



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES
INGENIERÍA EN CONSERVACIÓN DE RECURSOS NATURALES

**VARIACIÓN INTRAESPECÍFICA EN RASGOS FUNCIONALES FOLIARES
DE *NOTHOFAGUS MACROCARPA* A LO LARGO DE SU RANGO DE
DISTRIBUCIÓN EN CHILE**

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad de
Concepción para otorgar al título profesional de Ingeniero/a en Conservación de
Recursos Naturales

POR: Andrea Alejandra Valero Vásquez

Profesor Guía: Carolina Estela Álvarez Maldini

Marzo, 2025


Concepción, Chile

© 2025, Andrea Alejandra Valero Vásquez

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

**VARIACIÓN INTRAESPECÍFICA EN RASGOS FUNCIONALES FOLIARES
DE *NOTHOFAGUS MACROCARPA* A LO LARGO DE SU RANGO DE
DISTRIBUCIÓN EN CHILE**

Profesor Guía



Carolina Estela Álvarez Maldini

Profesora Asistente

Ingeniero Forestal, Dra.

Profesor Guía



Profesor Titular

Ingeniero Forestal, Ph.D.

Profesor Guía



Manuel Alejandro Acevedo Tapia

Colaborador Externo

Ingeniero Forestal, Dr.

DEDICATORIA

A mi madre, Gloria por siempre alentarme a ser una mejor versión de mi
A mi padre, Eliseo por su esfuerzo constante estos años
A mi hermana, Yocelyn por su contención
A mi hermano, Reynel por siempre animarme
Mi familia.

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sinceros agradecimientos a mi profesora guía de tesis, Carolina Álvarez Maldini, por su valiosa orientación y apoyo durante todo el proceso de la investigación. Su paciencia, compromiso y humanidad han sido fundamentales para mi crecimiento académico y personal. También me gustaría agradecer al Proyecto “*Conserving and restoring the threatened Nothofagus species in South America*” (501453-70), financiado por la fundación suiza Franklínia que es liderado por el profesor Cristián Echeverría Leal en conjunto con el Laboratorio de Ecología de Paisaje (LEP), ya que gracias a su financiamiento pude tener el material vegetal para realizar mi tesis y por último agradecer al Laboratorio de Fisiología de Plantas de la Universidad de Concepción, por permitirme utilizar el laboratorio para la realización de mis mediciones.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	xi
ABSTRACT	xiii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. METODOLOGÍA	9
2.1 Descripción del área de estudio	9
2.2 Colecta de semillas de <i>Nothofagus macrocarpa</i>	12
2.2.1 Recolección de semillas de <i>Nothofagus macrocarpa</i>	13
2.2.2 Germinación y proceso de producción	14
2.2.3 Fase de pleno crecimiento	15
2.4 Análisis de datos	20
III. RESULTADOS	21
3.1 Efectos fijos de la variabilidad intraespecífica entre las poblaciones de <i>Nothofagus macrocarpa</i>	21
3.2 Efectos fijos de las diferencias entre semilleros de las poblaciones de <i>Nothofagus macrocarpa</i>	23
3.3 Efectos aleatorios	28
IV. DISCUSIÓN	30
4.1 El módulo de elasticidad (ϵ) y contenido relativo de agua al punto de turgor (RWC_{tip}) explican diferencias entre poblaciones de <i>Nothofagus macrocarpa</i>	30
4.2 El potencial osmótico a full turgor (Ψ_o) y la capacitancia total a full turgor (C_{ft}) y al punto de pérdida de turgor (C_{tip}) explican las diferencias entre los semilleros de las poblaciones de <i>Nothofagus macrocarpa</i>	33
4.3 Implicancias para la restauración de <i>Nothofagus macrocarpa</i>	38
V. CONCLUSIONES	40
VII. BIBLIOGRAFÍA	42
VIII. APÉNDICE	48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1. Poblaciones de <i>Nothofagus macrocarpa</i> , semilleros y número de semilleros por población.	17
Tabla 2.2. Parámetros calculados de las curvas presión-volumen de <i>Nothofagus macrocarpa</i> , con sus respectivas unidades, símbolos totales y simplasto.	19
Tabla 3.1. Variabilidad de los parámetros medidos entre las poblaciones y entre los semilleros de <i>Nothofagus macrocarpa</i> . Valores en negrita indican diferencias significativas entre poblaciones para $p < 0,05$ de acuerdo a Tukey (HSD). Donde df: grados de libertad, SWC: contenido saturado de agua, Ψ_o : potencial osmótico, $\Psi_{t_{lp}}$: potencial al punto de pérdida de turgor, af: fracción apoplástica, $RWC^*_{t_{lp}}$: contenido relativo de agua total al punto de pérdida de turgor, $RWC_{t_{lp}}$: contenido relativo de agua simplástica al punto de pérdida de turgor, ϵ^* : módulo de elasticidad total, ϵ : módulo de elasticidad simplástico, C^*_{ft} : capacitancia total a turgor completo, $C^*_{t_{lp}}$: capacitancia total al punto de pérdida de turgor, C_{ft} : capacitancia relativa a turgor completo, $C_{t_{lp}}$: capacitancia relativa al punto de pérdida de turgor, $C_{ft\ abs}$: capacitancia relativa absoluta a turgor completo, LMA: <i>leaf mass per area</i> .	22
Tabla 3.2. Resultado del análisis de descomposición de varianza entre las poblaciones y entre los semilleros de todas las poblaciones de <i>Nothofagus macrocarpa</i> . Valores en negrita indican variabilidad atribuible a población o semilleros de las poblaciones, de acuerdo a la prueba estadística de descomposición de varianzas. Donde SWC: contenido saturado de agua, Ψ_o : potencial osmótico, $\Psi_{t_{lp}}$: potencial al punto de pérdida de turgor, af: fracción apoplástica, $RWC^*_{t_{lp}}$: contenido relativo de agua total al punto de pérdida de turgor, $RWC_{t_{lp}}$: contenido relativo de agua simplástica al punto de pérdida de turgor, ϵ^* : módulo de elasticidad total, ϵ : módulo de elasticidad simplástico, C^*_{ft} : capacitancia total a turgor completo, $C^*_{t_{lp}}$: capacitancia total al punto de pérdida	

de turgor, C_{ft} : capacitancia relativa a turgor completo, C_{tp} : capacitancia relativa al punto de pérdida de turgor, $C_{ft\ abs}$: capacitancia relativa absoluta a turgor completo, LMA: *leaf mass per area*. 29

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

- Figura 2.1. Distribución de las poblaciones de *Nothofagus macrocarpa* seleccionadas para el presente estudio. 11
- Figura 2.2. Cápsula de *Nothofagus macrocarpa* en la población Santuario de la Naturaleza Cerro el Roble. Fotografía tomada en enero de 2023. 13
- Figura 2.3. Semillas de *Nothofagus macrocarpa* (a). Remojo de semillas de *N. macrocarpa* en solución de 200 mg L⁻¹ de ácido giberélico (b). Siembra de *N. macrocarpa* en la cama de germinación (c) y plántulas de *N. macrocarpa* en cama de germinación (d). 15
- Figura 2.4. Plantas de *Nothofagus macrocarpa* en los contenedores. Fotografía tomada el 1 de junio de 2024. 16
- Figura 3.1. Variación del contenido relativo de agua al punto de pérdida de turgor (RWC_{tip}) (a) y el módulo de elasticidad (ϵ) (b) entre las poblaciones de *Nothofagus macrocarpa*, Santuario de la Naturaleza Alto Huemul (AH), Santuario de la Naturaleza Cerro Roble (CR), Parque Nacional Radal Siete Tazas (RST) y Reserva Nacional Roblería del Cobre de Loncha (LCDL). Dentro de cada barra las líneas discontinuas representan la media y la línea continua la mediana. Letras diferentes sobre las cajas indican diferencias significativas entre poblaciones de acuerdo a Tukey (HSD) para $p < 0,05$. 23
- Figura 3.2. Variación en el potencial osmótico a turgor completo (Ψ_o) entre los distintos semilleros de las poblaciones de *Nothofagus macrocarpa*, Santuario de la Naturaleza Alto Huemul (AH), Santuario de la Naturaleza Cerro el Roble (CR) y Reserva Nacional Roblería de Cobre de Loncha (LCDL) (a, b y c, respectivamente). Dentro de cada barra las líneas discontinuas representan la media y la línea continua la mediana. Letras diferentes sobre las cajas indican diferencias significativas entre semilleros de cada población de acuerdo a Tukey (HSD) para $p < 0,05$. 24

Figura 3.3. Variación en el contenido relativo de agua simplástica en el punto de pérdida de turgor (RWC_{tip}) entre los distintos semilleros de las poblaciones de *Nothofagus macrocarpa*, Santuario de la Naturaleza Alto Huemul (AH), Santuario de la Naturaleza Cerro el Roble (CR), y Reserva Nacional Roblería de Cobre de Loncha (LCDL) (a, b, y c, respectivamente). Dentro de cada barra las líneas discontinuas representan la media y la línea continua la mediana. Letras diferentes sobre las cajas indican diferencias significativas entre semilleros de cada población de acuerdo a Tukey (HSD) para $p < 0,05$. 25

Figura 3.4. Variación en la capacitancia simplástica relativa a turgor completo (C_{ft}) entre los distintos semilleros de las poblaciones de *Nothofagus macrocarpa*, Santuario de la Naturaleza Alto Huemul (AH), Santuario de la Naturaleza Cerro el Roble (CR) y Reserva Nacional Roblería de Cobre de Loncha (LCDL) (a, b, y c, respectivamente). Dentro de cada barra las líneas discontinuas representan la media y la línea continua la mediana. Letras diferentes sobre las cajas indican diferencias significativas entre semilleros de la misma población de acuerdo a Tukey (HSD) para $p < 0,05$. 26

Figura 3.5. Variación en la Capacitancia simplástica relativa a turgor cero (C_{tip}) entre los distintos semilleros de las poblaciones de *Nothofagus macrocarpa*, Santuario de la Naturaleza Alto Huemul (AH), Santuario de la Naturaleza Cerro el Roble (CR) y Reserva Nacional Roblería de Cobre de Loncha (LCDL) (a, b, y c, respectivamente). Dentro de cada barra las líneas discontinuas representan la media y la línea continua la mediana. Letras diferentes sobre las cajas indican diferencias significativas entre poblaciones de acuerdo a Tukey (HSD) para $p < 0,05$. 27

Figura 8.1. Suma de precipitaciones anuales (mm) (a) y temperatura promedio anual ($^{\circ}C$) (b) de las poblaciones de *Nothofagus macrocarpa*, la información fue extraída de Center for Climate and Resilience Research (CR). Recuperado de <https://explorador.cr2.cl/>. 48

RESUMEN

El cambio climático ha impactado la diversidad de bosques nativos, especialmente en Chile central. El estudio de rasgos funcionales es crucial para entender la capacidad de aclimatación frente al cambio climático y desarrollar estrategias de conservación. Este estudio evaluó la variabilidad intraespecífica de rasgos foliares en individuos germinados desde semilleros de cuatro poblaciones de *Nothofagus macrocarpa*, una especie amenazada y endémica de Chile central. Se calcularon parámetros de curvas presión-volumen y se analizaron utilizando un modelo lineal generalizado mixto. Además, se analizó la descomposición de varianzas para la variabilidad entre poblaciones y semilleros. Se observó diferenciación entre las poblaciones más al norte (Cerro el Roble, Roblería del Cobre de Loncha y Alto Huemul) que presentaron valores más altos de contenido relativo de agua al punto de pérdida de turgor ($RWC_{t_{lp}}$) y módulo de elasticidad (ϵ) que la más austral (Radal Siete Tazas), indicando distintas estrategias hidráulicas frente a la desecación entre ambos grupos poblacionales. Así, se recomienda considerar a Radal Siete Tazas para proyectos de restauración y complementar su variabilidad con poblaciones más al norte como Alto Huemul y Cerro el Roble que, además, presentan alta variación intraespecífica en capacitancia a turgor completo y al punto de pérdida de turgor (C_{ft} y $C_{t_{lp}}$, respectivamente) y en potencial osmótico a turgor completo (Ψ_o). Sin embargo, el análisis de descomposición de varianza indica que los rasgos

medidos sólo explican un 15 % de la variabilidad observada, por lo que otros rasgos en órganos perenes pudiesen explicar mejor las diferencias entre poblaciones.

