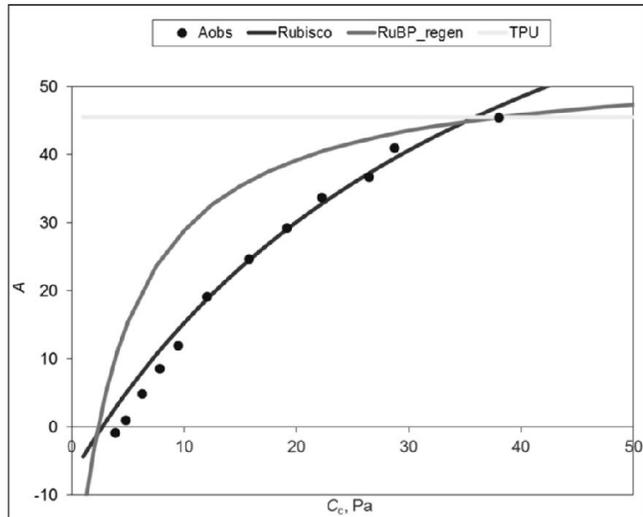
Anexo 8. Tabla 2. Cambios porcentuales entre los estratos del gradiente de elevación. Los valores se determinaron a partir de los parámetros obtenidos por las mediciones en campo. Las letras indican la validación estadística de disimilitud según análisis de homocedasticidad de residuales (Shapiro-Wilk normality test), análisis de varianza (ANOVA) y análisis de mínima significancia (Test LSD de Fisher, $P < 0.05$).

| | 4,337- 4,624 | 4,624- 4,905 | 4,337- 4,905 |
|---|----------------------|----------------------|----------------------|
| A_N ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) | Aumentó 12.5 % ab-a | Disminuyó 26.1% a-b | Disminuyó 12.1% ab-b |
| R_d ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) | Aumentó 52.5 % b-a | Disminuyó 7.2% a-a | Aumentó 42.2% b-a |
| g_s ($\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) | Disminuyó 1.9% a-a | Disminuyó 40.8% a-b | Disminuyó 43.4% a-b |
| g_m Harley ($\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) | Aumentó 98.7% b-a | Disminuyó 83.0% a-ab | Aumentó 8.6% b-ab |
| $V_{c,\text{max}}$ ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) | Aumentó 13.6% b-ab | Aumentó 9.6% ab-a | Aumentó 24.9% b-a |
| J_{max} ($\mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) | Aumentó 21.2% b-a | Disminuyó 7% a-ab | Aumentó 13.3 % b-ab |
| J_{flu} ($\mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) | Aumentó 11% a-a | Disminuyó 1.5% a-a | Aumentó 9.4% a-a |
| P_r ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) | Aumento 8.2% b-ab | Aumentó 15.2% ab-a | Aumentó 24.7% b-a |
| C_i ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$) | Disminuyó 14.9% a-b | Disminuyó 12.1% b-c | Disminuyó 28.9% a-c |
| C_c ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$) | Aumentó 3.6% a-a | Disminuyó 29.4% a-b | Disminuyó 25% a-b |
| RH 10-17h (%) | Disminuyó 24.1% ab-a | Aumentó 65.6% a-b | Aumentó 33.5% ab-b |
| Ta 10-17h (°C) | Aumentó 6.6% a-a | Disminuyó 21.1 % a-b | Disminuyó 13.6% a-b |
| VPD 10-17h (KPa) | Aumentó 7.2% b-a | Disminuyó 27.9% a-c | Disminuyó 19.2% b-c |
| SNC (%) | Aumentó 62.5% a-a | Disminuyó 44.4% a-a | Aumentó 12.5% a-a |
| LNC * área foliar (g m ⁻²) | Disminuyó 25.9% a-a | Aumentó 32.6% a-a | Aumentó 5.3% a-a |
| LNC * masa foliar (g g ⁻¹) | Se mantuvo | Aumentó 7.2% a-a | Aumentó 7.2% a-a |
| LMA (g m ⁻²) | Disminuyó 28.9% a-a | Aumentó 22.3% a-a | Disminuyó 5.4% a-a |
| T _L (°C) | Aumentó 2.4% a-a | Aumentó 2.4% a-a | Aumentó 4.9% a-a |
| WUE | Aumentó 13.2% b-ab | Aumentó 10.7% ab-a | Aumentó 25.3% a-b |
| E | Disminuyó 10.0% a-a | Disminuyó 16.3% a-a | Disminuyó 27.9% a-a |

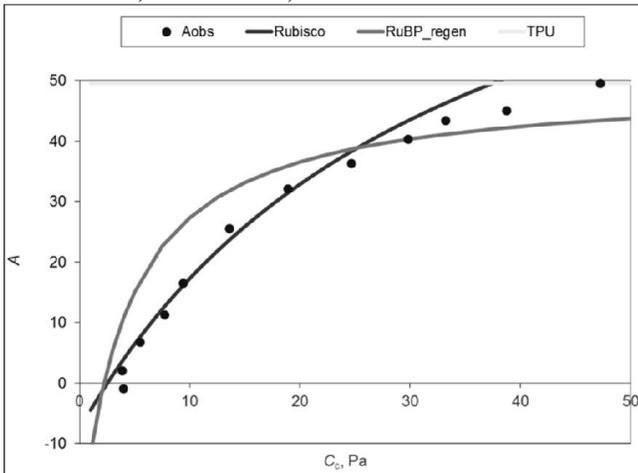
Anexo 9. Curvas de asimilación en respuesta al CO₂ cloroplasmático (C_c). El CO₂ cloroplasmático se estimó utilizando la conductancia del mesófilo (g_m) a 25°C. Las curvas se ajustaron acorde al método de Sharkey *et al.* (2007). Los círculos cerrados representan los datos brutos de asimilación. La línea más blanca se predijo utilizando el uso de triosa- fosfato (TPU). La línea grisácea se predijo utilizando los valores de carboxilación de RuBisCO ($V_{c, max}$). La línea negra se predijo utilizando los valores de regeneración de RuBP (J_{max}).



