



# **Absorción foliar de agua en especies de ecosistemas áridos**

*Tesis presentada para optar al título de Doctor en Ciencias biológicas de la Universidad Nacional  
de la Patagonia San Juan Bosco*

**Tesista: Ing. Agr. Agustin Cavallaro**

Directores:

Dra. Sandra J. Bucci

Dr. Fabián G. Scholz

Lugar de trabajo

Grupo de Estudios Biofísicos y Ecofisiológicos (GEBEF)

Departamento de Biología y Ambiente, Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la  
Salud, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco.

Instituto de Biociencias de la Patagonia (INBIOP, UNPSJB – CONICET)

## **Agradecimientos**

A la Universidad por su carácter de pública, gratuita y laica.

A Sandra y Fabián, por la oportunidad y la ayuda brindada en estos años.

A mis compañeros del GEBEF, especialmente con quienes compartí tantas campañas de campo.

Al INTA por brindar el espacio de trabajo para poder realizar esta y varias otras tesis, y en especial al personal del Campo Experimental Rio Mayo.

A Guillermo Goldstein, por la colaboración brindada.

Al FONCyT y al CONICET, por la financiación para llevar a cabo este estudio.

A mis amigos, los de siempre y los que hice gracias al doctorado.

A mi familia por su ayuda y constante apoyo a pesar de la distancia.

A lili, única.

# Índice general

<b>Capítulo 1</b> .....	<b>18</b>
1.1 INTRODUCCIÓN GENERAL .....	18
1.2 ESTRUCTURA DE LA TESIS .....	25
<b>Capítulo 2</b> .....	<b>26</b>
2.1 INTRODUCCIÓN .....	26
2.2 MATERIALES Y MÉTODOS .....	30
2.2.1 Sitio de estudio .....	30
2.2.2 Tamaño de los pulsos de lluvia .....	36
2.2.3 Agua libre sobre la hoja .....	36
2.2.4 Contenido volumétrico de agua del suelo .....	37
2.2.5 Variación del nivel freático .....	37
2.2.6 Intercepción .....	37
2.2.7 Cobertura .....	38
2.2.8 Transpiración .....	38
2.2.9 Absorción foliar .....	40
2.2.10 Análisis estadístico .....	41
2.3 RESULTADOS .....	42
2.4 DISCUSIÓN .....	54
<b>Capítulo 3</b> .....	<b>60</b>
3.1 INTRODUCCIÓN .....	60
3.2 MATERIALES Y METODOS .....	63
3.2.1 Sitio y especies de estudio .....	63
3.2.2 Tamaño foliar .....	63
3.2.3 Adhesividad .....	63
3.2.4 Ángulo de contacto y retención de una gota de agua de la superficie foliar .....	64
3.2.5 Densidad estomática .....	65
3.2.6 Conductancia cuticular .....	66
3.2.7 Cantidad de pequeñas partículas de materia .....	67
3.2.8 Potencial hídrico .....	67
3.2.9 Eficiencia de uso de agua integrada .....	67

3.2.10 Absorción foliar.....	68
3.2.11 Análisis estadístico.....	68
3.3 RESULTADOS .....	69
3.4 DISCUSIÓN .....	79
<b>Capítulo 4 .....</b>	<b>85</b>
4.1 INTRODUCCIÓN .....	85
4.2 MATERIALES Y MÉTODOS .....	87
4.2.1 Sitio de estudios y especies .....	87
4.2.2 Absorción foliar de agua .....	87
4.2.3 Potencial hídrico.....	87
4.2.4 Módulo de elasticidad .....	88
4.2.5 Tasa de fotosíntesis y de transpiración.....	89
4.2.6 Análisis estadístico.....	89
4.3 RESULTADOS .....	90
4.4 DISCUSIÓN .....	99
<b>Capítulo 5 .....</b>	<b>104</b>
5.1 INTRODUCCIÓN .....	104
5.2 MATERIALES Y MÉTODOS .....	107
5.2.1 Diseño del experimento a campo de aumento en las precipitaciones a largo plazo .....	107
5.2.2 Diseño del experimento de déficit hídrico a corto plazo y en condiciones de laboratorio .....	110
5.2.3 Análisis estadísticos .....	113
5.3 RESULTADOS .....	114
5.3.1 Resultados del experimento a campo de aumento en las precipitaciones a largo plazo .....	114
5.3.2 Resultados del experimento de déficit hídrico a corto plazo y en condiciones de laboratorio .....	124
5.4 DISCUSIÓN .....	127
<b>CAPÍTULO 6.....</b>	<b>132</b>
6.1 DISCUSIÓN GENERAL .....	132
6.2 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	136

**BIBLIOGRAFÍA ..... 138**

# Índice de figuras

<b>Figura 2.1.</b> A-B) Mapa con la ubicación de la Campo Experimental Rio Mayo (CERM) perteneciente al INTA, Chubut.....	31
<b>Figura 2.2.</b> Imágenes de las ocho especies de plantas dominantes de la estepa patagónica estudiadas. ....	33
<b>Figura 2.3.</b> Sistema radical de los pastos ( <i>Poa ligularis</i> ) con raíces en los primeros 50 cm de profundidad.....	34
<b>Figura 2.4.</b> Sistema radical de especies con raíces dentro del metro de profundidad ( <i>Azorella prolifera</i> a la izquierda y <i>Senecio filaginoides</i> a la derecha).....	34
<b>Figura 2.5.</b> Sistema radical de especies con raíces hasta 2 m de profundidad ( <i>Adesmia volckmannii</i> ). ....	35
<b>Figura 2.6.</b> Sistema radical de especies con raíces debajo de 2 m de profundidad ( <i>Berberis microphylla</i> a la izquierda y <i>Schinus johnstonii</i> a la derecha). ....	35
<b>Figura 2.7.</b> Cámara abierta de intercambio de gases usada para medir la transpiración por unidad de superficie de terreno cubierta por las plantas.....	40
<b>Figura 2.8.</b> A) Déficit de saturación del aire medio mensual para el período 2007-2019. B) Temperatura mensual mínima, media y máxima del aire y lluvias mensuales históricas (1982-2019) en el Campo Experimental Rio Mayo (INTA). (Fuente: <a href="http://sipas.inta.gob.ar/">http://sipas.inta.gob.ar/</a> ). C) Porcentaje de los pulsos de lluvia clasificados según tamaño (< 1, 1-5, 5-10, 10-20 and > 20 mm) para el período 2008-2017. ....	43
<b>Figura 2.9.</b> Cantidad de horas en que las hojas permanecen con una capa de agua libre y el tipo de evento (rocío o precipitación) durante la primavera y verano del 2016. El valor sobre cada columna indica el valor medio $\pm$ error.....	44
<b>Figura 2.10.</b> (A) Contenido volumétrico de agua en el suelo (%) para 4 profundidades: 10 cm, 40 cm, 100 cm y 200 cm y (B) Variación estacional del nivel freático entre el 1 de enero de 2016 al 28 de marzo de 2017. Cada línea en (A) representa la media diaria de 5 sensores por profundidad.....	45
<b>Figura 2.11.</b> Intercepción de agua (%) (A) a nivel de planta y (B) a nivel de ecosistema para ocho diferentes especies de la estepa patagónica. En (A) cada columna corresponde al valor medio (n=3) $\pm$ error. Diferentes letras arriba de cada columna en (A) indica diferencias	

significativas entre especies ( $p < 0,05$ ). En (B) el valor se estimó de acuerdo a la intercepción de cada especie y su cobertura total en el sitio de estudio. .... 46

**Figura 2.12.** Consumo de agua por especie ( $\text{mm d}^{-1}$ ) durante (A) primavera y (B) verano para arbustos y pastos de la estepa patagónica. Cada columna corresponde al valor medio ( $n=3$ )  $\pm$ error. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas entre especies dentro de una estación ( $p < 0,05$ ) y diferentes letras mayúsculas diferencias significativas entre estaciones para una misma especie ( $p < 0,05$ ). ..... 47

**Figura 2.13.** Incremento en el contenido de agua de las hojas por unidad de superficie foliar en función del tiempo de inmersión en agua para 8 especies de plantas de la estepa patagónica. Cada punto corresponde a la media  $\pm$  error de 10 plantas por especie y tres hojas por planta. Línea sólida (primavera), línea punteada (verano). Panel (A) corresponde a *A. volckmannii*, (B) a *A. prolifera*, (C) a *B. microphylla*, (D) a *L. chilense*, (E) a *P. speciosa*, (F) a *P. ligularis*, (G) a *S. johnstonii* y el panel (H) corresponde a *S. filaginoides*. ..... 49

**Figura 2.14.** Absorción foliar de agua para ocho especies de la estepa patagónica estimada luego de sumergir en agua las hojas durante 180 min. Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error de 10 plantas por especie y tres hojas por especie. Diferentes letras representan diferencias significativas en la absorción foliar entre (A) primavera y (B) verano dentro de cada especie. .... 50

**Figura 2.15.** Absorción foliar de agua para grupos de especies con diferente profundidad de raíces luego de 180 min con la superficie foliar en contacto con agua. Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error de 10 plantas por especie, tres hojas por especie y 2 especies por profundidad de raíz. Diferentes letras minúsculas representan diferencias en absorción foliar entre grupos de especies dentro de una misma estación. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias en absorción foliar entre (A) primavera y (B) verano para cada grupo de especies. .... 51

**Figura 2.16.** (A) Relación entre absorción foliar de agua ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), (B) transpiración por unidad de superficie foliar ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) y (C) consumo de agua ( $\text{mm día}^{-1}$ ) por cada grupo de especies en función de la profundidad de raíces, para primavera y verano. Cada símbolo representa el valor medio  $\pm$  error de 10 plantas, 3 hojas por especie y 2 especies por profundidad de raíces para absorción foliar y 3 hojas por planta y 5 plantas por especie

para transpiración y tres plantas por especie para consumo de agua. Las líneas sólidas son las funciones ajustadas a los datos: (A)  $y = 0,51 - 0,10 x$ ;  $R^2 = 0,86$ ;  $p = 0,0009$ ; (B)  $y = 8,2 - 1,6 x$ , (C)  $y = -7 + 7,45 * (1 - \exp(-3,11 * x))$ . ..... 53

**Figura 3.1.** Gota de 1  $\mu$ L sobre la cara adaxial de una hoja de: A) Pasto y B) Arbusto.....65

**Figura 3.2.** Variación estacional de (A) adhesividad, (B) ángulo de contacto, (C) densidad estomática y (D) conductancia cuticular para cada grupo de profundidad de raíces (< 0,50 m, < 1 m, < 2m y > 2m). Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error estándar (n= 20 en (A), n= 60 en (B), n= 60 en (C) y n= 6 para (D)). \* indica que la variación entre estaciones fue significativa ( $p < 0,05$ ). ..... 73

**Figura 3.3.** Relación entre potencial hídrico y el ángulo de contacto para cada grupo de profundidad de raíces, para primavera y verano. Cada símbolo representa el valor medio  $\pm$  error estándar de 5 plantas por especie para potencial hídrico y 3 hojas por planta y 10 plantas por especie para el ángulo de contacto. La línea solida es la función linear que ajusta los datos a la función:  $y = 109,86 + 8,05 x$ ;  $p = 0,01$ . ..... 75

**Figura3.4.** Eficiencia de uso de agua integrada en el tiempo para cada grupo de profundidad de raíces (< 0,50 m, < 1 m, < 2m y > 2m). Cada columna corresponde al valor medio de 3 muestras  $\pm$  error. Letras minúsculas indican diferencias significativas entre grupo de profundidad de raíces ( $p < 0,05$ ). ..... 76

**Figura 3.5.** Relación entre la eficiencia de uso de agua integrada en el tiempo y el ángulo de contacto para cada grupo de profundidad de raíces durante la primavera. Cada símbolo representa el valor medio  $\pm$  error de 3 muestras por especie para EUAi y 3 hojas por planta y 10 plantas por especie para el ángulo de contacto. La línea solida es la función linear ajustada a los datos:  $y = 0,35 - 0,002 x$ ;  $p = 0,02$ . ..... 77

**Figura 3.6.** Relación entre absorción foliar de agua y densidad estomática en cuatro grupos de profundidad de raíces en primavera y verano. Cada símbolo representa el valor medio  $\pm$  error (n= 20 para absorción foliar y n= 60 para densidad estomática). La línea representa la función linear que se ajusta a la ecuación  $y = 0,66 - 0,004 x$ ;  $p = 0,02$ . ..... 78

**Figura 3. 7.** (A) Cambios en la absorción foliar de agua desde la primavera al verano en función de los cambios de la adhesividad de las hojas desde la primavera al verano. Cada símbolo representa el valor medio de 10 plantas por especie y tres hojas por planta para

absorción foliar y dos hojas por planta y 5 plantas por especie para adhesividad. La línea representa la función que se ajusta a los datos  $y=0,049 -0,0004 x$ ;  $p= 0,03$ . (B) Cambios en la absorción foliar de agua desde la primavera al verano en función de los cambios en el ángulo de contacto de las gotas de agua con la superficie de la hoja desde la primavera al verano. Cada símbolo representa el valor medio de 10 plantas por especie y tres hojas por planta para absorción foliar y tres hojas por planta y 10 plantas por especie para el ángulo de contacto. La curva representa la función que se ajusta a la ecuación  $y=0,0019 * \exp (-0,1544 * x)$ ;  $p= 0,01$ . ..... 79

**Figura 4.1.** Diferencias entre el cambio en el potencial hídrico de hojas con su superficie mantenida húmeda por 1 hora (barras negras) o el cambio en el potencial hídrico de hojas cubiertas (hojas con transpiración reducida) (barras blancas) y el cambio en el potencial hídrico de hojas control (hojas transpirando libremente y sin rociar) después de 1 hora en condiciones de campo ( $\Delta\Psi_{\text{hoja (rociada-control)}}$ ). El panel A corresponde a primavera y el panel B a verano. Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error ( $n=5$ ). Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas en el  $\Delta\Psi_{\text{hoja}}$  de hojas rociadas con respecto al  $\Delta\Psi_{\text{hoja}}$  de hojas cubiertas dentro de una misma especie y estación. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas en  $\Delta\Psi_{\text{hoja (rociada-control)}}$  entre estaciones para una misma especie.....92

**Figura 4.2.** Diferencias entre el cambio en potencial hídrico de hojas rociadas durante 1 h y el cambio en el potencial hídrico de hojas control (hojas no rociadas) después de 1h ( $\Delta\Psi_{\text{hoja (rociada-control)}}$ ) en relación a la absorción foliar de agua (a) primavera y (b) verano. *Azorella prolifera* fue excluida del análisis de la estación seca ya que fue considerada como outlier ( $\Delta\Psi= 0,045 \pm 0,07$  MPa y absorción foliar =  $0,75 \pm 0,006$  mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>). Cada símbolo representa el valor medio  $\pm$  error estándar ( $n= 10$  para absorción foliar y  $n= 5$  para ( $\Delta\Psi_{\text{hoja}}$ ). La recta ajusta a la función (a)  $y = 0,6 - 1,3x$ ;  $p < 0,01$ ; (b)  $y = -0,22 + 3,17x$ ;  $p < 0,01$ ..... 94

**Figura 4.3.** (a) Absorción foliar de agua, (b) diferencias entre el cambio en potencial hídrico de hojas rociadas durante 1 h y el cambio en el potencial hídrico de hojas control (hojas no rociadas) después de 1h ( $\Delta\Psi_{\text{hoja (rociada-control)}}$ ) en condiciones de campo y (c) cambios en el potencial hídrico foliar en relación a la cantidad de agua absorbida a través de la superficie de las hojas ( $\Delta\Psi_{\text{hoja (rociada-control)}}$  / absorción foliar de agua) en relación al módulo de elasticidad de la pared celular de 8 especies de la estepa patagónica durante la

primavera. Cada símbolo representa el valor medio  $\pm$  error estándar de 10 plantas por especie y tres hojas por planta para absorción foliar de agua y cinco plantas por especie para  $\Delta\Psi_{\text{hoja}}$  y para el módulo de elasticidad de la pared celular. La línea sólida en cada panel corresponde a la función ajustada a los datos (a)  $y = 0,40 - 0,02x$ ;  $p < 0,01$ ; (b)  $y = 0,08 + 0,03x$ ;  $p < 0,05$ ; (c)  $y = 0,12 \exp(0,23x)$ ;  $p < 0,001$ . ..... 95

**Figura 4.4.** (a) Absorción foliar de agua, (b) diferencias entre el cambio en potencial hídrico de hojas rociadas durante 1 h y el cambio en el potencial hídrico de hojas control (hojas no rociadas) después de 1h ( $\Delta\Psi_{\text{hoja (rociada-control)}}$ ) en condiciones de campo y (c) cambios en el potencial hídrico foliar en relación a la cantidad de agua absorbida a través de la superficie de las hojas ( $\Delta\Psi_{\text{hoja (rociada-control)}}$  / absorción foliar de agua) en relación al módulo de elasticidad de la pared celular de 8 especies de la estepa patagónica durante el verano. Cada símbolo representa el valor medio  $\pm$  error estándar de 10 plantas por especie y tres hojas por planta para absorción foliar de agua y cinco plantas por especie para  $\Delta\Psi_{\text{hoja}}$  y para el módulo de elasticidad de la pared celular. .... 96

**Figura 4.5.** Diferencias entre el cambio en la fotosíntesis de hojas control (sin rociar, en condiciones de campo) (barras negras) y el cambio en la fotosíntesis de hojas con su superficie mantenida húmeda por 1 hora (barras blancas). El panel (A) corresponde al cambio producido una hora después de haber finalizado el experimento de rociado y el panel B a un día después. Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error (n=3). Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas en la fotosíntesis de hojas rociadas con respecto a hojas control. .... 98

**Figura 4.6.** Diferencias entre el cambio en la transpiración de hojas control (sin rociar, transpirando libremente en condiciones de campo) (barras negras) y el cambio en la transpiración de hojas con su superficie mantenida húmeda por 1 hora (barras blancas). El panel (A) corresponde al cambio producido una hora después de haber finalizado el experimento de rociado y el panel B a un día después. Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error (n=3). Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas en la transpiración de hojas rociadas con respecto a hojas control. .... 99

**Figura 5.1.** Imágenes de una parcela irrigada durante un evento de precipitación..... 108

**Figura 5.2.** Electroforesis de ARN en un gel de agarosa. El primer “calle” corresponde a un marcador de peso molecular (de referencia), la segunda y cuarta “calle” corresponde a

ARNs puros, obtenido luego de la aplicación de ambos protocolos. La tercer “calle” corresponde a ARN diluido y contaminado con ADN genómico debido a la alta concentración de polifenoles, obtenido luego de aplicar el protocolo clásico de trizol. .... 112

**Figura 5.3.** Contenido volumétrico de agua del suelo (%) a (A) 10 cm, (B) 40 cm, (C) 100 cm y (D) 200 cm de profundidad desde enero de 2016 a enero de 2019, para las parcelas control (C) e irrigadas (I). Las líneas representan la media diaria de cada tratamiento (n= 5). ..... 115

**Figura 5.4.** Adhesividad para cada tratamiento (control e irrigado) para 5 especies de la estepa patagónica. Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error de 10 plantas por especie. Diferentes letras representan diferencias significativas entre tratamientos para una misma especie. .... 116

**Figura 5.5.** Ángulo de contacto entre una gota de agua y la superficie foliar en parcelas con tratamiento control y de riego en 5 especies de la estepa patagónica. Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error estándar (n= 30). Diferentes letras representan diferencias significativas entre tratamientos para una misma especie. .... 117

**Figura 5.6.** Absorción foliar de agua para cada tratamiento (control e irrigado) para 5 especies de la estepa patagónica estimada luego de sumergir en agua las hojas durante 180 min. Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error de 10 plantas por especie y tres hojas por muestra. Diferentes letras representan diferencias significativas entre tratamientos para una misma especie. .... 118

**Figura 5.7.** Diferencias entre el potencial hídrico de hojas control en condiciones de campo (hojas transpirando libremente y sin rociar durante 1 hora) (barras grises), el potencial hídrico de hojas con su superficie mantenida húmeda por 1 hora (barras negras) o el potencial hídrico de hojas cubiertas (hojas con transpiración reducida) (barras blancas) y el potencial hídrico inicial. El panel A corresponde al tratamiento control y el panel B al tratamiento irrigado. Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error (n=3). Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas en el  $\Delta\Psi_{hoja}$  de hojas rociadas y hojas sin transpirar con respecto a las hojas control dentro de una misma especie. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas en  $\Delta\Psi_{hoja}$  rociadas entre tratamientos para una misma especie. .... 119

**Figura 5.8.** (A) transpiración, (B) fotosíntesis, (C) conductancia estomática y (D) eficiencia de uso de agua instantánea para cada especie y tratamiento. Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error (n= 5). Diferentes letras minúsculas indican diferencia entre tratamientos para una misma especie. .... 121

**Figura 5.9.** Relación entre la absorción foliar de agua y la conductancia estomática ( $g_s$ ) para cada especie en las parcelas control e irrigadas. Cada símbolo representa el valor medio  $\pm$  error estándar de 10 hojas para absorción específica y 5 para  $g_s$ . Cada línea representa la función que se ajusta a la ecuación  $y = -0,068 + 0,17x$ ;  $R^2 = 0,76$ ;  $p = 0,05$  para el tratamiento control;  $y = -0,064 + 0,0,17x$ ;  $R^2 = 0,75$ ;  $p = 0,05$  para el tratamiento irrigado. .... 122

**Figura 5.10.** Índice de plasticidad fenotípica para 5 especies de la estepa patagónica calculada como: (valor promedio máximo - valor promedio mínimo) / valor promedio máximo. Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error de 8 variables por especie. Diferentes letras representan diferencias significativas entre especies. .... 124

**Figura 5.11.** Contenido volumétrico de agua en las macetas (%) en tratamiento control (C) y con estrés hídrico (S). Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error de 4 macetas por tratamiento. Diferentes letras representan diferencias significativas entre tratamientos.... 125

**Figura 5.12.** Absorción foliar de agua para cada tratamiento control (C) y stress hídrico (S); sin y con  $HgCl_2$  (barra negra y barra blanca, respectivamente) luego de sumergir en agua las hojas durante 180 min. Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error de 5 muestras por tratamiento y dos hojas por muestra. Diferentes letras representan diferencias significativas entre tratamientos. .... 126

**Figura 5.13.** Respuesta de la acuaporina *PIP2-1* para cada tratamiento control (C) y stress hídrico (S), antes (barra negra) y después (barra blanca) de mantener la superficie foliar con una capa de agua durante 1 hora. Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error de la diferencia en la expresión de la acuaporina *PIP2-1* con respecto al gen de referencia *gapc-2* de 3 muestras por tratamiento. Diferentes letras minúsculas representan diferencias significativas entre el valor inicial y final dentro de un tratamiento. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias en el nivel basal entre tratamientos..... 127

# Índice de tablas

**Tabla 2.1.** Familia, forma de vida, fenología foliar, altura de la planta, profundidad máxima de raíces y cobertura de las 8 especies estudiadas de la estepa patagónica..... 32

**Tabla 3.1.** Área foliar, adhesividad, ángulo de contacto, densidad estomática, conductancia cuticular, cantidad de pequeñas partículas de materia ( $PM_{10}$ ), retención, absorción foliar, potencial hídrico foliar y eficiencia de uso de agua integrada para cada grupo de profundidad de raíces durante la primavera y verano. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas entre estaciones dentro de cada grupo de profundidad de raíces. Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas entre grupos de profundidad de raíces dentro de una misma estación.....70

**Tabla 4.1.** Potencial hídrico foliar al mediodía ( $\Psi_{\text{hoja inicial}}$ ) y potencial hídrico 1 hora después ( $\Psi_{\text{hoja final}}$ ) bajo condiciones de campo (hojas control) para todas las especies bajo estudio en primavera y verano. Los valores corresponden a la media  $\pm$  ES (n= 5).....91

**Tabla 5.1.** Índice de plasticidad fenotípica en cinco especies de la estepa patagónica en un tratamiento control e irrigado para las siguientes variables biofísicas y ecofisiológicas: Adhesividad, ángulo de contacto, absorción foliar de agua, potencial hídrico foliar, transpiración, fotosíntesis, conductancia estomática y eficiencia de uso de agua instantánea.....123

## Resumen

La absorción foliar de agua ha recibido considerable atención en los últimos años, pero los estudios han sido más focalizados sobre los ecosistemas boscosos tropicales y templados y menos sobre los áridos/semiáridos. En estos ecosistemas, como la estepa patagónica, las precipitaciones son escasas y ocurren en forma de pequeños eventos tal que la cantidad de agua que precipita no es siempre accesible a las raíces. Sin embargo, el agua depositada sobre las hojas, ya sea de eventos de lluvia o por formación de rocío, podría subsidiar los requerimientos hídricos de las plantas, particularmente durante el periodo de mayores temperaturas y déficit hídrico. El objetivo general de este estudio fue evaluar la capacidad de especies vegetales de la estepa patagónica de aprovechar los pulsos de lluvia o formación de rocío a través de la absorción foliar y analizar su relación con características hídricas e hidráulicas y el intercambio gaseoso. Se analizó, además, la plasticidad fenotípica de la absorción foliar al aumento y a la disminución experimental en la disponibilidad de agua edáfica. El estudio abarcó determinaciones en condiciones de campo, experimentos manipulativos a campo y en laboratorio, y la aplicación de distintas técnicas ecofisiológicas y ec hidrológicas en 8 especies (6 arbustivas y 2 herbáceas) con diferentes profundidades de raíces y, por lo tanto, diferentes estrategias para la captura de agua. En las estepas patagónicas del SO de Chubut, Argentina, el 48% de las precipitaciones ocurren en pulsos menores a 1mm y el 40% en pulsos entre 1 y 5 mm. Más el 50% del agua precipitada en eventos pequeños es interceptada por el canopeo. Los eventos de formación de rocío también son frecuentes en primavera y verano. El tiempo que las hojas permanecen mojadas luego de cada evento varía entre 3 h (rocío) a 4,5 h (lluvia). Todas las especies analizadas exhibieron absorción foliar de agua, variando de acuerdo a la profundidad del sistema radical y de la estación, mayor en las especies con raíces superficiales y en verano. Si bien la cantidad de agua absorbida a través de las hojas no fue de gran magnitud ( $0,04 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  a  $0,75 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) su efecto fue significativo para el balance hídrico y la tasa de transpiración. El incremento del potencial hídrico de las hojas debido a la absorción foliar dependió de la elasticidad del tejido, siendo mayor en las especies con paredes celulares más rígidas. Las especies con mayor capacidad de absorción foliar fueron aquellas con mayor tasa de transpiración en primavera y verano. Las superficies de las hojas de todas las especies fueron clasificadas como muy humectables y

con extrema capacidad de retención de gotas de agua lo cual favorece el aprovechamiento de los eventos de mojado de las hojas. En un experimento de irrigación a largo plazo y en uno de sequía a corto plazo se observó que la absorción foliar es una característica plástica. Bajo condiciones más secas las especies de la estepa patagónica hacen un uso más conservativo del agua, disminuyendo la transpiración, aumentando la absorción foliar y la eficiencia de uso de agua. Los resultados sugieren la reconsideración del agua interceptada por la vegetación como agua perdida del ecosistema. El estudio demuestra la importancia de los pequeños pulsos de lluvia y formación de rocío para las plantas en el mantenimiento de un balance hídrico adecuado para el intercambio gaseoso durante los periodos de menor disponibilidad de agua en el suelo. Teniendo en cuenta los escenarios climáticos para las estepas patagónicas, las especies resistirían el aumento de la sequía incrementando la capacidad de aprovechamiento de los pulsos de lluvia.

**Palabras claves:** Absorción foliar de agua – Ecosistemas áridos – Humectabilidad – Potencial hídrico – Transpiración – Fuentes de agua

## Abstract

Foliar water uptake has received increasing attention in the last decades. However, the interest for this mechanism was more focused on tropical and temperate forests than on arid and semiarid ecosystems. In these ecosystems, like Patagonian steppe, precipitations are scarce and occur in small and erratic pulses which not always increase the soil moisture close to roots. Intercepted water by leaf surface from rainfall pulses or deposited by dew formation can subsidize plant water demand, particularly during the seasons with higher water deficit. The main objective of this study was to evaluate the capacity of species of Patagonian steppe to take advantage of rainfall pulses and dew through foliar water uptake and their relationships with water relations, hydraulic traits and gas exchange. In addition, phenotypic plasticity in morphological and functional traits to irrigation and water deficit treatments was analyzed. This study included determinations under field and laboratory conditions and the application of ecophysiological and ecohydrological methods. Eight species (six shrubby and two grasses) were selected. The species explore different soil layers with different soil moisture. In the Patagonian steppe, of NW of Chubut Province, Argentina, 48% of precipitations occur in pulses < 1mm and 40% in pulses between 1 and 5 mm. Plant canopy water interception of small rainfall pulses is higher than 50%. Dew formation is also frequent in spring and summer. Leaf wetness period varies between 3 h (dew) to 4,5 h (rainfall). All study species exhibited foliar water uptake, but the magnitude depended on rooting depth and season (higher in species with shallow roots and during summer). Despite the amount of water absorbed from leaf surface was relatively small ( $0.04 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  a  $0.75 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), it had a significant effect on water balance and transpiration rate. The improvement of leaf water potential as result of foliar water uptake depended on tissue elasticity, with higher positive effect in species with more rigid cell wall. Species with higher foliar water uptake had higher transpiration rates during spring and summer. Leaf surface of all study species were classified as wettables and with large capacity to retain water drops, which favor the foliar water uptake. Experimental manipulation of soil water content indicated that foliar water uptake is a plastic trait. Under drought conditions species of Patagonian steppe have a more conservative strategy, by decreasing transpiration and increasing foliar water uptake and water use efficiency. The

results of this study suggest the reconsideration of rainfall interception as water lost of the ecosystem. This study demonstrates the importance of small rainfall pulses and dew in plants of arid ecosystems to maintain the water balance and gas exchange during periods with low soil water availability. Taking into account the climatic scenarios for Patagonian Region, species would to cope with increasing drought by increasing foliar water uptake during rainfall events.

**Key-words:** Arid ecosystems-Foliar water uptake-Transpiration-Water potential- Water sources-Wettability

# Capítulo 1

## 1.1 INTRODUCCIÓN GENERAL

El movimiento de agua entre el suelo, la planta y la atmósfera ha sido generalmente descrito como unidireccional en el continuo suelo-planta-atmósfera (CSPA) (Philip, 1966). La captura de agua desde el suelo por las raíces ocurre cuando hay un gradiente de potencial hídrico entre la atmósfera y las hojas y entre estas y el suelo, el cual actúa como la fuerza motriz para la transpiración. El suelo constituye la principal fuente de agua para abastecer la demanda de las hojas tal que el sentido del flujo de agua que es generalmente favorecido es el desde el suelo (con mayor potencial hídrico) a las hojas (con menor potencial hídrico). Sin embargo, además del agua precipitada y disponible en el suelo para la absorción radical existen otras fuentes de agua para las plantas que hacen al movimiento de agua más complejo que el descrito por CSPA. El agua puede fluir en diferentes direcciones y sentidos a través de la planta dependiendo del gradiente de potencial hídrico establecido. El agua puede ser redistribuida en el suelo por medio de las raíces, desde capas del suelo más húmedas (o con mayor potencial hídrico) a capas de suelo más secas (o con potenciales hídricos más bajos) (Burgess et al., 1998; Moreira et al., 2003; Scholz et al., 2002; 2010; Bogie et al., 2018), siendo este movimiento ascendente (ascenso hidráulico) o descendente (descenso hidráulico). Por otro lado, e independiente de la absorción radical, el agua puede ser absorbida a través de la corteza de las ramas de algunas especies. A pesar de que las ramas y tallos tienen como función la protección mecánica contra el daño mecánico por insectos y de patógenos, así como evitar la deshidratación de los tejidos internos, en algunas especies y bajo ciertas condiciones estos tejidos se tornan permeables permitiendo la entrada de agua a la planta (Katz et al., 1989; Mason Earles et al., 2016). Similarmente, numerosos estudios alrededor del mundo han indicado que muchas especies tienen la capacidad de absorber agua a través de la superficie foliar por un mecanismo llamado absorción foliar y que resulta en un flujo en sentido opuesto (o reverso) al generalmente establecido (Simonin et al., 2009; Eller et al., 2013; Goldsmith et al., 2013; Fernandez et al., 2014; Berry et al., 2019; Hayes et al., 2020). Aunque la absorción foliar fue estudiada tempranamente por Mariotte en el siglo XVII, solo en las últimas dos décadas ha recibido mayor atención (Li et al., 2014). Rundel (1982) estableció cuatro criterios ecofisiológicos

que deben ocurrir para que ocurra la absorción foliar: i) debe existir un gradiente de potencial hídrico desde la atmósfera hacia el interior de las hojas, ii) las hojas tienen que tener estructuras anatómicas o morfológicas que faciliten el proceso de absorción de agua, iii) las hojas deben absorber una cantidad significativa de agua que sea redistribuida dentro de la planta y iv) tiene que haber un incremento significativo del potencial hídrico de la planta causado directamente por la absorción foliar. Estas condiciones están presentes en particular cuando hay rocío, neblina, niebla, lluvia o derretimiento de nieve sobre la hoja. El agua depositada sobre la superficie foliar puede difundir a través de la cutícula vía canales especializados como hidátodos o tricomas e incluso a través de los estomas (Limm et al., 2009; Burkhardt et al., 2012). Aún en ausencia de estructuras especializadas el agua podría difundirse vía cutícula al mesofilo (Grammatikopoulos & Manetas, 1994; Yates & Hutley, 1995; Limm et al., 2009; Goldsmith et al., 2013). Una vez que el agua entra en contacto con las membranas plasmáticas, mecanismos moleculares pueden intervenir para la entrada al interior celular. Las acuaporinas son canales de agua, de naturaleza proteica, que facilitan y regulan el movimiento pasivo de agua siguiendo un gradiente decreciente de potencial hídrico. Sus niveles de expresión son mayores en tejidos con mayores flujos de agua, como por ejemplo en brotes, hojas y raíces, respondiendo a diversos factores bióticos y abióticos (Steudle, 2001; Tyerman et al., 2002; Chaumont et al., 2005; Maurel, 2007). Diversos estudios demuestran que estas proteínas se encuentran directamente involucradas en el mecanismo de absorción foliar de agua (Ohrui et al., 2007; Laur et al., 2014; Yan et al., 2015).