ABSTRACT

Climate change has impacted the diversity of native forests, especially in central Chile. The research of functional traits is crucial to understand the acclimation capability to the effects of climate change and develop conservation strategies. This research assessed the intraspecific variability of leaf functional traits in seedlings produced from trees located in four *Nothofagus macrocarpa* populations, an endemic endangered species from central Chile. Parameters derived from pressure-volume curves were calculated and analyzed using generalized linear mixed models. Also, variance decomposition was analyzed to assess variability between trees and populations. Northern populations (Cerro el Roble, Roblería del Cobre de Loncha and Alto Huemul), showed higher relative water content at turgor loss point ($RWC_{t_{lp}}$) and modulus of elasticity (ϵ) than southern population (PN Radal Siete Tazas), pointing towards different hydraulic strategies during desiccation between both population groups. Thus, we recommend to consider Radal Siete Tazas for restoration projects and complement its variability with northern populations such as Alto Huemul and Cerro Roble that, also, showed high intraspecific variability in capacitance at full turgor and at turgor loss point (C_{ft} and $C_{t_{lp}}$, respectively) and in osmotic potential at full turgor (Ψ_o). However, variance decomposition analysis showed that measured traits only explained 15 % of observed variability, indicating that other

traits, mainly in perennial organs, could better explain differences between populations.

I. INTRODUCCIÓN

El cambio climático se caracteriza por un aumento de las temperaturas y patrones de precipitación alterados, junto con un aumento en la frecuencia de eventos como sequías e incendios forestales (Cavin et al., 2013; Xu et al., 2020). Predecir el impacto del cambio climático en el desempeño de las plantas es de gran importancia (Grierson et al., 2011). A pesar del debate sobre el papel relativo de los mecanismos fisiológicos interrelacionados que impulsan la mortalidad de los árboles, estos pueden acelerar la tasa de mortalidad bajo condiciones de altas temperaturas durante la sequía (Allen et al., 2015), lo que puede llevar a mortalidad por acumulación de eventos de cavitación y pérdida de la conductividad hidráulica (Sevanto et al., 2014; Allen et al., 2015) o por deficiencia de carbono como consecuencia del cierre estomático (Sevanto et al., 2014) . Según Brodribb et al., (2020), el aumento de la tensión hídrica en los conductos del xilema (potencial hídrico cada vez más negativo) durante la intensificación del déficit hídrico expone una vulnerabilidad universal de los árboles a la cavitación del xilema durante la sequía. El inevitable aumento de la intensidad y/o frecuencia de los eventos de sequía a medida que aumentan las temperaturas globales ya se han asociado con un aumento de la mortalidad de árboles, especialmente en individuos adultos, lo que plantea una grave preocupación sobre la capacidad de los bosques existentes para persistir en el futuro (Brodribb et al., 2020). Dichos cambios, afectan la zona central de Chile desde finales de la década de 1970

generando disminuciones en el crecimiento y mortalidad arbórea en tres especies del género *Nothofagus*, tales como *Nothofagus macrocarpa*, *Nothofagus glauca* y *Nothofagus alessandrii* (Canales, 2020).

Debido a las características geográficas y topográficas de Chile central, se han desarrollado una gran cantidad de especies endémicas (Venegas-González et al., 2019). Es en este escenario geográfico donde se encuentran los bosques caducifolios Mediterráneos de Chile central. Los bosques dominados por *N. macrocarpa* (comúnmente llamado "roble de Santiago") se encuentra entre las especies más importantes y amenazadas de estos ecosistemas (Venegas-González et al., 2019). Se encuentra clasificada como vulnerable (VU), de acuerdo al 16º Proceso de Clasificación de Especies Silvestres (MMA, 2020). Su distribución latitudinal recorre cerca de 160 km encontrándose entre el Cerro Campanita (32°55' S) hasta el sur de Pichilemu (34°25' S) por el sector cordillerano costero en forma discontinua y en el sector de Cordillera de los Andes desde San Fernando (34°37' S) hasta Vilches (35°35' S) (MMA, 2020). Actualmente las formaciones boscosas de esta especie se encuentran en las cumbres de los cerros, en zonas aisladas unas de otras y donde las condiciones del microclima permiten su sobrevivencia (MMA, 2020). El cambio climático podría desplazar las zonas climáticas actuales hacia al sur, pudiendo generar trastornos en el ecosistema natural que afectarían el desarrollo y supervivencia de *N. macrocarpa* (A.DC.) F.M.Vázquez & R.A.Rodr.(MMA, 2020). En la cual se

ha observado que sus formaciones boscosas están en regresión acelerada, ya que han disminuido en área y aumentado en fragmentación durante al menos los últimos 38 años (Gajardo et al., 2001).

La investigación en bosques tropicales y Mediterráneos ha revelado relaciones entre los rasgos funcionales, las tasas de supervivencia y crecimiento de los individuos en relación a las condiciones ambientales (Adler et al., 2014). Los "rasgos funcionales" se definen como rasgos morfológicos, fisiológicos y fenológicos que impactan indirectamente en el desempeño a través de sus efectos sobre el crecimiento, la reproducción y la supervivencia, los tres atributos del rendimiento individual (Violle et al., 2007). Por ejemplo, el *Leaf Mass per Area* (LMA) corresponde a la relación entre la biomasa foliar y su área, reflejando la inversión de recursos en la construcción de las hojas, y su efecto en el crecimiento y supervivencia en distintos entornos (Wright et al., 2004). Se ha descrito que el LMA generalmente aumenta con el incremento de la aridez y la escasez de nutrientes, lo que se asocia a un aumento en la resistencia a la sequía y aumento en la eficiencia en captura de recursos (Xu et al., 2020). A nivel fisiológico, los rasgos extraídos de la construcción de curvas presión-volumen describen las relaciones hídricas foliares, es decir, la interacción entre el potencial hídrico (potencial de presión, Ψ_p y potencial osmótico, Ψ_o) y el contenido de agua (Nadal et al., 2023). En particular, la inclusión de rasgos que

reflejen la tolerancia al estrés hídrico ayudaría en gran medida a discernir las compensaciones críticas a nivel foliar (Nadal et al., 2023).

Dos rasgos funcionales de gran interés corresponden al potencial hídrico al punto de pérdida de turgor ($\Psi_{\text{típ}}$), el cual corresponde a el potencial hídrico ($\Psi_{\text{H}_2\text{O}}$) al cual las células pierden turgor ($\Psi_p = 0$ MPa) debido a la pérdida de agua, y el potencial osmótico en turgencia completa (Ψ_o), asociado a la concentración de solutos celular en saturación, y fuertemente relacionado a $\Psi_{\text{típ}}$ (Sánchez-Díaz & Aguirreolea, 2008; Bartlett et al., 2012). Está establecido el papel directo de $\Psi_{\text{típ}}$ y Ψ_o en la determinación de la tolerancia fisiológica a la sequía (Bartlett et al., 2012). El $\Psi_{\text{típ}}$ está fuertemente relacionado con el Ψ_o y, en menor medida, con el módulo de elasticidad aparente (ϵ), entendido como el cambio en potencial de presión por cambio en el contenido de agua simplástico (Nadal et al., 2023). Un alto ϵ , tiene un papel indirecto en la adaptación a la sequía, ya que se mantiene el contenido relativo de agua total al punto de pérdida de turgencia ($\text{RWC}_{\text{típ}}$) y por lo tanto, la hidratación celular cuando el Ψ_o es bajo (más negativo) (Xiong & Nadal, 2020). Un metaanálisis de 317 especies de 72 estudios mostró que $\Psi_{\text{típ}}$ estaba fuertemente correlacionado con la disponibilidad de agua dentro y entre los biomas, lo que nos permite asociar los valores del $\Psi_{\text{típ}}$, a distintos tipos de hábitat y a condiciones de aridez. Así, un menor $\Psi_{\text{típ}}$ (más negativo) ocurre en plantas de hábitats con menor disponibilidad de agua (Bartlett et al., 2012), lo que

se asociaría a una mayor resistencia al déficit hídrico, ya que indica que la planta puede mantener el turgor celular a menores niveles de disponibilidad hídrica.

La medición de rasgos foliares más estructurales es útil para comprender las estrategias funcionales de las plantas y su desempeño en los distintos ecosistemas asociado a distinta disponibilidad de recursos (Wright et al., 2004). Según Nardini (2022), un alto LMA se correlaciona con la resistencia estructural de las hojas, ya que se ha comprobado que valores más altos de LMA están relacionados con hábitats secos y cálidos (de la Riva et al., 2016) y, de manera más general, en ecosistemas limitados en nutrientes (Poorter et al., 2009; Wright et al., 2002). Esta asociación entre los rasgos de las hojas que favorecen la rigidez mecánica y las condiciones ambientales limitantes, que restringen el intercambio de gases y la fotosíntesis, posiblemente refleja la ventaja adaptativa de una mayor vida útil de las hojas en tales condiciones, para asegurar una compensación adecuada y la recuperación de los costos de carbono incurridos por la planta en la construcción de hojas (Nardini, 2022).

La variación intraespecífica de rasgos funcionales se refiere a las diferencias genéticas, fenotípicas y del comportamiento que surgen dentro de una misma especie en distintos hábitats, lo que les permite aclimatarse y sobrevivir en ambientes cambiantes (Violle et al., 2007; Van Andel, 1998). La variación intraespecífica de los rasgos funcionales es informativa para predecir los cambios

en la distribución de las especies y capacidad de aclimatación en condiciones de cambio climático (Li et al., 2024). La variabilidad intraespecífica en el contexto de proyectos de restauración ecológica, no ha sido estudiada a profundidad para establecer las bases respecto a las poblaciones/individuos que se deben seleccionar en proyectos de restauración, ya que según Van Andel (1998) existen dos riesgos: (1) el riesgo de introducir material con muy poca variabilidad genética, y (2) el riesgo de introducir genotipos no deseados. Además, qué rasgos son más informativos para evaluar la tolerancia a la sequía sigue siendo una pregunta abierta, esto según Xu et al., (2020). Es por todo lo anterior, que resulta fundamental comprender la variación intraespecífica de los rasgos funcionales en *N. macrocarpa* a lo largo de su rango de distribución.

La medición de estos rasgos funcionales en las distintas poblaciones de *N. macrocarpa* es fundamental para lograr su conservación *ex situ*, en el Campus Naturaleza de la Universidad de Concepción, desde el punto de vista de selección de poblaciones y/o individuos. Campus Naturaleza, es un proyecto enfocado en la conservación y restauración de la diversidad biológica que subsiste en los últimos ecosistemas nativos terrestres y acuáticos, adyacentes a su Campus Patrimonial. Una de las líneas de acción de Campus Naturaleza UdeC es la conservación *ex situ*, que se define como la conservación de especies fuera de su distribución natural. Entre las tres especies de *Nothofagus* a utilizar se encuentra *N. macrocarpa*. Al comprender los rasgos funcionales, es posible

seleccionar las poblaciones más apropiadas para futuras acción de restauración, desde el punto de vista de rasgos funcionales asociados a la tolerancia al estrés hídrico.

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, la pregunta de investigación y la hipótesis del proyecto de tesis son las siguientes:

- ¿Existe variación intraespecífica en rasgos funcionales foliares a lo largo del rango de distribución de *N. macrocarpa* en Chile?
- La variación intraespecífica en los rasgos funcionales foliares de *N. macrocarpa*, es significativamente mayor entre los semilleros de las poblaciones.