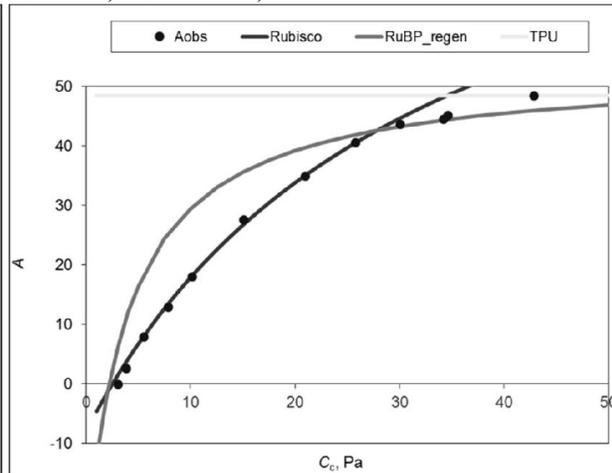
Elevación: **4,905 m.s.n.m.**; Individuo: **01.2**



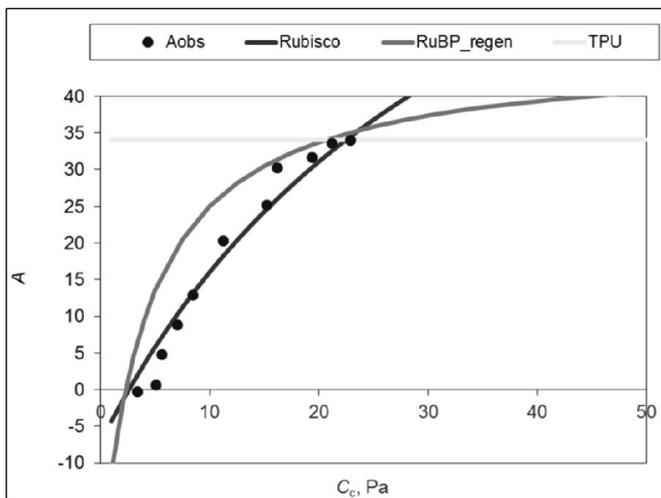
Elevación: **4,905 m.s.n.m.**; Individuo: **01.3**



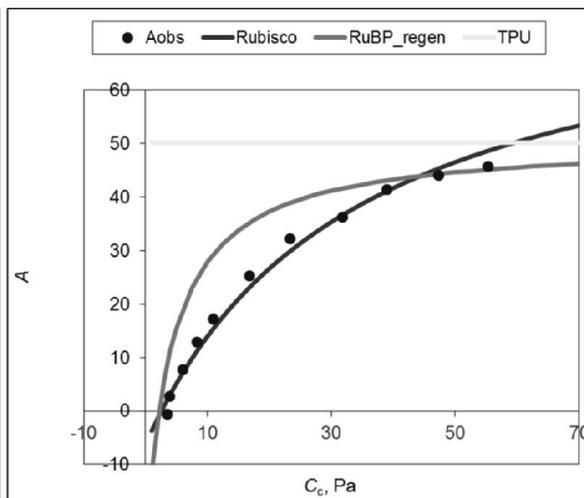
Elevación: **4,905 m.s.n.m.**; Individuo: **02**



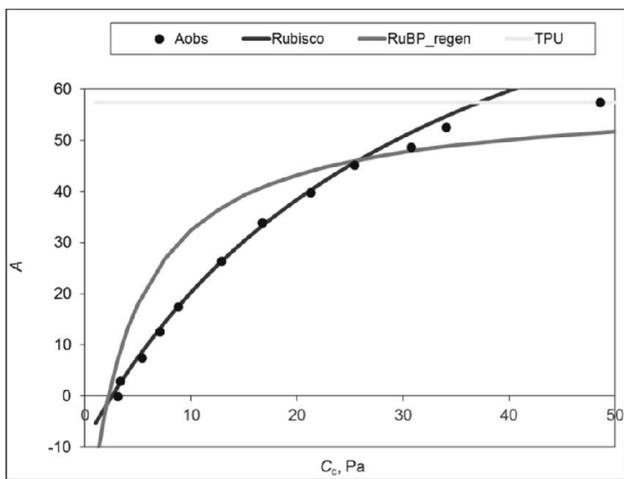
Elevación: **4,905 m.s.n.m.**; Individuo: **04**



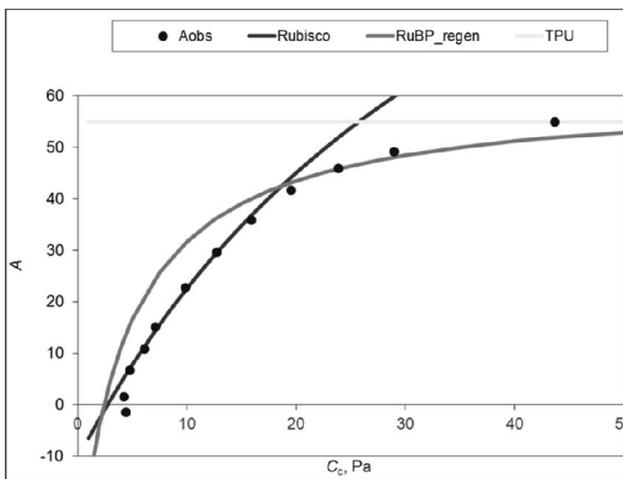
Elevación: 4,905 m.s.n.m.; Individuo: 05



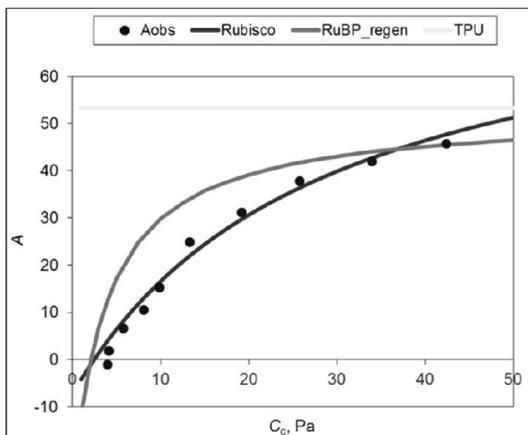
Elevación: 4,905 m.s.n.m.; Individuo: 07.2



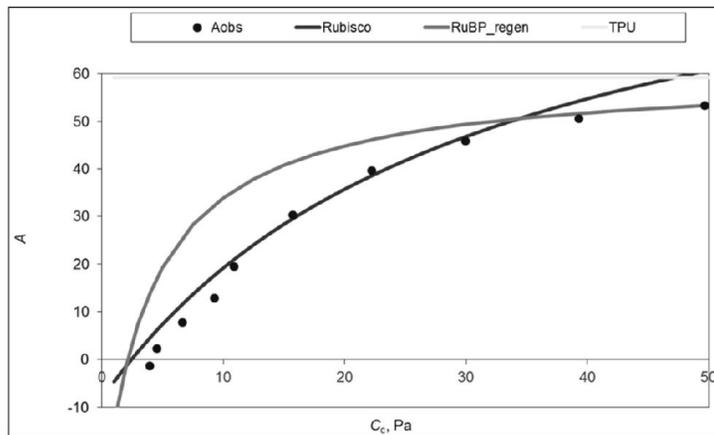
Elevación: 4,905 m.s.n.m.; Individuo: 08



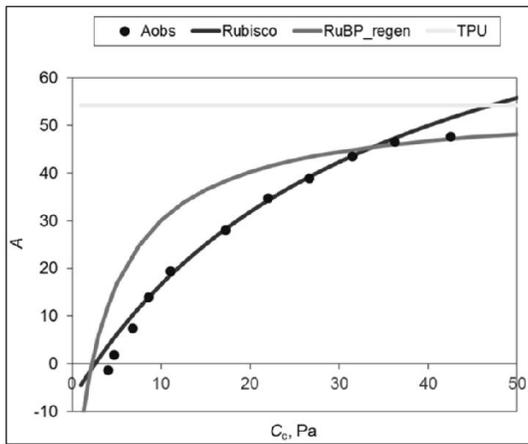
Elevación: 4,905 m.s.n.m.; Individuo: 09