La mayor evidencia de absorción foliar se encuentra en los bosques templados de California donde el 80% de las especies exhiben este mecanismo de captura de agua en presencia de neblina durante la estación seca (Dawson et al., 1998; Burgess & Dawson 2004; Limm et al., 2009; 2010). Pero especies de otros ecosistemas también exhiben absorción foliar como mecanismo de captura del agua, independientemente de la disponibilidad en el suelo (Martin & Willert 2000; Zheng & Feng 2006; Eller et al., 2013; Goldsmith et al., 2013; Zhuang & Zhao 2010; Li et al., 2014; Steppe et al., 2018; Boanares et al., 2019; Binks et al., 2019; Hayes et al., 2020).

La absorción foliar desempeña un rol importante al prevenir la deshidratación, mejorar el potencial hídrico de las hojas y ramas, incrementar la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> y promover el crecimiento (Grammatikopoulos & Manetas, 1994; Boucher et al., 1995; Yates & Hutley, 1995; Malek et al., 1999; Munné-Bosch & Alegre, 1999; Munné-Bosch et al., 1999; Gouvra & Grammatikopoulos, 2003; Johnson & Smith, 2006; Limm et al., 2009; Li et al., 2014; Eller et al., 2015; Gong et al. 2019; Hayes et al. 2020). Esta significancia funcional es variable entre las especies porque la cantidad de agua que puede ser absorbida por las hojas depende de sus características estructurales, morfológicas y fisiológicas. Las hojas varían en su capacidad de capturar y retener el agua sobre su superficie, es decir en el grado de “humectabilidad” o “hidrofobicidad” (Brewer et al., 1991; Gouvra & Grammatikopoulos, 2003; Brewer & Nuñez, 2007; Fernández et al., 2017). Aunque para incrementar la absorción foliar sería benéfico un mayor grado de humectabilidad, muchas especies evitan tener la superficie foliar mojada para no afectar la difusión del CO<sub>2</sub> hacia el interior (la difusión de CO<sub>2</sub> es 10000 veces más lenta en agua que en el aire; Nobel, 1991), y para reducir la adhesión de patógenos (Evans et al., 1992) y el lixiviado de nutrientes (Cape, 1996). Además una alta humectabilidad puede también incrementar la captura de pequeñas partículas (ej. polvo) lo cual puede disminuir la captura de luz para la fotosíntesis y dañar a los estomas por abrasión (Chen et al., 2015). Sin embargo, bajo condiciones de aridez, la absorción foliar podría sobre-compensar los efectos negativos de mantener la superficie de la hoja mojada. Estudios previos han considerado algunos factores que afectan el grado de humectabilidad de las hojas. Una de ellas es la repelencia, la tendencia a formar gotas en vez de películas de agua (Brewer et al., 1991). La presencia de tricomas (Brewer & Smith, 1997), la orientación de la hoja (Bradley et al., 2003) y las irregularidades en la superficie foliar (Neinhuis & Barthlott, 1997) son otras características que afectan a la hidrofiliidad foliar. Estas propiedades de las hojas que determinan el grado de humectabilidad en conjunto con las características de las vías de conducción de agua hacia el interior de la hoja (cutícula, estomas, hidátodos y tricomas) exhiben variabilidad intra e inter específica dependiendo de las condiciones ambientales y de la plasticidad fenotípica de la especie (Brewer & Nuñez, 2007; Limm & Dawson, 2009; Aryal & Neuner, 2010).

La absorción foliar del agua interceptada desde la atmósfera por la superficie de la hoja podría ser de gran importancia en ecosistemas áridos donde las plantas experimentan

periodos de muy baja disponibilidad de agua en el suelo. Aunque los eventos de precipitación son parcialmente interceptados por la vegetación, solo los grandes pulsos incrementan sustancialmente el contenido de agua en el suelo (Loik et al., 2004; Schwinning & Sala, 2004). En ecosistemas áridos y semiáridos los eventos más frecuentes son pequeños y muy pocos son de gran magnitud (Sala et al., 1992; Yadhjian & Sala, 2010). De este modo, aunque la absorción de agua por la superficie foliar sea de pequeña magnitud, podría contribuir significativamente al balance hídrico al beneficiarse de la mayor parte de los eventos de precipitación que no son accesibles por el sistema radical. Otra fuente de agua para las hojas en ecosistemas áridos, además de los pulsos de lluvia, es la formación de rocío sobre la superficie foliar (Agam & Berliner, 2006; McHugh et al., 2015). El rocío ha sido reconocido como un parámetro ambiental importante que contribuye al mejoramiento del balance hídrico, incrementa la supervivencia de plantas jóvenes, el crecimiento, la productividad y la descomposición biológica en ambientes donde la sequía coincide con una demanda evaporativa de la atmósfera elevada (Moro et al., 2007).

Los ecosistemas áridos y semiáridos representan más de un tercio de la superficie terrestre (Verstraete & Schwartz, 1991) y las estepas patagónicas son algunos de ellos. En estos ecosistemas limitados por agua, las condiciones ambientales y la disponibilidad de recursos son espacial y temporalmente heterogéneas originando así ejes de diferenciación ecológica que permiten la coexistencia de especies. Esto implica la existencia de diferencias funcionales y morfológicas entre las especies que conducen a diferentes estrategias de captura, uso y conservación del agua, tales como en la profundidad y arquitectura de los sistemas radicales, en la presencia de reservorios de agua, en el grado de control estomático, en características foliares que reducen la deshidratación o que favorecen la captura de agua, y/o en la eficiencia de uso de agua, entre otras. Como en todos los ecosistemas áridos y semiáridos, en las estepas patagónicas las precipitaciones son escasas y ocurren en forma de pulsos infrecuentes, discretos e impredecibles de modo que el suelo exhibe un importante gradiente de potencial y contenido hídrico, más seco en superficie y más húmedo en profundidad hasta alcanzar el nivel freático (2 o 3 m) (Schulze et al., 1996; Bucci et al., 2009; Pereyra et al., 2017). Numerosos estudios de ecosistemas áridos patagónicos indican que arbustos y pastos difieren en sus adaptaciones para escapar o

resistir la baja disponibilidad del agua del suelo (ej. Soriano & Sala, 1984; Sala et al., 1989; Bucci et al., 2009; 2011; 2013; Golluscio et al., 2009; Iogna et al., 2011; Scholz et al., 2012). Las especies arbustivas de las estepas patagónicas exhiben un gradiente de profundidad de sistemas radicales, teniendo especies con raíces que exploran fuentes de agua más estables en el suelo ( $> 2\text{m}$ ) y otras con sistemas radicales más superficiales y más dependientes de las precipitaciones (Bucci et al., 2009, 2011; Pereyra et al., 2017), del mismo modo que las especies herbáceas (Soriano & Sala, 1984; Oñatibia, 2009; Reyes & Aguiar, 2017). La capacidad de transporte de agua o eficiencia hidráulica desde el suelo a las hojas así como la sensibilidad a la sequía también varían entre las especies y están directamente relacionadas con el acceso a las fuentes de agua (Bucci et al., 2009; 2013; Scholz et al., 2012). Sin embargo, en estos estudios se ha considerado al agua del suelo como la única fuente de humedad para las plantas, sin tomar en cuenta la posibilidad de uso del agua depositada en las hojas por la formación de rocío, o aquella interceptada por el follaje proveniente de los pulsos de lluvia. Más del 70% del total de los eventos de precipitación en las estepas del sudoeste del Chubut son menores a 2mm (Golluscio et al., 1998; Paruelo, 1998) y son insuficientes para elevar la disponibilidad de agua en el suelo (Bucci et al., 2009); sin embargo esta agua podría ser absorbida, al menos parcialmente, directamente desde la superficie de las hojas. Este estudio tiene como OBJETIVO GENERAL evaluar la capacidad de especies vegetales de la estepa patagónica de desacoplar transitoriamente la absorción de agua de la fuente primaria disponible en el suelo a través del uso de agua depositada en la superficie foliar (por rocío o agua de interceptación) y analizar su relación con características hídricas, hidráulicas y el intercambio gaseoso. Dado que los escenarios climáticos para la Patagonia indican cambios en los patrones y magnitud de las precipitaciones para las próximas décadas (Barros & Camilloni, 2017; Saurral et al., 2017), el conocimiento de los mecanismos de absorción de agua podría ayudar a predecir cómo será afectada la vegetación por el cambio climático. Si las precipitaciones disminuyen, aquellas especies con mayor capacidad de absorción foliar podrían mantener su funcionalidad aun en los meses más secos o aumentar su eficiencia de captura, en el caso de que la absorción foliar constituya una característica plástica.

Los OBJETIVOS ESPECÍFICOS desarrollados en cuatro capítulos son:

- Caracterizar las fuentes de agua disponibles para las plantas en la estepa patagónica.
- Determinar la capacidad de absorción foliar de especies arbustivas y herbáceas de la estepa patagónica, y su variabilidad intra-específica de acuerdo a la estación e inter-específica de acuerdo a la profundidad del sistema radical.
- Comparar la tasa de absorción foliar con la tasa de transpiración y consumo de agua por planta.
- Determinar las características de la superficie foliar relacionadas con el grado de humectabilidad, retención hídrica y vías de absorción foliar de agua.
- Evaluar el efecto de la absorción foliar sobre el estado hídrico y el rol de la elasticidad de las paredes celulares en la respuesta del potencial hídrico a la entrada de agua a la célula.
- Determinar el impacto de la absorción foliar sobre la tasa de fotosíntesis.
- Evaluar la plasticidad fenotípica de la absorción foliar a cambios en la disponibilidad de agua.
- Evaluar la función de las acuaporinas en la absorción foliar dependiendo de la disponibilidad de agua.

A partir de la información expuesta y teniendo en cuenta el objetivo general, las HIPÓTESIS de este estudio son:

- Las especies difieren en la capacidad de absorción foliar en función del acceso que tienen al agua edáfica. Se espera que especies cuyo sistema radical explora horizontes superficiales (más secos) del suelo absorberán mayor cantidad de agua a través de su superficie foliar que especies que exploran capas de suelo más profundas con abundante disponibilidad de agua.
- La absorción foliar dentro de las especies varía estacionalmente, tal que en la estación seca (verano) la absorción foliar incrementará debido a la mayor fuerza motriz para el movimiento de agua desde la superficie foliar al interior de la hoja.

- La absorción foliar compensa la disponibilidad de agua en el suelo que las especies tienen para la transpiración, de modo tal que se espera que las especies con mayor capacidad de absorción foliar serán las especies con raíces superficiales y que tienen menor tasa de transpiración.
- La humectabilidad de las hojas está relacionada con la disponibilidad de agua edáfica, de manera que grupos de especies con raíces superficiales y así con mayor déficit hídrico, tendrán hojas más humectables que las especies con raíces más profundas y con acceso a abundante agua en el suelo.
- Las características foliares relacionadas con la humectabilidad contribuyen a la absorción foliar, de manera que mayor absorción foliar será observada en especies con hojas más humectables.
- Las especies con hojas más humectables son más eficientes en el uso de agua que las especies con hojas más hidrofóbicas.
- La absorción foliar mejora el estado hídrico de las plantas, sin embargo la magnitud del efecto depende de la rigidez de las paredes celulares. De esta manera se espera que la absorción foliar tenga un mayor impacto en el potencial hídrico en las especies con paredes celulares más rígidas.
- La absorción foliar incrementa la tasa de fotosíntesis debido al mejoramiento en el estado hídrico, por lo que se espera un incremento en la tasa fotosintética en las hojas que hayan estado previamente expuestas a un evento de precipitación.
- El aumento en las precipitaciones induce cambios en las plantas hacia un comportamiento fisiológico menos conservativo, tal que la transpiración aumentará y con ello la tasa de fotosíntesis, mientras que la capacidad de aprovechar la humedad depositada sobre las hojas a través de la absorción foliar disminuirá.
- La sequía afecta la expresión de las acuaporinas tal que bajo déficit hídrico la expresión aumentará y favorecerá la absorción foliar de agua.

## 1.2 ESTRUCTURA DE LA TESIS

La tesis está dividida en seis capítulos, que se encuentran organizados de la siguiente manera:

El **capítulo 1** incluye la introducción general, en la cual se describe el marco conceptual y las principales investigaciones sobre la problemática planteada, y luego se describe el objetivo general y los específicos así como también las hipótesis.

En el **capítulo 2** se describen las fuentes de agua disponibles para las especies vegetales de la estepa patagónica y se analizan sus mecanismos de absorción.

En el **capítulo 3** se analizan distintas características biofísicas, morfológicas y fisiológicas de las hojas y su impacto sobre la absorción foliar.

En el **capítulo 4** se evalúa el impacto de la absorción foliar de agua sobre el estado hídrico de las plantas y el intercambio de gases.

En el **capítulo 5** se evalúa la plasticidad fenotípica de la absorción foliar y el rol que cumplen las acuaporinas.

En el **capítulo 6** se integran todos los resultados obtenidos y se extrapola la contribución de la absorción foliar a nivel de ecosistema.

Los resultados de la tesis han sido parcialmente publicados:

- Foliar water uptake in arid ecosystems: seasonal variability and ecophysiological consequences. Publicado en la revista *Oecologia*, mayo del 2020.  
<https://doi.org/10.1007/s00442-020-04673-1>
- Contribution of leaf water uptake to transpiration and water status in arid ecosystems. Aceptado en la revista *Acta horticulturae*, en prensa.
- Relationships between leaf surface traits and foliar water uptake in arid ecosystems. En preparación.

## Capítulo 2

# Fuentes de agua y absorción foliar en pastos y arbustos de la estepa patagónica

### 2.1 INTRODUCCIÓN

La escasez de agua en ecosistemas áridos y semiáridos es un factor determinante de la productividad primaria de las plantas y de la estructura de la vegetación (Whittaker & Niering, 1975; Hadley & Szarek, 1981; Ehleringer & Mooney, 1983; Smith & Nobel, 1986; Polis, 1991; Gutiérrez, 1993; Squeo et al., 1998, Reynolds et al., 1999), así como de las interacciones de competencia por este recurso entre las especies (Fowler, 1986). De este modo, las estrategias de uso de agua y transporte en el continuo suelo-planta-atmósfera o viceversa, atmósfera-planta-suelo, son críticos para entender el funcionamiento de estos ecosistemas.

En algunos ecosistemas limitados permanente o estacionalmente por agua las especies de árboles, arbustos y herbáceas pueden coexistir porque usan diferentes fuentes de agua. Mientras los árboles y arbustos tienden a usar agua de capas de suelo más profundas, los pastos y otras herbáceas usan agua de los horizontes más superficiales (modelo de la bicapa propuesto por Walker y Noy-Meir, 1982). Schulze et al. (1996) analizaron la composición isotópica de H y O en muestras de suelo y tejido vegetal y mostraron que los pastos de la estepa patagónica (*Festuca* sp. y *Pappostipa* sp.) hacen uso principalmente del agua contenida en las capas superficiales del suelo, mientras que arbustos como *Azorella prolifera* utilizan el agua disponible entre 0,50 y 0,75 m de profundidad, y por último, las especies con sistema radical más profundo como *Berberis microphylla* utilizan fuentes de agua ubicadas a mayor profundidad. Sin embargo, existe un continuo de profundidades de raíces de modo tal que las especies usan agua de diferentes capas de suelo en las cuales distribuyen sus raíces (Bucci et al. 2009; Pereyra et al. 2017).

Existen numerosos trabajos que evalúan las diferencias en las estrategias para la absorción de agua entre especies (Wieland & Bazzaz, 1975; Poole & Miller, 1975; Cody, 1986; Davis & Mooney, 1986; Scholz et al., 2010; 2012; Bucci et al., 2009; 2013). Sin embargo, estos estudios toman en cuenta fuentes de agua en el suelo, excluyendo fuentes de agua alternativas como las atmosféricas (ej. rocío, niebla, neblina, nieve y lluvia). Si el agua proveniente de estas fuentes es interceptada por las hojas, puede ser aprovechada directamente por las plantas a través de la absorción foliar sin que entren en contacto con el suelo y así con las raíces. En general, se considera a la interceptación de agua por el canopeo como la cantidad de precipitación que es interceptada por la vegetación. Esta agua puede ser parcial y temporalmente almacenada en el canopeo y finalmente evaporarse a la atmósfera como agua perdida por interceptación o alcanzar el suelo directamente atravesando el canopeo por los espacios entre hojas y ramas o escurriendo por las ramas y tallos (Savenije, 2004; Galdos et al., 2012; Sadeghi et al., 2015; Zheng & Jia, 2016). La interceptación de agua desempeña un rol muy importante en los procesos hidrológicos de los ecosistemas ya que debido a este mecanismo las plantas modifican la evaporación y la redistribución de los pulsos de lluvia (Domingo et al., 1998). El agua de interceptación que no alcanza la superficie del suelo es usualmente considerada como agua no aprovechada por las plantas tal que no beneficia la productividad primaria (Karimi et al., 2013). Sin embargo, el aporte del agua interceptada por la vegetación podría estar subestimado cuando no se considera que ésta podría ser aprovechada por las plantas al ser absorbida directamente a través de las hojas o bien disminuyendo la transpiración. En ecosistemas semiáridos alrededor del mundo la cantidad de agua interceptada por la vegetación y considerada como agua perdida en los balances hídricos varía entre 7 y 27% del total de las precipitaciones (Pressland, 1973; Wang et al., 2005; Zhang et al., 2017; Zheng & Jia, 2019). Este rango de valores es dependiente de las características de la vegetación (Zhang et al., 2009; Li et al., 2016; Zhang et al., 2016) y del tipo (tamaño e intensidad) de los eventos de lluvia (Owens et al., 2006; Zhang et al., 2015).

Aun cuando en ecosistemas áridos/semiáridos las precipitaciones sean escasas la superficie foliar puede almacenar agua de fuentes no meteóricas como el rocío. El rocío es la condensación del vapor de agua atmosférico sobre una superficie que ocurre normalmente a la noche cuando la temperatura de la superficie es menor a la temperatura

del aire (Beysens, 1995). La importancia del rocío, además de alterar el balance de energía de la hoja reduciendo la transpiración durante la mañana, consiste en actuar como una fuente alternativa de agua para la absorción de agua a través de las hojas (Dawson & Goldsmith, 2018; Guo et al., 2016; Munné-Bosch & Alegre, 1999). Especialmente en regiones áridas y semiáridas el rocío es una importante fuente de agua contribuyendo a la supervivencia de las plantas (Pan et al., 2010; 2014). La presencia y contribución del rocío al balance hídrico ha sido considerada como escasamente relevante debido a que la condensación potencial tiene una relación de 1:14 con la evaporación potencial en algunos ecosistemas áridos (Ben-Asher et al., 2010). Sin embargo, en otros ecosistemas áridos puede representar el 30% de la precipitación o contribuir con hasta 30 mm en el balance de agua anual (Malek et al., 1999).

Las gotas de agua interceptadas por las hojas o formadas por condensación son reservadas temporalmente sobre su superficie (Xiao & McPherson, 2016). Holder (2013) define la capacidad de agua almacenada en el canopeo como la cantidad de agua retenida una vez que termina de drenar luego de una lluvia y en ausencia de viento, y es afectada por diferentes factores, como la intensidad de la precipitación, el área foliar, la forma y disposición de las hojas (Aston, 1979; Herwitz, 1985; Keim et al., 2006) así como de la arquitectura del canopeo (Hutchings et al., 1988; Xiao et al., 2000; Pypker et al., 2005; Garcia-Estringana et al., 2010) y de características químicas y morfológicas de la superficie foliar (Konrad et al., 2012; Holder 2013; Wang et al., 2015). Si el agua puede ser almacenada sobre la superficie foliar un tiempo suficiente antes de que esta sea evaporada, el agua podría entrar al interior de la hoja desde su superficie.

Esta vía de entrada del agua al interior de la planta ha sido detectada en más de 230 especies, pertenecientes a más de 77 familias a través de seis biomas diferentes (Berry et al., 2019). En ecosistemas áridos y semiáridos la lluvia interceptada y luego la absorción foliar puede ser muy relevante ya que las plantas están expuestas a períodos prolongados de déficit hídrico en los cuales no pueden acceder al agua retenida en el suelo. Sin embargo, en estos ecosistemas los eventos de precipitación que resultan en el mojado de las hojas pueden ocurrir durante varios días al año (por ejemplo se han registrado 29 días en algunos desiertos y 83 días en estepas, sabanas o bosques; Dawson & Goldsmith, 2018), en los

cuales las plantas con alta capacidad de intercepción pueden aprovechar. Entre las adaptaciones de la vegetación a ambientes secos se encuentra el cierre estomático bajo condiciones de déficit hídrico (Bucci et al., 2005; Scholz et al., 2012) o la presencia de cutículas gruesas (Kumar & Sen, 1985; Ali et al., 1999; Boom et al., 2005; Nawazish et al., 2006). Si bien estas características podrían limitar la absorción foliar, (Cassana et al., 2016; Berry et al., 2019), los bajos potenciales hídricos que experimentan las especies de la estepa patagónica (Scholz et al. 2012; Carbonell Silletta, 2020) contribuyen a incrementar la fuerza motriz para el movimiento de agua hacia el interior de la hoja desde su superficie. Sin embargo, mientras que algunos estudios no encontraron un efecto de la disponibilidad de agua en el suelo (Cassana et al., 2016), otros mencionan una disminución ante condiciones de sequía (Vaadia & Waisel, 1963) o un aumento en la absorción foliar durante la estación seca (Boanares et al., 2019).

La estepa patagónica es un ecosistema donde el acceso a diferentes fuentes de agua edáficas determina muchas características funcionales de sus especies de plantas dominantes (p.ej. el estado hídrico, la eficiencia hidráulica, la regulación estomática, la resistencia a las bajas temperaturas, entre otras (Bucci et al., 2009; 2013; Scholz et al., 2012)). Sin embargo, aunque el acceso a diferentes fuentes de agua en el suelo depende de la profundidad del sistema radical, el acceso a fuentes de agua atmosféricas sería relativamente más uniforme para toda la vegetación, aunque su efecto dependerá de las características del canopy (Capítulo 3) y de su capacidad de aprovechamiento (Capítulo 4).

Los objetivos de este estudio consistieron en: i- evaluar las distintas fuentes de agua disponibles para las plantas; ii- determinar el porcentaje de agua de intercepción retenida por el canopy, iii- evaluar la capacidad de absorber agua a través de la superficie foliar y su variabilidad inter-específica y estacional de especies arbustivas y herbáceas de la estepa patagónica y iv- evaluar si la tasa de transpiración por unidad de terreno cubierto por las especies y la tasa de transpiración por unidad de área foliar está relacionada con la tasa de absorción foliar. Una de las hipótesis planteadas fue que las especies difieren en la capacidad de absorción foliar en función del acceso que tienen al agua edáfica. Se espera que especies cuyo sistema radical explora horizontes superficiales (más secos) del suelo

absorberán mayor cantidad de agua a través de su superficie foliar que especies que exploran capas de suelo más profundas con abundante disponibilidad de agua. Otra hipótesis planteada fue que la absorción foliar dentro de las especies varía estacionalmente, tal que en la estación seca (verano) la absorción foliar incrementará debido a la mayor fuerza motriz para el movimiento de agua desde la superficie foliar al interior de la hoja. La última hipótesis fue que la absorción foliar compensa la escasa disponibilidad de agua en el suelo que las especies tienen para la transpiración, de modo tal que se espera que las especies con mayor capacidad de absorción foliar serán las especies con raíces superficiales y que tienen menor tasa de transpiración.

## 2.2 MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.2.1 Sitio de estudio

El estudio fue realizado en el Campo Experimental Rio Mayo (CERM) perteneciente al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), localizado en Rio Mayo, al suroeste de la provincia de Chubut, Argentina ( $45^{\circ}25'S$ ,  $70^{\circ}20'W$ ; 500 msnm, **Fig. 2.1**). La precipitación anual promedio desde 1982 hasta 2019 fue de 132 mm, variando desde 50 hasta 220 mm anuales. La precipitación se concentra principalmente en invierno y principio de la primavera. Los eventos de precipitación durante la estación seca ocurren de manera aislada y son impredecibles (Paruelo et al., 1998). La temperatura anual promedio es de  $8,4^{\circ}C$ , y la temperatura diaria promedio varía desde  $14^{\circ}C$  en enero hasta  $2^{\circ}C$  en julio (**Fig. 2.8.B**). El déficit de saturación del aire medio mensual muestra una marcada estacionalidad, variando desde 0,15 – 0,16 kPa para los meses de junio – julio hasta 0,95 kPa en el mes de enero (**Fig. 2.8.A**). La región se caracteriza por la presencia de fuertes vientos (media anual de 15 km/h), que provienen principalmente desde el sudoeste (Beltrán, 1997). Acorde con el sistema de información de suelos del INTA ([www.sisinta.inta.gob.ar](http://www.sisinta.inta.gob.ar)) los suelos se caracterizan por ser de textura gruesa (arenosos) en el horizonte A y con una estructura granular. Luego de este horizonte se encuentra un horizonte que se caracteriza por ser de textura franco-arcillosa, con estructura en bloques, clasificado como Bt. Luego del horizonte Bt se encuentra un horizonte de transición C+D el cual termina con un límite abrupto por la presencia de la napa freática. Este horizonte también es franco-arcilloso con

una estructura masiva. Son suelos con buen drenaje superficial, que presentan un 20 % de pedregosidad en superficie y rasgos de erosión severa. A profundidades mayores a 70 cm, que varía dependiendo del sitio, se encuentra una capa de carbonato de calcio.

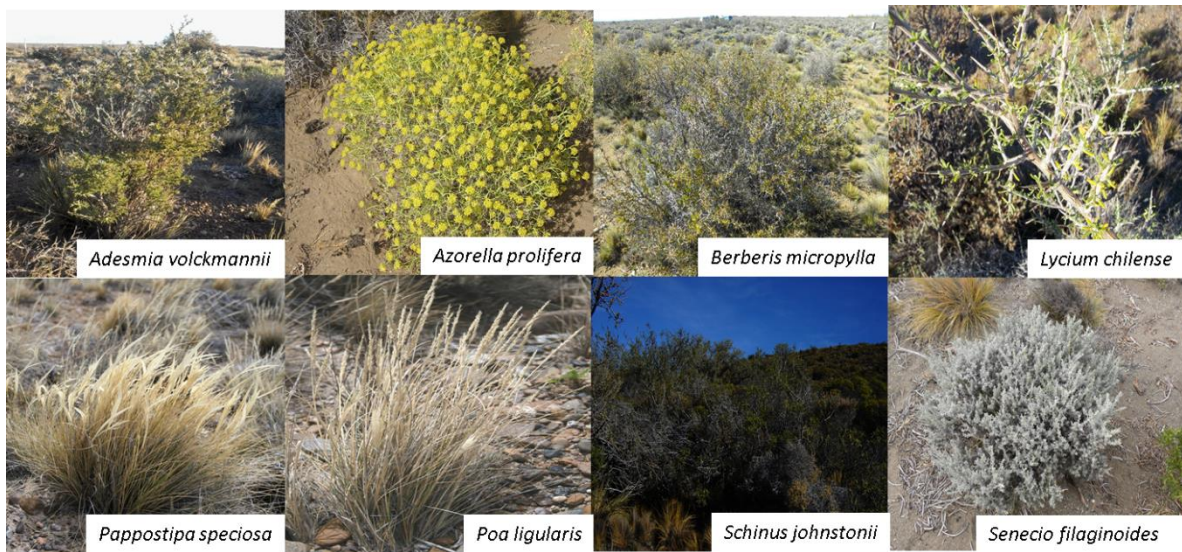


**Figura 2. 1.** A-B) Mapa con la ubicación del Campo Experimental Rio Mayo (CERM) perteneciente al INTA, Chubut.

La vegetación es la típica estepa herbáceo-arbustiva de la Patagonia, donde los pastos y arbustos están distribuidos en parches y presentan una cobertura entre 30 y 40 % (Pereyra et al., 2017). Ocho especies dominantes de esta estepa fueron seleccionadas para este estudio (**Fig. 2.2**), en el cual se incluyeron dos especies de pastos: *Pappostipa speciosa* (Trin. & Rupr.) Romasch. y *Poa ligularis* Neese ex Steud, y seis especies leñosas, tres arbustos deciduos: *Adesmia volckmannii* Phil., *Azorella prolifera* (Cav.) G. M. Plunkett & A. N. Nicolas (ex *Mulinum spinosum*) y *Lycium chilense* Miers ex Bertero, y tres arbustos perennes: *Berberis microphylla* Jussieu Lam, *Schinus johnstonii* Barkley y *Senecio filaginoides* De Candolle (**Tabla 2.1**).

**Tabla 2.1.** Familia, forma de vida, fenología foliar, altura de la planta, profundidad máxima de raíces y cobertura de las 8 especies estudiadas de la estepa patagónica.

<b>Especie</b>	<b>Familia</b>	<b>Forma de vida</b>	<b>Fenología foliar</b>	<b>Altura de la planta (cm)</b>	<b>Profundidad máxima de raíces (cm)</b>	<b>Cobertura (%)</b>
<i>Adesmia volckmannii</i>	Fabaceae	Arbusto	Deciduo	76,2 (4,5)	<200	5,84 (0,8)
<i>Azorella prolifera</i>	Apiaceae	Arbusto	Deciduo	40,8 (1,8)	<100	6,12 (0,93)
<i>Berberis microphylla</i>	Berberidaceae	Arbusto	Siempreverde	96,3 (3,5)	>200	2,66 (1,33)
<i>Lycium chilense</i>	Solanaceae	Arbusto	Deciduo	88 (0,50)	< 200	1,04 (0,84)
<i>Pappostipa speciosa</i>	Poaceae	Pasto	Siempreverde	33,2 (1,6)	<50	23,56 (2,57)
<i>Poa ligularis</i>	Poaceae	Pasto	Siempreverde	29,7 (1,5)	<50	8,25 (2,56)
<i>Schinus johnstonii</i>	Anacardiaceae	Arbusto	Siempreverde	210 (15)	>200	0,42 (0,28)
<i>Senecio filaginoides</i>	Asteraceae	Arbusto	Siempreverde	36,1 (1,4)	<100	4,88 (1,02)



**Figura 2.2.** Imágenes de las ocho especies de plantas dominantes de la estepa patagónica estudiadas.

Las especies difieren en la profundidad del sistema radical, pudiéndose clasificar en cuatro diferentes profundidades: especies con raíces hasta 0,50 m de profundidad (*P. speciosa*, *P. ligularis*; **Fig. 2.3**), especies con raíces hasta 1 m (*S. filaginoides* y *A. prolifera*, **Fig. 2.4**), especies con raíces hasta 2 m (*A. volckmannii* y *L. chilense*; **Fig. 2.5**) y especies con raíces que superan los 2 m de profundidad (*B. microphylla* y *S. johnstonii*; **Fig. 2.6**). Los pastos poseen un sistema radical fibroso, mientras que los arbustos tienen un sistema radical dimórfico, compuesto por una raíz pivotante y raíces laterales (Bucci et al., 2009).



**Figura 2.3.** Sistema radical de los pastos (*Poa ligularis*) con raíces en los primeros 50 cm de profundidad.



**Figura 2.4.** Sistema radical de especies con raíces dentro del metro de profundidad (*Azorella prolifera* a la izquierda y *Senecio filaginoides* a la derecha).



**Figura 2.5.** Sistema radical de especies con raíces hasta 2 m de profundidad (*Adesmia volckmannii*).



**Figura 2.6.** Sistema radical de especies con raíces que superan 2 m de profundidad (*Berberis microphylla* a la izquierda y *Schinus johnstonii* a la derecha).

### **2.2.2 Tamaño de los pulsos de lluvia**

Para determinar el tamaño de los pulsos de lluvia se usaron registros meteorológicos de la estación del INTA localizada en el área de estudio. Estos datos se encuentran en la página web del INTA (<http://sipas.inta.gob.ar>). Se analizaron todos los pulsos de lluvia en un periodo de 10 años (desde enero de 2008 hasta diciembre de 2017) y se clasificaron según su tamaño en: < 1, 1-5, 5-10, 10-20 and > 20 mm.