El objetivo general de este estudio es determinar la variación intraespecífica de *N. macrocarpa*, en rasgos funcionales foliares a lo largo de su rango de distribución en Chile. Para dar cumplimiento al objetivo general, los objetivos específicos fueron los siguientes:

- Medir la variación de los rasgos funcionales foliares de *N. macrocarpa* a lo largo de su rango de distribución.

- Determinar la proporción de la varianza atribuible a las diferencias de los rasgos funcionales foliares de *N. macrocarpa* entre poblaciones y a nivel intrapoblacional.
- Examinar la relación entre los rasgos funcionales y las condiciones ambientales específicas en las que crece cada población de *N. macrocarpa*.

II. METODOLOGÍA

2.1 Descripción del área de estudio

Para este estudio, se utilizaron individuos de cuatro poblaciones de distintas procedencias de *N. macrocarpa*, que fueron viverizados en el Centro Tecnológico de la Planta Forestal (CTPF) del Instituto Forestal (INFOR), (36°50'24"S, 73°7'48"W) Región of Biobío, Chile. Las procedencias correspondieron a cuatro áreas silvestres protegidas (ASP): El Santuario de la Naturaleza Cerro el Roble (71°0'57.011"W, 32°58'31.014"S), Región de Valparaíso; La Reserva Nacional Roblería del Cobre de Loncha (70°59'35.584"W, 34°6'53.475"S), Región Metropolitana; El Santuario de la Naturaleza Alto Huemul (70°43'54.259"W, 34°48'55.457"S), Región del Libertador Bernardo O'Higgins y El Parque Nacional Radal Siete Tazas, Región del Maule (71°0'56.891"W, 35°27'30.032"S) (Figura 2.1).

El clima de El Santuario de la Naturaleza Cerro el Roble (CR) es de tipo templado mesotermal con régimen de humedad semi-árido (Csb1Sa) (Santibáñez Quezada, 2017). La temperatura varía entre un máximo de enero de 25,9 °C y un mínimo de julio de 3,8 °C. Tiene un promedio de 209 días consecutivos libres de heladas y se registran un promedio de 20 heladas al año. El período de temperaturas favorables para la actividad vegetativa dura siete meses. La

precipitación media anual es de 543 mm y un período seco de siete meses, con un déficit hídrico de 1.022 mm año⁻¹ y el período húmedo dura cuatro meses (Santibáñez Quezada, 2017). El clima de La Reserva Nacional Roblería del Cobre de Loncha (LCDL), El Santuario de la Naturaleza Alto Huemul (AH) y El Parque Nacional Radal Siete Tazas (RST) es templado cálido supratermal con régimen de humedad semi-árido (Csb2Sa). La temperatura varía entre un máximo de enero de 29,6 °C y un mínimo de julio de 3,8 °C. Tienen un promedio de 261, 227, y 236 días consecutivos libres de heladas, respectivamente. En el año se registran un promedio de entre 9 y 12 heladas. El período de temperaturas favorables a la actividad vegetativa dura entre 9 y 11 meses. La precipitación media anual es de 407 mm y un período seco de ocho meses, con déficit hídrico de 1.098 mm año⁻¹ (Santibáñez Quezada, 2017). El período húmedo dura cuatro meses (mayo-agosto), con una precipitación total de 553 mm en La Reserva Nacional Roblería del Cobre de Loncha (LCDL), El Santuario de la Naturaleza Alto Huemul (AH) y El Parque Nacional Radal Siete Tazas (RST).

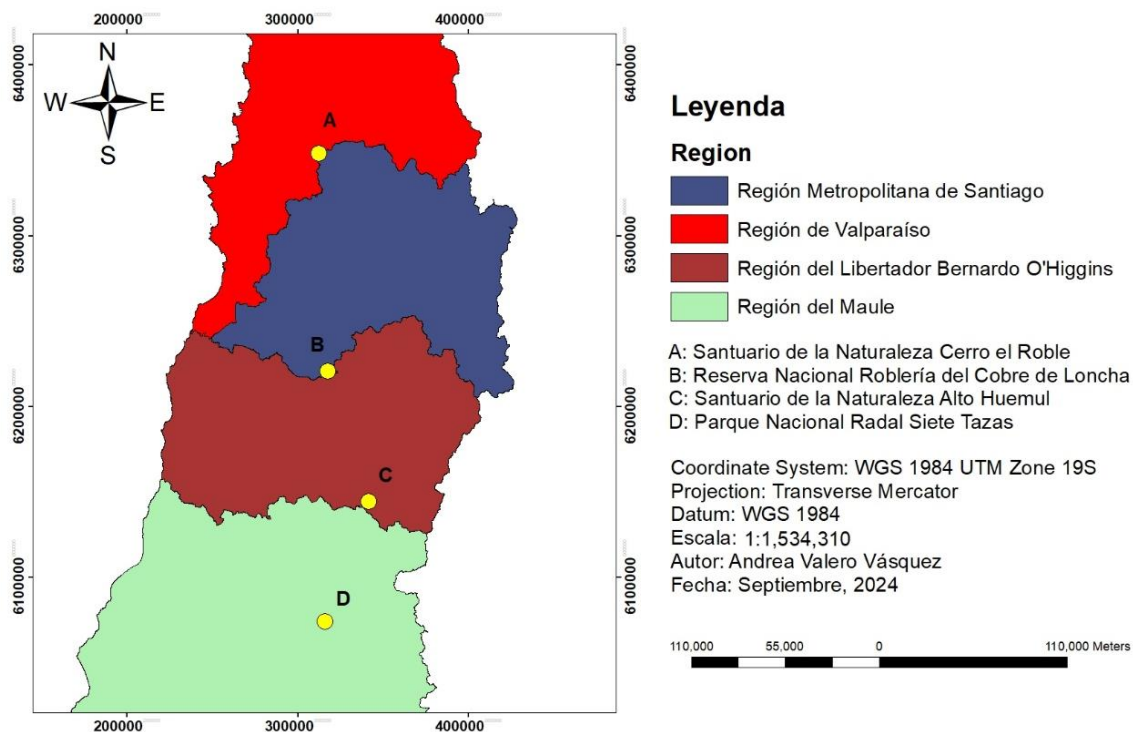


Figura 2.1. Distribución de las poblaciones de *Nothofagus macrocarpa* seleccionadas para el presente estudio.

Las formaciones vegetacionales predominantes en CR son el bosque hidrófilo, bosque caducifolio, matorral andino, matorral espinoso xerófito y bosque esclerófilo, además presenta la roblería más boreal de Chile de tipo relicto, es decir, establecida hace miles de años en condiciones climáticas diferentes a las actuales, (*Santuario De La Naturaleza "Santuario De La Naturaleza Sector Del Cerro El Roble"* - SIMBIO, n.d.). La LCDL se caracteriza por los bosques compuestos por *N. macrocarpa* y hualo (*Nothofagus glauca*), bosque esclerófilo de peumo (*Cryptocarya alba*), matorral esclerófilo de litre (*Lithraea cáustica*) y puyales (*Puya alpestris*) (*Reserva Nacional «Roblería del Cobre de Loncha»* - SIMBIO, s. f.). El AH se caracteriza por presentar el último remanente de un tipo

forestal que constituía la vegetación típica de la precordillera andina, es decir, un denso bosque de *N. macrocarpa*, además en las quebradas cerca de los cursos de agua, se encuentran especies como maitén (*Maytenus boaria*), canelo (*Drimys winteri*), olivillo (*Aextoxicon punctatum*) y radal (*Lomatia hirsuta*) (*Santuario de la Naturaleza «Santuario de la Naturaleza Predio Alto Huemul» - SIMBIO, s. f.*). El RST presenta el tipo forestal roble (*N. obliqua*, *N. glauca*, *N. macrocarpa*), raulí (*N. alpina*), coigüe (*N. dombeyi*) (*Parque Nacional «Radal Siete Tazas (PN)» - SIMBIO, s. f.*).

2.2 Colecta de semillas de *Nothofagus macrocarpa*

Las colectas de *N. macrocarpa* fueron realizadas por el equipo del proyecto “*Conserving and restoring the threatened Nothofagus species in South America*”, financiado por Fundación Franklinia de Suiza, liderado por el Laboratorio de Ecología de Paisaje (LEP) de la Universidad de Concepción, y co-ejecutado por el Instituto Forestal (INFOR), Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Universidad de Talca (UTAL), Universidad Católica del Maule (UCM), Universidad de Chile (UCh), Fundación el Árbol de Talca y el Botanic Garden Conservation International (BGCI).

Para el proceso de recolección de semillas de *N. macrocarpa*, el Instituto Forestal (INFOR) con sede en San Pedro de la Paz, utilizó el protocolo del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), que consta de las siguientes etapas:

2.2.1 Recolección de semillas de *Nothofagus macrocarpa*

Se seleccionaron 31 árboles madre en total de las cuatro poblaciones de *N. macrocarpa* para realizar la colecta de semillas (Figura 2.2). La colecta se realizó el 20 de enero del 2023 en CR, 24 de febrero del 2023 en LCDL, el 7 de febrero del 2023 en AH y el 23 de febrero del 2023 en RST. Las semillas se colectaron directamente de los árboles madre. Las semillas fueron guardadas en bolsas de papel para permitir la permeabilidad de la humedad y fueron trasladadas en un cooler al sitio en donde se limpiaron para su germinación (Figura 3d).



Figura 2.2. Cápsula de *Nothofagus macrocarpa* en la población Santuario de la Naturaleza Cerro el Roble. Fotografía tomada en enero de 2023.

2.2.2 Germinación y proceso de producción

En el proceso de germinación y producción, las semillas de *N. macrocarpa* utilizadas fueron identificadas para mantener la trazabilidad de las semillas, detallando la procedencia, nombre del colector, árbol semillero y fecha de colecta. La siembra se realizó el 23 de octubre 2023 en el Instituto Forestal (INFOR) (Figura 2.3c). Dado que las semillas presentan una latencia fisiológica (INIA, 2023), se aplicó un tratamiento pre-germinativo que consistió en remojo en ácido giberélico a una concentración de 200 mg L⁻¹ por 48 hrs (Figura 2.3b), tras las cuales se enjuagaron y separaron las semillas flotantes ya que son inviables en su mayoría, mientras que las que se encontraban hundidas fueron traspasadas a camas de germinación (Figura 2.3c). Finalmente, las semillas se cubrieron con una capa de sustrato (compost de corteza de pino con granulometría < 10 mm) y se aplicó riego diariamente hasta el momento de la emergencia (20 días desde la siembra) (Figura 2.3d). Posteriormente, 25 días después de la emergencia, se realizó el repique de plantas una vez que se desarrolló el primer par de hojas verdaderas, es decir, el trasplante de plántulas desde la cama de germinación al contenedor.

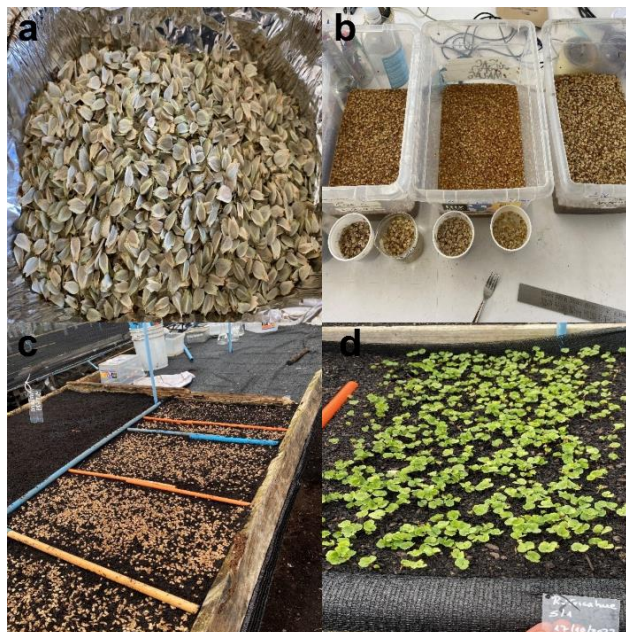


Figura 2.3. Semillas de *Nothofagus macrocarpa* (a). Remojo de semillas de *N. macrocarpa* en solución de 200 mg L^{-1} de ácido giberélico (b). Siembra de *N. macrocarpa* en la cama de germinación (c) y plántulas de *N. macrocarpa* en cama de germinación (d).