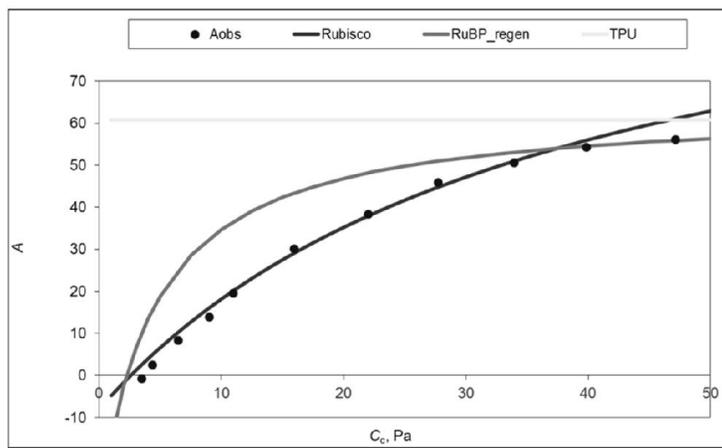
Elevación: 4,624 m.s.n.m.; Individuo: 01



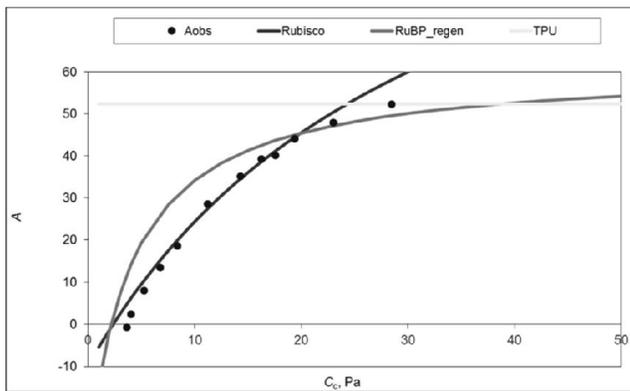
Elevación: 4,624 m.s.n.m.; Individuo: 02



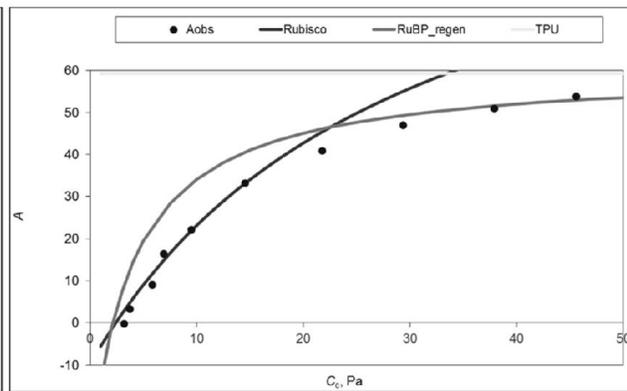
Elevación: 4,624 m.s.n.m.; Individuo: 03



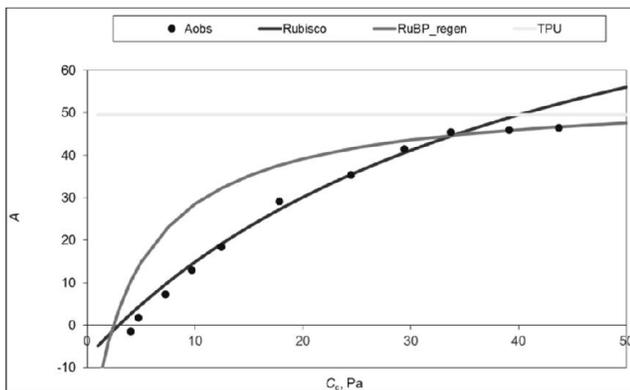
Elevación: 4,624 m.s.n.m.; Individuo: 03b



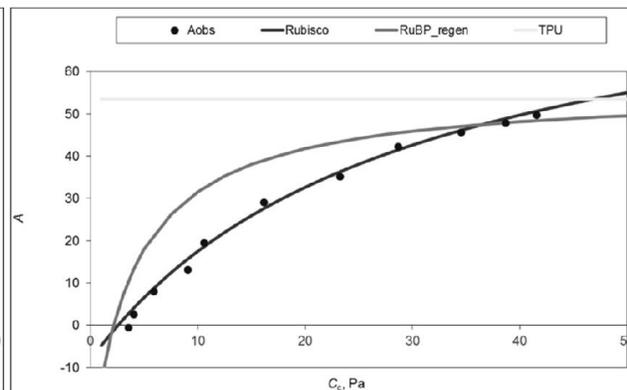
Elevación: 4,624 m.s.n.m.; Individuo: 04



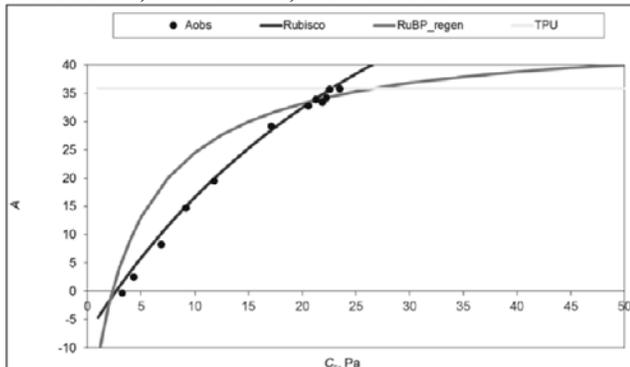
Elevación: 4,624 m.s.n.m.; Individuo: 05



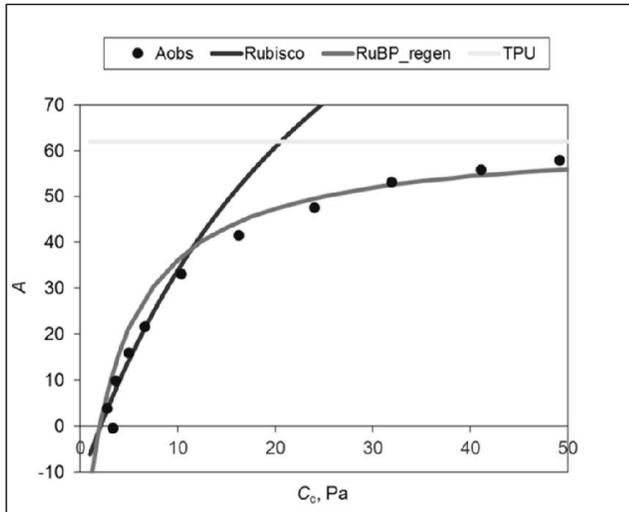
Elevación: 4,624 m.s.n.m.; Individuo: 06