### **2.2.3 Agua libre sobre la hoja**

Para estimar el tiempo que la superficie de las hojas permanece con una capa de agua libre se utilizaron sensores wetness (Modelo LWS-1, Decagon Devices, Pullman, WA, USA) desde octubre de 2016 hasta marzo de 2017. Estos sensores están diseñados para tener propiedades termodinámicas similares a las de la hoja de una planta. Miden la constante dieléctrica en una zona de aproximadamente 1 cm sobre su cara superior. La constante dieléctrica del aire (1) es mucho menor que la del agua (80) o que la del hielo (5). El sensor envía una señal eléctrica proporcional al dieléctrico en la zona de medición, y por lo tanto proporcional a la cantidad de agua o hielo en la superficie del sensor, hacia un sistema de adquisición de datos. Tres sensores wetness fueron colocados a un metro de altura, cada sensor se conectó a un sistema automático de control, medición y registro de datos (EM50, Decagon Devices) y cada 10 minutos se realizó una medición. El sensor wetness opera con 2 umbrales diferentes, uno a 450 mV y otro a 460 mV, de modo tal que cuando el sensor se encuentra seco los valores se ubican por debajo del primer umbral. Sin embargo, debido a que la presencia de polvo puede hacer que los valores se eleven hasta 450 mV, se decidió utilizar los valores que se encuentren entre 460 mV y 700 mV como indicador de rocío y valores superiores a 700 mV se consideraron como lluvia; adicionalmente se compararon los valores del sensor wetness con los valores de precipitación obtenidos de la estación meteorológica ubicada en el sitio de estudio, para poder distinguir entre rocío y pequeños pulsos de lluvia.

#### **2.2.4 Contenido volumétrico de agua del suelo**

El contenido volumétrico de agua fue medido a 10, 40, 100 y 200 cm de profundidad del suelo cada 30 minutos desde enero de 2016 hasta marzo de 2017 con sensores ECH2O (Decagon Devices, Inc.). Los sensores fueron instalados en 5 perfiles de suelo, de tal manera que cada profundidad tiene 5 réplicas. Los sensores fueron conectados a un sistema automático de control, medición y registro de datos CR1000 (Campbell Scientific, UT, USA).

#### **2.2.5 Variación del nivel freático**

La dinámica del nivel freático fue analizada con transductores de presión de alta precisión (Levellogger Gold, Solinst, Canadá) instalados en tres pozos donde el nivel de agua se encontraba a 1,4, 1,9 y 2,25m. Los sensores se instalaron por debajo del nivel del agua. Cada sensor registró la presión hidrostática de la columna de agua por encima de él cada 30 minutos. En cada pozo se instaló, además, un barelogger que mide la presión atmosférica. El nivel del agua y su variación se determinó como:

$$P_h = P_a - P_{atm} \quad \text{Ecuación 2.1}$$

Donde  $P_h$  es la altura de la columna de agua (calculada automáticamente por el levellogger a partir de la presión),  $P_a$  es la presión total medida por el levellogger y  $P_{atm}$  es la presión atmosférica.

#### **2.2.6 Intercepción**

Para estimar el agua de intercepción retenida en el canopeo ( $I_r$ ) se usó el método gravimétrico ex situ propuesto por Holder (2012). El mismo consistió en cortar una rama en el caso de los arbustos o una planta entera en el caso de los pastos, y luego colocarlas bajo un simulador de lluvias. Se calculó la intercepción (%) como la diferencia entre la lluvia simulada ( $P_i=1,8$  mm) y la lluvia recolectada debajo del canopeo ( $P_f$ ) por seis recipientes (de área y peso conocido). Los recipientes fueron pesados luego de que finalizó el goteo a través del canopeo, asumiendo que el resto fue interceptado por el canopeo. Se realizaron

tres repeticiones por especie. Luego el porcentaje de agua de intercepción retenida en el canopeo fue calculada como:

$$Ir (\%) = 100 - ((P_f * 100) / P_i)$$

**Ecuación 2.2**

Para estimar la intercepción a nivel de ecosistema se utilizó la intercepción de cada especie y su % de cobertura (**Tabla 2.1**).

### **2.2.7 Cobertura**

La cobertura vegetal total fue estimada a través del método de línea de intercepción (Matteucci & Colma, 1982). Se realizaron 8 transectas de 100 m cada una y se realizó una observación cada 1 m a lo largo de cada transecta. En caso de no poder medir directamente sobre la transecta debido a impedimentos físicos (presencia de matorrales o porte alto de vegetación) se realizó el relevamiento mediante transecta de Punto al Paso (Elissalde et al., 2002). Para la estimación de la cobertura se partió del supuesto de que un toque positivo equivale a 1% de cobertura (Krebs, 1972).

### **2.2.8 Transpiración**

La transpiración o consumo de agua por día ( $\text{mm dia}^{-1}$ ) de una planta de cada especie fue estimada mediante una cámara abierta de intercambio de gases (OTC, *open top chamber*) (**Fig. 2.7**). La cámara, construida en el laboratorio, es similar a la descrita por Scholz et al. (2010), y su diagrama con los componentes se encuentra en Cristiano et al. (2015). La OTC está construida por una estructura de malla galvanizada y recubierta con plástico transparente. La cámara tiene un volumen de  $0,73 \text{ m}^3$  y está conformada por una base cilíndrica de 0,78 m de diámetro y un cono en su parte superior, el cual posee un orificio de salida de 0,1 m de diámetro. Mediante un ventilador ubicado cerca de la base se introduce aire a la cámara y usando un anemómetro se mide el caudal de salida en la parte superior de la cámara. La densidad de vapor de agua que ingresa y luego sale de la cámara

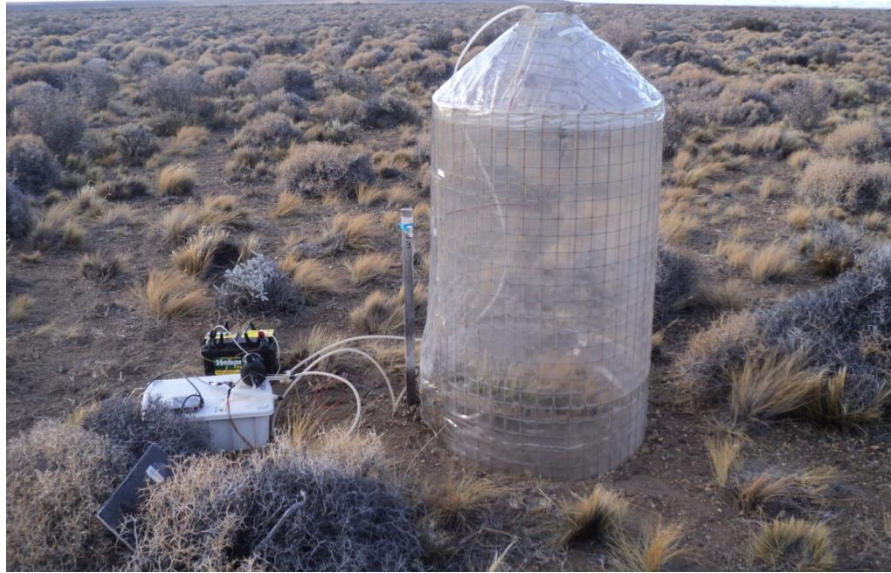
es determinada mediante un higrómetro de punto de rocío (HR 33 T, YES, Yankee Environment System, Ontario, Canadá), al cual son conducidos a través de conductos Tygon, regulada mediante un flujímetro para obtener un caudal de 4 l/min. Los datos son registrados en un datalogger (CR10X, Campbell Sci.) a intervalos de 1 s. Para calcular el flujo de vapor desde el suelo desnudo y/o de la vegetación encerrada dentro de la cámara se utiliza la siguiente ecuación:

$$ET = V (\rho_{\text{salida}} - \rho_{\text{entrada}}) / A$$

**Ecuación 2.3**

donde ET es la evapotranspiración (ET= evaporación [E] + transpiración [T]), V es el caudal volumétrico ( $\text{m}^3 \text{s}^{-1}$ ),  $\rho_{\text{entrada}}$  y  $\rho_{\text{salida}}$  son las densidades de vapor de agua ( $\text{g m}^{-3}$ ) de las corrientes de aire salientes y entrantes, respectivamente, y A es el área de la cámara basal ( $\text{m}^2$ ).

Los cambios en las condiciones micro-climáticas dentro de la cámara deben ser minimizados, por lo que el tiempo de medición es de 4 a 6 minutos. Las mediciones se hicieron cada tres horas durante un día típico en primavera y verano, utilizando tres plantas por especie. Para calcular la evaporación del suelo desnudo se usaron tres diferentes micrositios. A la ET total se le descontó la evaporación del suelo desnudo para poder obtener la transpiración de cada especie. Para ello se consideró el porcentaje de suelo no cubierto por la vegetación dentro del área que abarca la cámara, y la evaporación del suelo desnudo en esa hora del día. Luego se graficaron los valores diarios y se obtuvo el área bajo la curva para obtener el valor diario de transpiración, el cual fue expresado en  $\text{mmol m}^{-2} \text{día}^{-1}$ .



**Figura 2.7.** Cámara abierta de intercambio de gases usada para medir la transpiración por unidad de superficie de terreno cubierta por las plantas.

La transpiración por unidad de área foliar fue determinada durante el mediodía, en días soleados, en primavera y verano, usando un equipo portátil de intercambio de gases (LI-6400, LI-COR, Lincoln, NE) conectado a una cámara foliar de 3x2 cm. Debido al reducido tamaño foliar, se tomó un conjunto de hojas completamente expandidas (cinco repeticiones por planta y cinco plantas por especie). Se midió el área foliar para poder hacer luego una corrección con respecto al área de la cámara foliar. Las mediciones fueron realizadas con  $400 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$  dentro de la cámara foliar, generadas por un cilindro de  $\text{CO}_2$  de 12 g conectado al LI-6400. La tasa de flujo de aire que entró a la cámara fue de  $500 \mu\text{mol s}^{-1}$ . Para asegurar la saturación de luz, pero evitando la foto-inhibición, la densidad de flujo de fotones se mantuvo constante a  $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

### 2.2.9 Absorción foliar

Se evaluó la capacidad de absorción foliar de agua (AFA) de cada especie midiendo directamente la absorción a través de la superficie de la hoja, de acuerdo al protocolo usado

por Limm et al. (2009). Treinta hojas por especie (se usó una muestra compuesta por 3 hojas por repetición para disminuir el error asociado a la balanza) y estación fueron cortadas en el campo al mediodía y transportadas inmediatamente al laboratorio en bolsas herméticas. Luego se sellaron los peciolas con cianoacrilato y las hojas fueron pesadas y sumergidas en agua durante 3 horas. Cada una hora las hojas fueron sacadas del agua, secadas con servilletas de papel y pesadas nuevamente. Para calcular el error debido al agua residual que puede quedar luego de ser secadas, se dejó a las hojas expuestas al aire, luego se pesaron, sumergieron en agua por un segundo, se secaron y nuevamente se pesaron. La absorción foliar de agua para cada intervalo de tiempo fue calculada de acuerdo al cambio en la masa foliar después de ser sumergida en agua y corrigiendo por el agua residual:

$$AFA = (Masa_2 - Masa_1) - (Masa_4 - Masa_3)$$

**Ecuación 2.4**

donde,  $Masa_1$  es la masa de la hoja antes de ser sumergida en agua,  $Masa_2$  es la masa de la hoja después de ser sumergida,  $Masa_3$  y  $Masa_4$  es la masa antes y después de ser sumergida pero secada al aire para calcular el potencial error. El incremento en la masa de agua expresada en mmol fue normalizado por el área foliar ( $m^2$ ). La absorción foliar de agua para todas las especies bajo estudio fue determinada durante el transcurso de una semana dentro de cada estación. Las muestras para todas las especies fueron colectadas en días con similares condiciones climáticas en cada estación.

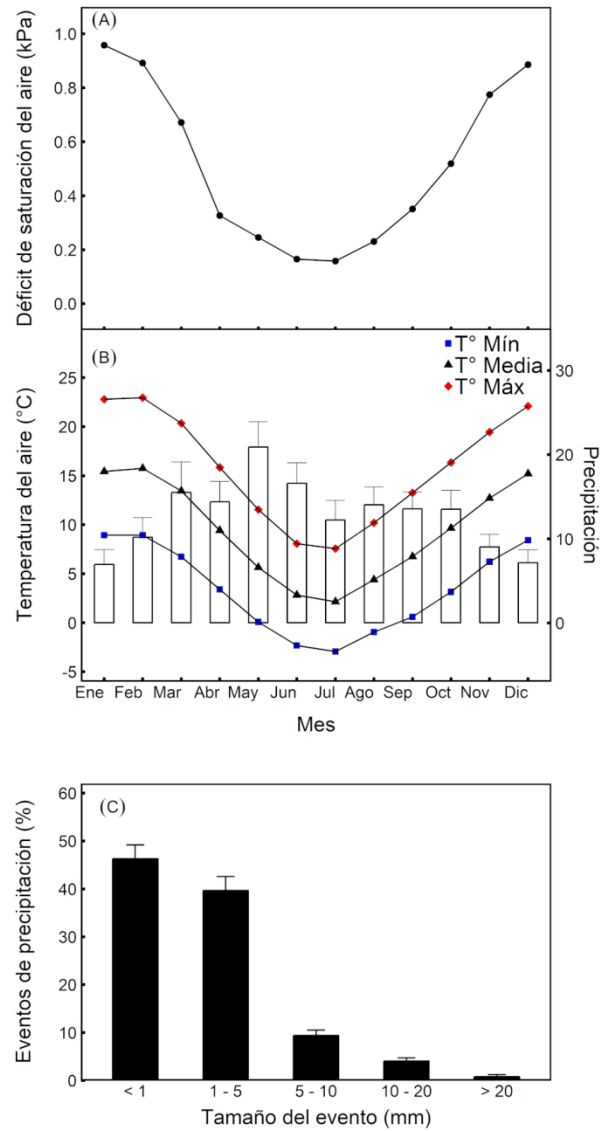
#### **2.2.10 Análisis estadístico**

Todos los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el software R v.3.4.4 (R Development Core Team 2018). Para evaluar la absorción foliar se hicieron 2 modelos distintos, uno para evaluar la absorción por especie y otro por profundidad de raíz. Para la absorción foliar por profundidad de raíz, se usaron modelos lineales mixtos (MLL) con test-F (paquete “lme4”; Bates et al., 2015) para evaluar los efectos de la interacción entre estación y profundidad de raíces (variables explicativas), con la especie como variable

aleatoria, sobre la absorción foliar de agua. Fue necesario ajustar la varianza del modelo utilizando la función VarPower (ajustada por profundidad de raíces). Se usaron GLSs para evaluar los efectos de la interacción entre especie y estación (variables explicativas) sobre la absorción foliar, y las mismas variables se usaron para evaluar la transpiración. Fue necesario ajustar la varianza del modelo en ambos casos, utilizando la función VarPower para transpiración y VarComb (combinando VarIdent ajustado por especie con VarPower) para AFA. Para evaluar la diferencia de interceptación entre especies se utilizaron GLSs, sin necesidad de ajustar varianza en dicho modelo. Se usaron regresiones lineales para evaluar la relación entre absorción foliar y transpiración con la profundidad de raíces. Se usaron los valores correspondientes al resultado del modelo para cada grupo de profundidad de raíces en cada estación. Nos basamos en el criterio de selección de Akaike para tamaños pequeños de muestras para hacer la selección de modelos (AICc; Burnham & Anderson 2002). La simplificación de los factores aleatorios y fijos de todos los modelos para alcanzar el modelo mínimo adecuado se llevó a cabo mediante prueba de hipótesis. Los análisis post-hoc de Bonferroni (paquete “multcomp”; Hothorn et al., 2008) fueron utilizados para hacer comparaciones múltiples en todos los modelos cuando el test-F fue significativo ( $p < 0.05$ ), excepto para interceptación y transpiración, en los que se utilizó el test de Tukey para el análisis post-hoc.

## 2.3 RESULTADOS

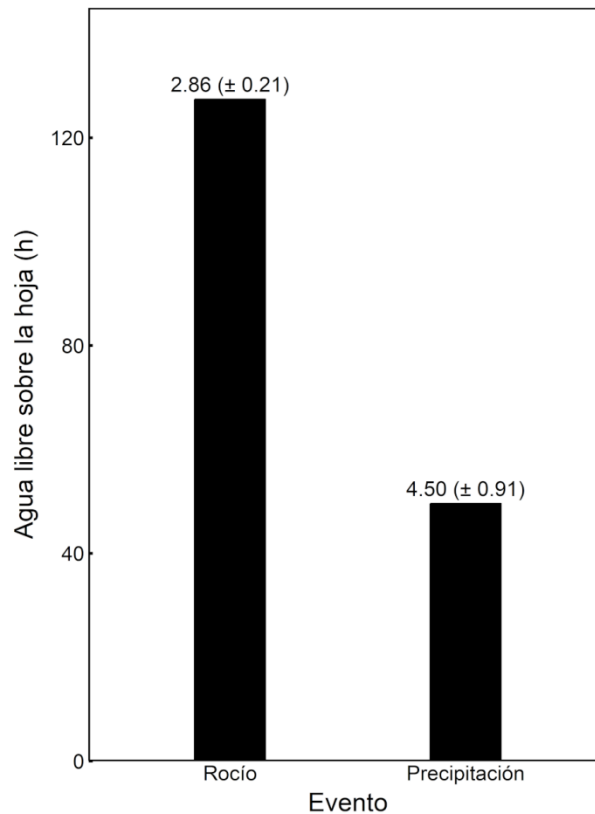
El sitio de estudio presentó un patrón estacional en el déficit de saturación del aire (**Fig. 2.8.A**), temperatura del aire y precipitación (**Fig. 2.8.B**). El déficit de saturación del aire fue mayor en verano y menor en invierno consistente con las variaciones en la temperatura del aire y las precipitaciones. La temperatura máxima mensual fue cercana a 25 °C y la mínima mensual cercana a 9°C. Durante el invierno, las temperaturas mínimas descendieron por debajo de 0°C. Durante el período 2008-2017, el 48% de los eventos de lluvia correspondieron a pequeños pulsos, menores a 1 mm, y el 40% de los pulsos tuvieron valores entre 1 y 5 mm (**Fig. 2.8.C**).



**Figura 2.8.** A) Déficit de saturación del aire medio mensual para el período 2007-2019. B) Temperatura mensual mínima, media y máxima del aire y lluvias mensuales históricas (1982-2019) en el Campo Experimental Rio Mayo (INTA). (Fuente: <http://sipas.inta.gob.ar/>). C) Porcentaje de los pulsos de lluvia clasificados según tamaño (< 1, 1-5, 5-10, 10-20 and > 20 mm) para el período 2008-2017.

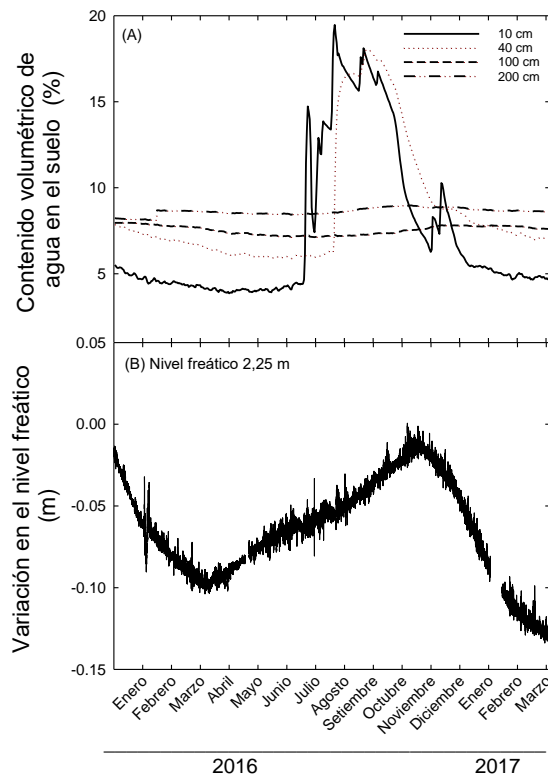
Durante la primavera 2016 y verano 2017 se observaron 45 días con formación de rocío. El periodo total durante en el cual las hojas se encontraron cubiertas con una superficie de agua, considerando lluvias y rocío, fue de aproximadamente 177 horas (**Fig.**

**2.9).** El promedio de tiempo que una hoja permaneció con agua sobre su superficie durante los eventos de lluvia fue de 4 ½ horas, mientras que durante la formación de rocío fue de aproximadamente 3 horas (**Fig. 2.9**).



**Figura 2.9.** Cantidad de horas en que las hojas permanecen con una capa de agua libre y el tipo de evento (rocío o precipitación) durante la primavera del 2016 y verano del 2017. El valor sobre cada columna indica el valor medio  $\pm$  error.

El contenido de agua en el suelo desde enero del 2016 hasta marzo del 2017 varió estacional y espacialmente dentro del perfil del suelo (**Fig. 2.10.A**). El contenido volumétrico de agua en el suelo a 100 y 200 cm de profundidad se mantuvo constante a lo largo del año (cerca del 8%), mientras que en la parte más superficial del suelo (10 cm de profundidad) varió desde 5% en la estación seca hasta 20% en el invierno.

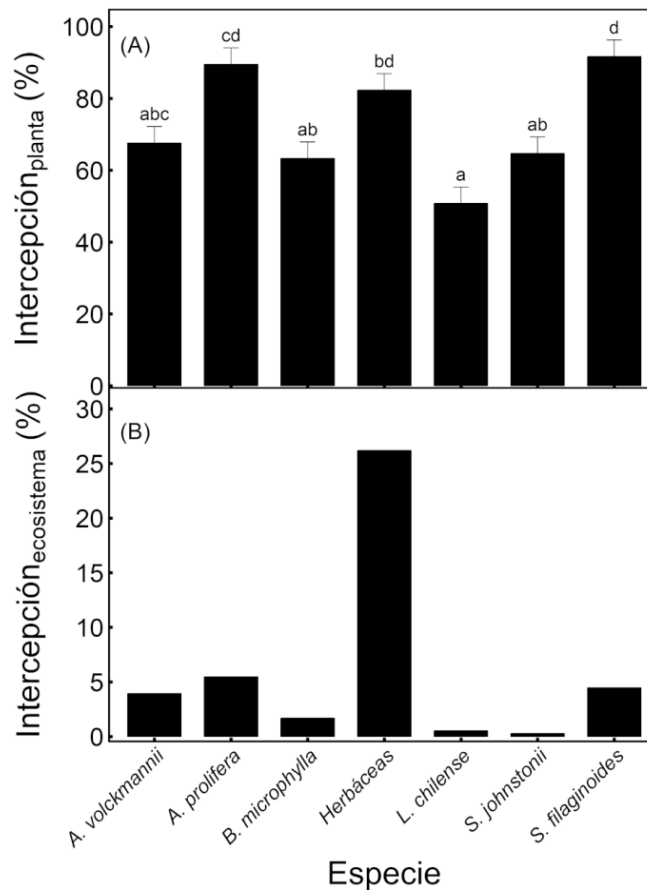


**Figura 2.10.** (A) Contenido volumétrico de agua en el suelo (%) para 4 profundidades: 10 cm, 40 cm, 100 cm y 200 cm, y (B) variación estacional del nivel freático entre el 1 de enero de 2016 al 28 de marzo de 2017. Cada línea en (A) representa la media diaria de 5 sensores por profundidad.

El agua freática se encuentra relativamente superficial, entre 1,4 y 5 m dependiendo del área (datos no mostrados). En el pozo analizado y cercano al sitio donde se determinó el contenido de agua en el suelo, el nivel del agua al momento de la instalación del freatómetro en 2014 era de 2,25 m (**Fig. 2.10.B**). El nivel del agua varió estacionalmente, alcanzando el nivel mínimo al final del verano, y los niveles máximos en primavera (**Fig. 2.10.B**). La variación estacional es aproximadamente de 10 cm.

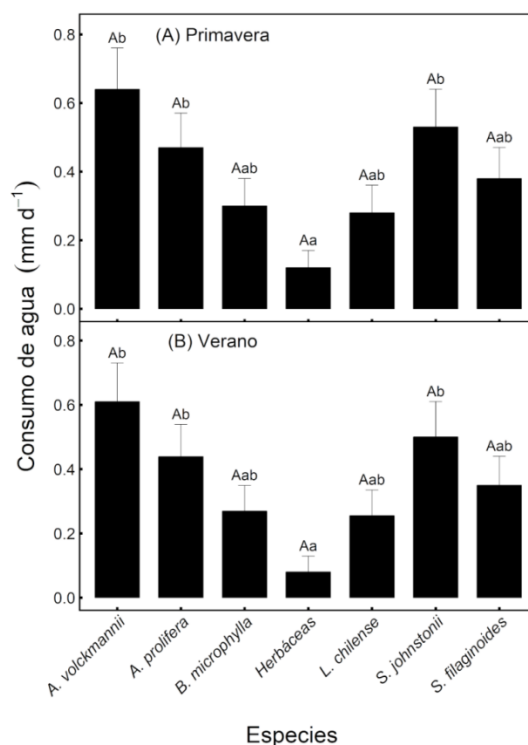
El porcentaje de agua retenida por intercepción por el canopeo de las especies analizadas luego de un pulso de agua de 1,8 mm varió entre 50,77 y 91,69% (**Fig. 2.11.A**). El valor más bajo correspondió a *L. chilense* mientras que el valor mayor fue de *S. filaginoides*. La especie fue significativa como variable explicativa fija en el modelo

planteado ( $F_{6-14} = 11,27$ ;  $p = 0,0001$ ). La extrapolación del agua retenida por el canopeo a nivel de ecosistema, estimada teniendo en cuenta el porcentaje de cobertura de cada una de las especies, indicó que el 25% de toda el agua que es mantenida en el dosel se encuentra en el estrato herbáceo (**Fig.2.11.B**). Las especies arbustivas retuvieron el 12%. Las especies de raíces profundas como *B. microphylla* y *S. johnstonii* fueron las que presentaron los valores menores a nivel de ecosistema debido a su baja cobertura.



**Figura 2.11.** Intercepción de agua (%) (A) a nivel de planta y (B) a nivel de ecosistema para ocho diferentes especies de la estepa patagónica. En (A) cada columna corresponde al valor medio ( $n=3$ )  $\pm$ error. Diferentes letras arriba de cada columna en (A) indica diferencias significativas entre especies ( $p < 0,05$ ). En (B) el valor se estimó de acuerdo a la intercepción de cada especie y su cobertura total en el sitio de estudio.

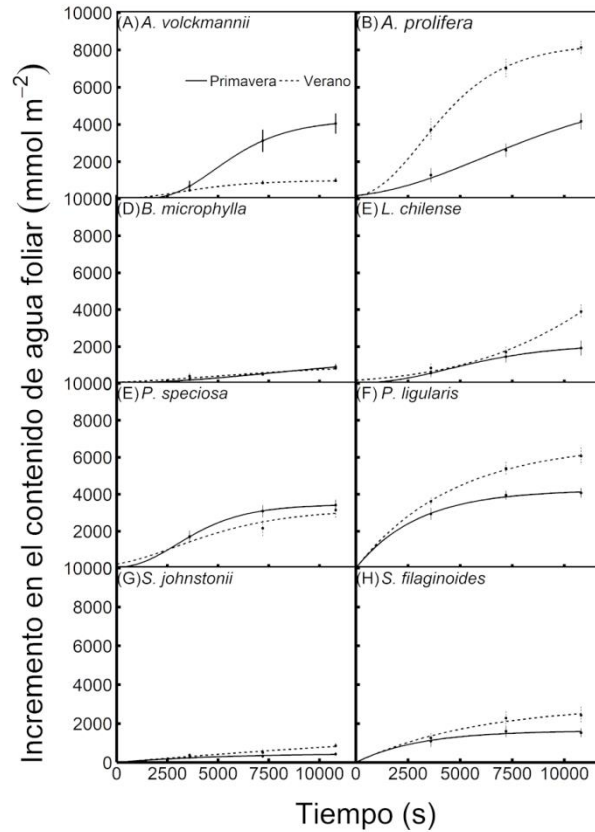
El consumo de agua en  $\text{mm dia}^{-1}$  (considerando que toda el área es cubierta por una especie en particular) varió entre especies (**Fig. 2.12**). Durante la primavera las especies herbáceas fueron las especies que menos agua consumieron ( $0,12 \pm 0,05 \text{ mm dia}^{-1}$ ) (**Fig. 2.12.A**), mientras que *A. volckmannii*, *A. proliferata* y *S. johnstonii* presentaron valores significativamente mayores a los pastos ( $p < 0,01$ ). Durante la estación seca se mantuvo el mismo comportamiento entre las especies (**Fig. 2.12.B**). La interacción entre especies y estación no fue significativa ( $F_{6-28} = 0,89$ ;  $p = 0,51$ ), la estación no fue significativa en el modelo ( $F_{1-34} = 0,29$ ;  $p = 0,58$ ) y la especie fue estadísticamente significativa ( $F_{6-34} = 5,39$ ;  $p < 0,001$ ). No se encontró ninguna relación entre el consumo de agua y la interceptación de las especies bajo estudio.



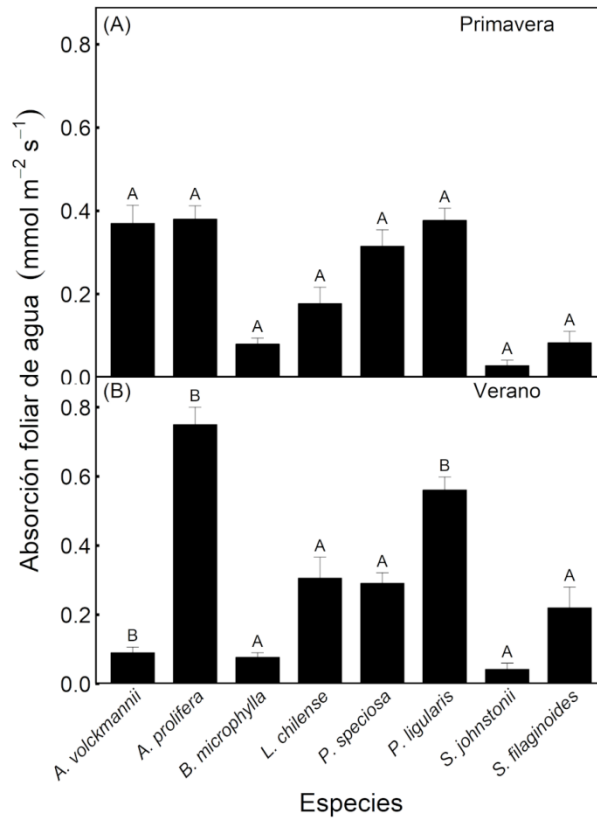
**Figura 2.12.** Consumo de agua por especie ( $\text{mm d}^{-1}$ ) durante (A) primavera y (B) verano para arbustos y pastos de la estepa patagónica. Cada columna corresponde al valor medio ( $n=3$ )  $\pm$ error. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas entre especies dentro de una estación ( $p < 0,05$ ) y diferentes letras mayúsculas diferencias significativas entre estaciones para una misma especie ( $p < 0,05$ ).

El cambio en el contenido de agua de las hojas en función del tiempo que estuvieron en contacto con agua demostró que todas las especies analizadas tienen capacidad de absorber agua directamente a través de su superficie foliar, tanto en primavera como en verano (**Fig. 2.13**). En varias especies, la tasa de absorción foliar por unidad de superficie ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) tendió a ser mayor durante el periodo inicial de inmersión cuando las hojas presentaban mayor grado de deshidratación. Luego, la tasa de absorción foliar tendió a disminuir y el contenido de agua de las hojas aumentó gradualmente hasta llegar a su máximo valor. El contenido foliar de agua en *L. chilense* continuó aumentando sustancialmente luego de 3 horas de inmersión en verano (**Fig. 2.13D**). *Poa ligularis* exhibió la mayor velocidad de absorción foliar en los minutos iniciales luego de ser sumergida en agua para luego alcanzar un valor asintótico (**Fig. 2.13.F**). Los arbustos con sistema radical más profundo (*B. microphylla* y *S. johnstonii*) fueron las especies con menor absorción foliar (**Fig. 2.13.C.G**).

Durante la primavera, las tasas mayores de absorción foliar (a las tres horas de inmersión) fueron observadas en los pastos y en *A. prolifera* y *A. volckmannii* (entre  $0,37$  y  $0,38 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) (**Fig. 2.14.A**). Hubo un aumento significativo en la absorción foliar desde la primavera al verano en *A. prolifera* y *P. ligularis* ( $p < 0,001$ ), mientras que en *A. volckmannii* se observó una disminución para el mismo período ( $p < 0,001$ ) (**Fig. 2.14.B**). En verano los valores más altos de absorción foliar fueron registrados en *A. prolifera* ( $0,75 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). La interacción entre especies y estación fue significativa ( $F_{7-138} = 16,67$ ;  $p < 0,0001$ ). La absorción foliar luego de una hora de inmersión y la absorción foliar después de 3 horas de inmersión fueron lineal y positivamente correlacionadas ( $y = 1,61 + 1,44 x$ ;  $R^2 = 0,76$ ;  $p < 0,001$ ), de modo tal que las especies con mayor absorción inicial fueron también las que más agua absorbieron al final del tratamiento. La absorción foliar de agua integrada entre ambas estaciones teniendo en cuenta el tiempo promedio que permanece una hoja mojada varió entre  $21 \text{ mol m}^{-2}$  en *S. johnstonii* y  $241 \text{ mol m}^{-2}$  en *P. ligularis*.