2.2.3 Fase de pleno crecimiento

Esta etapa se llevó a cabo desde los primeros días de diciembre del 2023 hasta mayo del año 2024. El manejo del riego y fertilización se realizó mediante fertirrigación, es decir, es una solución de fertilizantes con agua de riego. La fertilización se aplicó en la metodología y concentraciones descritas por Acevedo et al., (2020). La frecuencia de fertilización, se realizó de forma alternada al riego (riego-fertirriego-riego), manteniendo como criterio la pérdida del 50 % del almacenamiento de agua. La utilización de estas concentraciones de los elementos por parte del CTPF, permitió obtener plantas de *N. macrocarpa* con 50 cm de longitud de tallo y un diámetro a la altura del cuello (DAC) de 5,5 mm en promedio (Figura 2.4).



Figura 2.4. Plantas de *Nothofagus macrocarpa* en los contenedores. Fotografía tomada el 1 de junio de 2024.

2.3 Curvas presión-volumen

Finalizada la viverización, se determinaron las relaciones presión-volumen (PV) en cuatro poblaciones de *N. macrocarpa*, considerando tres individuos por semillero de cada población (60 muestras en total); 21 AH, 27 CR, 3 RST y 9 LCDL (Tabla 2.1).

Tabla 2.1. Poblaciones de *Nothofagus macrocarpa*, semilleros y número de semilleros por población.

Poblaciones	Semillero	N° de muestras	Total de muestras por procedencia
Santuario de la Naturaleza Cerro el Roble	1	3	27
	2	3	
	6	3	
	7	4	
	8	2	
Reserva Nacional Roblería del Cobre de Loncha	9	3	9
	3	3	
	20	3	
Santuario de la Naturaleza Alto Huemul	25	3	21
	1	3	
	2	3	
	3	3	
	4	6	
	6	3	
Parque Nacional Radal Siete Tazas	7	3	3
	1	3	
Total			60

Los parámetros obtenidos de las curvas de PV foliares (Tabla 2) se midieron de acuerdo con el protocolo de desecación descrito por Tyree y Hammel (1972). Se permitió que las hojas se deshidrataran lentamente en condiciones de laboratorio, y Ψ_{leaf} y el peso fresco se midió de forma periódica hasta alcanzar valores de -3,0 MPa de Ψ_{leaf} . Para la medición Ψ_{leaf} , se utilizó una bomba de presión Scholander modelo 1505D- EXP (PMS Instruments, Albany, OR, Estados Unidos) y la masa húmeda se midió con una balanza analítica (OHAUS, modelo PX224).

El día previo a cada medición, las plantas se regaron a capacidad de contenedor para asegurar un alto nivel de hidratación. Se oscurecieron dos hojas con papel aluminio para asegurar valores máximos de Ψ_{leaf} . En pre-alba, se cortó una hoja completamente desarrollada del tercio superior del individuo con un bisturí y se midió el Ψ_{leaf} , y se guardó en una bolsa ziploc para pesarla inmediatamente en la balanza analítica. El Ψ_{leaf} se midió entre las 08:00 a.m y las 17:00 p.m, al igual que la masa. Al finalizar, se registró el peso de la bolsa ziploc y se tomó una fotografía de la hoja para medir área foliar y ponerla a secar a 70 °C en una bolsa de papel por 48 hrs, para luego obtener el peso seco (DW). El área foliar se midió utilizando el software ImageJ (Rasband,/NIH, Bethesda, MD, USA). El LMA se calculó dividiendo el DW por el área foliar. Se calcularon los LMA de todas las hojas utilizadas para la medición de curvas presión-volumen.

El potencial hídrico en el punto de pérdida de turgor (Ψ_{tjp}) se identificó como el punto de inflexión de la curva: $1/\Psi_{leaf}$ vs contenido relativo de agua (RWC). El módulo de elasticidad (ϵ) se estimó como la pendiente del potencial de turgencia (Ψ_p) frente al RWC en la fase desde la turgencia completa hasta el punto de pérdida de turgor ($\Psi_p = 0 MPa$). La capacitancia en turgencia completa (C_{ft}) se calculó a partir de la pendiente de la porción lineal de RWC y Ψ_{leaf} , antes del Ψ_{tjp} , normalizada al contenido de agua saturada en el área foliar (Álvarez-Maldini et al., 2022).

Tabla 2.2. Parámetros calculados de las curvas presión-volumen de *Nothofagus macrocarpa*, con sus respectivas unidades, símbolos totales y simplasto.

Símbolo (unidad)	Símbolo (total)	Símbolo (simplasto)	Definición
Ψ_{tlp} (MPa)			Potencial osmótico a turgencia completa, calculado como el potencial de soluto al 100% del contenido relativo de agua.
Ψ_o (MPa)			Potencial osmótico a turgencia completa, visualmente estimado como el punto donde la relación RWC^* y $-1/\Psi_{\text{leaf}}$ es lineal.
af (%)			Fracción apoplástica, o la proporción del contenido de agua de la hoja fuera de las células vivas, calculada como RWC^* en donde $-1/\Psi_{\text{leaf}} = 0$
$\text{RWC}^*_{\text{tlp}}$ (%)	$\text{RWC}^*_{\text{tlp}}$	RWC_{tlp}	Contenido relativo de agua total o simplástica al punto de pérdida de turgor, visualmente estimado de Ψ_{tlp} .
ε (MPa)	ε^*	ε	Módulo de elasticidad, calculado como el cambio en el potencial de presión sobre el cambio en el contenido relativo de agua total o simplástica.
C_{ft} (MPa) ⁻¹	C^*_{ft}	C_{ft}	Capacitancia relativa a turgencia completa, calculada como el cambio en el potencial de presión sobre el cambio en Ψ_{leaf} entre la completa hidratación y Ψ_{tlp} .
C_{tlp} (MPa) ⁻¹	C^*_{tlp}	C_{tlp}	Capacitancia relativa a turgor cero, calculada como el cambio en el contenido relativo de agua total o simplástica sobre el cambio en Ψ_{leaf} luego de alcanzar Ψ_{tlp} .
C_{ft} (g m ⁻² MPa ⁻¹)			Capacitancia absoluta por área foliar a turgencia completa.

2.4 Análisis de datos

Los análisis de datos de este estudio observacional se realizaron usando el software SAS versión 9.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Para ello, se utilizó un “modelo jerárquico” o de “factor anidado”, en que las fuentes de variación fueron población y semillero anidado en Población. Para ello, se utilizó un modelo lineal generalizado mixto, mediante el procedimiento PROC GLIMMIX (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) con selección de la distribución usando el Criterio de Información de Akaike (AIC) y el Criterio de Información Bayesiano (BIC). Las diferencias estadísticas entre medias se realizaron con la prueba de Tukey (HSD) para comparaciones múltiples con un 95% de confianza. Para determinar los efectos de las poblaciones y de los semilleros anidados en las poblaciones, en la variabilidad de los rasgos funcionales foliares, se realizó la descomposición de varianzas. Esta prueba estadística permitió identificar si los efectos de los grupos tenían un impacto significativo en la variabilidad de los parámetros o si la variabilidad era atribuible al residual. Todas las visualizaciones se realizaron con software de gráficos SigmaPlot 14.0 (Systat Software Inc., San Jose, CA, USA).

III. RESULTADOS

3.1 Efectos fijos de la variabilidad intraespecífica entre las poblaciones de *Nothofagus macrocarpa*

Se encontraron diferencias significativas entre poblaciones ($p < 0,05$) en el contenido relativo de agua al punto de pérdida de turgor (RWC_{tip}) y en el módulo de elasticidad (ϵ) (Tabla 3.1).

El RWC_{tip} más bajo se encontró en la población RST con un promedio de $43,98 \pm 3,59$ %, mientras que no hubo diferencias entre CR, AH y LCDL, las cuales presentaron un valor de $64,45 \pm 2,28$ %, $70,50 \pm 2,22$ %, y $73,14 \pm 2,83$ %, respectivamente (Figura 3.1a). Respecto a ϵ , se observaron diferencias significativas entre AH con CR y RST ($p < 0,05$); y entre este último con AH y LCDL. El ϵ más bajo se encontró en la población RST con un promedio de $2,26 \pm 0,42$ MPa, seguido por CR con un promedio de $3,63 \pm 0,20$ MPa y LCDL con un promedio de $4,51 \pm 0,42$ MPa. Mientras que el ϵ más alto se presentó en AH con un promedio de $5,00 \pm 0,60$ MPa (Figura 3.1b).

Tabla 3.1. Variabilidad de los parámetros medidos entre las poblaciones y entre los semilleros de *Nothofagus macrocarpa*. Valores en negrita indican diferencias significativas entre poblaciones para $p < 0,05$ de acuerdo a Tukey (HSD). Donde df: grados de libertad, SWC: contenido saturado de agua, Ψ_o : potencial osmótico, Ψ_{tip} : potencial al punto de pérdida de turgor, af: fracción apoplástica, RWC^*_{tip} : contenido relativo de agua total al punto de pérdida de turgor, RWC_{tip} : contenido relativo de agua simplástica al punto de pérdida de turgor, ϵ^* : módulo de elasticidad total, ϵ : módulo de elasticidad simplástico, C^*_{ft} : capacitancia total a turgor completo, C^*_{tip} : capacitancia total al punto de pérdida de turgor, C_{ft} : capacitancia relativa a turgor completo, C_{tip} : capacitancia relativa al punto de pérdida de turgor, $C_{ft\ abs}$: capacitancia relativa absoluta a turgor completo, LMA: *leaf mass per area*.

	df	SWC	Ψ_o	Ψ_{tip}	Af	RWC^*_{tip}	RWC_{tip}	ϵ^*	ϵ	C^*_{ft}	C^*_{tip}	C_{ft}	C_{tip}	$C_{ft\ abs}$	LMA
Población	3	0,417	0,109	0,389	0,089	0,343	0,005	0,387	0,009	0,440	0,835	0,534	0,125	0,758	0,532
Semilleros (Población)	15	0,685	0,000	0,113	0,507	0,063	0,019	0,690	0,861	<,000	<,000	0,008	0,074	0,001	0,447

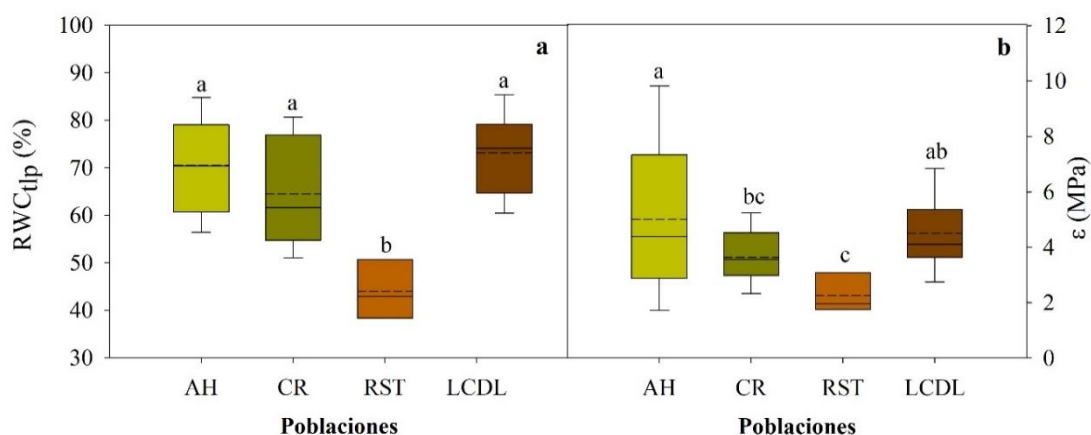


Figura 3.1. Variación del contenido relativo de agua al punto de pérdida de turgor (RWC_{tlp}) (a) y el módulo de elasticidad (ϵ) (b) entre las poblaciones de *Nothofagus macrocarpa*, Santuario de la Naturaleza Alto Huemul (AH), Santuario de la Naturaleza Cerro Roble (CR), Parque Nacional Radal Siete Tazas (RST) y Reserva Nacional Roblería del Cobre de Loncha (LCDL). Dentro de cada barra las líneas discontinuas representan la media y la línea continua la mediana. Letras diferentes sobre las cajas indican diferencias significativas entre poblaciones de acuerdo a Tukey (HSD) para $p < 0,05$.