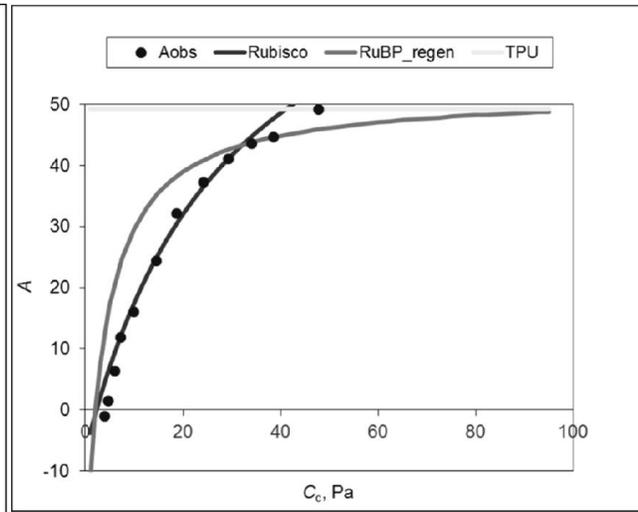
Elevación: 4,624 m.s.n.m.; Individuo: 07



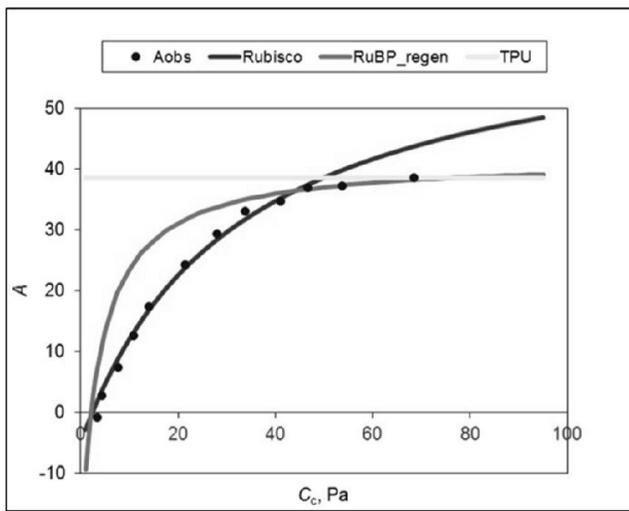
Elevación: 4,624 m.s.n.m.; Individuo: 09



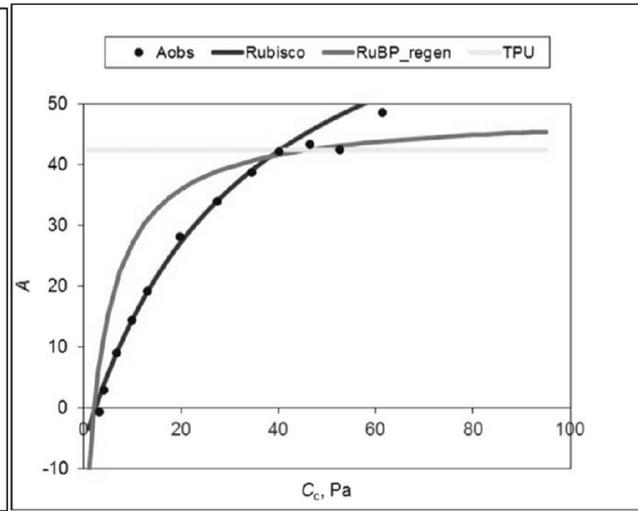
Elevación: 4,337 m.s.n.m.; Individuo: 01.2



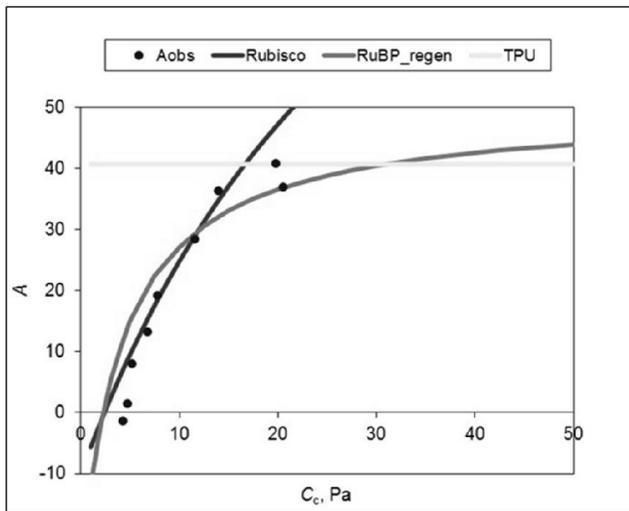
Elevación: 4,337 m.s.n.m.; Individuo: 02.2



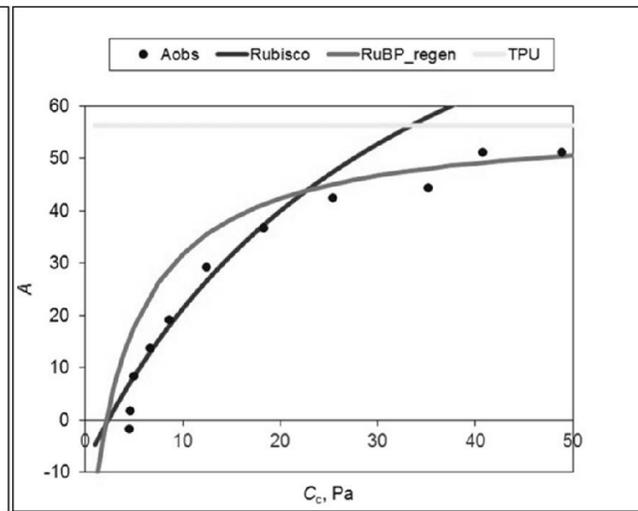
Elevación: 4,337 m.s.n.m.; Individuo: 03



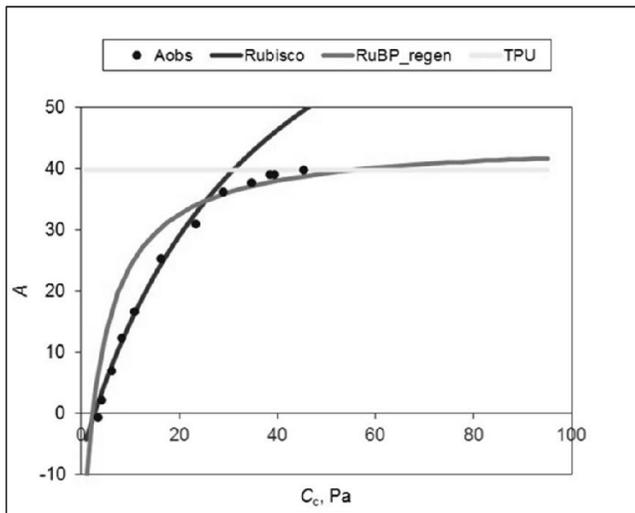
Elevación: 4,337 m.s.n.m.; Individuo: 05