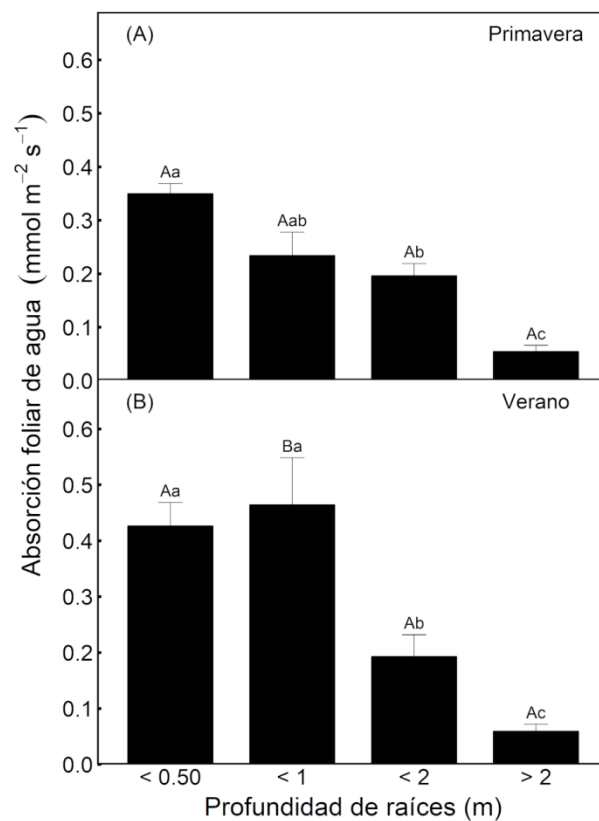
**Figura 2.13.** Incremento en el contenido de agua de las hojas por unidad de superficie foliar en función del tiempo de inmersión en agua para 8 especies de plantas de la estepa patagónica. Cada punto corresponde a la media  $\pm$  error de 10 plantas por especie y tres hojas por planta. Línea sólida (primavera), línea punteada (verano). Panel (A) corresponde a *A. volckmannii*, (B) a *A. prolifera*, (C) a *B. microphylla*, (D) a *L. chilense*, (E) a *P. speciosa*, (F) a *P. ligularis*, (G) a *S. johnstonii* y el panel (H) corresponde a *S. filaginoides*.



**Figura 2.14.** Absorción foliar de agua para ocho especies de la estepa patagónica estimada luego de sumergir en agua las hojas durante 3 horas. Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error de 10 plantas por especie y tres hojas por especie. Diferentes letras representan diferencias significativas en la absorción foliar entre (A) primavera y (B) verano para cada especie.

Cuando las tasas de absorción foliar de las especies fueron agrupadas de acuerdo a la profundidad de raíces se encontró que las especies con raíces superficiales fueron las que presentaron mayor absorción foliar (**Fig. 2.15**). Durante primavera la absorción foliar fue significativamente mayor en los grupos de especies con sistema radical menor a 1 m de profundidad ( $p < 0,01$ ) (**Fig. 2.15.A**). Los pastos presentaron valores medios de  $0,35 \pm 0,02$   $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , mientras que los grupos de arbustos con raíces más profundas tuvieron valores medios de  $0,05 \pm 0,01$   $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Durante el verano se observaron diferencias significativas entre grupos de especies con sistema radical hasta 1 m y grupo de especies con raíces de más de 1 m de profundidad ( $p < 0,01$ ), y entre grupos de especies con raíces hasta 2 m y de más de 2 m ( $p < 0,01$ ) (**Fig. 2.15.B**). Los valores más bajos de absorción

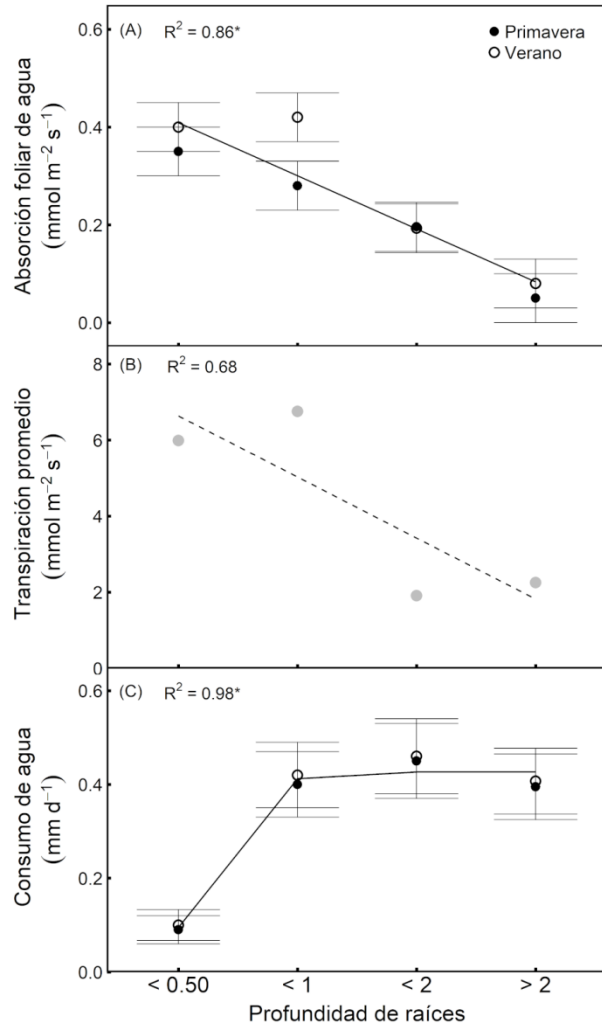
foliar fueron observados en el grupo de especies de sistema radical de mayor profundidad ( $0,06 \pm 0,01 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) mientras que las especies con sistema radical hasta 1 m de profundidad presentaron los valores más altos ( $0,46 \pm 0,08 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). Se encontró un aumento significativo en la absorción foliar desde primavera a verano en las especies con sistema radical hasta 1 m ( $0,23 \pm 0,02 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ;  $p= 0,0196$ ) (**Fig. 2.15**). Hubo una interacción significativa entre estación y profundidad de raíces ( $F_{3-13}= 7,00$ ;  $p< 0,001$ ). La especie como factor aleatorio también fue significativa ( $p< 0,001$ ).



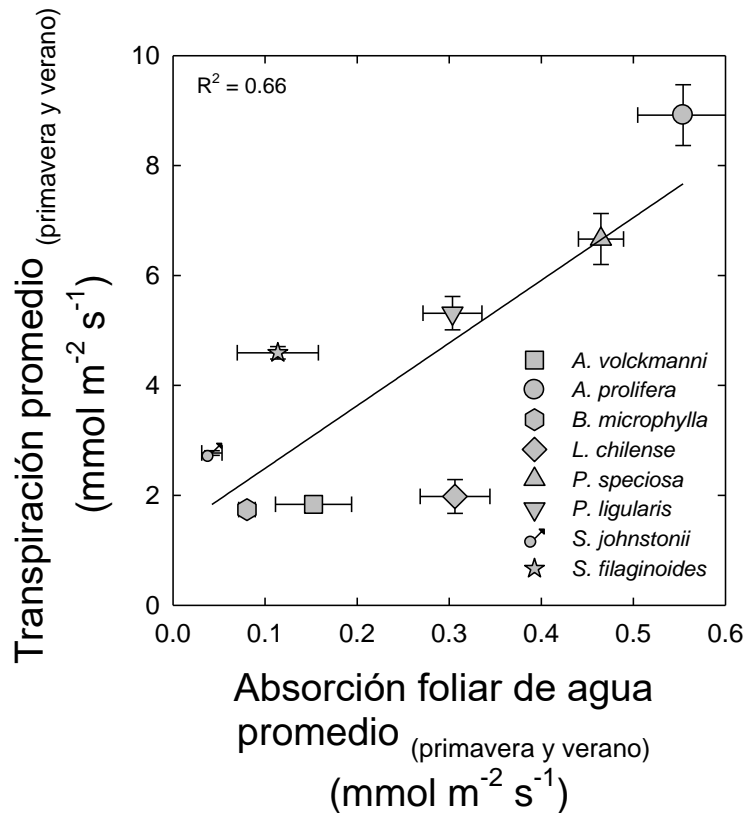
**Figura 2.15.** Absorción foliar de agua para grupos de especies con diferente profundidad de raíces luego de 3 horas con la superficie foliar en contacto con agua. Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error de 10 plantas por especie, 3 hojas por especie y 2 especies por profundidad de raíz. Diferentes letras minúsculas representan diferencias en absorción foliar entre grupos de especies dentro de una misma estación. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias en absorción foliar entre (A) primavera y (B) verano para cada grupo de especies.

Tanto la absorción foliar como el consumo de agua fueron significativamente correlacionadas con la profundidad del sistema radical a través de las estaciones (**Fig. 2.16. A y C**). Mientras la absorción foliar fue negativamente y linealmente correlacionada con la profundidad de las raíces ( $y = 0,51 - 0,10x$ ;  $R^2 = 0,86$ ;  $p = 0,0009$ ), el consumo de agua fue positiva y exponencialmente correlacionado con el acceso al agua edáfica ( $y = -7 + 7,45 * (1 - \exp(-3,11 * x))$ );  $R^2 = 0,69$ ;  $p = 0,01$ ). La tasa de transpiración por unidad de superficie foliar no se correlacionó con la profundidad de las raíces; sin embargo, hubo una tendencia a que los grupos de especies con raíces más superficiales presenten mayor tasa de transpiración (cerca de  $6 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) que las especies con raíces más profundas (aproximadamente  $2 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) (**Fig. 2.16.B**).

*Azorella prolifera* fue la especie con mayor tasa de transpiración por unidad de superficie foliar ( $9 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), mientras que *A. volckmannii*, *B. microphylla* y *L. chilensis* fueron las especies con las tasas de transpiración más bajas (menores a  $2 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). La tasa de transpiración promedio se correlacionó directamente con la absorción foliar promedio a nivel de especie ( $y = 1,35 + 11,40x$ ;  $R^2 = 0,66$ ;  $p = 0,01$ ). Es decir, las especies con mayor tasa de transpiración fueron aquellas con mayor absorción foliar (**Fig. 2.17**). La relación absorción foliar a transpiración varió desde 0,015 en *S. johnstonii* hasta 0,15 en *L. chilense*.



**Figura 2.16.** (A) Relación entre absorción foliar de agua ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), (B) transpiración por unidad de superficie foliar ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), y (C) consumo de agua ( $\text{mm día}^{-1}$ ) por cada grupo de especies en función de la profundidad de raíces, para primavera y verano. Cada símbolo representa el valor medio  $\pm$  error de 10 plantas, 3 hojas por especie y 2 especies por profundidad de raíces para absorción foliar, 3 hojas por planta y 5 plantas por especie para transpiración, y 3 plantas por especie para consumo de agua. Las líneas sólidas son las funciones ajustadas a los datos: (A)  $y = 0,51 - 0,10 x$ ;  $R^2 = 0,86$ ;  $p = 0,0009$ ; (B)  $y = 8,2 - 1,6 x$ ;  $R^2 = 0,68$ ;  $p = 0,17$ , (C)  $y = -7 + 7,45 * (1 - \exp(-3,11 * x))$ ;  $R^2 = 0,98$ ;  $p = 0,01$ .



**Figura 2.17.** Relación entre transpiración foliar promedio y absorción foliar de agua promedio a través de ocho especies de la estepa patagónica. Cada símbolo representa el valor medio  $\pm$  error estándar de 10 plantas por especie y tres hojas por planta para cada estación para absorción foliar de agua y cinco plantas por especie por estación para transpiración. La recta ajusta a la función:  $y = 1,35 + 11,40x$ ;  $p = 0,01$ .

## 2.4 DISCUSIÓN

El contenido de agua en el suelo es uno de los principales limitantes del funcionamiento de las plantas en climas áridos, y particularmente en la estepa patagónica donde existe una asincronía entre temperaturas favorables para el crecimiento de las plantas y las precipitaciones (Paruelo et al., 1998). La estación de crecimiento se inicia durante la primavera cuando el contenido de agua disponible en el suelo es aun relativamente alto y las temperaturas empiezan a incrementar. El contenido de agua en el suelo tiene un marcado patrón estacional, principalmente en las capas más superficiales, lo cual está

asociado al patrón de precipitaciones. Sin embargo, a mayores profundidades la disponibilidad de agua para las plantas es menos dependiente de las precipitaciones y así más estable a lo largo del año. Resultados previos en el área de estudio indican que la pérdida de agua del ecosistema por evapotranspiración representa entre el 78 y el 92% de las precipitaciones y que la vegetación consume entre 44 y 53% de la entrada de agua (Pereyra et al., 2017). En este estudio, Pereyra y colaboradores encontraron también que la cantidad de agua evapo-transpirada se corresponde con la disminución de agua en el perfil del suelo hasta 2 m de profundidad, sugiriendo que toda el agua consumida provendría del suelo. Sin embargo, durante la estación seca hay un desvío en la relación, tal que hay mayor pérdida de agua del ecosistema que la disminución de agua en el suelo, lo que sugeriría que cierta cantidad de agua puede ser pérdida del ecosistema sin el nexo del suelo.

Si bien durante años más húmedos pueden observarse eventos de lluvia mayores a 10 mm (Carbonell Silletta, 2020), usualmente se observan eventos más pequeños (< 5 mm) (Golluscio et al., 1998). Durante la primavera del 2016 y verano del 2017 se registraron 11 días con pequeños eventos de lluvia (menores a 8 mm) y 45 días con rocío. Estos eventos no son suficientes para generar un incremento en la humedad del suelo en la zona donde se encuentran las raíces, pero podría ser interceptada por la vegetación y una parte ser almacenada en el canopeo, manteniendo la superficie foliar húmeda por al menos 3 horas.

Algunos estudios sugieren que en ambientes áridos y semiáridos las especies deberían tener características que reduzcan la interceptación de agua y mejoren el drenaje al suelo para que mayor cantidad de agua alcance la rizosfera y pueda ser absorbida por las raíces (Holder, 2013). Sin embargo, la estructura y morfología de las especies de la estepa patagónica, con algunas especies en cojín como *A. prolifera* o con canopeo relativamente denso como *S. filaginoides* y los pastos, resultan en una alta retención de agua por el canopeo luego de un pequeño pulso de lluvia. Esto es consistente con lo observado por Fleischbein et al. (2005), quienes determinaron que la capacidad de almacenamiento de agua está significativamente correlacionada de forma inversa con la porosidad de la copa y de forma directa con el índice de área foliar. Las características de la superficie foliar como la adhesividad (Capítulo 3) son determinantes de la retención de agua del canopeo, tal que especies con hojas con alta adhesividad presentan mayor interceptación (Holder, 2012; 2013;

Konrad et al., 2012). Los porcentajes tan elevados de agua interceptada y retenida por el canopeo en algunas especies de la estepa patagónica que, en general, es considerada como agua de intercepción que se perderá por evaporación directa, podrían contribuir al balance de agua a través de la absorción foliar. Los valores extrapolados a nivel de ecosistema teniendo en cuenta la cobertura de cada especie indican que más del 40% del agua que precipita sobre la vegetación no alcanza la superficie del suelo. Así la gran capacidad de retener agua por parte del canopeo sumado a que los pulsos de lluvia fuera de la estación húmeda son pequeños, contribuyen a la escasa disponibilidad de agua en el suelo durante la estación seca. Los resultados de este estudio indican que la magnitud del agua interceptada y retenida por el canopeo de las especies más abundantes de la estepa patagónica puede ser de gran importancia eco-hidrológica teniendo en cuenta que podría estar siendo parcialmente aprovechada por la vegetación a través de la absorción foliar.

La transpiración o consumo de agua de las especies en  $\text{mm dia}^{-1}$  fue similar al observado por Pereyra et al. (2017) para un área cercana a la del presente estudio. Si bien no se observaron diferencias significativas entre estaciones, Pereyra et al. (2017) encontró que al principio del verano (enero) la transpiración todavía se mantiene en un valor similar al de primavera y recién se puede observar una diferencia significativa entre estaciones al final de la estación seca (marzo). Los presentes resultados de ausencia de diferencias significativas entre especies arbustivas, y la función asintótica entre consumo de agua y profundidad de raíces indican que el acceso a diferentes fuentes de agua edáficas no afecta la cantidad de agua que consumen las plantas cuando aún no se ha alcanzado el umbral de la estación seca. Bucci et al. (2009) demostraron que las especies de la estepa patagónica con sistema radical profundo tienen baja conductancia hidráulica ( $K_h$ ) aunque generan un gradiente de potencial hídrico entre el suelo y las hojas ( $\Delta\Psi_{h-s}$ ) que compensa la baja eficiencia hidráulica, y así el flujo de agua a través de la planta ( $F$ ) es similar para las diferentes especies ( $F = K_h * \Delta\Psi_{h-s}$ ). De este modo, las especies arbustivas con raíces accediendo a fuentes de agua más abundantes y estables en el tiempo tienen similar consumo de agua que aquellas con un acceso más restringido en las capas superficiales del suelo. Esto no es así entre las especies de pastos y las arbustivas, donde los primeros presentan significativamente menor consumo de agua. La disponibilidad de agua para los pastos, que en general presentan raíces por encima de los 50 cm de profundidad, es muy

limitada. Bucci et al. (2009) mostraron que en los primeros 50 cm los potenciales hídricos del suelo descienden a valores cercanos a -4 MPa, mientras que a 100 cm ascienden a -2,5 MPa y a mayores profundidades son cercanos a 0 MPa, indicando de esta manera que debajo de 1 m la disponibilidad de agua en el suelo es similar para todas las especies. A nivel de las hojas, aunque la tasa de transpiración no fue correlacionada significativamente con la profundidad de las raíces, se diferenciaron dos grupos: los pastos y arbustos con raíces más superficiales con las mayores tasas de transpiración, y el resto de los arbustos con tasas bajas de transpiración. El hecho de que los arbustos con raíces superficiales consuman similar cantidad de agua pero presenten mayores tasas de transpiración que los arbustos con raíces accediendo a fuentes de agua más abundantes y estables en el suelo sugiere que las especies ajustan la pérdida de agua no solo a través de cambios en el sistema hidráulico y apertura estomática sino por cambios en la biomasa foliar. En general los arbustos de raíces profundas como *B. microphylla* y *S. johnstonii*, y aun *A. volckmannii* y *L. chilensis*, son arbustos de sustancialmente mayor tamaño que *A. prolifera* y *S. filaginoides*. Estas últimas especies y los pastos tendrían mayor tasa de intercambio de gases debido a que presentan una estación de crecimiento más corta que los arbustos con raíces profundas, los cuales mantienen el crecimiento por un periodo más largo pero a tasas más bajas (Bucci et al. 2009).

Al igual que plantas de otros ecosistemas áridos (Yan et al., 2015; Wang et al., 2016; Gong et al., 2019), las especies nativas de la estepa patagónica tienen capacidad de absorber agua desde la superficie foliar cuando la disponibilidad de agua en el suelo comienza a disminuir, coincidiendo con la estación de crecimiento, y durante la estación seca. Se observó una amplia variabilidad en la tasa de absorción foliar entre las especies estudiadas, desde  $0,04 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  en *S. johnstonii* en primavera hasta  $0,75 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  en *A. prolifera* en verano (**Fig. 2.14**). Estos valores son mayores a los mencionados por Berry et al. (2019) para plantas de diferentes biomas (valores promedio:  $0,063 \pm 0,85 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), lo que sugiere que la absorción foliar podría ser relevante en el balance hídrico de las plantas en la estepa patagónica. La mayor absorción foliar observada durante la estación seca comparada con la primavera, confirma la hipótesis de que un mayor gradiente de potencial hídrico entre el interior de la hoja y la superficie foliar cuando esta está húmeda favorece la absorción foliar. En el presente estudio no se encontró una correlación entre la

disminución del potencial hídrico foliar desde primavera a verano con el incremento en la absorción foliar a través de las especies. Sin embargo, todas las especies analizadas son anisohídricas (Scholz et al. 2012), y así disminuyeron el potencial hídrico cuando la disponibilidad de agua decreció (Capítulo 3, **Tabla 3.1**). El incremento en la absorción foliar de agua con la disminución del potencial hídrico es también consistente con los resultados de Schreel & Steppe (2019) en árboles de climas templados y con los resultados de Boanares et al. (2019) con especies de sabanas. Sin embargo, otros estudios demostraron que los cambios estacionales en la disponibilidad hídrica del suelo no afectan la absorción foliar (Cassana et al., 2016). Pero posiblemente en el estudio de Cassana et al. (2016) esta ausencia de efectos sea consecuencia de que la especie analizada exhibe potenciales hídricos foliares relativamente altos aún bajo condiciones extremas de sequía, con lo cual la fuerza motriz no sería suficientemente grande como para detectar diferencias en la absorción foliar de agua o contrarrestar las barreras para la entrada de agua a la hoja. Otros cambios estacionales como cambios en la composición de la cutícula de las hojas y que afectan las vías de penetración del agua hacia el interior del tejido, podrían también favorecer el incremento de la absorción de agua durante la estación seca. La permeabilidad de la cutícula tiende a incrementar con la edad de la hoja debido a la degradación y daño físico haciendo que las hojas más senescentes sean capaces de absorber mayor cantidad de agua (Burgess & Dawson, 2004; Fernández et al., 2017).

Consistente con nuestra hipótesis, los resultados sugieren que especies que pueden hacer uso de fuentes permanentes y más abundantes de agua en el suelo tienen menor capacidad de desacoplar temporalmente la absorción de agua de las fuentes de agua edáfica (fuente primaria) para hacer uso del agua depositada sobre la superficie foliar por efecto del rocío o pequeños pulsos de lluvia. Diferencias físico-químicas o estructurales de la superficie foliar (ej. hidrofobicidad, presencia de tricomas, composición química de la cutícula, densidad estomática, entre otras) pueden contribuir a las diferencias inter-específicas (ver Capítulo 3).

Pocos estudios han evaluado la relación existente entre la tasa de absorción foliar de agua y la tasa de transpiración por unidad de superficie foliar (por ejemplo Berry & Smith, 2013; Cassana et al., 2016). Las especies patagónicas evaluadas en este estudio presentaron

tasas de transpiración por unidad de superficie foliar similar a las reportadas en otros ecosistemas áridos (Naithani et al., 2012; Bradford et al., 2014; Niu et al., 2016). Aun así, la tasa de absorción foliar de agua representó entre el 1,5 y el 15 % de la tasa máxima de transpiración. La relación lineal positiva entre la tasa de transpiración y la tasa de absorción foliar contradice la hipótesis propuesta, pero la explicación puede estar dada en que mayor cantidad de agua absorbida por la superficie foliar pone a disposición más agua para la transpiración y además mejora el estado hídrico (ver Capítulo 4) con lo cual se reduce el cierre estomático. De este modo, la mayor absorción foliar y tasa de transpiración podrían contribuir a mayores tasas de asimilación de carbono y concentrar el crecimiento en un periodo más corto de tiempo como fue mencionado anteriormente.

En conclusión, los resultados indican que durante la estación de crecimiento y estación seca, la vegetación dispone de otras fuentes de agua transitorias (pulsos de lluvia y deposición de rocío) a las cuales puede acceder debido a la gran capacidad del canopy de retener el agua proveniente de los pequeños pulsos de agua y la deposición de rocío. Sumado a ello, el agua retenida puede ser parcialmente absorbida a través de la superficie foliar, con lo cual lleva a reconsiderar el agua interceptada por la vegetación como agua perdida del ecosistema. Aunque las especies con raíces más superficiales están más expuestas a la sequía estacional, las tasas de transpiración son mayores que las de raíces profundas, posiblemente compensadas por la mayor capacidad de absorber agua a través de las hojas.

## Capítulo 3

# Características biofísicas de la superficie foliar y su efecto sobre la absorción de agua en pastos y arbustos de la estepa patagónica

### 3.1 INTRODUCCIÓN

Varios estudios han focalizado sobre la importancia de incluir diferentes características de la superficie foliar en modelos hidrológicos (Holder, 2007; Rosado et al., 2013; Wang et al., 2014; 2015) y sobre cómo estas características pueden afectar el uso de los recursos por parte de las plantas (Rosado et al., 2013). La superficie foliar es la interfase entre las plantas y el ambiente que las rodea, y sus propiedades pueden afectar procesos hidrológicos como la intercepción de la lluvia, el flujo de agua a través del tallo y el almacenamiento de agua en el canopeo (Chang, 2006; Holder, 2007, 2012, 2013; Konrad et al., 2012; Roth-Nebelsick et al., 2012; Wang et al., 2014). La máxima cantidad de agua que puede almacenar el canopeo es dependiente, además del índice de área foliar, del grado de humectabilidad de las hojas. La humectabilidad foliar describe el comportamiento del agua luego de entrar en contacto con la superficie foliar. El ángulo de contacto entre las gotas de agua y la superficie foliar, la adhesión y la retención de las gotas son propiedades de las hojas que determinan el grado de humectabilidad. Estas características de las hojas dependen de las propiedades químicas de su superficie y de su estructura y morfología (Challen, 1960; Holloway, 1969; 1970; Brewer et al., 1991; Neinhuis & Barthlott, 1997; 1998; Koch et al., 2006; Shirtcliffe et al., 2006). La humectabilidad de las hojas puede variar dentro de una misma especie dependiendo de la edad de la hoja (Cape, 1983; Boyce et al., 1991; Kupcinskiene & Huttunen, 2005; Fernández et al., 2014), del grado de contaminación de la superficie foliar (Neinhuis & Barthlott, 1997), de la cara de la hoja (adaxial/abaxial) (Brewer & Nuñez, 2007; Fernández et al., 2014) y de las condiciones

ambientales (Neinhuis & Barthlott, 1997; Brewer & Nuñez, 2007; Aryal & Neuner, 2010, Kardel et al., 2012; Goldsmith et al., 2017).

Algunos estudios sugieren que la humectabilidad de la superficie foliar afecta el intercambio gaseoso (Brewer & Smith, 1995; Ishibashi & Terashima, 1995; Misson et al., 2005; Aparecido et al., 2017), reduce o incrementa la lixiviación de nutrientes (Massman et al., 1994; Cape, 1996; Burkhardt et al., 2012), aumenta el riesgo de invasión de patógenos (Reynolds et al., 1989; Evans et al., 1992; Huang et al., 2006), de deposición de material particulado (Neinhuis & Barthlott, 1998; Wang et al., 2013) y la intercepción de lluvia (Haines et al., 1985; Wilson et al., 1999; Tanakamaru et al., 1998; Wohlfahrt et al., 2006; Wang et al., 2014). Consecuentemente, debido al efecto negativo de mantener la superficie foliar húmeda, se sugiere que las plantas con hojas hidrofóbicas deberían ser seleccionadas para ambientes húmedos y plantas con hojas hidrofílicas para ambientes secos. El mojado de las hojas puede contribuir al balance hídrico de las plantas al reducir la pérdida de agua por la transpiración (Alvarado-Barrientos et al., 2014; Aparecido et al., 2015; Gerlein-Safdi et al., 2018) o al incrementar el agua absorbida a través de la absorción foliar (Burgess & Dawson, 2004; Breshears et al., 2008; Eller et al., 2013; Cavallaro et al., 2020; Capítulo 2). Ambos son procesos que contribuyen a la supervivencia y crecimiento de las plantas (Nadezhdina et al., 2010; Steppe et al., 2018). Aunque una mayor humectabilidad podría reducir la difusión de CO<sub>2</sub> y con ello la fotosíntesis, la eficiencia de uso de agua (EUA, ganancia de carbono en relación a la pérdida de agua) podría incrementar (Eller et al., 2013; Wu et al., 2018) debido a la disminución de la transpiración. La EUA podría incrementar por un mejoramiento en el estado hídrico (ya sea por la reducción en la transpiración o por absorción foliar) posterior al periodo de humedecimiento que permitiría mantener los estomas abiertos para la fijación de CO<sub>2</sub>.

En los ecosistemas áridos donde las fuentes de agua edáficas son escasas, la combinación de hojas altamente humectables y con capacidad de absorber agua a través de su superficie podría aliviar el estrés hídrico de las plantas. En estos ecosistemas, como la estepa patagónica, un porcentaje elevado de las precipitaciones ocurren como pequeños pulsos de lluvia (Cavallaro et al. 2020) que son interceptados por el canopeo de pastos y arbustos, sumado a la presencia de días con formación de rocío (Capítulo 2). Como plantas

de ambientes con déficit hídrico, estas presentan características xeromórficas que reducen las pérdidas de agua por transpiración (ej. hojas pequeñas, presencia de tricomas, cutículas gruesas, estomas hundidos). Sin embargo, las adaptaciones para la evitación de una pérdida excesiva de agua cuando la demanda evaporativa de la atmósfera es elevada no impide que estas u otras características de la superficie foliar favorezcan la absorción foliar de agua. Cavallaro et al. (2020) demostraron que varias especies de pastos y arbustos dominantes de la estepa patagónica con diferente profundidad de raíces exhiben absorción foliar durante la primavera y verano, momento en el cual la fuerza motriz para el movimiento de agua desde la superficie foliar hacia el interior de la hoja es mayor. Pero aún se desconoce si, además de una fuerza motriz favorable para el flujo inverso de agua, algunas características estructurales o morfológicas de las hojas pueden facilitar la formación de un film de agua sobre su superficie y su entrada al tejido foliar.

En este estudio se evaluaron algunas características biofísicas de la superficie foliar relacionadas con la humectabilidad, y su variación estacional e inter-específica considerando la heterogeneidad en el acceso a diferentes fuentes de agua en el suelo existente entre especies de arbustos y gramíneas en la estepa patagónica. También se analizó la relación entre el grado de humectabilidad de las hojas con la capacidad de absorción foliar. Específicamente se plantearon las siguientes preguntas: ¿El grado de hidrofiliidad de la superficie foliar está relacionada con la profundidad del sistema radical? ¿Estas características varían estacionalmente? ¿Tener hojas más humectables representa una ventaja para la absorción foliar? ¿Cómo afecta el grado de humectabilidad de las hojas a la eficiencia de uso de agua? Las hipótesis planteadas fueron: i) La humectabilidad de las hojas está relacionada con la disponibilidad de agua edáfica, de manera que grupos de especies con raíces superficiales y así con mayor déficit hídrico, tendrán hojas más humectables que las especies con raíces más profundas y con acceso a abundante agua en el suelo, ii) las características foliares relacionadas con la humectabilidad contribuyen a la absorción foliar, de manera que mayor absorción foliar será observada en especies con hojas más humectables, y iii) las especies con hojas más humectables son más eficientes en el uso de agua que las especies con hojas más hidrofóbicas. Para responder a los objetivos se determinó adhesividad y repelencia foliar, ángulo de contacto de una gota de agua sobre la superficie foliar, densidad estomática, cantidad de partículas sobre la hoja, potencial

hídrico foliar, conductancia mínima, absorción foliar y eficiencia de uso de agua en dos especies de gramíneas y seis de arbustos.

## **3.2 MATERIALES Y METODOS**

### **3.2.1 Sitio y especies de estudio**

El estudio se realizó en la misma área de la estepa patagónica que la descrita en el Capítulo 2. Se seleccionaron también las mismas dos especies de pastos (*Pappostipa speciosa* y *Poa ligularis*) y las seis especies de arbustos (*Adesmia volckmannii*, *Azorella prolifera*, *Senecio filaginoides*, *Schinus johnstonii* y *Berberis microphylla*). Las variables fueron determinadas en la estación de crecimiento (primavera) y en la estación seca (verano). La adhesividad y retención hídrica, el ángulo de contacto de una gota de agua sobre la superficie foliar y la densidad estomática fueron determinadas en la cara expuesta de la hoja, es decir, en la cara adaxial para los arbustos y en la abaxial para los pastos.

### **3.2.2 Tamaño foliar**

El tamaño foliar fue determinado en 30 hojas colectadas de 5 plantas por especie. Cada hoja fue fotografiada y la imagen fue analizada con el software IMAGEJ 1.50e.

### **3.2.3 Adhesividad**

La adhesividad de las hojas (punto en el cual la superficie de la hoja no puede retener más agua y esta comienza a drenar) fue determinada de acuerdo al protocolo propuesto por Wang et al. (2014). Diez hojas maduras de cinco diferentes plantas por especie fueron cortadas y su peso inicial determinado usando una balanza electrónica (precisión 0.0001, ALC-210.4, Acculab, USA). Posteriormente cada hoja fue sumergida en agua durante 10 segundos, después se dejó drenar libremente toda el agua superficial durante otros 10 segundos y finalmente se volvió a pesar. Todo el procedimiento tuvo una duración menor a un minuto por hoja para minimizar la pérdida por transpiración (antes de sumergir la hoja en agua) y evaporación (después de sumergir la hoja en agua). El área

foliar fue calculada tomando una fotografía y analizándola usando el software IMAGEJ 1.50e. La adhesividad fue calculada usando la ecuación 3.1:

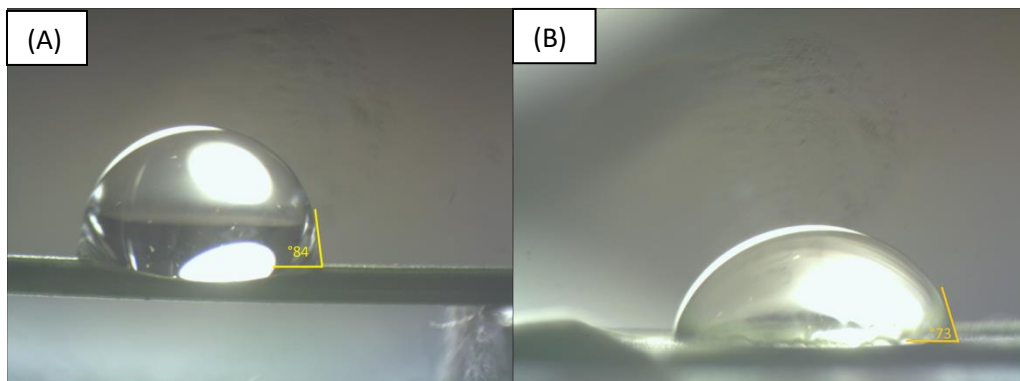
$$A = (P_f - P_i) / AF$$

**Ecuación 3.1**

Donde  $A$  es la adhesividad ( $\text{g m}^{-2}$ ),  $P_i$  y  $P_f$  es el peso de la hoja antes y después de ser sumergida en agua ( $\text{g}$ ), respectivamente, y  $AF$  es el área de la hoja fresca ( $\text{m}^2$ ).