3.2 Efectos fijos de las diferencias entre semilleros de las poblaciones de *Nothofagus macrocarpa*

De acuerdo al contraste de medias se encontraron diferencias significativas entre los semilleros de las poblaciones ($p < 0,05$) en el potencial osmótico (Ψ_o), contenido relativo de agua simplástica al punto de pérdida de turgor (RWC_{tlp}), capacitancia simplástica relativa a turgor completo (C_{ft}) y la capacitancia simplástica relativa al punto de pérdida de turgor (C_{tlp}) (Tabla 3.1).

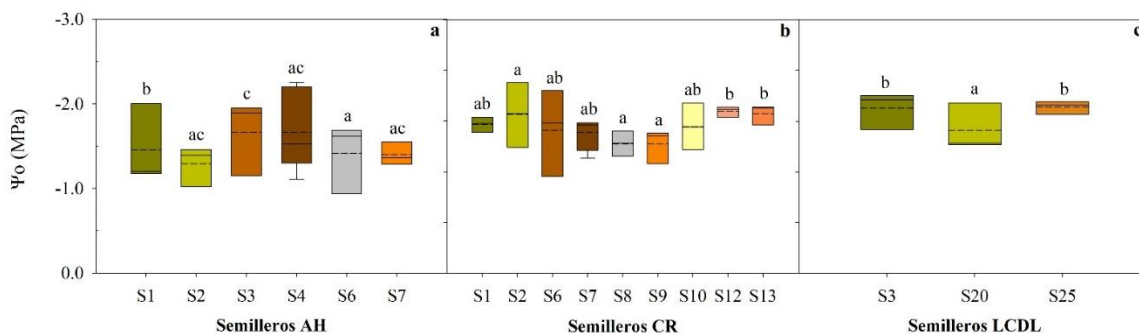


Figura 3.2. Variación en el potencial osmótico a turgor completo (Ψ_0) entre los distintos semilleros de las poblaciones de *Nothofagus macrocarpa*, Santuario de la Naturaleza Alto Huemul (AH), Santuario de la Naturaleza Cerro el Roble (CR) y Reserva Nacional Roblería de Cobre de Loncha (LCDL) (a, b y c, respectivamente). Dentro de cada barra las líneas discontinuas representan la media y la línea continua la mediana. Letras diferentes sobre las cajas indican diferencias significativas entre semilleros de cada población de acuerdo a Tukey (HSD) para $p < 0,05$.

El Ψ_0 más bajo, en la población AH se encontró en el semillero 3 con un promedio de $-1,67 \pm 0,26$ MPa y el Ψ_0 más alto, corresponde al semillero 2 con un promedio de $-1,29 \pm 0,14$ MPa (Figura 3.2a). El Ψ_0 más bajo, en la población CR se encontró en el semillero 12 con un promedio de $-1,60 \pm 0,03$ MPa y el valor más alto de Ψ_0 se encontró en el semillero 9 con un promedio de $-1,27 \pm 0,17$ MPa (Figura 3.2b). Para LCDL el Ψ_0 más bajo se encontró en el semillero 25 con un promedio de $-1,64 \pm 0,04$ MPa y el valor más alto (menos negativo) se obtuvo en el semillero 20 con un promedio de $-1,41 \pm 0,13$ MPa (Figura 3.2c). La población RST obtuvo un promedio de $-1,14 \pm 0,13$ MPa en su único semillero.

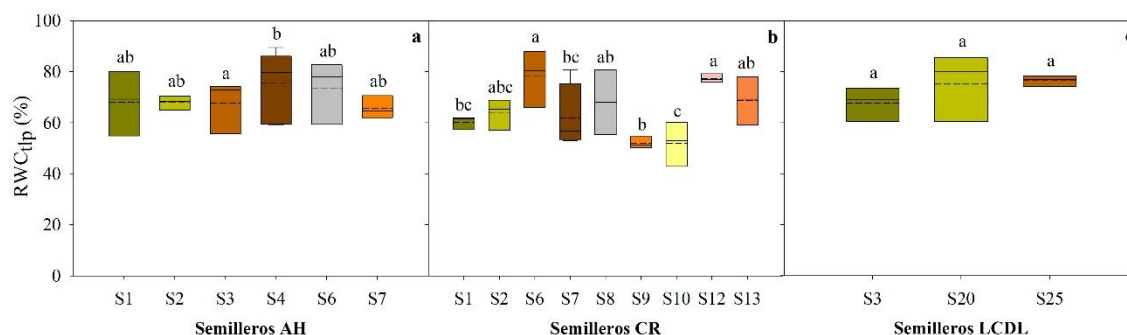


Figura 3.3. Variación en el contenido relativo de agua simplástica en el punto de pérdida de turgor (RWC_{tlp}) entre los distintos semilleros de las poblaciones de *Nothofagus macrocarpa*, Santuario de la Naturaleza Alto Huemul (AH), Santuario de la Naturaleza Cerro el Roble (CR), y Reserva Nacional Roblería de Cobre de Loncha (LCDL) (a, b, y c, respectivamente). Dentro de cada barra las líneas descontinuas representan la media y la línea continua la mediana. Letras diferentes sobre las cajas indican diferencias significativas entre semilleros de cada población de acuerdo a Tukey (HSD) para $p < 0,05$.

El RWC_{tlp} en la población AH fue menor en el semillero 7 con un promedio de $65,78 \pm 2,54$ % y mayor en el semillero 4 con un promedio de $75,41 \pm 5,41$ % (Figura 3.3a). En la población CR el RWC_{tlp} fue menor en el semillero 9 con un promedio de $51,95 \pm 1,33$ % y mayor en el semillero 12 con un promedio de $77,34 \pm 0,99$ % (Figura 3.3b). En la población LCDL, no se encontraron diferencias en el RWC_{tlp} , por lo que los semilleros presentan un valor promedio de $73,14 \pm 4,21$ % (Figura 3.3c). La población RST obtuvo un valor promedio de $43,98 \pm 3,59$ % en su único semillero.

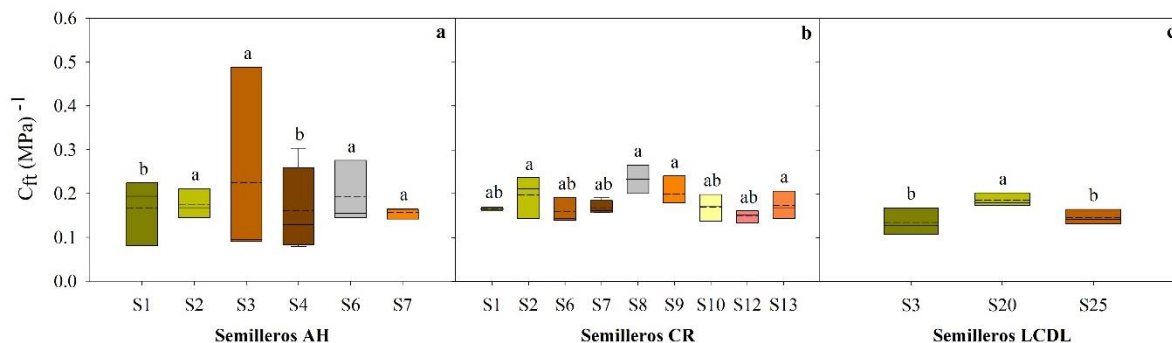


Figura 3.4. Variación en la capacitancia simplástica relativa a turgor completo (C_{ft}) entre los distintos semilleros de las poblaciones de *Nothofagus macrocarpa*, Santuario de la Naturaleza Alto Huemul (AH), Santuario de la Naturaleza Cerro el Roble (CR) y Reserva Nacional Roblería de Cobre de Loncha (LCDL) (a, b, y c, respectivamente). Dentro de cada barra las líneas discontinuas representan la media y la línea continua la mediana. Letras diferentes sobre las cajas indican diferencias significativas entre semilleros de la misma población de acuerdo a Tukey (HSD) para $p < 0,05$.

La C_{ft} en la población AH fue menor en el semillero 4 con un promedio de $0,16 \pm 0,04 \text{ MPa}^{-1}$ y el valor más alto de C_{ft} se encontró en el semillero 3 con un promedio de $0,23 \pm 0,13 \text{ MPa}^{-1}$ (Figura 3.4a). En la población CR el menor valor de C_{ft} se encontró en el semillero 12 con un promedio de $0,15 \pm 0,01 \text{ MPa}^{-1}$ y el valor más alto se obtuvo en el semillero 8 con un promedio de $0,23 \pm 0,03 \text{ MPa}^{-1}$ (Figura 3.4b). Por último, en LCDL en el C_{ft} no se observaron diferencias significativas entre los semilleros 3 y 25, que presentaron un valor de $0,14 \pm 0,02 \text{ MPa}^{-1}$ y $0,15 \pm 0,001 \text{ MPa}^{-1}$, respectivamente, mientras que el semillero 20 de $0,19 \pm 0,01 \text{ MPa}^{-1}$ (Figura 3.4c). La población RST obtuvo un promedio de $0,22 \pm 0,02 \text{ MPa}^{-1}$ en su único semillero medido.

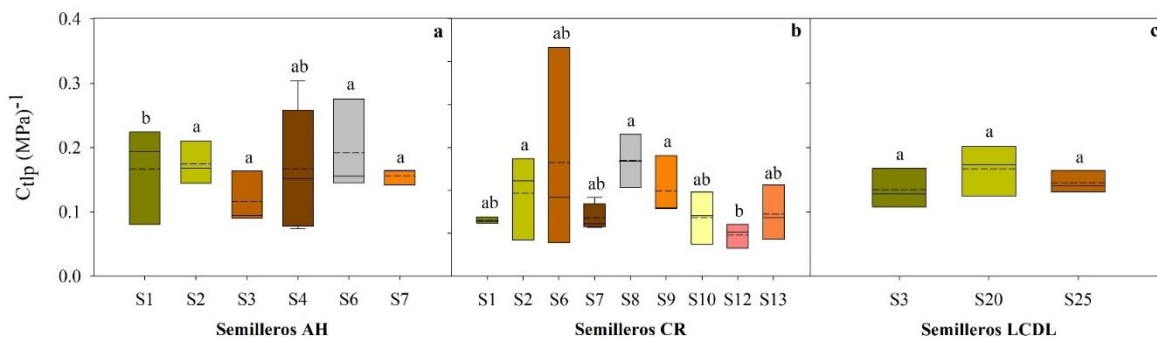


Figura 3.5. Variación en la Capacitancia simplástica relativa a turgor cero ($C_{t_{lp}}$) entre los distintos semilleros de las poblaciones de *Nothofagus macrocarpa*, Santuario de la Naturaleza Alto Huemul (AH), Santuario de la Naturaleza Cerro el Roble (CR) y Reserva Nacional Roblería de Cobre de Loncha (LCDL) (a, b, y c, respectivamente). Dentro de cada barra las líneas discontinuas representan la media y la línea continua la mediana. Letras diferentes sobre las cajas indican diferencias significativas entre poblaciones de acuerdo a Tukey (HSD) para $p < 0,05$.