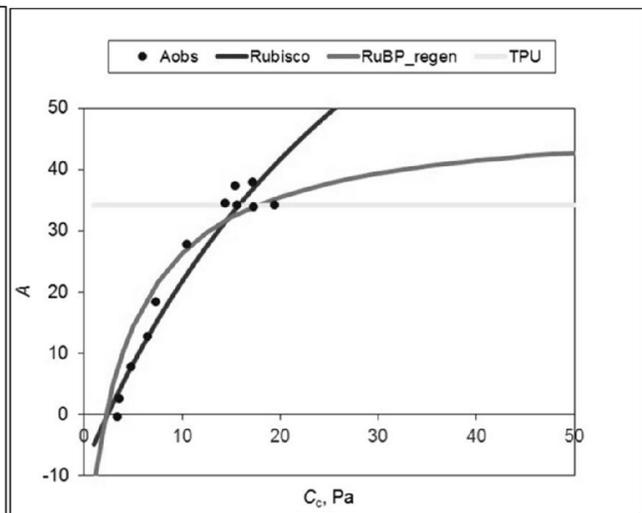
Elevación: 4,337 m.s.n.m.; Individuo: 06.2



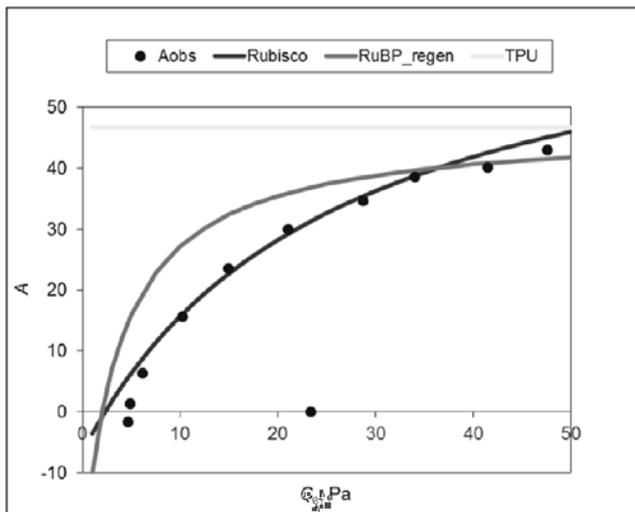
Elevación: 4,337 m.s.n.m.; Individuo: 07



Elevación: 4,337 m.s.n.m.; Individuo: 08

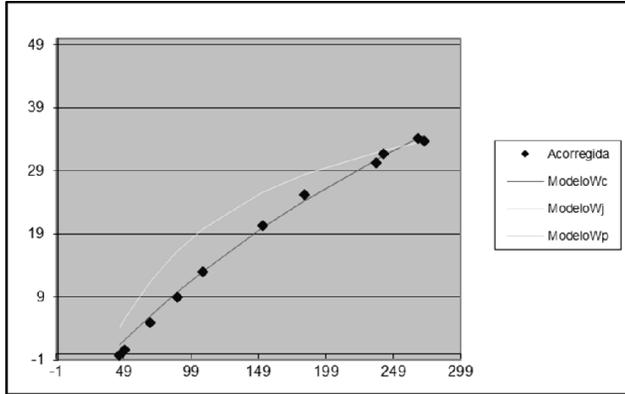


Elevación: 4,337 m.s.n.m.; Individuo: 09

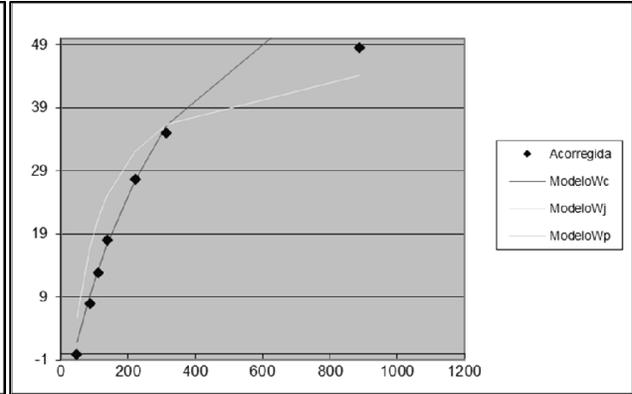


Elevación: 4,337 m.s.n.m.; Individuo: 10

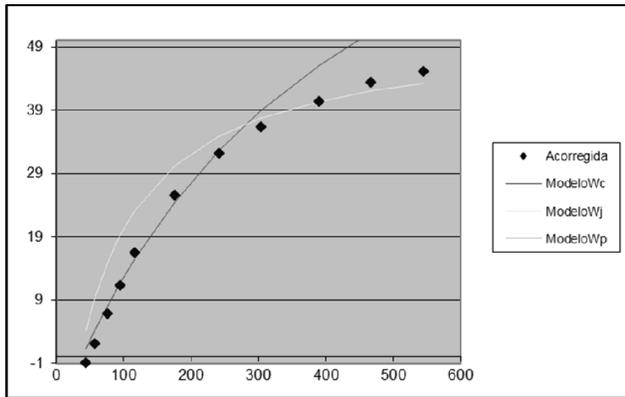
Anexo 10. Curvas de asimilación en respuesta al CO₂ cloroplasmático (C_c). C_c se estimó utilizando la conductancia del mesófilo (g_m) a 25°C. Las curvas se ajustaron acorde al método de Farquhar *et al.* (1980). Los círculos cerrados representan los datos brutos de asimilación. La línea oscura indica la tasa fotosintética predicha en el caso de estar limitada únicamente por las propiedades cinéticas de la RuBisCO [basada en las constantes de Michaelis, propuestos por Bernacchi *et al.* (2002)]. Las líneas claras se predijeron utilizando la tasa de transporte de electrones (Jflu) como el único factor limitante. La línea destinada a la limitación aislada del uso de triosa-fosfato (TPU) no figura (excepto en algunos individuos) ya que los datos fueron muy cercanos a cero.