### 3.2.4 Ángulo de contacto y retención de una gota de agua de la superficie foliar

El ángulo de contacto ( $\theta$ ) formado entre una gota de agua y la superficie de la cara expuesta de las hojas (cara adaxial para los arbustos y abaxial para los pastos) (**Fig. 3.1**) fue determinado en 30 hojas completamente expandidas, seleccionadas al azar de cinco diferentes plantas por especie. Se siguió el protocolo descrito por Adam (1963). Se usó una gota de  $1 \mu\text{L}$ , que es de un tamaño menor al estándar (Matos & Rosado, 2016) debido al tamaño pequeño de las hojas de las especies seleccionadas (**Tabla 3.1**). Se montó una hoja horizontalmente utilizando cinta doble-faz y con una micro-pipeta se colocó una gota de agua sobre su superficie. Luego, se tomó una foto con una cámara digital (Arcano 10mp, China) conectada a una lupa. Las imágenes fueron analizadas utilizando el software IMAGEJ 1.50e. Según el criterio publicado por Aryal & Neuner (2010), las hojas se clasificaron como “súper hidrofílicas” si  $\theta$  fue menor que  $40^\circ$ , “altamente humectables”, si  $\theta$  fue menor que  $90^\circ$ , “humectables”, si  $\theta$  fue menor que  $110^\circ$ , “no humectables”, si  $\theta$  fue mayor que  $110^\circ$ , “altamente no humectables” si  $\theta$  fue mayor que  $130^\circ$  y “súper hidrofóbicas” si  $\theta$  fue mayor que  $150^\circ$ . Debido a que las hojas de *P. speciosa* son muy angostas ( $0,61 \pm 0,021 \text{ mm}$ ), no fue posible determinar el ángulo de contacto en esa especie.



**Figura 3.1.** Gota de 1  $\mu\text{L}$  sobre la cara adaxial de una hoja de: A) pasto y B) arbusto.

La retención de una gota de agua, considerada como un índice de cuán “pegajosa” es la superficie foliar con respecto al agua, fue determinada de acuerdo a Brewer & Smith (1997). Treinta hojas completamente expandidas y seleccionadas al azar de 5 plantas por especie fueron posicionadas horizontalmente sobre una plataforma plana y se les colocó una gota de agua de 5  $\mu\text{L}$  (se usó este volumen, menor al estándar, debido al área foliar reducida de las especies bajo estudio) en la superficie de la cara expuesta. Luego, la plataforma fue inclinada gradualmente desde  $0^\circ$  hasta  $180^\circ$  o hasta el punto en que la gota empezó a rodar. Ángulos mayores a  $60^\circ$  indican una tendencia a retener las gotas (“efecto pétalo de rosas”) mientras que ángulos menores a  $20^\circ$  indican que las superficies foliares tienen una tendencia muy grande a auto limpiarse (“efecto Loto”) (Koch et al., 2009). Solo se midió la retención en *A. prolifera*, *S. filaginoides*, *S. johnstonii* y *B. microphylla* debido a que el reducido tamaño foliar de las otras especies impidió su determinación.

### 3.2.5 Densidad estomática

La densidad de estomas fue determinada a través de impresiones realizadas con acrílico de la región central de 10 hojas de 5 diferentes plantas por especie. Si bien todas las especies bajo estudio son anfiestómaticas, con excepción de *B. microphylla* que posee hojas hipoestómaticas (Forcone et al., 1996; Fernández et al., 2007; Feijóo et al., 2005; Iogna et al., 2017), solamente fue utilizada la cara adaxial de las hojas de los arbustos y la abaxial en los pastos (esto corresponde a las caras expuestas). En *S. filaginoides* fue necesario remover

los tricomas utilizando cinta adhesiva antes de tomar las impresiones. Tres imágenes por muestra fueron tomadas con una cámara para microscopios montada a un microscopio (Carl Zeiss, EL-Einsatz 45-18-89, Alemania). Las imágenes fueron posteriormente analizadas usando el software IMAGEJ 1.50e.

### 3.2.6 Conductancia cuticular

La conductancia cuticular ( $g_{min}$ ) fue estimada determinando la transpiración mínima ( $E_c$ ). En el campo se cortaron 3 ramas por especie e inmediatamente el extremo cortado fue colocado en agua destilada y cubierto con plástico negro durante 2 horas para una completa rehidratación. Después de este periodo de rehidratación, se cortaron 3 hojas por rama, se sellaron los peciolo con cianoacrilato y se dejaron las hojas expuestas para que transpiren libremente a una densidad de flujo cuántico menor a  $10 \text{ mmol de fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Las hojas fueron mantenidas en estas condiciones por 24 hs. La humedad relativa y temperatura dentro del laboratorio fueron relativamente constantes a través del periodo de medición. Las hojas se pesaron cada 30 minutos al inicio del experimento, luego cada 60 minutos y finalmente cada 120 minutos. Para determinar la tasa de transpiración mínima se graficó la pérdida de peso de las hojas en función del tiempo. Inicialmente, la hoja pierde peso rápidamente y luego (después del cierre estomático) la tasa de transpiración empieza a disminuir hasta alcanzar un valor asintótico ( $E_c$ ) en el cual ocurre el completo cierre estomático. Para calcular la conductancia cuticular se usó la ecuación propuesta por Hoad et al. (1996):

$$g_{min} = E_c / (D/P)$$

#### **Ecuación 3.2**

donde  $D$  es el déficit de saturación del aire (kPa) y  $P$  es la presión atmosférica (kPa) bajo condiciones de laboratorio. El déficit de saturación del aire se calculó teniendo en cuenta la temperatura y humedad del aire bajo las condiciones del laboratorio.

### 3.2.7 Cantidad de pequeñas partículas de materia

La cantidad de partículas de materia menores a 10  $\mu\text{m}$  ( $\text{PM}_{10}$ ) sobre la superficie foliar fue determinada por el método gravimétrico descrito por Prusty et al. (2005). Se colectaron 20 hojas por especie de 5 plantas diferentes, excepto para *A. volckmannii* y *L. chilense*, para las cuales se usaron 40 hojas debido a su reducido tamaño. Las muestras fueron lavadas en un sonicador (Sonorex super RK 106 solution). Luego, utilizando una bomba de vacío, el agua fue filtrada a través de un papel de filtro de 0.45  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro (GVS FilterTechnology, USA). Los papeles de filtro fueron secados en una estufa a 60° hasta peso constante, y luego pesados utilizando una balanza electrónica de precisión (0,0001 g). La cantidad de pequeñas partículas de materia acumulada sobre la superficie foliar ( $\text{PM}_{10}$ ;  $\text{g m}^{-2}$ ) fue calculada según la ecuación 3.3:

$$PM_{10} = (P_f - P_i) / AF$$

**Ecuación 3.3**

donde  $P_f$  es el peso final del papel de filtro (g),  $P_i$  es el peso inicial del papel de filtro (g) y  $AF$  es el área foliar ( $\text{m}^2$ ). El área foliar fue calculada a través de una imagen fotográfica analizada con el software IMAGEJ 1.50e.

### 3.2.8 Potencial hídrico

El potencial hídrico foliar ( $\Psi_{\text{hoja}}$ ) fue medido utilizando una cámara de presión (PMS System, Corvallis, OR, USA). Tres hojas por especie de cinco plantas por especie fueron colectadas al mediodía durante un día representativo de la primavera y del verano. La determinación del  $\Psi_{\text{hoja}}$  fue realizada dentro de 1 h de colectada la muestra.

### 3.2.9 Eficiencia de uso de agua integrada

Para determinar la eficiencia de uso de agua integrada se colectaron hojas sanas y completamente expandidas de diferentes individuos para cada especie durante la primavera. Las hojas fueron lavadas usando un sonicador (Sonorex super RK 106 solution) y secadas en estufa a 70°C hasta que su peso fue constante. Luego, las hojas fueron pulverizadas con un molinillo y se tomaron tres muestras compuestas de las que se determinó la

concentración de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta^{13}\text{C}$ ). Para ello se usó un espectrómetro Thermo Scientific DELTA V Advantage, acoplado vía el interface ConFlo IV a un Analizador Elemental Flash 2000 (IRMS-EA) en el Laboratorio de Isótopos Estables en Ciencias Ambientales (LIECA, IANIGLA-CONICET, UTNFRSR, Argentina). Se calculó la discriminación en contra del isótopo pesado de C de acuerdo a Farquhar, Ehleringer & Hubick (1989):

$$\Delta = (\delta^{13}\text{C}_{\text{atmósfera}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{planta}}) / (1 + \delta^{13}\text{C}_{\text{planta}}) \quad \text{Ecuación 3.4}$$

Finalmente se calculó la eficiencia de uso de agua integrada (EUA<sub>i</sub>) como:

$$\text{EUA}_i = Ca / 1,6 ((b' - \Delta) / (b' - a)) \quad \text{Ecuación 3.5}$$

donde Ca es la concentración de CO<sub>2</sub> de la atmósfera, b' es la discriminación de la Rubisco (27 ‰) y a es el fraccionamiento debido a la difusión en aire (4,4 ‰).

### 3.2.10 Absorción foliar

Para relacionar las propiedades de la superficie de la hoja con la absorción foliar, se usaron los datos del Capítulo 2.

### 3.2.11 Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el software R v.3.4.4 (R Development Core Team 2018). Se usaron modelos lineales mixtos (MLL) con test-F (paquete “lme4”; Bates et al., 2015) para evaluar los efectos de la interacción entre estación y profundidad de raíces (variables explicativas) con la especie como variable aleatoria, sobre las siguientes variables dependientes: adhesividad, retención, ángulo de contacto, conductancia cuticular, PM<sub>10</sub>, potencial hídrico y área foliar. Cuando fue necesario se ajustó el modelo de varianza. Para adhesividad, ángulo de contacto y área foliar el modelo se ajustó utilizando VarPower (ajustado por profundidad de raíces) mientras que para conductancia cuticular se utilizó VarExp (ajustado por profundidad de raíces). Para evaluar la densidad estomática se usaron MML con una distribución Poisson y el logaritmo como función de enlace. Incluimos la estación y la profundidad de raíces como variables explicativas, la especie como variable aleatoria y el tamaño del campo de la imagen (en el

caso en que la impresión estomática tuviera zonas de poca definición) como offset. Este modelo presentó subdispersión, por lo que se ajustó una distribución Poisson Conway-Maxwell (paquete “glmmTMB”; Brooks et al., 2017). Para evaluar la diferencia en densidad estomática entre profundidades de raíces se generó un modelo nuevo para cada estación (ya que en el modelo anterior la profundidad de raíces no fue significativa), en el cual se incluyó la profundidad de raíces como variable explicativa, la especie como aleatoria y nuevamente el tamaño del campo de la imagen como offset. En este modelo también hubo que ajustar una distribución Poisson Conway-Maxwell para corregir subdispersión. Fue necesario excluir a *B. microphylla* de este análisis debido a que se analizaron solamente las caras expuestas y esta especie es hipostómatica. Se usaron modelos lineales generalizados (GLSs) con test-F (paquete “nlme”; Pinheiro & Bates, 2018) para evaluar los efectos de la profundidad de raíces sobre la EUAi. Se usaron regresiones lineales para evaluar la relación entre absorción foliar con densidad estomática, adhesividad y humectabilidad, y entre el potencial hídrico y EUAi con humectabilidad. Para la primera regresión se usó el valor del resultado del modelo para cada grupo de profundidad de raíces en cada estación de ambas variables. Para evaluar la relación entre la absorción foliar de agua con la adhesividad y entre la absorción foliar de agua con el ángulo de contacto se utilizó la diferencia de valores que se produce desde la primavera al verano. Para evaluar la relación entre potencial hídrico con la humectabilidad y entre ángulo de contacto con EUAi se usaron los valores del resultado del modelo de cada grupo de raíces para cada estación. Nos basamos en el criterio de selección de Akaike para tamaños pequeños de muestras para hacer la selección de modelos (AICc; Burnham & Anderson 2002). La simplificación de los factores aleatorios y fijos de todos los modelos para alcanzar el modelo mínimo adecuado se llevó a cabo mediante prueba de hipótesis. Análisis post-hoc de Bonferroni (paquete “multcomp”; Hothorn et al., 2008) se utilizaron para comparaciones múltiples en todos los modelos cuando el test-F fue significativo ( $p < 0.05$ ).

### 3.3 RESULTADOS

El área foliar de las especies estudiadas varió desde 0,15 hasta 0,68 cm<sup>2</sup> (**Tabla 3.1**). Las hojas de mayor tamaño corresponden a los grupos de especies con raíces más

profundas ( $p < 0,001$ ). La interacción entre profundidad de raíces y estación fue estadísticamente significativa ( $F_{1,3} = 3,99$ ;  $p = 0,009$ ), y la variable especie como factor aleatorio también fue significativa ( $p < 0,0001$ ).

La adhesividad varió desde 48 hasta 464 g m<sup>-2</sup> entre grupos de profundidad de raíces y estaciones (**Tabla 3.1**). Los pastos presentaron los valores más bajos en ambas estaciones; sin embargo solo los arbustos con sistema radical de hasta 2 m de profundidad fueron significativamente diferentes del resto de los grupos, teniendo mayor adhesividad hídrica ( $p < 0,001$ ). Los cambios en adhesividad entre estaciones ( $\Delta$  adhesividad) fueron significativos en los arbustos con raíces hasta 1 m y 2 m (**Tabla 3.1** y **Fig. 3.2.A**). Mientras que los arbustos con sistemas radicales más superficiales presentaron mayor adhesividad durante la primavera ( $p < 0,001$ ), los arbustos con sistemas radicales hasta 2 m presentaron mayor adhesividad en verano ( $p = 0,007$ ) (**Fig. 3.2.A**). La interacción entre estación y profundidad de raíces fue significativa ( $F_{3,147} = 25,78$ ;  $p < 0,001$ ). La especie como variable aleatoria fue también significativa ( $p < 0,001$ ).

**Tabla 3.1.** Área foliar, adhesividad, ángulo de contacto, densidad estomática, conductancia cuticular, cantidad de pequeñas partículas de materia (PM10), retención, absorción foliar, potencial hídrico foliar y eficiencia de uso de agua integrada para cada grupo de profundidad de raíces durante la primavera y verano. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas entre estaciones dentro de cada grupo de profundidad de raíces. Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas entre grupos de profundidad de raíces dentro de una misma estación.

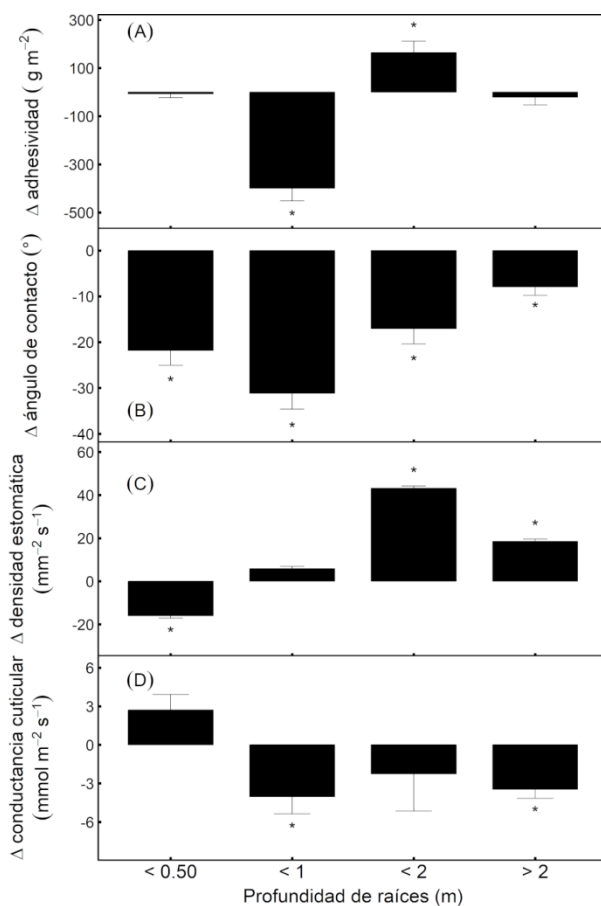
		Profundidad de raíces			
		< 0,50	< 1	< 2	> 2
Área foliar (cm <sup>2</sup> )	Primavera	0,33 (0,02) Ab	0,30 (0,02) Ab	0,15 (0,01) Aa	0,68 (0,04) Ac
	Verano	0,33 (0,02) Aa	0,36 (0,04) Aa	0,23 (0,03) Aa	0,62 (0,02) Ab
Adhesividad (g m <sup>-2</sup> )	Primavera	55,83 (43,63) Aa	464,20 (65,86) Ab	90,75 (48,59) Aa	183,56 (48,46) Aa

	<b>Verano</b>	48,15 (43,49) Aa	64,99 (46,86) Ba	255,33 (62,21) Ba	163,34 (47,91) Aa
	<b>Primavera</b>	100,58 (16,97) Aa	106,39 (12,24) Aa	97,88 (12,24) Aa	86,09 (11,95) Aa
<b>Ángulo de contacto (°)</b>	<b>Verano</b>	78,79 (16,92) Ba	75,25 (12,09) Ba	80,85 (11,98) Ba	79,19 (11,94) Ba
<b>Retención (°)</b>	<b>Primavera</b>	-	170,42 (20,70) Aa	-	180 (20,64) Aa
	<b>Verano</b>	-	109,42 (20,70) Ba	-	180 (20,64) Ab
<b>Densidad estomática (número mm<sup>-2</sup>)</b>	<b>Primavera</b>	70,5 (1,11) Aa	97,72 (1,08) Aa	82,90 (1,08) Aa	114,40 (1,08) Aa
	<b>Verano</b>	54,60 (1,15) Aa	103,50 (1,08) Ab	126,10 (1,08) Bb	132,90 (1,09) Bb
<b>Conductancia cuticular (mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>)</b>	<b>Primavera</b>	0,80 (0,24) Aa	6,76 (1,28) Ab	8,89 (2,62) Ab	6,20 (0,64) Ab
	<b>Verano</b>	3,51 (1,19) Aab	2,73 (0,35) Ba	6,65 (1,27) Ab	2,73 (0,28) Ba
<b>PM<sub>10</sub> (g m<sup>-2</sup>)</b>	<b>Primavera</b>	0,05 (0,04) Aa	0,54 (0,27) Aa	0,52 (0,30) Aa	0,14 (0,41) Aa
	<b>Verano</b>	0,28 (0,04) Ba	0,60 (0,27) Ba	0,89 (0,30) Ba	0,05 (0,41) Ba
<b>Absorción foliar (mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>)</b>	<b>Primavera</b>	0,35 (0,05) Aa	0,28 (0,05) Aab	0,196 (0,05) Ab	0,05 (0,05) Ac
	<b>Verano</b>	0,40 (0,05) Aa	0,42 (0,05) Ba	0,193 (0,05) Ab	0,08 (0,05) Ac
<b>Potencial hídrico (MPa)</b>	<b>Primavera</b>	-2,195 (0,186) Aa	-1,46 (0,186) Ab	-1,37 (0,15) Ab	-2,12 (0,26) Aa
	<b>Verano</b>	-4,605 (0,186) Ba	-2,86 (0,186) Bb	-3,19 (0,15) Bb	-4,05 (0,26) Ba
<b>Eficiencia de uso de agua (μmol CO<sub>2</sub> mmol H<sub>2</sub>O)</b>	<b>Primavera</b>	0,147 (0,001) a	0,137 (0,005) a	0,161 (0,009) ab	0,177 (0,001) b

El ángulo de contacto entre una gota de agua y la superficie foliar varió entre 75° y 106° entre los grupos de profundidad de raíces y estación (**Tabla 3.1**). No hubo diferencias significativas entre los grupos dentro de cada estación (**Tabla 3.1**). Todos los grupos

mostraron una disminución significativa en los ángulos de contacto desde la primavera al verano ( $\Delta$  ángulo de contacto) ( $p < 0,001$ ), indicando que la humectabilidad incrementa durante la estación seca (**Tabla 3.1** y **Fig. 3.2.B**). Este cambio estacional fue mayor en arbustos con profundidad de raíces hasta 1 m ( $31,1 \pm 3,48^\circ$ ) y en pastos ( $21,8 \pm 3,26^\circ$ ), mientras que el cambio menor se observó en los grupos de plantas con mayor profundidad de raíces ( $7,9 \pm 1,88^\circ$ ) (**Tabla 3.1** y **Fig. 3.2.B**). De acuerdo a su ángulo de contacto, los grupos de especies con raíces más profundas fueron clasificados como altamente humectables (presentaron el menor ángulo de contacto,  $86,09 \pm 11,95^\circ$ ) durante la primavera, mientras que los grupos de especies con raíces de hasta 1 m fueron las menos humectables (tuvieron el mayor ángulo de contacto,  $106,39 \pm 12,24^\circ$ ). Durante el verano todas las especies tuvieron valores similares de hidrofiliidad (entre  $75,25$  y  $80,85^\circ$ ) y fueron clasificadas como altamente humectables. La interacción entre profundidad de raíces y estación fue estadísticamente significativa ( $F_{3-379} = 13,21$ ;  $p < 0,0001$ ). También la variable especie como factor aleatorio fue estadísticamente significativa en el modelo ( $p < 0,0001$ ).

La retención de una gota de agua por la superficie foliar solamente pudo ser determinada en las especies de arbustos con hojas de mayor tamaño. Los grupos de especies que tienen el sistema radical más profundo tuvieron similar retención en ambas estaciones ( $180 \pm 20,64^\circ$ ) (**Tabla 3.1**). Sin embargo, las especies con raíces que alcanzan hasta 1 m de profundidad presentaron mayor retención hídrica durante la primavera ( $180,42 \pm 20,70^\circ$ ) que durante el verano ( $109,42 \pm 20,70^\circ$ ) ( $p < 0,001$ ). Durante la primavera no se observaron diferencias significativas entre grupos de profundidades de raíces, pero durante el verano los arbustos con sistema radical más profundo tuvieron un mayor ángulo de retención ( $p = 0,04$ ). La interacción entre estación y profundidad de raíces fue estadísticamente significativa ( $F_{1-213} = 71,91$ ;  $p < 0,0001$ ). La especie como variable aleatoria también fue significativa en el modelo ( $p < 0,0001$ ).



**Figura 3.2.** Variación estacional de (A) adhesividad, (B) ángulo de contacto, (C) densidad estomática y (D) conductancia cuticular para cada grupo de profundidad de raíces (< 0,50 m, < 1 m, < 2m y > 2m). Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error estándar (n= 20 en (A), n= 60 en (B), n= 60 en (C) y n= 6 para (D)). \* indica que la variación entre estaciones fue significativa ( $p < 0,05$ ).

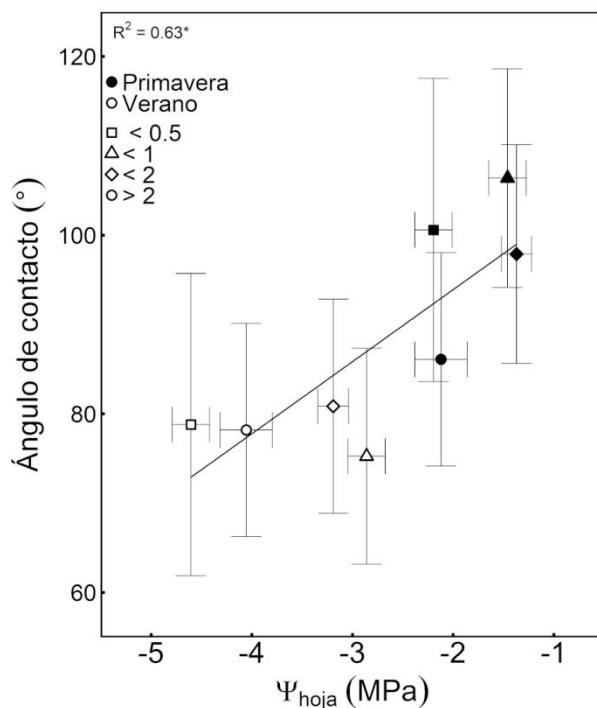
Los pastos exhibieron la menor densidad estomática en ambas estaciones ( $70,5 \pm 1,11$  por  $mm^{-2}$  en primavera y  $54,6 \pm 1,15$  por  $mm^{-2}$  en verano) mientras que el grupo de especies con mayor profundidad de raíces tuvo la mayor densidad de estomas en ambas estaciones ( $114,4 \pm 1,08$  por  $mm^{-2}$  en primavera y  $132,9 \pm 1,09$  por  $mm^{-2}$  en verano) (**Tabla 3.1**). Sin embargo, estas diferencias de densidad estomática solo fueron significativas en verano entre los pastos y los arbustos ( $p = 0,03$ ). Los grupos de especies con profundidad de raíces < 2 m y > 2 mostraron diferencia significativa entre estaciones ( $p < 0,01$ ) (**Figura 3.2.C**). Dentro de un grupo de profundidades de raíces los pastos mostraron tendencia a

disminuir su densidad estomática en el verano, mientras que todos los grupos de arbustos tendieron a incrementar su densidad estomática (**Figura 3.2.C**). La estación fue estadísticamente significativa en el modelo ( $chi^2= 44,86$ ,  $p < 0,0001$ ), mientras que la profundidad de raíces fue marginalmente significativa ( $chi^2= 7,09$ ,  $p= 0,06$ ). La especie como factor aleatorio fue estadísticamente significativa ( $chi^2= 32,66$ ,  $p < 0,0001$ ). Cuando se separaron los modelos por estación para evaluar la importancia de la profundidad de raíces dentro de cada estación se observó que esta variable no fue significativa en la estación de crecimiento ( $chi^2= 6,05$ ,  $p= 0,10$ ), pero fue significativa durante el verano ( $chi^2= 8,53$ ,  $p= 0,03$ ).

La conductancia cuticular presentó una gran variabilidad entre grupos de especies con distinta profundidad del sistema radical y entre estaciones (desde 0,8 hasta 8,9  $mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$ ; **Tabla 3.1**). Hubo diferencias significativas en la conductancia cuticular entre pastos y arbustos en la primavera ( $p < 0,02$ ). En verano la conductancia cuticular disminuyó en las especies arbustivas ( $p < 0,05$ ) respecto a la observada en primavera. Esta diferencia no fue significativa en el grupo de arbustos con raíces de hasta 2 m de profundidad (**Fig. 3.2.D**), que tuvieron mayor conductancia cuticular en verano ( $6,65 \pm 1,27\ mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$ ). La interacción entre profundidad de raíces y la estación fue estadísticamente significativa ( $F_{3,40}= 7,09$ ;  $p < 0,001$ ), y la especie como variable aleatoria no fue significativa ( $p= 0,99$ ).

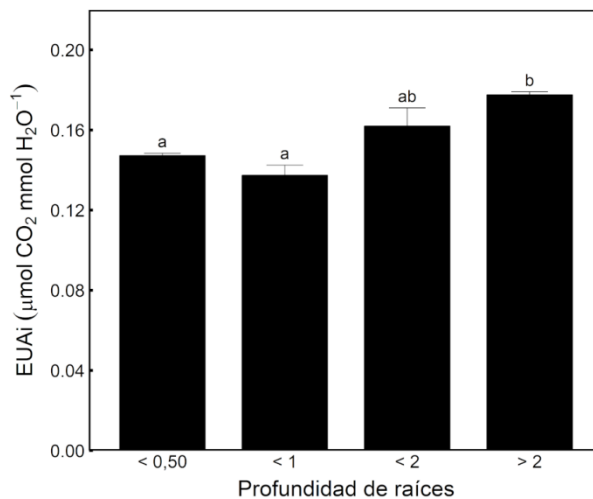
$PM_{10}$  varió entre 0,05  $g\ m^{-2}$  y 0,82  $g\ m^{-2}$  (**Tabla 3.1**). Todas las especies tuvieron una disminución estadísticamente significativa desde la primavera al verano ( $p < 0,001$ ). En ambas estaciones los menores valores se observaron en pastos y en arbustos con sistema radical más profundo (0,05  $g\ m^{-2}$  y 0,08  $g\ m^{-2}$  respectivamente durante la primavera y 0,28  $g\ m^{-2}$  y 0,31  $g\ m^{-2}$  en el verano). Se encontró diferencia significativa entre pastos y grupos de arbustos con raíces que alcanzan los 2 m de profundidad ( $p= 0,05$ ). Estos arbustos mostraron los valores mayores durante la primavera (0,59  $g\ m^{-2}$ ) y también durante el verano (0,82  $g\ m^{-2}$ ) respecto a las otras especies. La interacción entre estación y profundidad de raíces no fue significativa ( $F_{3,72}= 0,11$ ;  $p=0,95$ ), pero tanto la estación como la profundidad de raíces fueron estadísticamente significativas en el modelo ( $F_{1,75}= 12,13$ ;  $p < 0,001$ ;  $F_{3,75}= 3,44$ ;  $p= 0,02$ , respectivamente). La especie como variable aleatoria no fue significativa ( $p= 0,15$ ).

Consistente con la estación, todos los grupos de especies presentaron potenciales hídricos foliares menores (más negativos) en verano que en primavera ( $p < 0,001$ ) (**Tabla 3.1**). Durante ambas estaciones, los pastos y el grupo de arbustos con raíces más profundas tuvieron potenciales hídricos más negativos que el resto de los grupos de especies arbustivas ( $p < 0,05$ ). La interacción entre profundidad de raíces y estación fue estadísticamente significativa ( $F_{3,68} = 18,52$ ;  $p < 0,001$ ), y la especie como factor aleatorio fue también significativa ( $p < 0,001$ ). El potencial hídrico foliar tuvo un efecto lineal y positivo sobre el ángulo de contacto, a través de las estaciones y grupos de especies con diferente profundidad de raíces ( $y = 109,86 + 8,05x$ ;  $R^2 = 0,63$ ;  $p = 0,01$ ) (**Fig. 3.3**). Los grupos de especies con potenciales hídricos más negativos tuvieron hojas más humectables (menores ángulos de contacto).



**Figura 3.3.** Relación entre potencial hídrico y el ángulo de contacto para cada grupo de profundidad de raíces, para primavera y verano. Cada símbolo representa el valor medio  $\pm$  error estándar de 5 plantas por especie para potencial hídrico y 3 hojas por planta y 10 plantas por especie para el ángulo de contacto. La línea sólida es la función lineal que ajusta los datos a la función:  $y = 109,86 + 8,05 x$ ;  $R^2 = 0,63$ ;  $p = 0,01$ .

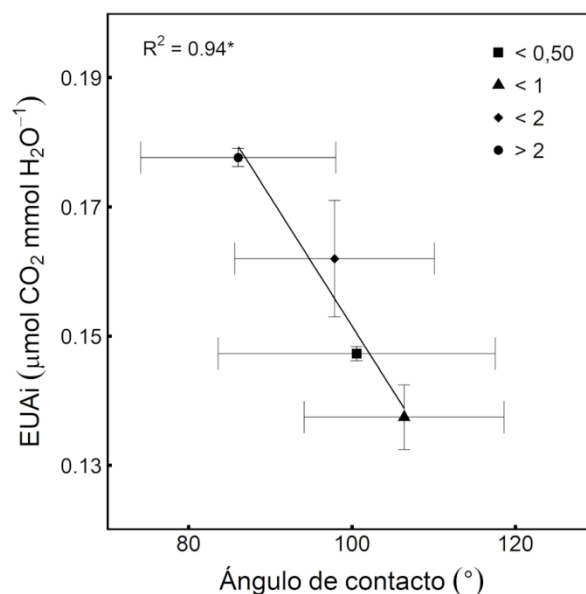
La eficiencia de uso de agua integrada en el tiempo varió entre  $0,137 \pm 0,005$  (grupo de especies con raíces hasta 1 m) y  $0,177 \pm 0,0014 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol H}_2\text{O}^{-1}$  (grupo de especies con raíces de más de 2 m de profundidad) en la primavera (**Fig. 3.4**). La profundidad de raíz fue un factor significativo en el modelo ( $F_{3-20} = 100,32$ ;  $p < 0,0001$ ). Las especies herbáceas y arbustivas con sistema radical hasta 1 m fueron significativamente diferentes de los arbustos con sistema radical mayor a 2 m de profundidad ( $p < 0,01$ ).



**Figura 3.4.** Eficiencia de uso de agua integrada en el tiempo para cada grupo de profundidad de raíces (< 0,50 m, < 1 m, < 2m y > 2m). Cada columna corresponde al valor medio de 3 muestras  $\pm$  error. Letras minúsculas indican diferencias significativas entre grupo de profundidad de raíces ( $p < 0,05$ ).