Respecto a $C_{t_{lp}}$ en la población AH fue menor en el semillero 3 con un promedio de $0,12 \pm 0,02 \text{ MPa}^{-1}$ y el valor mayor fue para el semillero 1 con un promedio de $0,17 \pm 0,04 \text{ MPa}^{-1}$ (Figura 3.5a). Para la población CR, la menor $C_{t_{lp}}$ la tuvo el semillero 12 con un promedio de $0,15 \pm 0,01 \text{ MPa}^{-1}$ y el valor mayor fue para el semillero 8 con un promedio de $0,23 \pm 0,03 \text{ MPa}^{-1}$ (Figura 3.5b). En el caso de LCDL en la $C_{t_{lp}}$, no existieron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los semilleros que presentaron un valor promedio de $0,15 \pm 0,02 \text{ MPa}^{-1}$ (Figura 3.5c). La población RST obtuvo un promedio de $0,21 \pm 0,02 \text{ MPa}^{-1}$ en su único semillero medido.

3.3 Efectos aleatorios

De acuerdo con el análisis de descomposición de varianzas, se encontró que los efectos de los grupos: Población y Semillero (población), no tuvieron impactos significativos ($p > 0,05$) sobre la variabilidad en los rasgos, por lo que la variabilidad de las respuestas fisiológicas que se midieron en el estudio no se explica en su mayoría por las poblaciones o por la influencia de los semilleros (Tabla 3.2). En la capacitancia simplástica relativa a turgor cero (C_{tip}) hubo variabilidad atribuible a las poblaciones de *N. macrocarpa*. Mientras que en la capacitancia absoluta a turgor completo ($C_{ft\ abs}$) se encontró variabilidad atribuible a los semilleros de la poblaciones. Por lo tanto, la mayoría de la variabilidad de los parámetros es atribuible al residual (Tabla 3.2).

Tabla 3.2. Resultado del análisis de descomposición de varianza entre las poblaciones y entre los semilleros de todas las poblaciones de *Nothofagus macrocarpa*. Valores en negrita indican variabilidad atribuible a población o semilleros de las poblaciones, de acuerdo a la prueba estadística de descomposición de varianzas. Donde SWC: contenido saturado de agua, Ψ_o : potencial osmótico, $\Psi_{t_{lp}}$: potencial al punto de pérdida de turgor, af: fracción apoplástica, $RWC^*_{t_{lp}}$: contenido relativo de agua total al punto de pérdida de turgor, $RWC_{t_{lp}}$: contenido relativo de agua simplástica al punto de pérdida de turgor, ϵ^* : módulo de elasticidad total, ϵ : módulo de elasticidad simplástico, C^*_{ft} : capacitancia total a turgor completo, $C^*_{t_{lp}}$: capacitancia total al punto de pérdida de turgor, C_{ft} : capacitancia relativa a turgor completo, $C_{t_{lp}}$: capacitancia relativa al punto de pérdida de turgor, $C_{ft\ abs}$: capacitancia relativa absoluta a turgor completo, LMA: *leaf mass per area*.

	SWC	Ψ_o	$\Psi_{t_{lp}}$	af	$RWC^*_{t_{lp}}$	$RWC_{t_{lp}}$	ϵ^*	ϵ	C^*_{ft}	$C^*_{t_{lp}}$	C_{ft}	$C_{t_{lp}}$	$C_{ft\ abs}$	LMA
Población	0	2	0	0	0	0	0	3	7	0	0	15	0	0
Semilleros (Población)	0	1	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0
Residual	100	97	91	100	100	100	100	97	93	100	100	85	89	100

IV. DISCUSIÓN

4.1 El módulo de elasticidad (ϵ) y contenido relativo de agua al punto de turgor (RWC_{tip}) explican diferencias entre poblaciones de *Nothofagus macrocarpa*

Tanto Ψ_{tip} como Ψ_o son parámetros estrechamente relacionados con la resistencia a la sequía, debido a que valores menores (más negativos) se han reportado en especies que habitan en climas áridos o con sequías estacionales (Bartlett et al., 2012, 2014; Lenz et al., 2005). Por lo tanto, se esperaba encontrar valores menores (más negativos) en las poblaciones más al norte que poseen una menor disponibilidad hídrica, lo que indicaría una mayor tolerancia a la aridez. Sin embargo, no se observaron diferencias en Ψ_{tip} o Ψ_o , entre las distintas poblaciones evaluadas. En concordancia, Li et al. (2019), tampoco encontraron diferencias en el Ψ_{tip} entre individuos de *Bankia serrata*, un arbusto leñoso nativo de Australia, al comparar tres poblaciones con diferencias en precipitación media anual y temperatura. Por otra parte, el valor promedio del Ψ_{tip} y el Ψ_o para *N. macrocarpa* corresponden a $-2,19 \pm 0,37$ MPa y $-1,46 \pm 0,28$ MPa, respectivamente; los que coinciden con los reportados por Bartlett et al. (2012) para especies de clima Mediterráneo. Por el contrario, ϵ y LMA presentaron valores promedio de $4,17 \pm 1,96$ MPa y $89,10 \pm 27,85$ g m⁻², respectivamente, los que son menores a los obtenidos en el mismo meta-análisis ($17,9 \pm 2,5$ MPa y 184 ± 23 g m⁻², respectivamente) para especies Mediterráneas. Esto indica que *N. macrocarpa* posee hojas con menor rigidez celular (menor ϵ) y menor costo de

construcción (menor LMA) (Niinemets, 2001; Poorter et al., 2009) que lo reportado para especies de clima Mediterráneo. Esto podría deberse a que *N. macrocarpa* es una especie caducifolia, que a diferencia del resto de especies leñosas de clima Mediterráneo suelen ser perennes. Por lo tanto desarrolla hojas con un menor costo de construcción de menor longevidad, para asignar más recursos al crecimiento de órganos perennes y tener una alta eficiencia fotosintética por unidad de masa (Fu et al., 2012).

Los bajos valores de ϵ y LMA, son concordantes con Fu et al. (2012) para especies caducifolias, quienes observaron que las especies perennes tenían un ϵ más alto y un mayor LMA, lo que implica hojas más rígidas, gruesas y longevas, adaptadas para resistir condiciones de sequía prolongada. Por el contrario, las especies caducas con menor ϵ y LMA, constituyen hojas más flexibles, delgadas, de menor costo de construcción y menor vida útil, favoreciendo la alta capacidad fotosintética y la tasa de crecimiento rápido (Fu et al., 2012). Resultados similares respecto al LMA se han observado entre especies caducifolias y perennes de climas tropicales, donde además, el Ψ_{tip} no está asociado a disponibilidad hídrica en especies caducas (Kunert et al., 2020), sugiriendo que la habilidad de una especie para la abscisión foliar en condiciones de estrés hídrico neutraliza el beneficio de un menor (más negativo) Ψ_{tip} .

En el $RWC_{típ}$, que corresponde al contenido relativo de agua que retiene un tejido en el momento de pérdida de turgor, se observaron claras diferencias entre la población más austral RST, que presenta un valor menor de $RWC_{típ}$ que las poblaciones del norte, CR, AH y LCDL, que pueden mantener valores más altos de $RWC_{típ}$. La tendencia opuesta fue observada en relación a ϵ , que fue significativamente mayor en las poblaciones del norte. Esta relación entre $RWC_{típ}$ y ϵ se condice con la “hipótesis de conservación de agua celular” (Cheung et al., 1975; Jones, 1992), en donde aumentos en ϵ (ajuste elástico) son necesarios para mantener un elevado $RWC_{típ}$ en condiciones de estrés hídrico (Lawlor & Cornic, 2002). En concordancia Bartlett et al. (2012), mediante un análisis de sensibilidad, confirmaron que si bien el ϵ no tiene un rol directo en parámetros de tolerancia al estrés, como menor $\Psi_{típ}$ y Ψ_o , si posee un rol en mantener volumen y RWC celular. Así, se espera que un alto ϵ , en concomitancia con una disminución en Ψ_o (ajuste osmótico), permita que las células eviten la deshidratación por debajo de un umbral peligroso de $RWC_{típ}$. Por otra parte, Nadal et al. (2018) reportaron que un ϵ alto también se relacionó con una baja capacitancia foliar y mayores limitaciones difusivas a la fotosíntesis (células más pequeñas o compactas), característica distintiva de hojas con mayor inversión en desarrollo de pared celular. Esto concuerda con lo descrito por Nadal et al. (2018), quienes sugieren que hojas con mayor ϵ tienden a conservar mejor el agua y el volumen celular para evitar colapsos celulares prematuros bajo condiciones de estrés hídrico. Resultados similares de las diferencias observadas

en ϵ , se reportaron en *B. serrata* (Li et al., 2019) en donde, los individuos seleccionados del sitio cálido-seco (distribución norte) mostraron un ϵ más alto en comparación con aquellos provenientes de sitios con mayor disponibilidad hídrica.

Por el contrario, hojas con menor ϵ en RST, permiten una disminución de $RWC_{t_{lp}}$ hasta $43,98 \pm 3,59$ %, valor significativamente menor al 75 % que indica el límite de contenido de agua bajo el cual se inhibe el metabolismo celular (síntesis de ATP, proteínas, y ribulosa-1,5-bifosfato) (Lawlor & Cornic, 2002). La disminución en ϵ en RST, refleja una baja inversión en pared celular característica de hojas con baja longevidad (Goldstein & Nobel, 1991; Loik & Nobel, 1991). Estas características indicarían que individuos de RST presentarían rápida abscisión foliar en condiciones de déficit hídrico sin activar mecanismos de ajuste elástico u osmótico.

4.2 El potencial osmótico a turgor completo (Ψ_o) y la capacitancia total a turgor completo (C_{ft}) y al punto de pérdida de turgor ($C_{t_{lp}}$) explican las diferencias entre los semilleros de las poblaciones de *Nothofagus macrocarpa*.

En los semilleros de las poblaciones de *N. macrocarpa* hubo diferencias significativas en el Ψ_o , sobre todo en la población AH, que presentó un alto rango de valores de este rasgo a nivel intra-poblacional. Esta variación sugiere que algunos semilleros tendrían una mayor capacidad de ajuste osmótico, lo que

puede deberse a diferencias genéticas o a la influencia del ambiente (Lenz et al., 2005). Bartlett et al. (2012, 2014) reportaron que el Ψ_o se ve afectado por las condiciones ambientales del sitio, especialmente por la disponibilidad de agua, ya que a mayor disponibilidad de agua mayor Ψ_o (menos negativo), indicando que podría existir variaciones de disponibilidad hídrica a nivel intra-poblacional, especialmente en la población AH. Por otra parte, según Lenz et al. (2006), en su estudio sobre la optimización de la termografía para detectar el cierre estomático inducido por estrés hídrico, un Ψ_o más negativo como se puede observar en el semillero uno y cuatro de AH (Figura 6), está asociado a una estrategia de tolerancia al estrés hídrico, mientras que un Ψ_o menos negativo como se encontró en la población LCDL, induce al cierre estomático temprano protegiendo a la planta de la deshidratación pero con limitaciones en la fotosíntesis.

Así mismo, se observó una alta variación de la C_{ft} en la población AH, la cual se define como la capacidad del tejido vegetal para almacenar y liberar agua cuando las células están completamente turgentes (Salomón et al., 2017). Una alta C_{ft} permite que las células liberen agua almacenada sin perder turgencia durante eventos de estrés hídrico, amortiguando las fluctuaciones en el potencial hídrico y retrasando el punto de pérdida de turgor (Scoffoni et al., 2017). Por el contrario, una baja C_{ft} implica una respuesta más rápida al estrés, como el cierre estomático temprano, adoptando una estrategia hídrica más conservadora, así, variaciones

de C_{ft} a nivel intra-poblacional indicaría la presencia individuos con distintas estrategias frente a déficit hídrico. De manera similar, se observó una alta variación en la C_{tlp} , en la población CR, la cual se define como la capacidad del tejido vegetal para almacenar agua y mantener agua al punto de pérdida de turgor. Estudios como los de Bartlett et al. (2012) y Meinzer et al. (2008) han demostrado que especies con alta C_{tlp} , suelen ser más tolerantes a la sequía, ya que pueden mantener mayores reservas de agua para mantener la turgencia celular y procesos metabólicos durante periodos de sequía, retrasando la desecación (Choat et al., 2012) y aumentando la eficiencia en el transporte de agua (Blackman & Brodribb, 2011). Esta variación en C_{ft} y C_{tlp} entre los semilleros de *N. macrocarpa*, en especial en AH y CR, respectivamente, sugiere que hay diversidad en las estrategias hidráulicas y en la capacidad de respuesta al estrés hídrico.