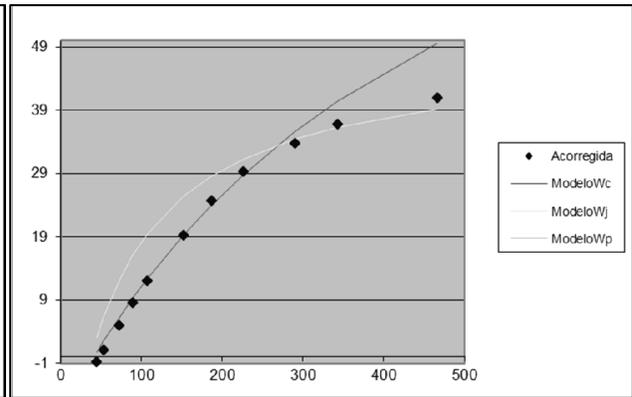
Elevación: **4,905 m.s.n.m.**; Individuo: **01.3**



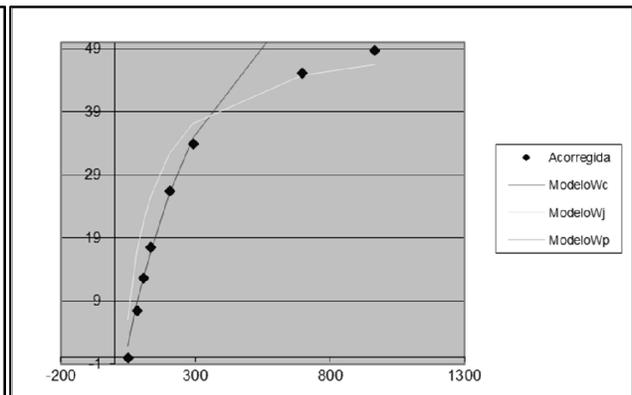
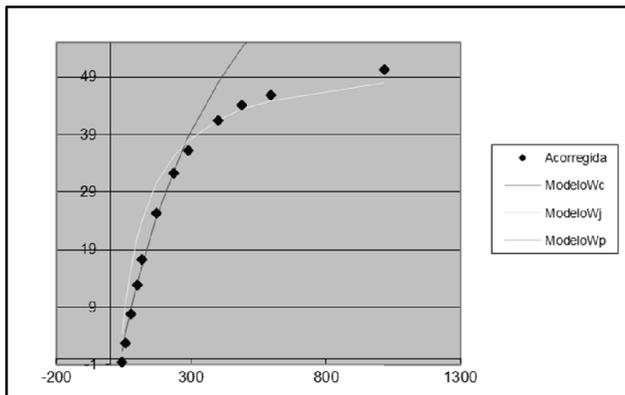
Elevación: **4,905 m.s.n.m.**; Individuo: **02**



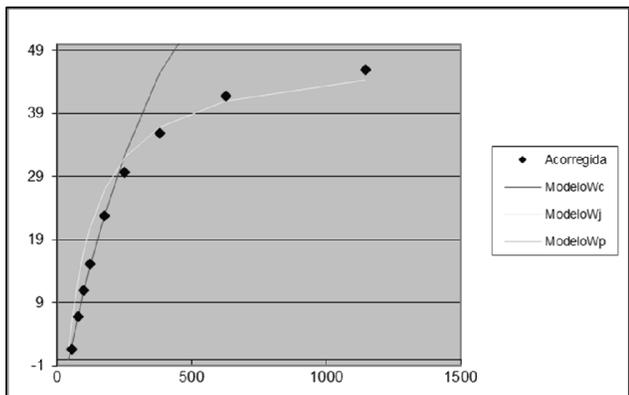
Elevación: **4,905 m.s.n.m.**; Individuo: **04**



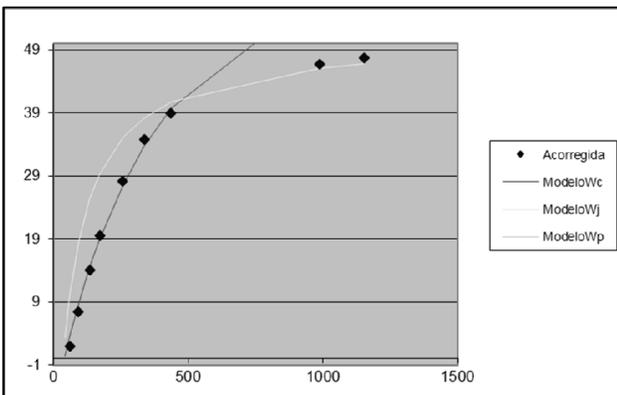
Elevación: **4,905 m.s.n.m.**; Individuo: **05**



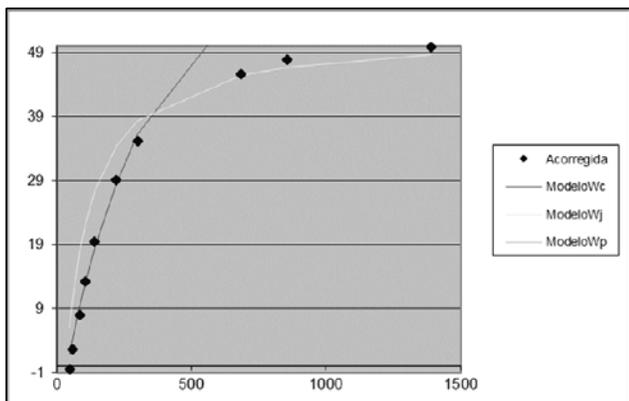
Elevación: 4,905 m.s.n.m.; Individuo: 07.2



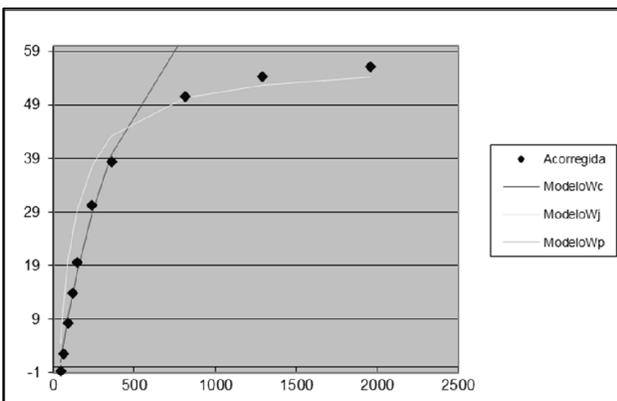
Elevación: 4,905 m.s.n.m.; Individuo: 08



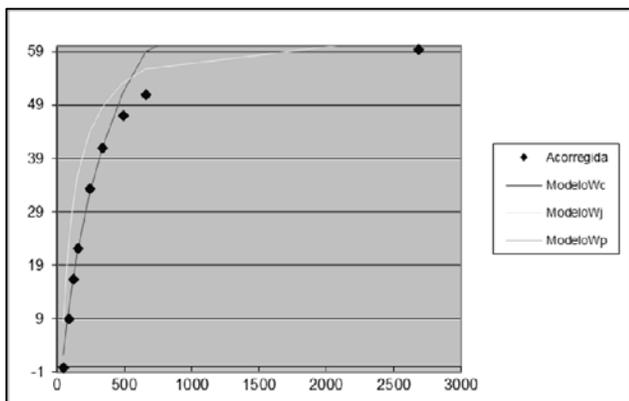
Elevación: 4,905 m.s.n.m.; Individuo: 09



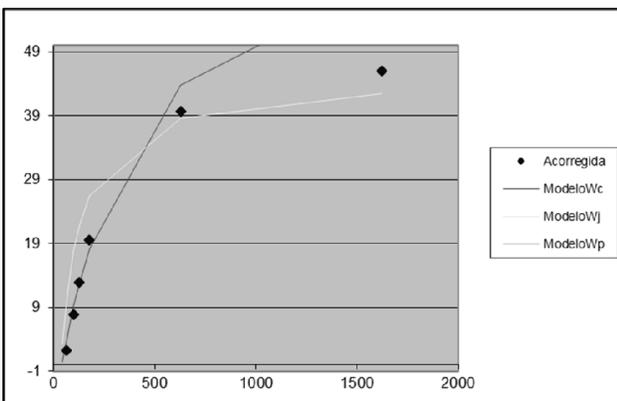
Elevación: 4,624 m.s.n.m.; Individuo: 02