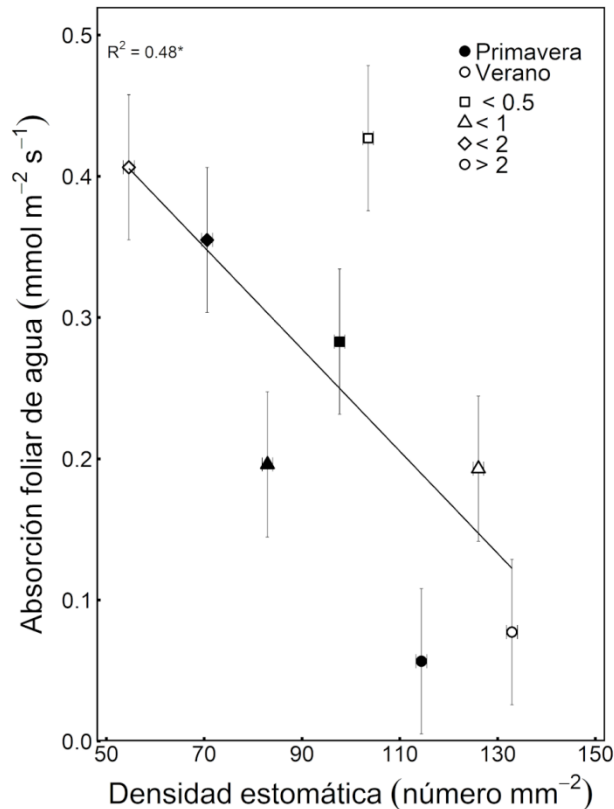
*Azorella prolifera* fue la especie con mayor tasa de transpiración por unidad de superficie foliar ( $9 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), mientras que *A. volckmannii*, *B. microphylla* y *L. chilensis* fueron las especies con las tasas de transpiración más bajas (menores a  $2 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). La tasa de transpiración promedio se correlacionó directamente con la absorción foliar promedio a nivel de especie ( $y = 1,35 + 11,40x$ ;  $R^2 = 0,66$ ;  $p = 0,01$ ). Es decir, las especies con mayor tasa de transpiración fueron aquellas con mayor absorción foliar (**Fig. 2.17**). La relación absorción foliar a transpiración varió desde 0,015 en *S. johnstonii* hasta 0,15 en *L. chilense*.

La EUAi fue lineal y negativamente relacionada con el ángulo de contacto ( $y = 0,35 - 0,002 x$ ;  $R^2 = 0,63$ ;  $p=0,02$ ) (**Fig. 3.5**). De este modo, las especies con las hojas más humectables (menor ángulo de contacto) fueron las especies más eficientes en el uso de agua.



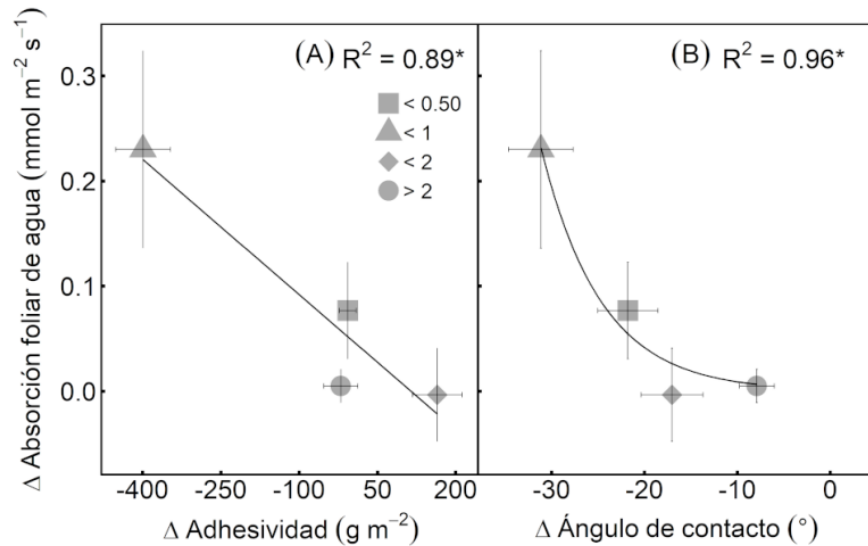
**Figura 3.5.** Relación entre la eficiencia de uso de agua integrada en el tiempo y el ángulo de contacto para cada grupo de profundidad de raíces durante la primavera. Cada símbolo representa el valor medio  $\pm$  error de 3 muestras por especie para EUAi y 3 hojas por planta y 10 plantas por especie para el ángulo de contacto. La línea sólida es la función lineal ajustada a los datos:  $y = 0,35 - 0,002 x$ ;  $p=0,02$ .

Se encontró una relación lineal y negativa entre absorción foliar y densidad estomática ( $y=0,66 - 0,004x$ ;  $R^2 = 0,48$ ;  $p= 0,02$ ) a través de las estaciones y grupos de especies con diferente profundidad de raíces. Grupos de especies que presentaron mayor absorción foliar de agua fueron aquellos que tuvieron menor densidad estomática (**Fig. 3.6**)



**Figura 3.6.** Relación entre absorción foliar de agua y densidad estomática en cuatro grupos de profundidad de raíces en primavera y verano. Cada símbolo representa el valor medio  $\pm$  error ( $n=20$  para absorción foliar y  $n=60$  para densidad estomática). La línea representa la función lineal que se ajusta a la ecuación  $y = 0.66 - 0.004 x$ ;  $R^2 = 0,48$ ;  $p = 0.02$ .

La magnitud de la absorción foliar no fue relacionada significativamente con ninguna de las características de la superficie foliar que incrementan la humectabilidad (ángulo de contacto, adhesividad y retención de las gotas de agua). Sin embargo, los cambios estacionales en la absorción foliar de agua estuvieron inversamente relacionados con los cambios estacionales en la adhesividad ( $y = 0,049 - 0,0004 x$ ;  $R^2 = 0,89$ ;  $p = 0,03$ ) y en el ángulo de contacto ( $y = 0,0019 * \exp(-0,1544 * x)$ ;  $R^2 = 0,96$ ;  $p = 0,01$ ) (**Fig. 3.7**). Los grupos de especies cuyas hojas se tornaron menos adhesivas (valores más negativos de  $\Delta$  adhesividad) y que disminuyeron el ángulo de contacto de las gotas con la superficie foliar en el verano fueron los grupos de especies con mayor incremento en la absorción foliar (**Fig.3.7.A, B**).



**Figura 3. 7.** (A) Cambios en la absorción foliar de agua desde la primavera al verano en función de los cambios de la adhesividad de las hojas desde la primavera al verano. Cada símbolo representa el valor medio de 10 plantas por especie y tres hojas por planta para absorción foliar y dos hojas por planta y 5 plantas por especie para adhesividad. La línea representa la función que se ajusta a los datos  $y=0,049 -0,0004 x$ ;  $R^2= 0,89$ ;  $p=0,03$ . (B) Cambios en la absorción foliar de agua desde la primavera al verano en función de los cambios en el ángulo de contacto de las gotas de agua con la superficie de la hoja desde la primavera al verano. Cada símbolo representa el valor medio de 10 plantas por especie y tres hojas por planta para absorción foliar y tres hojas por planta y 10 plantas por especie para el ángulo de contacto. La curva representa la función que se ajusta a la ecuación  $y=0,0019 * \exp (-0,1544 * x)$ ;  $R^2= 0,96$ ;  $p=0,01$ .

### 3.4 DISCUSIÓN

La difusión de CO<sub>2</sub> es aproximadamente 10000 veces menor en el agua que en el aire (Weast, 1985), por lo tanto la captación de CO<sub>2</sub> necesaria para la fotosíntesis disminuye en hojas húmedas (Smith & McClean, 1989; Brewer & Smith, 1995; Ishibashi & Terashima, 1995; Letts & Mulligan, 2005). Esta puede ser una de las razones por las cuales especies pertenecientes a ecosistemas con humedad relativa del aire elevada tienen adaptaciones para repeler el agua de su superficie foliar (Smith & McClean, 1989). Sin embargo, algunos estudios (Bradley et al., 2003; Aryal & Neuner, 2010) indican mayor presión de selección para reducir la retención de agua sobre la superficie foliar en

ecosistemas secos que en ecosistemas húmedos. En el presente estudio la heterogeneidad en el contenido de agua disponible en el perfil del suelo (Capítulo 2) no tuvo un impacto en el grado de humectabilidad de las hojas, tal que todas las especies fueron altamente humectables durante la estación seca, incluso las especies con raíces explorando las capas del suelo con mayor disponibilidad de agua. Los ángulos de contacto de una gota de agua con la superficie foliar obtenidos en este estudio, los cuales brindan información sobre el grado de repelencia o humectabilidad de las hojas, fueron menores que los informados por Brewer & Nuñez (2007). Estos autores encontraron ángulos de entre 90 y 160° para especies en otros sitios de la estepa patagónica. Es posible que esta diferencia en las propiedades biofísicas de la superficie foliar entre ambos trabajos se deba a que la estepa analizada por Brewer & Nuñez tiene una precipitación anual sustancialmente mayor (700 mm) que nuestro sitio de estudio. Estas diferencias contribuyen a confirmar que la humectabilidad de las hojas aumenta en ambientes con limitada disponibilidad de agua en el suelo.

En ambientes húmedos una mayor repelencia hídrica foliar puede promover una mayor eficiencia fotosintética durante periodos prolongados de lluvia, evitando de esta manera una reducción en la tasa de difusión del CO<sub>2</sub> entre la capa límite y los estomas debida a la presencia de agua (Smith & McClean, 1989; Brewer & Smith, 1995; Ishibashi & Terashima, 1995). Sin embargo, en ecosistemas áridos donde se presenta una asincronía entre la disponibilidad de agua en el suelo y las temperaturas favorables para el crecimiento, un aumento en la humectabilidad de las hojas podría ayudar a dispersar el agua sobre una mayor superficie de la hoja (gotas más aplanadas), favoreciendo de esta manera la disminución de la transpiración (Smith & McClean, 1989) o promoviendo el uso de pequeños pulsos de lluvia o rocío como una fuente alternativa de agua. Consistente con este último efecto, en el Capítulo 2 de esta tesis se demostró que las especies analizadas absorben agua a través de la superficie foliar y en el Capítulo 4 se muestra que el agua absorbida contribuye a mantener el estado hídrico foliar (Cavallaro et al., 2020). Resultados similares han sido también observados en otros ecosistemas (Breshears et al., 2008; Berry & Smith, 2014; Cassana et al., 2016; Holanda et al., 2019). En cuanto al potencial efecto negativo que podría tener la humectabilidad de las hojas sobre la reducción en el intercambio gaseoso (Reinhardt & Smith, 2008; Aparecido et al., 2017), este no debería

tener un impacto muy significativo en el balance de carbono para estas especies, debido a que los pulsos de lluvia o rocío ocurren por cortos periodos de tiempo (en promedio de 4,5 y 3,5 horas por evento, respectivamente) y, sumado a esto, la formación de rocío ocurre en horarios donde la densidad de flujo cuántico es baja o nula. La mayor eficiencia de agua encontrada en especies con hojas con menor ángulo de contacto junto con la relación funcional positiva entre la absorción foliar y la transpiración (Capítulo 2), sugiere que la tasa de fotosíntesis también incrementa en las hojas más humectables. Otros estudios han observado que características foliares que favorecen la humectabilidad (tricomos, pelos) aumentan la eficiencia de uso de agua por un aumento en la asimilación de carbono pero acompañado por una disminución de la transpiración (Ben-Asher et al., 2010; Gerlein-Safdi et al., 2018).

Las plantas de la estepa patagónica no solo pueden ser cubiertas con una capa de agua o con múltiples gotas durante eventos de precipitación o rocío debido a su alta humectabilidad, sino que poseen la habilidad de retener estas gotas sobre su superficie. Los resultados indican que las gotas de agua interceptadas por las plantas no drenan fuera de las hojas aun cuando éstas se encuentran inclinadas a más de  $180^\circ$ . Teniendo en cuenta la variabilidad en el ángulo de inclinación de las hojas con respecto al plano horizontal que se observan en las plantas a campo, las gotas de agua tendrían una muy baja probabilidad de drenar fuera de la superficie foliar. Las hojas con ángulos de inclinación grandes han sido consideradas como una adaptación en ecosistemas áridos y semiáridos para minimizar la intercepción de luz (Valiente-Banuet et al., 2010). Sin embargo, los ángulos de retención de agua mayores que los ángulos de inclinación foliar observados en este estudio descartan esta última explicación. Además se ha sugerido que en ecosistemas áridos y semiáridos un canopeo hidrofóbico podría ser una ventaja para disminuir la intercepción de agua de lluvia y aumentar la cantidad de agua que alcanza el suelo y así está disponible para la absorción radical (Holder, 2013). Sin embargo, en la estepa patagónica durante la estación seca los pulsos de agua no son de suficiente tamaño (menores a 8 mm y varios de ellos no superan 1,5 mm; Cavallaro et al., 2020; Capítulo 2) para humedecer el suelo donde están distribuidas las raíces. Por lo tanto, se asume que el alto grado de humectabilidad de las hojas podría representar una estrategia adaptativa para favorecer la absorción de agua directamente a través de las hojas durante o después de algún evento que humedezca la

superficie foliar. La relación negativa encontrada entre el cambio estacional del ángulo de contacto y el cambio estacional en la absorción foliar es una evidencia de que tener hojas humectables favorece la absorción de agua directamente a través de la superficie foliar. Aparentemente, una alta humectabilidad durante la estación seca podría ser, parcialmente, el efecto de la deshidratación foliar sobre el ángulo de contacto. Además de incrementarse la fuerza motriz para la absorción foliar durante la estación seca (Cavallaro et al., 2020; capítulo 4), una disminución en el contenido de agua de las células epidérmicas puede disminuir la superficie foliar reduciendo de esta manera el ángulo de contacto (Fogg, 1947; Kang et al., 2018) y por lo tanto aumentando la humectabilidad.

La cantidad de agua que la superficie foliar puede retener, un predictor de la capacidad de almacenamiento de agua, depende, entre otros factores, de la repelencia hídrica de su superficie (Haines et al., 1985; Holder, 2013; Klamerus-Iwan & Witek, 2018). Entre las especies estudiadas se observó una gran variabilidad en la adhesión de agua, desde 48,15 g m<sup>-2</sup> hasta 464,20 g m<sup>-2</sup>. Estos valores se encuentran dentro de los encontrados en otros ecosistemas (Monson et al., 1992; Raupach et al., 1997; Wohlfahrt et al., 2006; Wang et al., 2014). Debido a que todas las especies estudiadas fueron clasificadas como altamente humectables durante la estación seca, no se encontró una relación entre la adhesividad y el ángulo de contacto entre una gota de agua y la superficie foliar. Otra posible explicación para esto podría estar dada por el espesor de la capa de agua retenida sobre la superficie foliar. Si se estima el espesor de esta capa de agua a partir de la cantidad de agua adherida, se obtiene un valor que varía entre 55 y 464 μm según el grupo de especies considerado. Este espesor de la capa de agua es, en varias especies estudiadas, significativamente mayor que la capa de agua absorbida a través de la superficie foliar durante un periodo de 3 horas (de 10 a 82 μm).

La humectabilidad de las hojas es afectada por la densidad estomática, por la cantidad de pequeñas partículas acumuladas sobre la superficie foliar y por la edad de la hoja, entre otros factores. En la actualidad aun nos es clara la relación existente entre densidad estomática y humectabilidad. Algunos estudios indican que especies con mayor densidad estomática son más repelentes (Brewer & Nuñez, 2007; Wang et al., 2010), mientras que otros estudios, cuyos resultados son consistentes con los presentados en este

trabajo, no han encontrado una relación entre ambas variables (Juniper & Jeffree, 1983; Brewer & Smith, 1995; Kumar et al., 2004). Sin embargo, en el presente estudio se observó una relación negativa entre densidad estomática y absorción foliar de agua. Esto puede ser una estrategia adaptativa para especies que poseen limitada disponibilidad de agua en el suelo, ya que presentaría la ventaja tanto de reducir la pérdida de agua a través de los estomas debido a la transpiración, como de aumentar la absorción foliar de agua, a través de diferentes vías de entrada de la superficie foliar. Los grupos de especies expuestos a mayor déficit hídrico del suelo (sistema radical menor a 0,50 m de profundidad) presentaron mayor absorción foliar de agua y tendieron a tener una menor densidad estomática. De acuerdo a Scholz et al. (2012), las especies con sistema radical superficial presentan, efectivamente, menor conductancia estomática durante la estación seca que las especies con sistema radical profundo. Estos resultados sugieren que el principal camino de entrada de agua desde la superficie foliar podría ser la cutícula. Berry et al. (2019) consideran que un aumento en la conductancia cuticular puede llevar a un aumento en la absorción foliar, especialmente cuando las hojas presentan potenciales hídricos bajos. Sin embargo esto no fue observado en este estudio, aunque en los pastos la conductancia cuticular y la absorción foliar aumentaron en el verano. En el resto de las especies arbustivas el comportamiento general fue una disminución en la conductancia cuticular y un aumento en la absorción foliar en verano. A pesar de estos resultados, no se puede descartar el rol que puede tener la cutícula en la absorción foliar de agua ya que en otros estudios se ha demostrado que la permeabilidad cuticular y la conductancia cuticular están relacionadas (Schuster et al., 2017). Posiblemente algunos estomas hayan permanecido parcialmente abiertos durante la determinación de la transpiración mínima para estimar la conductancia cuticular y por lo tanto parte de la pérdida de agua haya sido estomática.

La cantidad de material particulado ( $PM_{10}$ ) sobre las hojas puede afectar la humectabilidad (Neinhuis & Barthlott, 1998; Wang et al., 2013). Un aumento en el contenido de partículas sobre la superficie foliar contribuye a disminuir el ángulo de contacto en especies con superficies humectables, pero este comportamiento no fue observado en especies con superficie foliar no humectable. En las especies analizadas no se encontró una relación entre la humectabilidad de las hojas y  $PM_{10}$  entre estaciones y grupos de especies. Sin embargo hubo un aumento significativo en la cantidad de  $PM_{10}$  sobre la

superficie foliar en el verano, en combinación con un aumento en el ángulo de contacto dentro de los grupos de profundidad de raíces. En la estepa patagónica es común la presencia de grandes cantidades de polvo en el aire debido a la sequía y el viento. Este aumento en la cantidad de partículas depositadas sobre la superficie foliar puede también contribuir a la repelencia hídrica causada cuando las ceras epicuticulares son dañadas por la abrasión mecánica y química (Neinhuis & Barthlott, 1998; Wang et al., 2013). A pesar de la acumulación de pequeñas partículas y la deshidratación de las hojas en la estación seca, el avance de la senescencia foliar puede provocar también una disminución en el desarrollo de ceras epicuticulares (Kang et al., 2018), incrementando la humectabilidad. La expansión foliar en estas especies ocurre durante la primavera cuando el agua en el suelo es aún abundante y la temperatura ambiental es cálida, mientras que en verano se observa el inicio de la senescencia foliar (Golluscio et al., 2005; Pereyra, 2020).

En conclusión, nuestros resultados sugieren que las especies de la estepa patagónica tienen adaptaciones a la sequía que les permiten aprovechar los pulsos de lluvia y/o formación de rocío a través de múltiples características foliares que promueven la absorción de agua a través de sus hojas. Durante la estación seca las especies aumentan su humectabilidad y la cantidad de agua que pueden capturar sobre la superficie foliar. Los efectos del acceso a diferentes fuentes de agua en el suelo sobre estas características son dependientes principalmente de la estación, debido a que las diferencias en el contenido de agua en el suelo entre capas se incrementan durante la estación seca. A pesar de la amplia diversidad de formas de vida, incluyendo pastos y desde pequeños a grandes arbustos, así como también de la heterogeneidad en la profundidad de los sistemas radicales, la convergencia funcional resultó en cambios estacionales similares, favoreciendo la humectabilidad foliar. El agua interceptada por las hojas y la gran capacidad de retener las gotas de agua sobre la superficie foliar podrían tener un impacto significativo sobre los procesos eco-hidrológicos en ecosistemas limitados por la disponibilidad hídrica, donde la mayor parte de las precipitaciones durante la estación de crecimiento y estación seca no son accesibles a las raíces.

## Capítulo 4

# Absorción foliar de agua en pastos y arbustos de la estepa patagónica: efectos sobre el estado hídrico e intercambio gaseoso

### 4.1 INTRODUCCIÓN

El suelo es la principal fuente de agua para las plantas terrestres. El agua ingresa a la planta a través de las raíces y luego se evapora hacia la atmósfera a través de las hojas. Sin embargo, algunas especies tienen también la capacidad de absorber agua a través de la corteza (Mayr et al., 2014; Mason Earles et al., 2016) y de las hojas (Simonin et al., 2009; Eller et al., 2013; Goldsmith et al., 2013; Fernández et al., 2014; Berry et al., 2019). La fuerza motriz para el flujo de agua desde la atmósfera hacia las hojas está determinada por el gradiente de potencial hídrico ( $\Psi$ ) entre el aire que rodea la hoja y el tejido foliar (Rundel, 1982). El vector gradiente de potencial hídrico tiene sentido hacia el interior foliar cuando hay formación de rocío, niebla, neblina o lluvia, e incluso ante condiciones atmosféricas no saturadas de agua (Wang et al., 2016). La presencia de agua sobre las hojas puede afectar el funcionamiento de las plantas a través de diferentes mecanismos. Por un lado, los cambios en el microclima cerca de la superficie foliar que incluyen el incremento en la humedad atmosférica puede disminuir la transpiración e disminuir la tasa de fotosíntesis (Bruijnzeel & Veneklaas, 1998). Por otro lado, el incremento en el potencial hídrico por la absorción de agua a través de la superficie foliar (Burgess & Dawson, 2004; Simonin et al., 2009; Breshears et al., 2008) puede también mejorar la tasa fotosintética (Hanba et al., 2004; Eller et al., 2016; Aparecido et al., 2017, Berry & Smith, 2013). Además, la absorción foliar de agua es un factor importante para mantener la turgencia celular (Steppe et al., 2018), para evitar la pérdida de conductancia hidráulica (Nguyen et al., 2017) y también contribuye en la reparación de embolismos (Mayr et al., 2014). De este modo, la absorción foliar de agua puede mantener el crecimiento y la supervivencia de las

plantas en ambientes con baja disponibilidad hídrica en el suelo (Nadezhdina et al., 2010; Steppe et al., 2018). El significado funcional de la absorción foliar de agua varía dentro de una misma especie (Limm & Dawson, 2010; Fernández et al., 2014) y entre especies (Limm et al., 2009; Goldsmith et al., 2013). La cantidad de agua absorbida a través de las hojas depende de sus características estructurales, morfológicas y fisiológicas. Mientras que algunas características de la superficie foliar como la cutícula (Fernández et al., 2017; Boanares et al., 2018), los estomas (Burkhardt et al., 2012) y tricomas (Fernández et al., 2014, Konrad et al., 2014, Pina et al., 2014) afectan la capacidad de absorción foliar de agua (ver también Capítulo 3), el impacto en el funcionamiento de las plantas puede ser determinado por propiedades de la membrana y de la pared celular. Un componente importante en las relaciones hídricas de las plantas es el módulo de elasticidad de las paredes celulares ( $\epsilon$ ). Plantas con paredes celulares elásticas (valores bajos de  $\epsilon$ ) pueden mantener su turgencia durante periodos de deshidratación, mientras que plantas con paredes celulares rígidas (valores grandes de  $\epsilon$ ) pueden perder su turgencia con pequeños cambios en el volumen celular (Clifford et al., 1998). Aunque paredes celulares rígidas pueden representar una desventaja en plantas de ambientes secos, las especies pueden obtener beneficios de tener paredes celulares con baja elasticidad al poder recuperar su potencial hídrico rápidamente cuando la disponibilidad hídrica aumenta.

Como se indicó en los Capítulos 2 y 3, especies herbáceas y arbustivas de la estepa patagónica tienen hojas muy humectables y con capacidad de absorber agua depositada sobre sus hojas como resultado de la intercepción de eventos de lluvia y/o formación de rocío, principalmente durante los periodos de mayor actividad fisiológica y en los de menor disponibilidad de agua edáfica (Bucci et al., 2009; Scholz et al., 2012; Carbonell Silletta; 2020). Sin embargo, no se evaluó si el agua absorbida desde la superficie foliar impacta sobre el estado hídrico y el intercambio gaseoso. Consecuentemente en este capítulo se analizó el efecto de la absorción foliar de agua sobre el balance hídrico y la tasa de transpiración y de fotosíntesis. Además se determinó si las propiedades de la pared celular afectan la respuesta del potencial hídrico a la entrada de agua desde la superficie foliar. Una de las hipótesis fue que la absorción foliar mejora el estado hídrico de las plantas, sin embargo la magnitud del efecto depende de la rigidez de las paredes celulares. De esta manera se espera que la absorción foliar tenga un mayor impacto en el potencial hídrico en

las especies con paredes celulares más rígidas. Otra hipótesis fue que la absorción foliar incrementa la tasa de fotosíntesis debido al mejoramiento del estado hídrico, por lo que se espera un incremento en la tasa fotosintética de las hojas que hayan estado previamente expuestas a un evento de precipitación. Para responder a este objetivo se realizó un experimento a campo con dos especies de pastos y seis de arbustos y se determinó el cambio en el potencial hídrico luego de un evento de precipitación artificial. Además se determinó la elasticidad de las paredes celulares y la absorción foliar.

## **4.2 MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.2.1 Sitio de estudios y especies**

El estudio se desarrolló en el mismo sitio y área y con las mismas ocho especies descritas en los Capítulos 2 y 3. Las determinaciones de las variables biológicas fueron realizadas en primavera (estación de crecimiento) y verano (estación seca).

### **4.2.2 Absorción foliar de agua**

La información sobre absorción foliar de agua fue extraída del Capítulo 2.

### **4.2.3 Potencial hídrico**

Para evaluar el efecto de la absorción foliar de agua sobre el potencial hídrico ( $\Psi_{\text{hoja}}$ ) se realizó un experimento a campo durante la primavera de 2016 y el verano de 2017. El potencial hídrico fue medido al mediodía ( $\Psi_{\text{inicial}}$ ) con una cámara de presión (PMS System, Corvallis, OR, USA) en cinco plantas por especie. Luego, una rama por planta fue rociada con agua destilada manteniendo su superficie mojada durante una hora (tratamiento rociado). Otra rama de la misma planta fue cubierta con plástico negro para minimizar la transpiración (tratamiento cubierto) y una tercera rama de la planta fue mantenida bajo condiciones de campo (sin cubrir ni rociar; tratamiento control). Luego de una hora se determinó nuevamente el potencial hídrico ( $\Psi_{\text{final}}$ ) en cada una de las tres ramas por planta. El experimento fue realizado durante un día por especie y estación. Las

condiciones ambientales durante la aplicación de los tratamientos para todas las especies fueron similares dentro de cada estación. El cambio en el potencial hídrico foliar para cada tratamiento fue determinado de acuerdo a la siguiente ecuación (Ec. 4.1):

$$\Delta\Psi_{\text{hoja}} = \Psi_{\text{final}} - \Psi_{\text{inicial}} \quad \text{Ecuación 4.1}$$

El impacto del tratamiento sobre el  $\Psi_{\text{hoja}}$  fue estimado comparando la magnitud de los cambios en el potencial hídrico de las hojas rociadas (Ec. 4.2) o cubiertas (Ec. 4.3), respecto al cambio en el potencial hídrico de las hojas control:

$$\Delta\Psi_{\text{hoja (rociada - control)}} = \Delta\Psi_{\text{hoja rociada}} - \Delta\Psi_{\text{hoja control}} \quad \text{Ecuación 4.2}$$

$$\Delta\Psi_{\text{hoja (cubierta - control)}} = \Delta\Psi_{\text{hoja cubierta}} - \Delta\Psi_{\text{hoja control}} \quad \text{Ecuación 4.3}$$

#### 4.2.4 Módulo de elasticidad

El módulo de elasticidad de la pared celular fue estimado a través de relaciones de presión-volumen del tejido foliar. Cinco ramas pequeñas por especie se cortaron de las plantas y fueron recortadas inmediatamente bajo agua. Luego, las ramas se cubrieron con plástico negro y se mantuvieron con el extremo cortado bajo agua solo 2 horas para evitar alteraciones en las características de las relaciones hídricas (Meinzer et al., 1986; Scholz et al., 2012). Luego de cada determinación de su potencial hídrico, las muestras fueron inmediatamente pesadas con una balanza de precisión (0,0001 g) y entre mediciones quedaron libremente expuestas a las condiciones ambientales del laboratorio. Las determinaciones de potencial hídrico y peso fueron realizadas hasta que se observó ausencia de cambio en el potencial hídrico o un aumento del mismo con la deshidratación indicando daño del tejido. Los cambios en el peso fueron usados para determinar el contenido relativo de agua. Luego de que todas las mediciones de potencial hídrico y peso fueran obtenidas, las muestras se secaron en estufa a 70 °C hasta alcanzar un peso constante (Tyree & Richter, 1981). El módulo de elasticidad fue calculado de acuerdo a la ecuación 4.4 (Kubiske & Abrams, 1991):

$$\varepsilon = \Delta P / \Delta CRA \quad \text{Ecuación 4.4}$$

donde  $\Delta P$  es el cambio en la presión de turgencia y  $\Delta CRA$  es el cambio en el contenido relativo de agua. El módulo de elasticidad fue determinado en el rango de CRA en el cual el tejido foliar mantiene la turgencia.

#### 4.2.5 Tasa de fotosíntesis y de transpiración

Las tasas de fotosíntesis y de transpiración fueron determinadas durante el mediodía, en días soleados, usando un equipo portátil de intercambio de gases (LI-6400, LI-COR, Lincoln, NE). Seis plantas por especie fueron seleccionadas durante la primavera, a las cuales se les determinó las tasas de transpiración y la de fotosíntesis ( $Tasa_{inicial}$ ) con el procedimiento indicado en el capítulo 2. Luego tres de esas plantas fueron mantenidas completamente mojadas durante una hora (tratamiento rociado) y las restantes plantas se mantuvieron con la superficie de sus hojas secas en condiciones naturales de campo (tratamiento control). Una hora después de finalizar el tratamiento de rociado, y también al día siguiente a la misma hora a la que se determinó la  $Tasa_{inicial}$ , se midieron nuevamente las tasas de transpiración y de fotosíntesis ( $Tasa_{final}$ ). El cambio en la tasa (ya sea de transpiración o de fotosíntesis) para cada tratamiento fue determinado de acuerdo a la siguiente ecuación (Ec. 4.5):

$$Tasa_{hoja} = Tasa_{final} - Tasa_{inicial}$$

**Ecuación 4.5**

Las mediciones fueron realizadas con aire con una concentración de  $400 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  aire dentro de la cámara foliar, generado por un cilindro de  $\text{CO}_2$  de 12 g conectado al LI-6400. La tasa de flujo de aire que entró a la cámara fue de  $500 \mu\text{mol s}^{-1}$ . Para asegurar la saturación de luz, pero evitando la foto-inhibición, la densidad de flujo de fotones se mantuvo constante a  $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . El déficit de saturación de aire promedio durante los días de medición fue de 0,5 kPa en primavera y 0,73 kPa en verano.

#### 4.2.6 Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el software R v.3.4.4 (R Development Core Team 2018). Se usaron modelos lineales generalizados (GLSs) con test-F (paquete “nlme”; Pinheiro & Bates, 2018) para evaluar los efectos de la interacción entre

estación, especies y tratamiento (rociado o cubierto) (variables explicativas) sobre la variación del potencial hídrico (variable dependiente). Fue necesario ajustar la varianza del modelo usando la función VarExp (ajustado por especie). También se usaron GLSs para evaluar la interacción entre especies y tratamiento (rociado y control) (variables explicativas) sobre la variación de las tasas de fotosíntesis y de transpiración. Se realizó un modelo para cada variable y para los distintos tiempos (una hora y un día después). En el modelo para el cambio de la tasa de fotosíntesis una hora después fue necesario ajustar varianza, se usó la función VarExp (ajustado por tratamiento), y para evaluar el cambio producido un día después se ajustó la varianza usando la función VarIdent (ajustado por especie). Para los modelos de transpiración se ajustó la varianza usando la función VarPower (ajustado por tratamiento) para evaluar el cambio producido tanto una hora después del tratamiento como un día después. Se usaron regresiones lineales para evaluar la relación entre absorción foliar y  $\Delta\Psi_{\text{hoja}}$  (rociado – control), eficiencia foliar de absorción de agua y módulo de elasticidad, AFA y módulo de elasticidad,  $\Delta\Psi_{\text{hoja}}$  (rociado – control) y módulo de elasticidad y absorción foliar. Para evaluar todas estas regresiones se usó el valor medio de cada variable por especie. Se aplicó el criterio de selección de Akaike para tamaños pequeños de muestras para hacer la selección de modelos (AICc; Burnham & Anderson 2002). La simplificación de los factores aleatorios y fijos de todos los modelos para alcanzar el modelo mínimo adecuado se llevó a cabo mediante prueba de hipótesis. Se utilizó el análisis post-hoc de Bonferroni (paquete “multcomp”; Hothorn et al., 2008) para comparaciones múltiples en todos los modelos cuando el test-F fue significativo ( $p < 0.05$ ).