Desde el punto de vista de conservación *ex situ*, es relevante considerar las variaciones intra-poblacionales en Ψ_o para la población AH y en C_{ft} en CR. Por lo tanto, sería importante coleccionar semillas de distintos semilleros para que se abarque la amplia variabilidad de estrategias hidráulicas y respuesta frente a déficit hídrico. Para CR es importante considerar el amplio rango de valores de C_{tlp} entre los semilleros, porque indican diferencias en la capacidad de almacenamiento y liberación de agua en la transición hacia la pérdida de turgencia (Blackman & Brodribb, 2011). Esta variación podría deberse a

estructuras especializadas que permiten amortiguar la pérdida de agua y retrasar la plasmólisis, lo cual es respaldado por Nguyen et al. (2017), en *Avicennia marina*, manglar gris distribuido ampliamente en regiones tropicales y subtropicales, donde identifican tres dominios en las curvas presión-volumen: (1) un dominio inicial dominado por la pérdida de agua extracelular almacenada en estructuras especializadas como tricomas y cisternas en el pecíolo, (2) un dominio intermedio donde la reducción de volumen celular ocurre antes de la pérdida total de turgencia, y (3) un dominio final caracterizado por la plasmólisis celular. Las diferencias en C_{tip} observadas en CR podrían estar reflejando una variabilidad similar a la de *A. marina*, en la cual se indica que una mayor C_{tip} se asocia a un mayor almacenamiento de agua en tejidos celulares lo que permite amortiguar la pérdida de agua y retrasar la llegada del Ψ_{tip} . Esta variabilidad sugiere que algunos individuos podrían poseer una mayor capacidad de retención hídrica antes de alcanzar el punto de pérdida de turgencia, lo que puede traducirse en diferencias en la tolerancia a la sequía.

Sin embargo, de acuerdo al análisis de descomposición de varianza, gran parte de la variabilidad entre poblaciones no se explica por los rasgos foliares evaluados, esto plantea la incógnita de si las poblaciones son funcionalmente similares o si existen otros rasgos funcionales que podrían explicar mejor las diferencias entre poblaciones. Como se mencionó anteriormente, *N. macrocarpa* es una especie caducifolia con hojas de bajo costo de construcción (bajo LMA y

ε), por lo que es probable que los rasgos de órganos perennes como el tallo o raíz, jueguen un papel crucial para determinar la tolerancia a la sequía de esta especie. Esto se respalda con el estudio de Fu et al. (2012), en el cual encontraron que los árboles caducos dependen de tallos hidráulicamente eficientes y alta fotosíntesis para crecer en la estación húmeda, mientras que los siempreverdes resisten mejor la sequía teniendo un xilema resistente a la cavitación y hojas que mantienen la turgencia. Esto sugiere que, en especies caducas como *N. macrocarpa*, los rasgos hidráulicos de tallos tales como: densidad de madera, conductividad hidráulica, o resistencia a la cavitación en tallos podrían ser clave para la tolerancia a la sequía a largo plazo, diferenciando mejor las poblaciones que los rasgos foliares. En este sentido, resulta relevante considerar el trabajo de Mathiasen et al. (2020), quienes señalan que los patrones genéticos actuales de *N. macrocarpa* fueron moldeados por las oscilaciones climáticas en el centro de Chile. Esto sugiere que las diferencias genéticas entre poblaciones podrían estar influyendo en la variabilidad observada, aunque no se reflejen completamente en los rasgos foliares medidos en este estudio. Por lo tanto, integrar análisis genéticos o explorar rasgos funcionales en órganos perennes, podría proporcionar una comprensión más completa de las diferencias intraespecíficas en esta especie. Por ejemplo, Pritzkow et al. (2020) destacan cómo la plasticidad fenotípica y la adaptación genética de rasgos hidráulicos influyen en la variación intraespecífica en eficiencia y seguridad hidráulica. De acuerdo con Fu et al. (2012), existe una correlación evolutiva entre la eficiencia

hidráulica del tallo y la tolerancia al estrés hídrico de las hojas, lo que sugiere que especies caducifolias pueden compensar la pérdida de hojas mediante un sistema vascular en tallo más eficiente y una mayor capacidad de resistencia a la cavitación.

4.3 Implicancias para la conservación *ex situ* de *Nothofagus macrocarpa*

Las diferencias fisiológicas entre las poblaciones de *N. macrocarpa* analizadas en este estudio tienen implicancias directas en la selección de poblaciones e individuos para implementar acciones de restauración en sitios fuera de su rango de distribución. En particular, se observaron diferencias significativas en el RWC_{tip} y en el ϵ entre las poblaciones del norte: CR, AH y LCDL con valores más altos y la población del sur, RST, con valores más bajos. Esto indicaría diferentes estrategias de resistencia al estrés hídrico, por lo que es necesario considerar para restauración al menos una población del norte con RST. Dentro de dos poblaciones, se identificó alta variabilidad en rasgos clave como Ψ_o y en la C_{ft} , por lo que se debería asegurar la selección de varios individuos de cada población de *N. macrocarpa* en programas de restauración. Una diversidad amplia en estos parámetros sugiere la presencia de diferentes estrategias fisiológicas frente al estrés hídrico, lo que aumentaría el potencial de aclimatación de individuos procedentes de AH y CR. Esto es relevante para la distribución futura de *N. macrocarpa* en el contexto del cambio climático, ya que tendrá la capacidad de adaptarse a escenarios de mayor aridez.

Para la restauración, esta variabilidad representa una oportunidad para seleccionar individuos con combinaciones de bajo Ψ_o , alta C_{ft} y alta C_{tip} , esto permitiría la coexistencia de estrategias contrastantes: algunos individuos con alta concentración de solutos para retener el agua intracelular y mantener el turgor, otros con una mayor capacidad de almacenamiento de agua cuando están completamente hidratados y otras con mayores reservas de agua disponible, incluso en condiciones de sequía severa.

Según Mathiasen et al. (2020), la conservación de *N. macrocarpa* es crucial debido a su condición de especie paleoendémica en el centro de Chile, ya que tuvo una distribución más amplia en el pasado, pero actualmente se encuentra restringida a un área geográfica reducida debido a los cambios ambientales y/o geológicos. A pesar de que la especie ha persistido como un relictos a lo largo de fluctuaciones climáticas en la región central de Chile, los climas futuros proyectados sugieren una disminución *in situ* de la distribución de la especie, con la mayor reducción del área de idoneidad de *N. macrocarpa* para 2070 (Mathiasen et al., 2020), por lo que su conservación es vital para mantener la biodiversidad y los procesos ecológicos en los ecosistemas mediterráneos de Chile central. Para futuros proyectos de restauración se recomienda considerar a la población RST por su diferenciación con las demás poblaciones, AH por la gran variación en los parámetros de Ψ_o y C_{ft} y CR por su gran variación en C_{tip} .

V. CONCLUSIONES

Las poblaciones de *Nothofagus macrocarpa* poseen limitada diferenciación términos de rasgos funcionales foliares, ya que la mayor variabilidad se encontró entre los semilleros de las poblaciones. Además, parte de la variabilidad no se explica por los rasgos funcionales foliares medidos, por lo que está la posibilidad de que existan otros parámetros que pudieran explicar las diferencias observadas. Desde el punto de vista de conservación, es bastante evidente la diferenciación que existe en el $RWC_{t_{lp}}$ y ϵ , entre las poblaciones que tienen una distribución más al norte (CR, LCDL, y AH), con la población RST, que posee la distribución más al sur y por lo tanto es la población más diferente a las otras. Esto implica diferentes estrategias frente al déficit hídrico. Por otro lado, la mayor variabilidad en Ψ_o y C_{ft} en AH y la alta variabilidad de $C_{t_{lp}}$ en CR indica una alta plasticidad fenotípica en estas poblaciones, crucial para la resiliencia en ambientes cambiantes. En este contexto, se recomienda priorizar la población RST en proyectos de conservación, se sugiere fomentar el flujo genético con poblaciones del norte como AH y CR, maximizando así la diversidad genética y funcional. Se recomienda realizar estudios de variabilidad genética para confirmar la distinción de RST y diseñar estrategias de restauración que promuevan la adaptación y conservación de *N. macrocarpa* en un escenario de cambio climático.

VI. GLOSARIO

Áreas Silvestres Protegidas: Espacio geográfico definido, declarado oficialmente y designado con una categoría de manejo en virtud de su importancia natural, cultural y/o socioeconómica, para cumplir con determinados objetivos de conservación y de gestión.

Conservación *ex situ*: se refiere a la conservación fuera de los ambientes naturales de los componentes de la diversidad biológica: especies, poblaciones y genes.

GLIMMIX: Los modelos lineales generalizados mixtos, son una extensión de los modelos lineales generalizados que incorporan tanto efectos fijos como efectos aleatorios. Esto permite modelar datos en los que las observaciones no son independientes, como ocurre en estudios con estructuras jerárquicas, longitudinales o agrupadas.

Restauración ecológica: proceso intencionado de intervenir en un ecosistema degradado, dañado o alterado para recuperar sus estructuras, funciones y procesos ecológicos esenciales, buscando acercarlo a un estado natural o a un estado de referencia previamente definido.

VII. BIBLIOGRAFÍA

Acevedo, M., Álvarez, C., Cartes, E. *et al.* Técnicas de producción y establecimiento para la restauración de *Nothofagus alessandrii*, una especie clave en peligro de extinción en un bosque mediterráneo. *New Forests* **51** , 159–174 (2020).

Adler, P. B., Salguero-Gómez, R., Compagnoni, A., Hsu, J. S., Ray-Mukherjee, J., Mbeau-Ache, C., & Franco, M. (2013). Functional traits explain variation in plant life history strategies. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America*, 111(2), 740-745.

Allen, C. D., Breshears, D. D., & McDowell, N. G. (2015). On underestimation of global vulnerability to tree mortality and forest die-off from hotter drought in the Anthropocene. *Ecosphere*, 6(8), 1-55.

Álvarez-Maldini, C., Acevedo, M., Estay, D., Aros, F., Dumroese, R. K., Sandoval, S., & Pinto, M. (2022). Examining physiological, water relations, and hydraulic vulnerability traits to determine anisohydric and isohydric behavior in almond (*Prunus dulcis*) cultivars: Implications for selecting agronomic cultivars under changing climate. *Frontiers in plant science*, 13, 974050.

Bartlett, M. K., Scoffoni, C., & Sack, L. (2012). The determinants of leaf turgor loss point and prediction of drought tolerance of species and biomes: a global meta-analysis. *Ecology Letters*, 15(5), 393-405.

Bartlett, M. K., Zhang, Y., Kreidler, N., Sun, S., Ardy, R., Cao, K., & Sack, L. (2014). Global analysis of plasticity in turgor loss point, a key drought tolerance trait. *Ecology letters*, 17(12), 1580–1590.

Blackman, C. J., & Brodribb, T. J. (2011). Two measures of leaf capacitance: insights into the water transport pathway and hydraulic conductance in leaves. *Functional plant biology: FPB*, 38(2), 118–126.

Brodribb, T. J., Powers, J., Cochard, H., & Choat, B. (2020). Hanging by a thread? Forests and drought. *Science*, 368(6488), 261-266.