Elevación: 4,624 m.s.n.m.; Individuo: 03



Elevación: 4,624 m.s.n.m.; Individuo: 03b

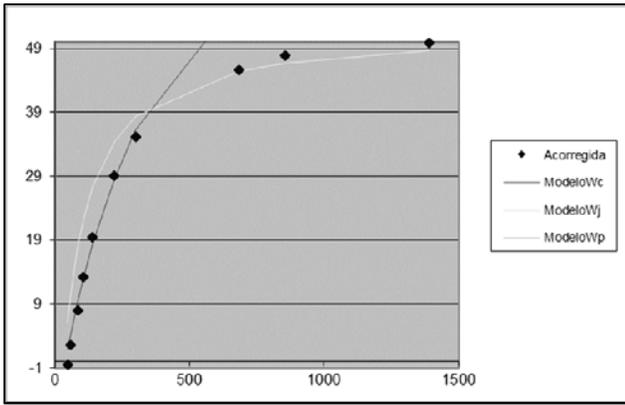


Elevación: 4,624 m.s.n.m.; Individuo: 05

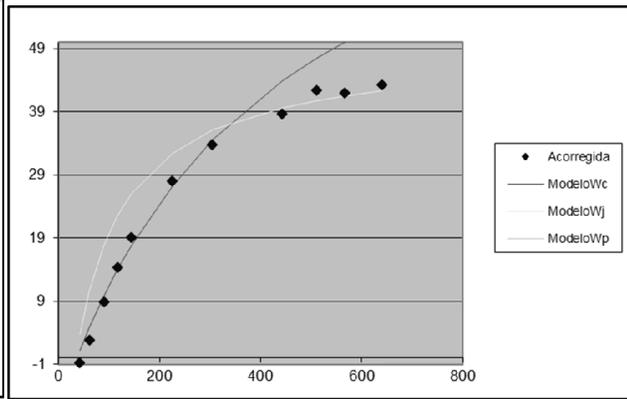


Elevación: 4,624 m.s.n.m.; Individuo: 06

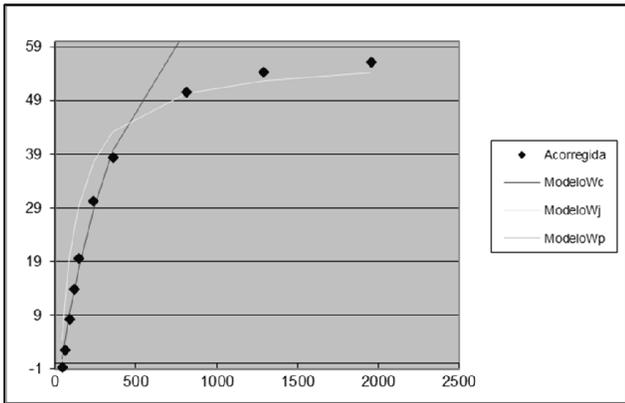




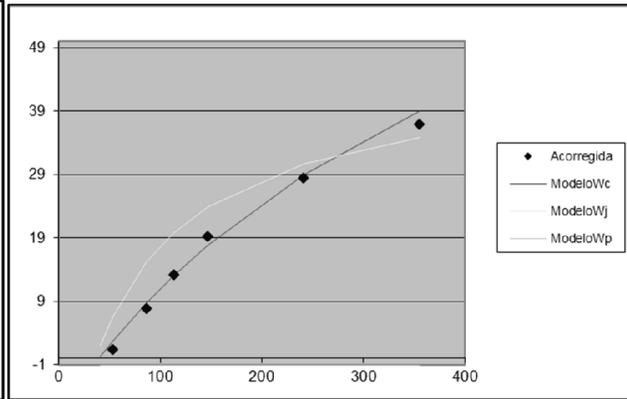
Elevación: 4,624 m.s.n.m.; Individuo: 07



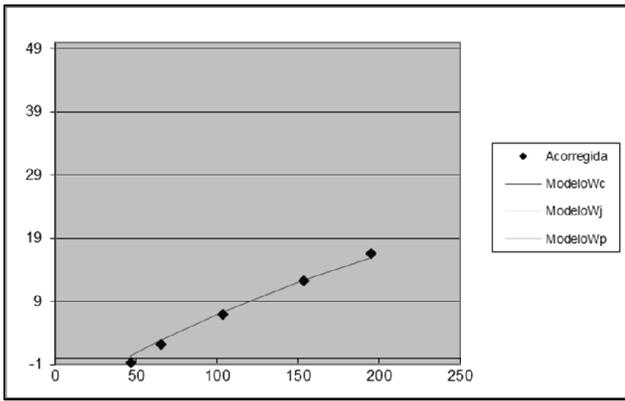
Elevación: 4,337 m.s.n.m.; Individuo: 02.2



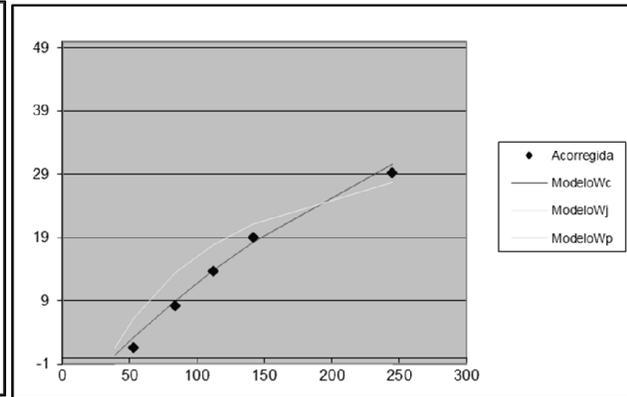
Elevación: 4,337 m.s.n.m.; Individuo: 03



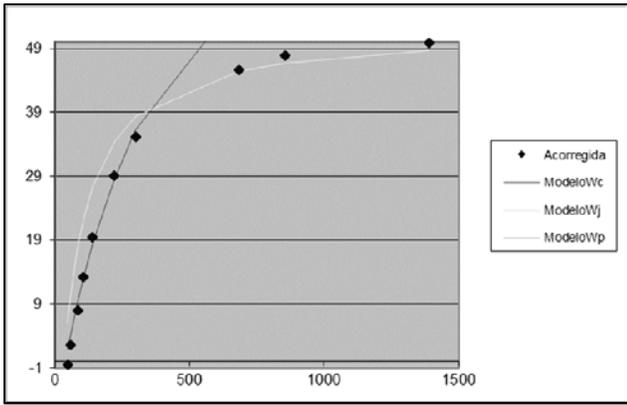
Elevación: 4,337 m.s.n.m.; Individuo: 05