### 4.3 RESULTADOS

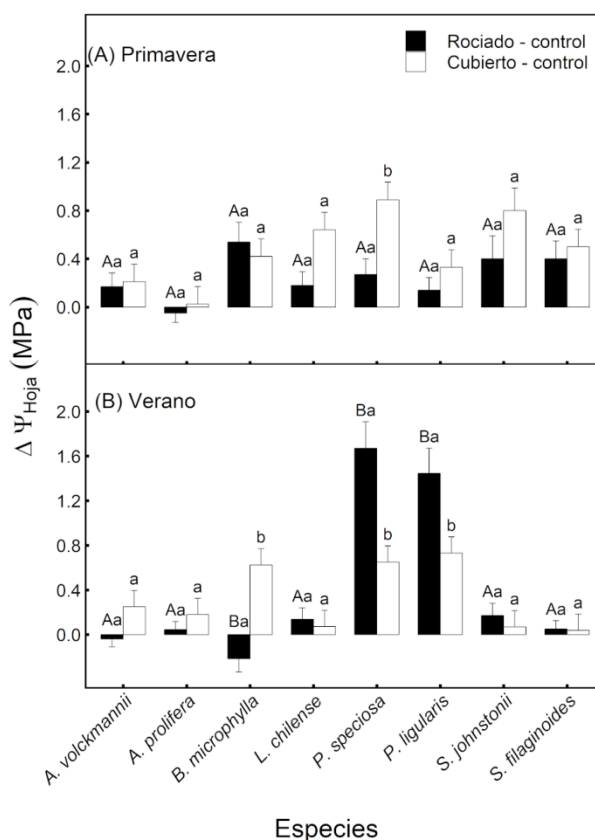
En la Tabla 4.1 se muestran los valores de potencial hídrico foliar ( $\Psi_{\text{hoja}}$ ) iniciales (determinados al mediodía) y  $\Psi_{\text{hoja}}$  finales (determinados 1 h más tarde) de hojas controles bajo condiciones de campo en primavera y verano. Los  $\Psi_{\text{hoja}}$  fueron menores (valores más negativos) en verano que en primavera, para todas las especies estudiadas (**Tabla 4.1**). Dentro de cada estación, el  $\Psi_{\text{hoja}}$  al mediodía fue mayor que el  $\Psi_{\text{hoja}}$  1 h más tarde en todas las especies.

**Tabla 4.1.** Potencial hídrico foliar al mediodía ( $\Psi_{\text{hoja}}$  inicial) y potencial hídrico 1 hora después ( $\Psi_{\text{hoja}}$  final) bajo condiciones de campo (hojas control) para todas las especies bajo estudio en primavera y en verano. Los valores corresponden a la media  $\pm$  error (n= 5).

Especies	Primavera		Verano	
	$\Psi_{\text{Hoja}}$	$\Psi_{\text{Hoja}}$	$\Psi_{\text{Hoja}}$	$\Psi_{\text{Hoja}}$
	Inicial (MPa)	Final (MPa)	Inicial (MPa)	Final (MPa)
<i>Adesmia volckmannii</i>	-1,33 (0,1)	-1,44 (0,07)	-2,81 (0,14)	-3,11 (0,16)
<i>Azorella prolifera</i>	-1,7 (0,03)	-1,92 (-0,03)	-3,14 (0,03)	-3,245 (0,04)
<i>Berberis microphylla</i>	-2,12 (0,1)	-2,48 (0,06)	-4,055 (0,12)	-4,145 (0,14)
<i>Lycium chilense</i>	-1,8 (0,09)	-1,98 (0,11)	-3,62 (0,11)	-3,76 (0,14)
<i>Pappostipa speciosa</i>	-2,24 (0,04)	-2,68 (0,12)	-4,27 (0,09)	-4,74 (0,14)
<i>Poa ligularis</i>	-2,15 (0,07)	-2,29 (0,05)	-4,94 (0,11)	5,00 (0,09)
<i>Schinus johnstonii</i>	-1 (0,18)	-1,12 (0,22)	-3,14 (0,03)	-3,245 (0,04)
<i>Senecio filaginoides</i>	-1,22 (0,05)	-1,42 (0,09)	-2,58 (0,12)	-2,68 (0,13)

La disminución del  $\Psi_{\text{hoja}}$  observada en condiciones de campo fue revertida experimentalmente rociando las hojas o cubriéndolas para minimizar la transpiración (**Fig.4.1**). En la primavera las hojas rociadas aumentaron su  $\Psi_{\text{hoja}}$  respecto a las hojas control (no rociadas) (valores positivos de  $\Delta\Psi_{\text{hoja}}$  (rociada – control)). Este aumento en el  $\Psi_{\text{hoja}}$  varió entre 0,2 MPa en el pasto *P. ligularis* y 0,61 MPa en *B. microphylla*, una especie arbustiva con sistema radical profundo, aunque las diferencias entre especies no fueron estadísticamente significativas (**Fig. 4.1.A**). El  $\Delta\Psi_{\text{hoja}}$  (rociada – control) en las dos especies herbáceas fue significativamente mayor en verano (1,6 MPa) que en primavera (0,25 MPa)

(Fig. 4.1). Por el contrario, todos los arbustos disminuyeron sustancialmente su respuesta al tratamiento experimental en verano comparado con lo observado en primavera, de tal manera que  $\Delta\Psi_{\text{hoja (rociada - control)}}$  fue cercano a cero durante el verano en las especies arbustivas. La interacción entre tratamiento, estación y especie fue estadísticamente significativa ( $F_{7-40} = 12,16; p < 0,0001$ ).

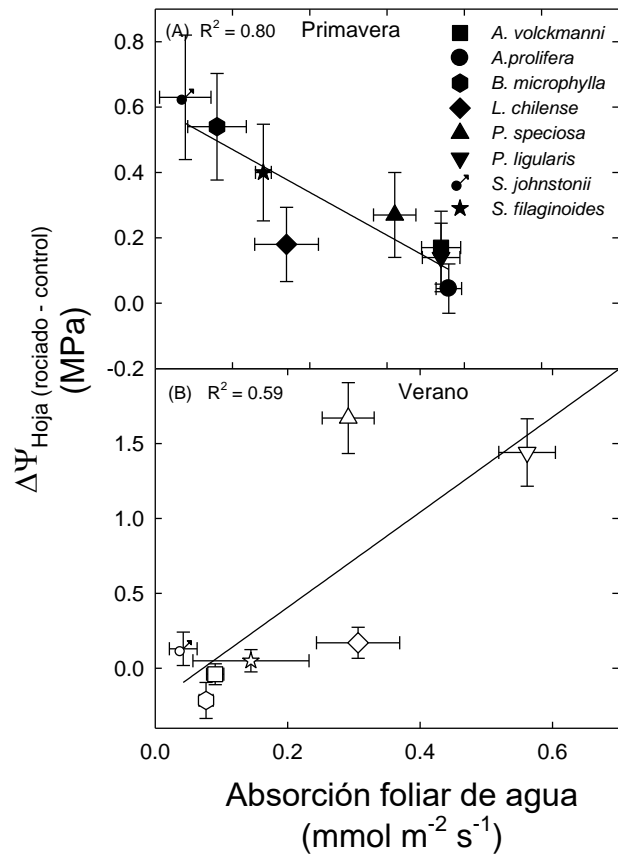


**Figura 4.1.** Diferencias entre el cambio en el potencial hídrico de hojas con su superficie mantenida húmeda por 1 hora (barras negras) o el cambio en el potencial hídrico de hojas cubiertas (hojas con transpiración reducida) (barras blancas) y el cambio en el potencial hídrico de hojas control (hojas transpirando libremente y sin rociar) después de 1 hora en condiciones de campo ( $\Delta\Psi_{\text{hoja (rociada-control)}}$ ). El panel A corresponde a primavera y el panel B a verano. Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error ( $n=5$ ). Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas en el  $\Delta\Psi_{\text{hoja}}$  de hojas rociadas con respecto al  $\Delta\Psi_{\text{hoja}}$  de hojas cubiertas dentro de una misma especie y estación. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas en  $\Delta\Psi_{\text{hoja (rociada-control)}}$  entre estaciones para una misma especie.

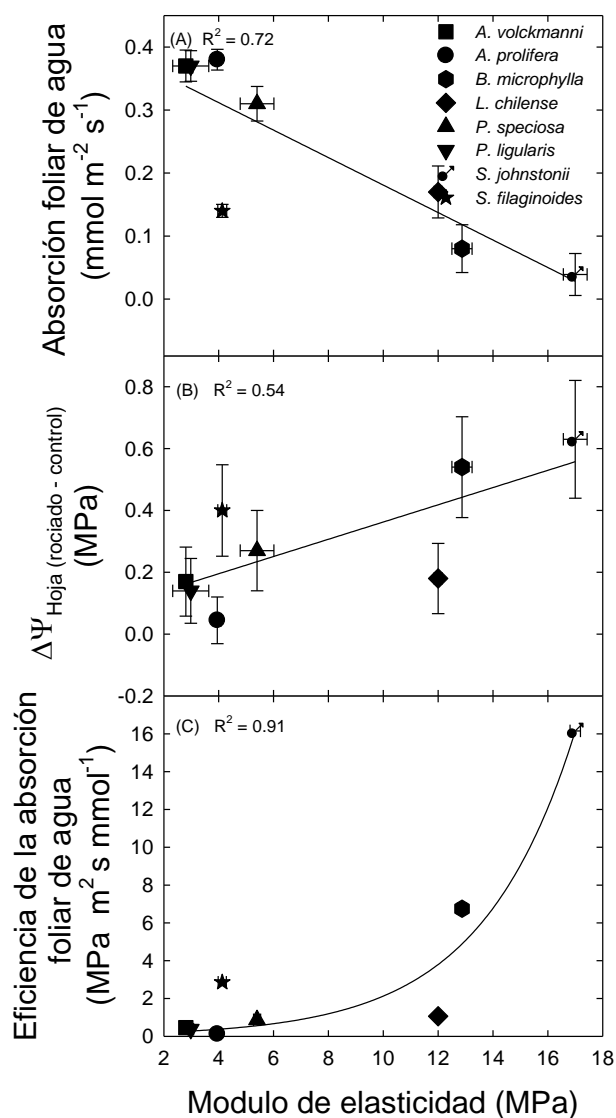
El efecto de mantener las hojas húmedas sobre el potencial hídrico foliar fue similar al efecto de minimizar la transpiración cubriendo las hojas en muchas de las especies estudiadas, excepto en los pastos (**Fig. 4.1**). Durante la primavera el  $\Delta\Psi_{\text{hoja (rociada-control)}}$  fue menor que el  $\Delta\Psi_{\text{hoja (cubierta-control)}}$  para *P. speciosa* (**Fig. 4.1.A**). Sin embargo, durante el verano se observó una respuesta opuesta en estas especies, siendo el potencial hídrico significativamente mayor en hojas rociadas que en hojas donde se minimizó la transpiración (**Fig. 4.1.B**).

Los cambios en el potencial hídrico ( $\Delta\Psi_{\text{hoja (rociada-control)}}$ ) durante la primavera se correlacionaron negativamente con la absorción foliar de agua de todas las especies ( $y = 0,6 - 1,3x$ ;  $R^2 = 0,80$ ;  $p < 0,01$ ) (**Fig. 4.2.A**). Las especies con mayor recuperación del potencial hídrico luego de ser rociadas fueron aquellas especies con menor absorción foliar. Durante el verano esta relación se invirtió, observándose mayor incremento en  $\Delta\Psi_{\text{hoja}}$  en las especies con mayor AFA ( $y = -0,22 + 3,17x$ ;  $R^2 = 0,59$ ;  $p < 0,01$ ) (**Fig. 4.2.B**). Por ejemplo, *P. ligularis*, la especie con mayor absorción foliar durante el verano mostró un aumento en su potencial hídrico de aproximadamente 1,5 MPa.

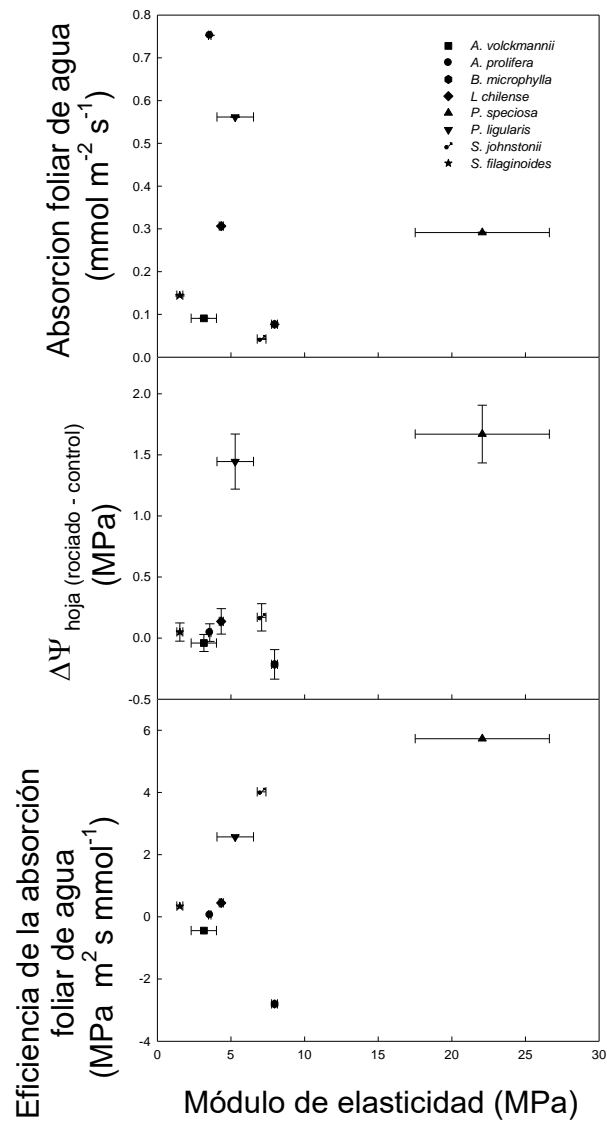
El módulo de elasticidad de las paredes celulares varió entre 2,8 MPa en *A. volckmannii* y 17 MPa en *S. johnstonii* durante la primavera (**Fig. 4.3**). La absorción foliar de agua y el  $\Delta\Psi_{\text{hoja (rociada-control)}}$  se relacionaron linealmente con el módulo de elasticidad durante la primavera ( $y = 0,40 - 0,02x$ ;  $R^2 = 0,72$ ;  $p < 0,01$ ;  $y = 0,08 + 0,03x$ ;  $R^2 = 0,54$   $p < 0,05$ , respectivamente) (**Fig. 4.3 A y B**). Las especies con paredes celulares más rígidas (mayor módulo de elasticidad) tuvieron menor absorción foliar; sin embargo estas especies presentaron mayor incremento en el potencial hídrico en el tratamiento de rociado. Los cambios en el potencial hídrico foliar por mmol de agua absorbida por la superficie de las hojas (eficiencia de la absorción foliar de agua) fueron relacionados significativa y exponencialmente con el módulo de elasticidad a través de las especies ( $y = 0,12 \exp(0,23x)$ ;  $R^2 = 0,91$ ;  $p < 0,001$ ) (**Fig. 4.3.C**). En verano estas variables no fueron correlacionadas significativamente (**Fig. 4.4**).



**Figura 4.2.** Diferencias entre el cambio en potencial hídrico de hojas rociadas durante 1 h y el cambio en el potencial hídrico de hojas control (hojas no rociadas) después de 1h ( $\Delta\Psi_{\text{hoja (rociada-control)}}$ ) en relación a la absorción foliar de agua en (a) primavera y (b) verano. *Azorella prolifera* fue excluida del análisis de la estación seca ya que fue considerada como outlier ( $\Delta\Psi = 0,045 \pm 0,07$  MPa y absorción foliar =  $0,75 \pm 0,006 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). Cada símbolo representa el valor medio  $\pm$  error estándar ( $n = 10$  para absorción foliar y  $n = 5$  para  $\Delta\Psi_{\text{hoja}}$ ). La recta ajusta a la función (a)  $y = 0,6 - 1,3x$ ;  $R^2 = 0,80$ ;  $p < 0,01$ , y (b)  $y = -0,22 + 3,17x$ ;  $R^2 = 0,59$ ;  $p < 0,01$ .



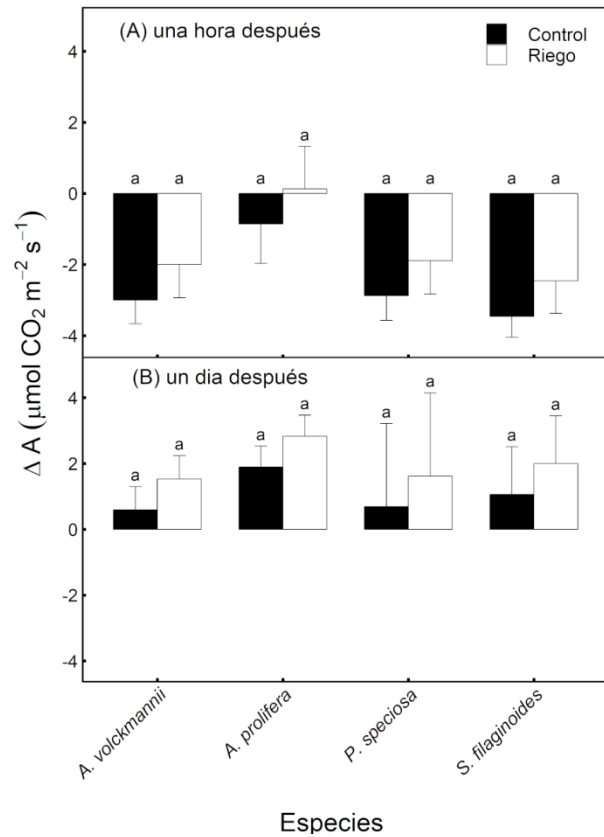
**Figura 4.3.** (a) Absorción foliar de agua, (b) diferencias entre el cambio en potencial hídrico de hojas rociadas durante 1 h y el cambio en el potencial hídrico de hojas control (hojas no rociadas) después de 1h ( $\Delta\Psi_{\text{hoja (rociada-control)}}$ ) en condiciones de campo y (c) Eficiencia de la absorción foliar de agua (cambios en el potencial hídrico foliar en relación a la cantidad de agua absorbida a través de la superficie de las hojas ( $\Delta\Psi_{\text{hoja (rociada-control)}}$  / absorción foliar de agua) en relación al módulo de elasticidad de la pared celular) de 8 especies de la estepa patagónica durante la primavera. Cada símbolo representa el valor medio  $\pm$  error estándar de 10 plantas por especie y tres hojas por planta para absorción foliar de agua y cinco plantas por especie para  $\Delta\Psi_{\text{hoja}}$  y para el módulo de elasticidad de la pared celular. La línea sólida en cada panel corresponde a la función ajustada a los datos (a)  $y = 0,40 - 0,02x$ ;  $R^2 = 0,72$ ;  $p < 0,01$ ; (b)  $y = 0,08 + 0,03x$ ;  $R^2 = 0,54$ ;  $p < 0,05$ ; (c)  $y = 0,12 \exp(0,23x)$ ;  $R^2 = 0,91$ ;  $p < 0,001$ .



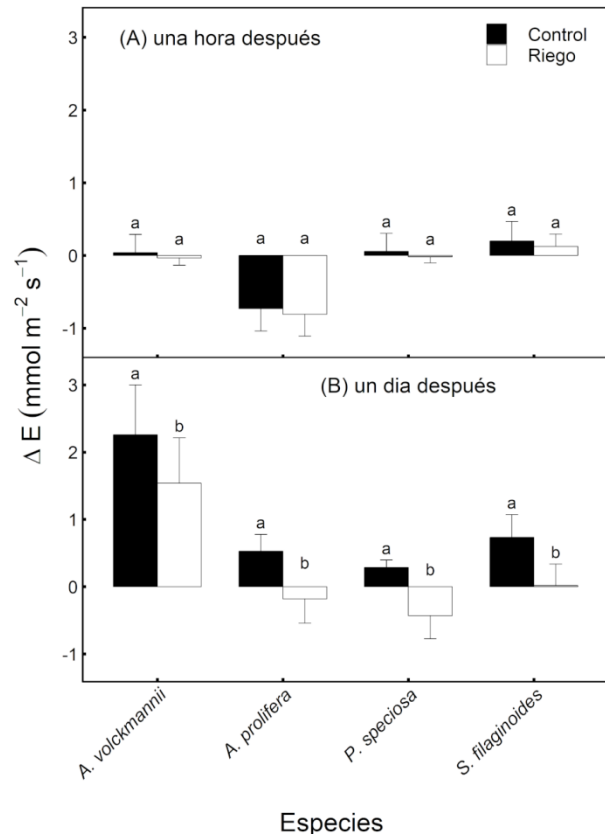
**Figura 4.4.** (a) Absorción foliar de agua, (b) diferencias entre el cambio en potencial hídrico de hojas rociadas durante 1 h y el cambio en el potencial hídrico de hojas control (hojas no rociadas) después de 1h ( $\Delta\Psi_{\text{hoja (rociada-control)}}$ ) en condiciones de campo y (c) Eficiencia de la absorción foliar de agua (cambios en el potencial hídrico foliar en relación a la cantidad de agua absorbida a través de la superficie de las hojas ( $\Delta\Psi_{\text{hoja (rociada-control)}}$  / absorción foliar de agua) en relación al módulo de elasticidad de la pared celular) de 8 especies de la estepa patagónica durante el verano. Cada símbolo representa el valor medio  $\pm$  error estándar de 10 plantas por especie y tres hojas por planta para absorción foliar de agua y cinco plantas por especie para  $\Delta\Psi_{\text{hoja}}$  y para el módulo de elasticidad de la pared celular.

Las tasas de fotosíntesis determinadas al mediodía fueron muy similares entre las cuatro especies analizadas y variaron entre  $5,24 \pm 0,93 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  en *P. speciosa* y  $7,3 \pm 0,6 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  en *S. flaginoides*. Una hora después de que las plantas fueron rociadas, las hojas disminuyeron la tasa de fotosíntesis en menor proporción que las hojas de plantas control, aunque la interacción entre tratamiento y especie no fue significativa ( $F_{3-16} = 1,10$ ;  $p = 0,37$ ), así como tampoco lo fue cada variable incluida en el modelo ( $F_{1-19} = 1,35$ ;  $p = 0,25$  para tratamiento y  $F_{1-19} = 1,5$ ;  $p = 0,24$  para especie) (**Fig. 4.5.A**). Por ejemplo, la tasa fotosintética de las hojas de *A. volckmannii* disminuyó  $3 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  en las plantas control, mientras que en las plantas que fueron rociadas durante 1 h la tasa disminuyó  $2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Al día siguiente, las plantas rociadas el día anterior tuvieron comparativamente mayores tasas de fotosíntesis que las plantas control, pero tampoco la interacción entre tratamiento y especie fue significativa ( $F_{3-16} = 1,13$ ;  $p = 0,36$ ), y cada variable incluida en el modelo no fue estadísticamente significativa ( $F_{1-19} = 1,56$ ;  $p = 0,22$  para tratamiento y  $F_{1-19} = 1,5$ ;  $p = 0,24$  para especie) (**Fig. 4.5.B**).

En el caso de la tasa de transpiración se observó una tendencia a la reducción de la pérdida de agua en las plantas rociadas respecto a las plantas control y este efecto fue más evidente y estadísticamente significativo al día siguiente del tratamiento (**Fig. 4.6**). En ambos modelos realizados (una hora después y un día después) se encontró que la interacción entre especie y tratamiento no fue significativa ( $F_{3-16} = 1,94$ ;  $p = 0,16$  y  $F_{3-16} = 1,15$ ;  $p = 0,35$ , respectivamente). En el modelo para evaluar el cambio en la tasa de transpiración una hora después del tratamiento tanto la especie ( $F_{1-19} = 2,59$ ;  $p = 0,08$ ) como el tratamiento ( $F_{3-19} = 0,09$ ;  $p = 0,76$ ) no fueron significativos; sin embargo el tratamiento fue significativo en el modelo generado para evaluar el cambio un día después ( $F_{1-19} = 4,50$ ;  $p = 0,04$ ) aunque la especie no fue significativa en el modelo ( $F_{3-19} = 2,54$ ;  $p = 0,08$ ).



**Figura 4.5.** Diferencias entre el cambio en la fotosíntesis de hojas control (sin rociar, en condiciones de campo) (barras negras) y el cambio en la fotosíntesis de hojas con su superficie mantenida húmeda por 1 hora (barras blancas). El panel (A) corresponde al cambio producido una hora después de haber finalizado el experimento de rociado y el panel (B) a un día después. Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error (n=3). Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas en la fotosíntesis de hojas rociadas con respecto a hojas control.



**Figura 4.6.** Diferencias entre el cambio en la transpiración de hojas control (sin rociar, transpirando libremente en condiciones de campo) (barras negras) y el cambio en la transpiración de hojas con su superficie mantenida húmeda por 1 hora (barras blancas). El panel (A) corresponde al cambio producido una hora después de haber finalizado el experimento de rociado y el panel (B) a un día después. Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error ( $n=3$ ). Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas en la transpiración de hojas rociadas con respecto a hojas control.

#### 4.4 DISCUSIÓN

Consistente con la estacionalidad en la disponibilidad de agua en el suelo y en la demanda evaporativa de la atmósfera (Capítulo 2; Bucci et al., 2009; Scholz et al., 2012), las especies estudiadas exhibieron potenciales hídricos menores en verano (estación seca) que en la estación de crecimiento (primavera). Un comportamiento estacional similar fue observado por Scholz et al. (2012) en otros sitios de la estepa patagónica. Sin embargo, a pesar de que las especies con raíces superficiales están más expuestas al déficit hídrico en

el suelo que las especies con raíces profundas, no hubo un patrón definido en el estado hídrico dependiendo del acceso a fuentes de agua edáficas. La fuerza motriz no solo para la transpiración, sino también para la absorción de agua a través de la superficie foliar es el gradiente de potencial hídrico entre el interior de la hoja y la atmósfera, con lo cual se espera que mayor absorción foliar durante periodos húmedos se observe en especies con potenciales hídricos más negativos y mayor en verano que en primavera. En el Capítulo 2 se indicó que las especies tienen capacidad de absorber agua a través de la superficie foliar, con valores relativamente altos comparados a los de otros ecosistemas (Berry et al., 2019), con diferencias entre especies y entre estaciones. Se ha demostrado en ecosistemas húmedos (Limm et al., 2009; Simonin et al., 2009; Eller et al., 2013; Holanda et al., 2019) que la absorción foliar de agua mejora el estado hídrico de las plantas, disminuyendo la conductancia estomática, reparando el xilema de los embolismos, aumentando el potencial hídrico de tallos y afectando positivamente la supervivencia y crecimiento de las plantas. Sin embargo, en este estudio se observó que mayor cantidad de agua absorbida a través de las hojas no necesariamente implica un mayor incremento del potencial hídrico foliar. Para las especies estudiadas, solo durante la estación seca fue observado un incremento substancial en el potencial hídrico de las hojas en especies con mayor tasa de absorción foliar, mientras que durante la primavera la relación fue inversa.

Recientemente, Guzmán Delgado et al. (2018) mostraron que la absorción de agua a través de la superficie foliar tiene una alta resistencia impuesta principalmente por la cutícula que afecta la cinética de la rehidratación y el movimiento de agua hacia el interior de la hoja. Así, podría ser que, dependiendo de la estructura física y química de la cutícula (Fernández et al., 2017), durante eventos que mantengan la superficie de la hoja húmeda, el agua podría ser parcialmente retenida en la matriz de la cutícula sin contribuir a la rehidratación de todo el tejido foliar. Una vez que el agua atraviesa la cutícula, especies con baja resistencia al transporte xilemático o extra-xilemático pueden distribuir rápidamente el agua a todos los tejidos foliares. En este estudio, especies con mayor conductancia hidráulica (especies con sistema radical más profundo; Bucci et al., 2013) fueron aquellas con mayor incremento en el potencial hídrico foliar cuando sus hojas permanecieron con su superficie húmeda.

Por otro lado, incluso cuando el agua alcance el mesófilo a través de los espacios intercelulares, la elasticidad de la pared celular será la que determine el efecto que tendrá dicha agua absorbida sobre el potencial hídrico. Tejidos cuya pared celular tiene un módulo de elasticidad alto (paredes celulares más rígidas) rápidamente disminuirán su potencial hídrico frente a la deshidratación. Esto favorece la generación de un mayor gradiente de potencial hídrico entre la fuente de agua y el tejido foliar para continuar con la absorción de agua (Clifford et al., 1998; Scholz et al., 2012; Touchette et al., 2014). Esta característica de la pared celular que podría conducir a la pérdida de la turgencia celular, también contribuye a una rápida recuperación del potencial hídrico durante una rehidratación, de manera tal que un pequeño incremento en el contenido de agua de células con paredes rígidas tiene como resultado un rápido y mayor incremento en el potencial hídrico del tejido. Esta propiedad de las paredes celulares puede explicar por qué las especies con menor absorción foliar de agua presentaron mayor recuperación del potencial hídrico foliar que las especies que absorbieron mayor cantidad de agua. Es decir que, aunque todas las especies tuvieron la capacidad de absorber agua directamente a través de su superficie foliar, el beneficio no fue similar para todas. Durante la estación de mayor crecimiento se observó mayor eficiencia en la absorción foliar de agua, en términos de aumento en el potencial hídrico, en las dos especies con raíces más profundas. Estas especies tienen mayor resistencia hidráulica al transporte de agua desde el suelo hasta las hojas comparada con la de las especies con raíces superficiales (Bucci et al., 2013). Así, la presencia de paredes celulares más rígidas en estas especies sería un mecanismo de adaptación para poder aprovechar fuentes de agua atmosféricas, como el rocío o pequeños pulsos de lluvia, durante la estación de crecimiento y contribuir a compensar la alta resistencia que encuentra el agua al ser transportada desde mayor profundidad desde el suelo. Esta relación entre la elasticidad de la pared celular y la absorción foliar de agua fue solamente observada durante la primavera. Posiblemente los efectos de la senescencia foliar en muchas de las especies y al aumento en la elasticidad de la pared en todas las especies arbustivas desde la primavera al verano (Scholz et al., 2012) hayan contribuido a la pérdida de la capacidad de absorción foliar de agua. En la estación seca solo los pastos pudieron aprovechar el agua acumulada sobre la superficie foliar, aumentando esta capacidad respecto a la observada durante la primavera. Posiblemente, sus potenciales hídricos tan bajos (aproximadamente  $-4,6$  MPa) y así un mayor gradiente de

potencial hídrico entre la superficie de la hoja y el interior, hayan contribuido a incrementar la capacidad de absorción foliar a pesar de la senescencia foliar.

Estudios previos realizados en la estepa patagónica indican que las especies arbustivas tienen baja capacidad de responder fisiológicamente a los grandes pulsos de lluvia (>16 mm; Golluscio, Sala y Lauenroth, 1998; Golluscio, Sigal Escalada & Perez, 2009). Posiblemente esta falta de respuesta a eventos grandes de precipitación que humedecen el suelo sean el resultado de la pérdida sustancial de la conductividad hidráulica de las raíces durante la estación seca (Bucci et al., 2013), lo cual limita la absorción de agua desde el suelo. Sin embargo, un mejoramiento del estado hídrico de las hojas por absorción foliar y/o por la disminución del déficit de presión de vapor del aire que rodea a la hoja, posibilitaría a los estomas abrirse o evitar su cierre y así incrementar la tasa de fotosíntesis, tal como fue observado en el presente estudio. La tasa fotosintética de las especies estudiadas disminuyó del mediodía hacia la tarde siguiendo el típico patrón diurno observado en muchas especies alrededor del mundo (Foote & Schaedle, 1976; Pereira et al., 1986; Schierenbeck & Marshall, 1993; Bucci et al., 2019). Sin embargo, la fotosíntesis de las plantas control (es decir que no fueron experimentalmente humedecidas) tuvieron una tendencia a disminuir en mayor proporción que las hojas rociadas previamente. Estos resultados sobre los efectos del humedecimiento de la superficie foliar en la tasa fotosintética son consistentes con las de otros estudios (Urrego-Pereyra et al., 2013; Aparecido et al., 2017; Eller et al., 2016; Yokoyama et al., 2019) pero opuestos a otros trabajos donde se observó un efecto negativo (Reinhardt & Smith 2008; Aparecido et al., 2017).

En conclusión, a pesar de que la cantidad de agua involucrada en la absorción foliar es relativamente pequeña, esta tiene un importante rol en la recuperación del potencial hídrico de las hojas, principalmente durante la estación de mayor crecimiento y en el caso de los pastos durante la estación seca. El efecto positivo de la absorción foliar de agua sobre el estado hídrico repercute también favorablemente sobre la asimilación de carbono, cuyo efecto se mantiene por más largo tiempo. Una respuesta rápida al humedecimiento de la superficie foliar, incluido el efecto positivo sobre la asimilación de carbono, probablemente sea una ventaja adaptativa de las especies de la Patagonia, teniendo en cuenta que en este

ecosistema la demanda evaporativa es elevada y la presencia de continuos y fuertes vientos favorece la evaporación del agua depositada sobre las hojas.

## Capítulo 5

# Plasticidad morfológica y funcional de las hojas en respuesta a cambios en la disponibilidad de agua

### 5.1 INTRODUCCIÓN

La plasticidad fenotípica es la capacidad de un genotipo de expresar diferentes fenotipos bajo diferentes condiciones ambientales. Este es un mecanismo que tienen las plantas y otros organismos sésiles de superar la gran heterogeneidad espacial y temporal que puede presentar el ambiente donde se encuentran (Bradshaw, 1965; Sultan, 2000; Berg & Ellers, 2010; Nicotra et al., 2010). Las respuestas plásticas de las plantas ante diferentes condiciones ambientales pueden ser adaptativas (Valladares & Percy, 1998; Donohue et al., 2003; Dudley, 2004) o no adaptativas (Sultan & Bazzaz 1993; Sanchez-Gomez et al., 2006; Ghalambor et al., 2007), o incluso puede no haber una respuesta (van Kleunen & Fischer, 2005). Hay estudios que indican que en ambientes ricos en recursos las especies presentan mayor plasticidad que en ambientes pobres (Valladares et al., 2007), debido a que la plasticidad tiene un costo energético, el cual puede ser mayor en las especies de ambientes con déficit de nutrientes (Steinger et al., 2003). El grado de plasticidad de las plantas puede estar limitada por factores abióticos (van Kleunen & Fischer, 2005) y por el estado de desarrollo ontogénico (Evans, 1972; Coleman et al., 1994; Mediavilla & Escudero, 2004; Valladares et al., 2006). La mayoría de los estudios han considerado la respuesta a un solo factor (luz, agua, temperatura, etc.), pero la plasticidad fenotípica de una característica determinada puede estar influenciada simultáneamente por varios factores abióticos y bióticos (Sultan et al., 1998; Valladares et al., 2002; 2007; Gianoli, 2003; Maestre et al., 2007). Las interacciones entre estos factores podría ser otra de las limitaciones de la plasticidad fenotípica (van Kleunen & Fischer, 2005).