Calderón, F. U., Sierra, A.O & Acevedo, M.T. (2024). Producción de plantas de *Nothofagus* con fines de conservación y restauración. *Instituto Forestal (INFOR)*, 1-6.

Canales Cornejo, C. (2020). Influencia de la variabilidad climática del último siglo sobre los patrones de crecimiento radial y mortalidad de un bosque de *Nothofagus* del Parque Nacional Radal Siete Tazas. Repositorio de la Universidad de Chile.

Cavin, L., Mountford, E. P., Peterken, G. F., & Jump, A. S. (2013). Extreme drought alters competitive dominance within and between tree species in a mixed forest stand. *Functional Ecology*, 27(6), 1424-1435.

Cheung, Y. N., Tira, R. W., Monte, C., & Delicado, Y. (1975). Water relation parameters on single leaves obtained with a pressure bomb and some ecological interpretations. *Canadian Journal of Botany*, 53(12), 1342–1346.

Choat, B., Jansen, S., Brodribb, T. J., Cochard, H., Delzon, S., Bhaskar, R., Bucci, S. J., Feild, T. S., Gleason, S. M., Hacke, U. G., Jacobsen, A. L., Lens, F., Maherali, H., Martínez-Vilalta, J., Mayr, S., Mencuccini, M., Mitchell, P. J., Nardini, A., Pittermann, J., . . . Zanne, A. E. (2012). Global convergence in the vulnerability of forests to drought. *Nature*, 491(7426), 752-755.

De la Riva, E. G., Olmo, M., Poorter, H., Ubera, J. L., & Villar, R. (2016). Leaf Mass per Area (LMA) and Its Relationship with Leaf Structure and Anatomy in 34 Mediterranean Woody Species along a Water Availability Gradient. *PloS One*, 11(2), e0148788.

Del Congreso Nacional Siit, B. (s. f.). *Clima y Vegetación*. bcn.cl.

Díaz, M. S., & Morales, J. A. (2008). El agua en la planta: movimiento del agua en el sistema suelo-planta-atmósfera. *Fundamentos de Fisiología Vegetal*, 2, 25-39.

Fajardo, A., & Piper, F. I. (2010). Intraspecific trait variation and covariation in a widespread tree species (*Nothofagus pumilio*) in southern Chile. *New Phytologist*, 189(1), 259-271.

Farrell, C., Szota, C., & Arndt, S. K. (2017). Does the turgor loss point characterize drought response in dryland plants? *Plant, cell & environment*, 40(8), 1500–1511.

Gajardo Michell, R.. (2001). Antecedentes sobre el "roble de Santiago" o "roble blanco" (*Nothofagus macrocarpa*) y sus problemas de conservación. *Bosque Nativo*, n.28. páginas 03-07.

Fu, P.-L., Jiang, Y.-J., Wang, A.-Y., Brodribb, T. J., Zhang, J.-L., Zhu, S.-D., & Cao, K.-F. (2012). Stem hydraulic traits and leaf water-stress tolerance are coordinated with the leaf phenology of angiosperm trees in an Asian tropical dry karst forest. *Annals of Botany*, 110(1), 189–199.

Goldstein, G., y Nobel, PS (1994). Relaciones hídricas y aclimatación a bajas temperaturas para especies de cactus con tolerancia a la congelación variable. *Plant Physiology*, 104 (2), 675-681.

Grant, OM, Chaves, MM y Jones, HG (2006). Optimizing thermal imaging as a technique for detecting stomatal closure induced by drought stress under greenhouse conditions. *Physiologia Plantarum*, 127 (4), 507-518.

Grierson, C. S., Barnes, S. R., Chase, M. W., Clarke, M., Grierson, D., Edwards, K. J., Jellis, G. J., Jones, J. D., Knapp, S., Oldroyd, G., Poppy, G., Temple, P., Williams, R., & Bastow, R. (2011). One hundred important questions facing plant science research. *New Phytologist*, 192(1), 6-12.

Jones, M. M., & Turner, N. C. (1978). Osmotic adjustment in leaves of sorghum in response to water deficits. *Plant Physiology*, 61(1), 122–126.

Kunert, N., Zailaa, J., Herrmann, V., Muller-Landau, HC, Wright, SJ, Pérez, R., McMahon, SM, Condit, RC, Hubbell, SP, Sack, L., Davies, SJ, & Anderson-Teixeira, KJ (2021). Leaf turgor loss point shapes local and regional distributions of evergreen but not deciduous tropical trees. *New Phytol*, 230: 485-496.

Lawlor, D. W., & Cornic, G. (2002). Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, cell & environment*, 25(2), 275–294.

Li Ximeng, Blackman Chris J., Choat Brendan, Rymer Paul D., Medlyn Belinda E., Tissue David T. (2019). Los rasgos de tolerancia a la sequía no varían entre sitios que difieren en la disponibilidad de agua en *Banksia serrata* (Proteaceae). *Functional Plant Biology* 46, 624-633.

Lin, Y., Lai, Y., Tang, S., Cavender-Bares, J., Peñuelas, J., Sardans, J., Liu, J., Zhang, L., & Kuang, Y. (2024). Environment-driven intraspecific variation shows coordination of functional traits of deciduous oaks among and within different biological levels. *Journal Of Forestry Research*, 35(1).

Loik, ME, y Nobel, PS (1991). Relaciones hídricas y aumento de mucopolisacáridos en un cactus resistente al invierno durante la aclimatación a temperaturas bajo cero. *Oecologia* , 88 , 340-346.

Mathiasen, P., Venegas-González, A., Fresia, P., & Premoli, AC (2020). A relic of the past: current genetic patterns of the palaeoendemic tree *Nothofagus macrocarpa* were shaped by climatic oscillations in central Chile. *Annals of Botany*, 126 (5), 891–904.

MMA. (2020). Propuesta de clasificación definitiva 16o Proceso de clasificación de especies silvestres – *Clasificación de especies*, 16, 1-10.

Nadal, M., Clemente-Moreno, M.J., Perera-Castro, A.V., Roig-Oliver, M., Onoda, Y., Gulías, J. et al. (2023). Incorporating pressure–volume traits into the leaf economics spectrum. *Ecology Letters*, 26, 549–562.

Nardini, A. (2022). Hard and tough: the coordination between leaf mechanical resistance and drought tolerance. *Flora*, 288, 152023.

Niinemets, Ü. (2001). Global-scale climatic controls of leaf dry mass per area, density, and thickness in trees and shrubs. *Ecology*, 82: 453-469.

Parque Nacional «Radal Siete Tazas (PN)» - SIMBIO. (s. f.).

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 Phytologist*, 182(3), 565-588.

Pritzkow, C., Williamson, V., Szota, C., Trouvé, R., & Arndt, S. K. (2020). Phenotypic plasticity and genetic adaptation of functional traits influences intra-specific variation in hydraulic efficiency and safety. *Tree physiology*, 40(2), 215–229.

Reserva Nacional «Roblería del Cobre de Loncha» - SIMBIO. (s. f.).

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

Santuario de la Naturaleza «Santuario de la Naturaleza Predio Alto Huemul» - SIMBIO. (s. f.).

Santuario de la Naturaleza “Santuario de la Naturaleza Sector del Cerro El Roble” - SIMBIO. (s. f.).

Sevanto, S., McDowell, N. G., Dickman, L. T., Pangle, R., & Pockman, W. T. (2014). How do trees die? A test of the hydraulic failure and carbon starvation hypotheses. *Plant, cell & environment*, 37(1), 153–161

Van Andel, J. (1998). Intraspecific variability in the context of ecological restoration projects. *Perspectives In Plant Ecology, Evolution And Systematics*, 1(2), 221-237.

Venegas-González, A., Roig, F. A., Peña-Rojas, K., Hadad, M. A., Aguilera-Betti, I., & Muñoz, A. A. (2019). Recent Consequences of Climate Change Have Affected Tree Growth in Distinct *Nothofagus Macrocarpa* (DC.) FM Vaz & Rodr Age Classes in Central Chile. *Forests*, 10(8), 653.

Violle, C., Navas, M., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I., & Garnier, E. (2007). Let the concept of trait be functional! *Oikos*, 116(5), 882-892.

Wright, I. J., Dong, N., Maire, V., Prentice, I. C., Westoby, M., Díaz, S., Gallagher, R. V., Jacobs, B. F., Kooyman, R., Law, E. A., Leishman, M. R., Niinemets, Ü., Reich, P. B., Sack, L., Villar, R., Wang, H., & Wilf, P. (2017). Global climatic drivers of leaf size. *Science*, 357(6354), 917-921.

Wright, I. J., Reich, P. B., Westoby, M., Ackerly, D. D., Baruch, Z., Bongers, F., Cavender-Bares, J., Chapin, T., Cornelissen, J. H. C., Diemer, M., Flexas, J., Garnier, E., Groom, P. K., Gulias, J., Hikosaka, K., Lamont, B. B., Lee, T., Lee, W., Lusk, C., . . . Villar, R. (2004). The worldwide leaf economics spectrum. *Nature*, 428(6985), 821-827.

Xiong, D., & Nadal, M. (2020). Linking water relations and hydraulics with photosynthesis. *The Plant journal: for cell and molecular biology*, 101(4), 800–815.

Xu, G., Arndt, S. K., & Farrell, C. (2020). Leaf Traits of Drought Tolerance for 37 Shrub Species Originating from a Moisture Gradient. *Water*, 12(6), 1626.

VIII. APÉNDICE

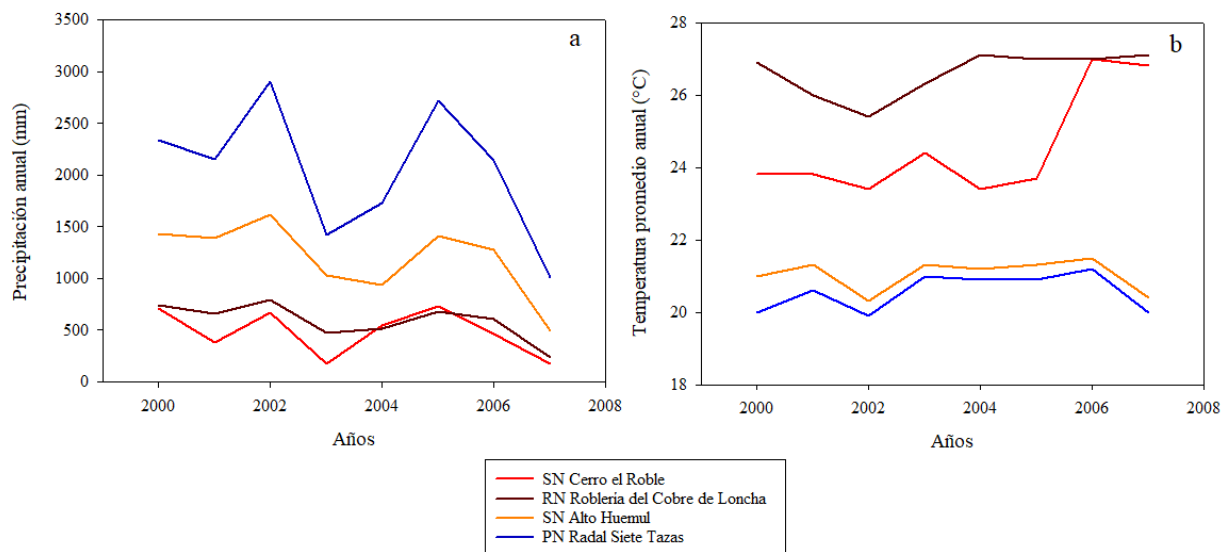


Figura 8.1. Suma de precipitaciones anuales (mm) (a) y temperatura promedio anual (°C) (b) de las poblaciones de *Nothofagus macrocarpa*, la información fue extraída de *Center for Climate and Resilience Research (CR)*. Recuperado de <https://explorador.cr2.cl/>.