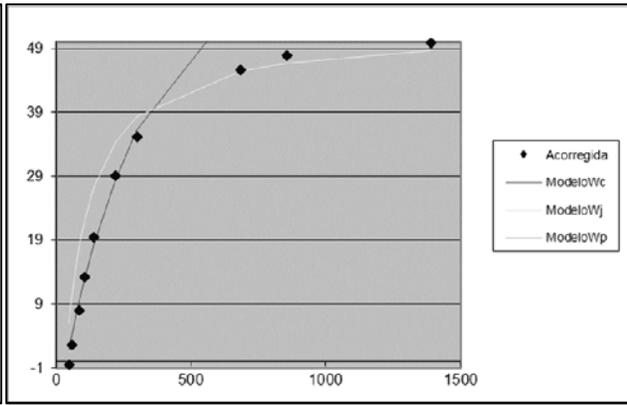
Elevación: 4,337 m.s.n.m.; Individuo: 06.2



Elevación: 4,337 m.s.n.m.; Individuo: 07



Elevación: 4,337 m.s.n.m.; Individuo: 08



Elevación: 4,337 m.s.n.m.; Individuo: 10

Anexo 11. Tabla 3. Comparación de asimilación máxima de CO₂ (A_{max}) entre *treelines* del hemisferio norte-sur y el Altiplano Chileno. La columna “Sp.” corresponde a la especie sujeta a medición, de lo cual se deduce su hábito de crecimiento (decidua-siempreverde) y si es angiosperma o gimnosperma (latifoliada – conífera).

| Región | latitud/longitud (N-S, W-E) | Elevación (m.s.n.m.) | Sp. | Clima | A_{max} ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) | Autor |
|------------------------------------|--------------------------------|-------------------------|---|------------------------------|---|----------------------------------|
| Montañas Cairngorm Escocia | 57° 08'N, 3° 50'W | 650 | <i>Pinus Sylvestris</i> | Templado | 3.3 - 24.4 | James <i>et al.</i> 1994 |
| Monte Fuji Japán | 35° 21'N, 138° 54'E | 2500 | <i>Polygonum cuspidatum</i> | Templado | 10.3 | Kogami <i>et al.</i> 2001 |
| Montañas Qionglai China | 32° 53'N, 104° 41'E | 3400 | <i>Buddleja davidii</i> | Templado | 21.2 | Shi <i>et al.</i> 2006 |
| Piedras Blancas Venezuela | 8° 37'N, 70° 12'W | 4000 | <i>Polylepis sericea</i> | Intertropical | 4.6 - 3.6 | Rada <i>et al.</i> 1996 |
| Montañas Hengduan China del Sur | 27° 46'N, 99° 38'E | 4170 | <i>Quercus pannosa</i> | Templado | 8.17 | Zhang <i>et al.</i> 2005 |
| Las Cruces Venezuela | 8° 52'N, 70° 45'W | 4200 | <i>Acaena cylindrostachya-</i> <i>Senecio formosus</i> | Intertropical | 7.5- 3.6 | Cabrera <i>et al.</i> 1997 |
| Volcán Sajama Bolivia | 18° 7'S, 68° 57'W | 4300 | <i>Polylepis tarapacana</i> | Subtropical-Húmedo | 4.7 - 6.8 | García- Núñez <i>et al.</i> 2004 |
| Altiplano Chile | 18°93'S, 69°00'W | 4900 | <i>Polylepis tarapacana</i> | Subtropical-Semiárido | 22.2 | ----- |

Anexo 12. Tabla comparativa de parámetros fotosintéticos según A_N , $V_{c, \max}$, J_{\max} , g_s , g_m , P_r , R_d y J_{flu} . C_i es la concentración sub-estomática de CO_2 , C_c es la concentración cloroplasmática de CO_2 e IWUE es la eficiencia intrínseca del uso del agua. Los análisis post hoc se efectuaron con un test LSD de Fisher ($P < 0.05$). Normalidad y homocedasticidad de varianzas se evaluó utilizando el test de Shapiro-Wilk ($P < 0.05$) para los valores residuales. En caso de corresponder, las variables se transformaron siguiendo los supuestos de homogeneidad (Quinn & Keough 2006).

| Fuente | Df | SS | MS | F-v | P-v | Pr(>F) | Tratamiento | | |
|---|----|-------|--------|-------|-------|-------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | | | | | | | 4337 (m.s.n.m.) | 4,624 m.s.n.m.) | 4,905 m.s.n.m.) |
| A_N (Asimilación Neta) | 2 | 39.19 | 19.59 | 6.24 | 0.376 | 0.0107 * | ab | a | b |
| R | 15 | 47.1 | 3.14 | | | | | | |
| $V_{c, \max}$ (Tasa de carboxilación máxima de RuBisCO) | 2 | 1993 | 996.4 | 6.9 | 0.576 | 0.0063** | b | ab | a |
| R | 17 | 2452 | 144.2 | | | | | | |
| J_{\max} (Tasa de regeneración máxima de RuBP) | 2 | 4096 | 2048 | 6.96 | 0.212 | 0.0072** | b | a | ab |
| R | 15 | 4410 | 294 | | | | | | |
| g_s (Conductancia estomática de CO_2) | 2 | 0.004 | 0.002 | 11.97 | 0.06 | 0.0005** | a | a | b |
| R | 17 | 0.003 | 0.0001 | | | | | | |
| g_m (Conductancia del mesófilo de CO_2) | 2 | 0.175 | 0.087 | 5.43 | 0.013 | 0.0168* | a | ab | b |
| R | 15 | 0.241 | 0.016 | | | | | | |
| P_r (Fotorespiración) | 2 | 11.34 | 5.669 | 5.353 | 0.007 | 0.0157* | b | ab | a |
| R | 17 | 18 | 1.059 | | | | | | |
| R_d (Respiración en oscuridad) | 2 | 4.278 | 2.139 | 10.48 | 0.239 | 0.00108** | b | a | a |
| R | 17 | 3.471 | 0.2042 | | | | | | |
| J_{flu} (Tasa de transporte de electrones) | 2 | 1251 | 625.7 | 2.398 | 0.235 | 0.121 | a | a | a |
| R | 17 | 4436 | 261 | | | | | | |
| C_i (Concentración sub-estomática de CO_2) | 2 | 8168 | 4084 | 35.62 | 0.513 | 1.28e-06*** | a | b | c |
| R | 16 | 1835 | 115 | | | | | | |
| C_c (Concentración cloroplasmática de CO_2) | 2 | 4431 | 2215.5 | 16.07 | 0.181 | 0.0001*** | a | a | b |
| R | 15 | 2068 | 137.9 | | | | | | |
| IWUE (Eficiencia intrínseca del uso de agua) | 2 | 6043 | 3021.5 | 12.5 | 0.213 | 0.0004*** | b | ab | a |
| R | 17 | 4110 | 241.7 | | | | | | |

* $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$.