Varios estudios han mostrado que las plantas son plásticas en varias características morfológicas, fisiológicas y anatómicas. Por ejemplo, en suelos pobres en nutrientes o con

escasa disponibilidad de agua algunas especies exhiben un incremento en la biomasa de raíces en detrimento de la biomasa aérea, o cuando la densidad de flujo de fotones es baja exhiben un aumento del área foliar específica (Schlichting, 1986; Sultan, 1987; Bradshaw & Hardwick, 1989; Gedroc et al., 1996). Las hojas son uno de los órganos más plásticos y son los más expuestos a factores bióticos y abióticos, frente a los cuales exhiben ajustes morfo-fisiológicos (Schlichting, 1986; Sultan et al., 1998; Lazaro-Nogal, 2015). Los ajustes frente a cambios ambientales se pueden observar no solo a nivel de los tejidos, órganos o planta entera sino también a nivel celular.

La humedad del suelo es uno de los principales factores ambientales que restringe el establecimiento, crecimiento y productividad en regiones áridas y semiáridas donde las plantas están expuestas frecuentemente a periodos de sequía (Larcher, 1981, Chaves et al., 2002; Flexas et al., 2009). Las características morfológicas de las hojas (Cunningham et al., 1999; Niinemets, 2001), del movimiento del agua y del intercambio de gases son ampliamente afectadas por la disponibilidad de agua (Iogna et al., 2013; Almeida et al., 2014; Sanhueza et al., 2015; Arias et al., 2017). Mientras que el transporte de agua en fase líquida a larga distancia depende parcialmente de las resistencias hidráulicas del tejido vascular (Munns & Passioura, 1984; Koide et al., 1989, Meinzer, 2002) y en fase gaseosa de los estomas (Whitehead, Jarvis & Waring, 1984; Turner et al., 1984; Meinzer, 2002), el movimiento de agua a corta distancia y trans-celular depende de las características de la membrana plasmática (Maurel & Chrispeels, 2001). La facilidad con que el agua se mueve a través de las membranas plasmáticas de las células del mesofilo cuando sale del sistema vascular para posteriormente ser liberada a la atmósfera depende de la permeabilidad de la membrana plasmática (Scoffoni et al., 2017), dada no solo por su composición lipídica sino también por la presencia de proteínas.

Las acuaporinas (AQP) son proteínas presentes en todos los organismos y que forman canales que regulan la entrada y salida de agua y solutos ( $\text{CO}_2$ , boro, ácido salicílico,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) en la célula (Agre et al., 1993; Maurel et al., 2008; Du et al., 2011). Se han encontrado una gran cantidad de proteínas pertenecientes a la familia de las AQP, más de 30 en *Arabidopsis* sp. y *Oryza sativa*, 28 en *Vitis vinifera* y más de 50 en *Populus trichocarpa* (Maurel et al., 2008; Gupta & Sankararamkrishnan, 2009). Las acuaporinas

más abundantes corresponden a las localizadas en la membrana plasmática (*PIPs*, que presentan los subgrupos filogenéticos *PIP1* y *PIP2*) y en el tonoplasto (TIPs) (Maurel et al., 2008, Gomes et al., 2009). Las AQP han sido indicadas como controladores del contenido de agua de las plantas al regular la apertura estomática en el corto plazo (Chaumont et al., 2001; Burkhardt, 2010; Nada & Abogadallah, 2014) y también se cree que cambios en la expresión de las acuaporinas regulan el transporte de agua dentro de las plantas (Ohrui et al., 2007; Laur & Hacke, 2014). Los cambios en la regulación de los niveles de expresión de las acuaporinas frente a factores abióticos como sequía y salinidad (Vera-estrella et al., 2000; 2004; Castagnino, 2004) inducen cambios en la conductividad hidráulica y en el transporte de agua en las raíces (Javot & Maurel, 2002; Luu & Maurel, 2005), e intervienen en la recuperación de embolismos en los tallos (Lovisol & Schubert, 2006; Secchi & Zwieniecki, 2010). Si bien se considera que las acuaporinas tienen un rol muy importante en mantener el balance hídrico bajo condiciones de sequía, aún no es clara su relación con las respuestas fisiológicas de las plantas dada la disparidad de resultados observados en los estudios. Los patrones de expresión de las AQP son complejos y distintas repuestas pueden ser inducidas (Alexandersson et al., 2005). Por ejemplo, se ha observado que la expresión de las AQP es “up-regulada”, “down-regulada” o que no presenta cambios (Tyerman et al., 2002) dependiendo del tiempo e intensidad del stress hídrico producido (Galmes et al., 2007) o si es una variedad adaptada o no a la sequía (Lian et al., 2004).

El cambio climático afectará el intercambio de energía, carbono, agua y nutrientes entre las plantas y el ambiente. Frente a rápidos cambios climáticos, la plasticidad fenotípica más que la diversidad genética desempeña un rol crucial en permitir la persistencia de las especies en su ambiente (Ritcher et al., 2012; Nicotra et al., 2010). Los escenarios climáticos actuales indican aumentos en la temperatura global, variabilidad en las precipitaciones y frecuencia de eventos extremos, conduciendo a ambientes más secos en algunas regiones y más húmedos en otras (Grimm et al., 2000; Laurenroth et al., 2004; Vera et al., 2006, Seaget et al., 2019). Para persistir a las nuevas condiciones ambientales las plantas tendrán que realizar ajustes fisiológicos y morfológicos (Nicotra et al., 2010). La mayoría de los estudios realizados en diferentes ecosistemas alrededor del mundo se basan en experimentos de manipulación de las entradas de agua por precipitación (e.g. Nepstad et al., 2007; Limousin et al., 2010; Pangle et al., 2012) y proveen evidencia de las respuestas a

la disminución de la disponibilidad de agua. Sin embargo, el efecto de incrementos en las precipitaciones ha sido menos analizado.

Para la Región Patagónica se espera una reducción de las precipitaciones en gran parte de su extensión, sin embargo para el noreste de Chubut y Rio Negro la tendencia es a un aumento de las lluvias (Barros & Camilloni, 2017; Saurral et al., 2017). En base a estos escenarios el objetivo de estudio fue evaluar las respuestas de características fisiológicas (transpiración, absorción foliar, conductancia foliar y eficiencia de uso de agua) y de la superficie foliar (densidad estomática, ángulo de contacto) de especies de la estepa patagónica al incremento experimental a campo en las precipitaciones. Además se evaluó la plasticidad de la absorción foliar de agua y la expresión de las acuaporinas en un experimento de sequía a corto plazo realizado en laboratorio con una especie arbustiva. Una de las hipótesis planteada fue que el aumento en las precipitaciones induce cambios en las plantas hacia un comportamiento fisiológico menos conservativo, tal que la transpiración aumentará y con ello la tasa de fotosíntesis, mientras que la capacidad de aprovechar la humedad depositada sobre las hojas a través de la absorción foliar disminuirá. Una segunda hipótesis fue que la sequía afecta la expresión de las acuaporinas tal que bajo déficit hídrico la expresión aumentará y favorecerá la absorción foliar de agua.

## 5.2 MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.2.1 Diseño del experimento a campo de aumento en las precipitaciones a largo plazo

En el 2013 se realizó una clausura de 4 hectáreas en el mismo sitio y área descriptos en el Capítulo 2. Se definieron cinco parcelas control (C) y cinco irrigadas (I), cada una con una superficie de 625 m<sup>2</sup>. La irrigación permitió incrementar las precipitaciones entre 20-25% de la precipitación anual histórica para el sitio, aplicando riegos de 5 mm entre el final de la primavera y el verano. Las parcelas irrigadas cuentan con un sistema semiautomático de riego por aspersión (**Fig. 5.1**), el cual se retira durante el invierno ya que es el periodo húmedo y donde, además, se busca evitar daños en el sistema de riego producido por el congelamiento del agua dentro de las tuberías. Se seleccionaron 5 especies: una especie de gramínea, *Poa ligularis*, y cuatro arbustivas, *Adesmia volckmannii*, *Azorella prolifera*,

*Berberis microphylla* y *Senecio filaginoides*. Las determinaciones de las variables biológicas fueron realizadas durante la estación seca.



**Figura 5.1.** Imágenes de una parcela irrigada durante un evento de precipitación.

#### **5.2.1.1 Contenido volumétrico de agua**

El contenido volumétrico de agua en el experimento a campo fue medido a 10, 40, 100 y 200 cm de profundidad cada 30 minutos desde enero de 2016 hasta enero de 2019 con sensores de capacitancia (ECH2O, Decagon Devices, Inc.). Se instaló un sensor por profundidad en cada parcela de cada tratamiento. Los sensores fueron conectados a un sistema automático de control, medición y registro de datos CR1000 (Campbell Scientific, UT, USA).

#### **5.2.1.2 Adhesividad y ángulo de contacto**

Para evaluar la adhesividad de la superficie foliar y el ángulo de contacto ( $\theta$ ) formado entre una gota de agua y la superficie de la cara expuesta de las hojas en las especies de las parcelas control e irrigadas se utilizó los mismos protocolos descritos en el capítulo 3.

### 5.2.1.3 Absorción foliar de agua

La absorción foliar de agua en todas las especies y experimentos fue determinada siguiendo el mismo protocolo descrito en el capítulo 2.

### 5.2.1.4 Potencial hídrico

Para evaluar el efecto de la absorción foliar de agua sobre el potencial hídrico se realizó el mismo experimento descrito en el capítulo 4.

### 5.2.1.5 Intercambio de gases y eficiencia de uso de agua instantánea

La transpiración (E), fotosíntesis (A) y conductancia estomática ( $g_s$ ) fueron determinadas en las especies seleccionadas en el experimento de incremento de las precipitaciones. Para ello se utilizó un sistema portátil de intercambio de gases (LI-6400, Li-Cor) y se siguió el mismo protocolo descrito en los capítulos 2 y 4. La eficiencia de uso de agua instantánea se determinó como:

$$EUA_{ins} = A / g_s \quad \text{Ecuación 5.1}$$

### 5.2.1.6 Plasticidad fenotípica

El índice de plasticidad fenotípica (IPF) de las variables evaluadas en el experimento a campo fue determinado en cada especie de acuerdo a la ecuación propuesta por Valladares et al. (2000):

$$IPF = (\text{valor promedio máximo} - \text{valor promedio mínimo}) / \text{valor promedio máximo} \quad \text{Ecuación 5.2}$$

Este índice adquiere valores entre 0 y 1. Valores más cercanos a 1 indican mayor plasticidad fenotípica.

## **5.2.2 Diseño del experimento de déficit hídrico a corto plazo y en condiciones de laboratorio**

El efecto del déficit hídrico sobre la expresión de las acuaporinas y absorción foliar fue evaluado sobre plantines de *Schinus polygamus* (Cav.) Cabrera creciendo en macetas y mantenidos en condiciones de luz y temperatura de laboratorio y sin déficit hídrico desde 2016. En 2018 se inició el tratamiento de sequía manteniendo 6 plantas bajo condiciones normales (bien regados) (Tratamiento C) y 6 plantas bajo estrés hídrico (Tratamiento S). Luego de 3 meses de iniciado el tratamiento se realizaron las determinaciones fisiológicas.

### **5.2.2.1 Contenido volumétrico de agua**

El contenido volumétrico de agua fue determinado con sensores (EC-5 Decagon Devices, Inc), también basado en la determinación de la constante dieléctrica del medio usando el efecto capacitivo (Capítulo 2). El sensor se conecta a un medidor portátil Procheck (Decagon Device, Inc) para obtener medidas instantáneas.

### **5.2.2.2 Absorción foliar de agua**

La absorción foliar de agua en todas las especies y experimentos fue determinada siguiendo el mismo protocolo descrito en el capítulo 2.

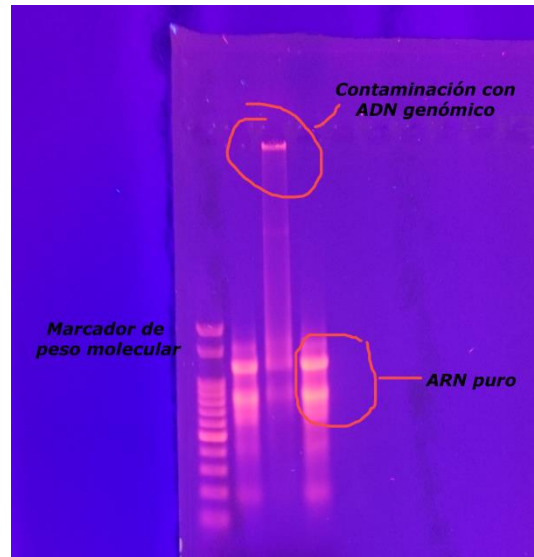
### **5.2.2.3 Nivel de expresión de las acuaporinas**

Para evaluar el rol de las acuaporinas sobre la absorción foliar en el experimento de déficit hídrico bajo condiciones de laboratorio se colectaron 4 hojas de 5 plantines de cada tratamiento (C y S). La mitad de esas hojas se mantuvieron sumergidas durante 30 minutos en una solución de agua con  $\text{HgCl}_2$  de  $200\mu\text{M}$  (el mercurio actúa como un inhibidor de las acuaporinas) (Con  $\text{HgCl}_2$ ) y el resto de las hojas se mantuvieron sumergidas solamente en agua destilada (Sin  $\text{HgCl}_2$ ). Luego, las hojas se enjuagaron con agua destilada y se les determinó la absorción foliar de agua siguiendo el protocolo explicado en el capítulo 2 (se usaron 2 hojas por muestra para reducir el error de la balanza). Por otro lado, se midió el nivel basal de expresión de las acuaporinas (Inicial) y la expresión luego de que la planta

entera haya sido mantenida con su superficie foliar húmeda durante 1 hora. Para realizar la determinación de la expresión de las acuaporinas, las plantas fueron transportadas al Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca (INIBIBB-CONICET). Para medir el nivel de expresión de las acuaporinas se usó el subgrupo PIP2-1 y gapc-2 como gen de referencia. Para la extracción del ARN se tomaron 200 mg de hojas frescas de cada planta de 3 plantas diferentes para cada tratamiento, las cuales fueron puestas inmediatamente en nitrógeno líquido y mantenidas a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta ser utilizadas.

Debido a la alta concentración de polifenoles (**Fig. 5.2**) que poseen las hojas de *S. polygamus* fue necesario adaptar el protocolo para la extracción del ARN. Se siguió un protocolo que constó de 2 etapas. Primero el material vegetal fue congelado y molido en nitrógeno líquido usando TissueLyser II (Qiagen N.V., Hilden, Germany). Luego, 75mg del polvo fue incubado por 10 minutos a  $65^{\circ}\text{C}$  en 500  $\mu\text{l}$  de buffer precalentado, el cual contiene 100 mM Tris HCl pH 8, 2 M NaCl, 25 mM EDTA pH 8, 2% (p/v) CTAB, 2% (w/v) PVP (360,000 MW) y 2% (v/v)  $\beta$ -mercaptoetanol (el cual fue agregado inmediatamente antes de ser usado) (modificado de Gambino et al., 2008). Se agregó el mismo volumen de cloroformo y el tubo fue agitado vigorosamente y luego centrifugado a 12000g por 10 minutos a  $4^{\circ}\text{C}$ . El sobrenadante fue recogido para una segunda extracción con cloroformo y transferido a otro tubo donde se le agregó el mismo volumen de 6M LiCl. La mezcla fue incubada durante la noche en hielo y el ARN fue pelletizado por centrifugación a 12000g por 40 minutos a  $4^{\circ}\text{C}$ . El pellet fue re-suspendido en 50  $\mu\text{L}$  de agua libre de nucleasas y se le agregaron 500  $\mu\text{L}$  de Transzol (TransGen Biotech Co., Beijing, China). El protocolo con Transzol fue llevado a cabo de acuerdo a las instrucciones del fabricante. El ARN fue re-suspendido en 25  $\mu\text{L}$  de agua y DEPC. La concentración total y pureza del ARN fueron evaluadas mediante índices OD 260/280 nm determinadas con PicoDrop P100 (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Todas las muestras mostraron índices OD 260/280 nm entre 1,95 y 2,07 e índices OD 260/230 superiores a 1,95. La integridad del ARN fue verificada por electroforesis en gel 1% agarosa – 1% lavandina (Aranda et al., 2012) donde se esperaban dos bandas de ARN ribosomal 28S/18S. Para cada muestra, 1  $\mu\text{g}$  de ARN total fue usado para la transcripción inversa en 25  $\mu\text{L}$  de reacción, usando la transcriptasa inversa del virus de leucemia murina de Molony (Promega,

Madison, WI, USA) y primers al azar (Pb-1, Buenos Aires, Argentina). El ADNc fue diluido con agua libre de nucleasas previo al análisis cuantitativo de PCR.



**Figura 5.2.** Electroforesis de ARN en un gel de agarosa. La primera “calle” corresponde a un marcador de peso molecular (de referencia), la segunda y cuarta “calle” corresponden a ARNs puros, obtenidos luego de la aplicación de ambos protocolos. La tercera “calle” corresponde a ARN diluido y contaminado con ADN genómico debido a la alta concentración de polifenoles, obtenido luego de aplicar el protocolo clásico de trizol.

Debido a que las secuencias de primers de los genes *PIP2-1* y *gapc-2* para *S. polygamus* son desconocidas, las secuencias fueron diseñadas a partir del ortólogo de ARNm de *Arabidopsis thaliana*. Luego, búsquedas BLAST fueron realizadas para cada ARNm contra 1000 blancos diferentes y los primers fueron rediseñados de acuerdo a la base más probable para cada posición, con largos de ~20 pb, temperaturas óptimas de fusión de 63°C y contenido óptimo de CG de ~50%. Las secuencias del primer usadas para *gapc-2* fueron: 5'-TTGGTGACAACAGGTCAAGC-3' (sentido horario) y 5'-CGTTGTCGTTCAAAGCAATTCC-3' (sentido anti horario). Las secuencias utilizadas para *PIP2-1* fueron: 5'-GATCTTCGTCCTTGTCTACTGC-3' (sentido horario) y 5'-GCCTTGACCAAACCAACACC-3' (sentido anti horario). Para evitar la contaminación

del ADN genómico, los primers fueron templados a secuencias con exones diferentes. El tamaño final fue de 70 y 165 pb. La especificidad del primer fue testada por criterios con PCR. Para cada par de primers, una única banda clara fue observada después de correr el producto del PCR en gel de agarosa al 2 %.

Para obtener el nivel de expresión relativo de cada muestra se usó PCR en tiempo real usando el Rotor-gene 6000 (Corbett Research, Cambridge, UK). Para la amplificación se usaron 20µL de volumen de reacción. Cada reacción contiene 10 µL de SensiFAST SYBR No-ROX Kit (Bioline, London, UK), 25 pmoles de ambos primers (derecho e inverso) y 2,5 µL de ADNc diluido sintetizado del ARN total. El programa del PCR contiene paso de desnaturalización inicial de 3 min a 94°C, seguido por desnaturalización de 20s a 94°C, templado por 15s a 61°C y extensión por 35s a 72°C durante 56 ciclos. Curvas de disociación fueron obtenidas por calentamiento de amplicones desde 70 a 95°C y cada par de primers mostró buena especificidad, calidad, eficiencia y curvas de disociación.

La eficiencia del PCR por muestra fue calculada usando LinRegPCR (Ruijter et al., 2009) y el valor medio de la eficiencia del PCR por amplicón fue de 1,89 y 1,91 para *PIP2-1* y *gapc-2*, respectivamente. El valor Cq para cada muestra y el umbral de fluorescencia fue determinado usando LinRegPCR. La expresión de *gapc-2* se mantuvo constante en todas las condiciones y fue usado como gen de referencia para normalizar el nivel de expresión de los genes.

### 5.2.3 Análisis estadísticos

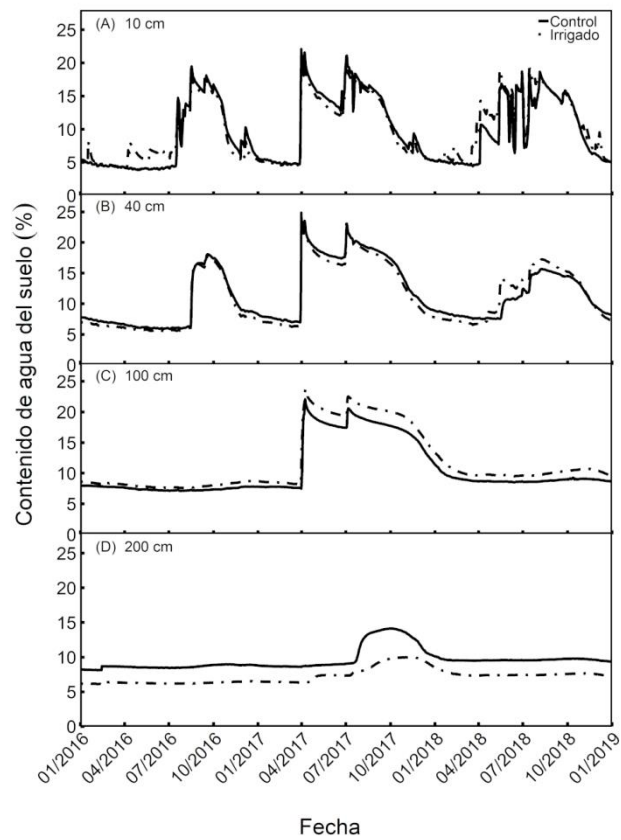
Todos los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el software R v.3.4.4 (R Development Core Team 2018), excepto para testear el nivel de expresión relativo de acuaporinas. Se usaron modelos lineales generalizados (GLSs) con test-F (paquete “nlme”; Pinheiro & Bates, 2018) para evaluar los efectos de la interacción entre especies y tratamientos (control e irrigado) (variables explicativas) sobre la variación de la adhesividad, ángulo de contacto, absorción foliar de agua, transpiración, fotosíntesis, conductancia estomática y eficiencia de uso de agua instantánea (variables dependientes). Se ajustó la varianza del modelo usando la función VarPower en los modelos de

adhesividad, transpiración, fotosíntesis, conductancia estomática y eficiencia de uso de agua instantánea. En el modelo generado para evaluar la AFA se ajustó varianza con la función VarComb (VarIdent ajustado por especie y VarPower). Se usaron GLSs para evaluar los efectos de la interacción entre especies, tratamientos del diseño experimental (parcelas control e irrigadas) y tratamiento anidado (rociado y cubierto) (variables explicativas) sobre la variación del potencial hídrico (variable dependiente). Para este modelo fue necesario ajustar varianza usando la función VarIdent (ajustado por especie). Se usó también un GLS para evaluar el efecto de la especie sobre la plasticidad fenotípica, y se ajustó la varianza del modelo usando la función VarPower. Para evaluar la relación entre conductancia estomática y absorción foliar de agua se testeó una regresión lineal usando el valor medio de cada variable por especie. Se aplicó el criterio de selección de Akaike para tamaños pequeños de muestras para hacer la selección de modelos (AICc; Burnham & Anderson 2002). La simplificación de los factores aleatorios y fijos de todos los modelos para alcanzar el modelo mínimo adecuado se llevó a cabo mediante prueba de hipótesis. Se utilizó el análisis post-hoc de Bonferroni (paquete “multcomp”; Hothorn et al., 2008) para comparaciones múltiples en todos los modelos cuando el test-F fue significativo ( $p < 0.05$ ). La cuantificación relativa del nivel de expresión de acuaporinas y el análisis estadístico fue realizado usando el software REST (Pfaffl et al., 2002).

## 5.3 RESULTADOS

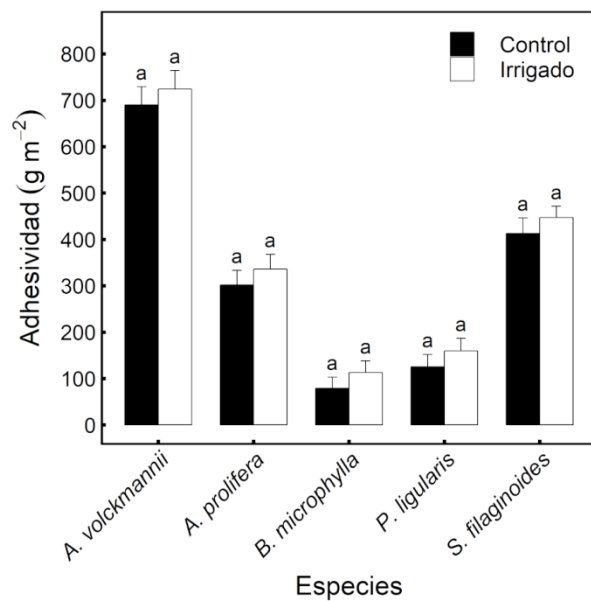
### 5.3.1 Resultados del experimento a campo de aumento en las precipitaciones a largo plazo

La dinámica estacional del contenido de agua en el suelo (**Fig. 5.3**) es la descrita en el capítulo 2. Se observó un máximo en el contenido de agua del suelo en 2017 en todas las profundidades causado por un evento anómalo de precipitación. En las parcelas irrigadas se observaron incrementos esporádicos del contenido de agua en el suelo, particularmente en los 10 cm, en respuesta a los eventos de riego. A 100 cm y 200 cm de profundidad el patrón de contenido de agua entre los tratamientos fue opuesto, con mayor humedad en las parcelas irrigadas a 100 cm pero menor a 200 cm respecto a la de las parcelas control (**Fig. 5.3**).



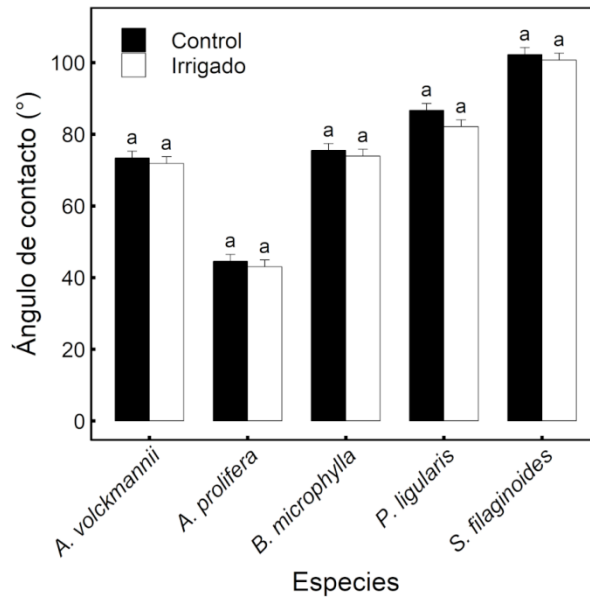
**Figura 5.3.** Contenido volumétrico de agua del suelo (%) a (A) 10 cm, (B) 40 cm, (C) 100 cm y (D) 200 cm de profundidad desde enero de 2016 a enero de 2019, para las parcelas control (C) e irrigadas (I). Las líneas representan la media diaria de cada tratamiento (n= 5).

Todas las especies analizadas en el experimento de irrigación tendieron a incrementar su adhesividad en las parcelas irrigadas, aunque las diferencias no fueron significativas ( $F_{1-92}= 1,99$ ;  $p= 0,16$ ) (**Fig. 5.4**). Este aumento fue similar para todas las especies (aproximadamente  $45 \text{ g m}^{-2}$ ). La interacción entre especies y tratamientos no fue significativa ( $F_{4-88}= 1,37$ ;  $p= 0,26$ ), y solo la especie fue significativa en el modelo ( $F_{4-92}= 64,36$ ;  $p < 0,0001$ ).



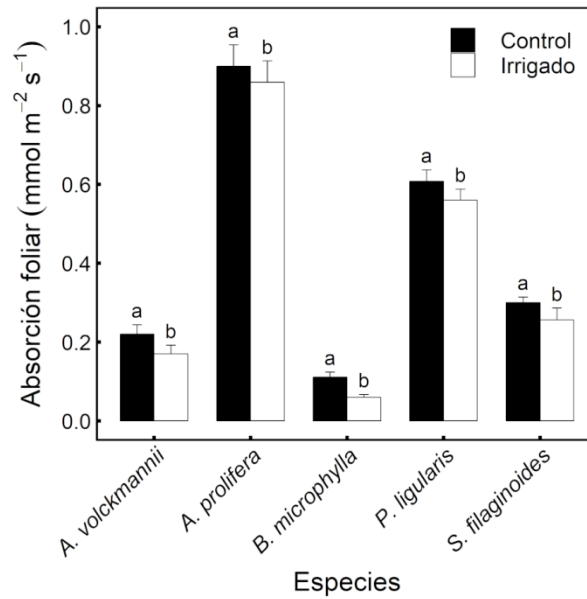
**Figura 5.4.** Adhesividad para cada tratamiento (control e irrigado) para 5 especies de la estepa patagónica. Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error de 10 plantas por especie. Diferentes letras representan diferencias significativas entre tratamientos para una misma especie.

El ángulo de contacto entre la superficie foliar y una gota de agua no varió significativamente entre tratamientos ( $F_{1-293} = 1,02$ ;  $p = 0,31$ ) (**Fig. 5.5**), aunque se observó que todas las especies de las parcelas control mostraron hojas más humectables, siendo *P. ligularis* la especie que mostró mayor diferencia entre el tratamiento control e irrigado ( $4,57^\circ$ ).



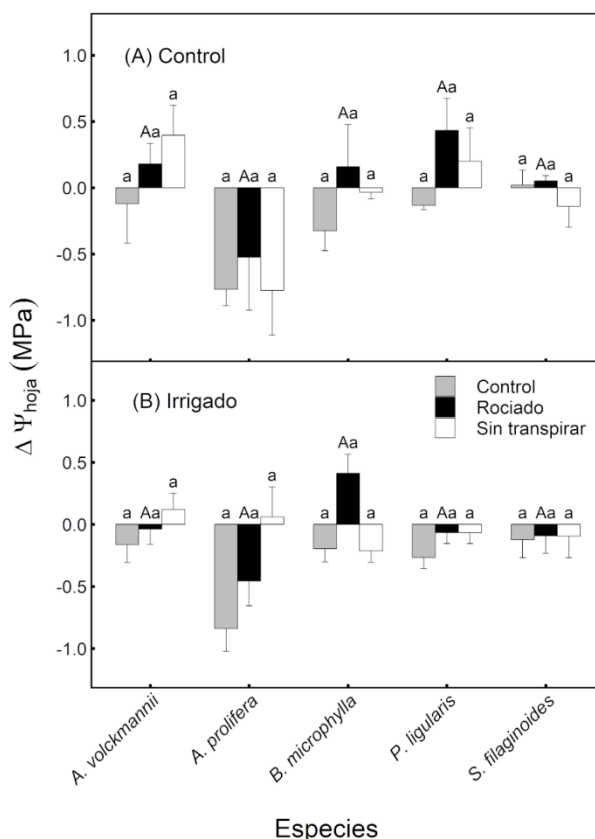
**Figura 5.5.** Ángulo de contacto entre una gota de agua y la superficie foliar en parcelas con tratamiento control e irrigado en 5 especies de la estepa patagónica. Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error estándar ( $n= 30$ ). Diferentes letras representan diferencias significativas entre tratamientos para una misma especie.

La absorción foliar de agua varió significativamente en todas las especies entre el tratamiento control y el irrigado ( $F_{1-86}= 10,43$ ;  $p= 0,0018$ ), siendo *B. microphylla* y *A. volckmannii* las especies que mostraron mayor diferencia entre tratamientos ( $0,05 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) (**Fig. 5.6**). Al igual que lo observado en el capítulo 2, *A. prolifera* fue la especie con mayor absorción foliar ( $0,9 \pm 0,054 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  en el tratamiento control y  $0,859 \pm 0,054 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  en el tratamiento irrigado), mientras que *B. microphylla* fue la especie con menor absorción foliar ( $0,111 \pm 0,013 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  y  $0,06 \pm 0,007 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  para cada tratamiento). No se encontró una interacción significativa entre especies y tratamientos ( $F_{4-82}= 1,63$ ;  $p= 0,17$ ), y la especie también fue significativa en el modelo ( $F_{4-86}= 127,93$ ;  $p < 0,0001$ ).



**Figura 5.6.** Absorción foliar de agua para cada tratamiento (control e irrigado) para 5 especies de la estepa patagónica estimada luego de sumergir en agua las hojas durante 180 min. Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error de 10 plantas por especie y tres hojas por muestra. Diferentes letras representan diferencias significativas entre tratamientos para una misma especie.

El efecto de mantener la superficie de las hojas húmedas durante una hora sobre el potencial hídrico fue similar al efecto de minimizar la transpiración y no difirió significativamente con respecto a las hojas control tanto en parcelas control como irrigadas (**Fig. 5.7**). Si bien se observó una tendencia a que todas las hojas rociadas mejoren su estado hídrico, ya sea incrementando su valor o disminuyéndolo en menor medida que las hojas control, este cambio no fue estadísticamente significativo. No hubo una diferencia significativa en el cambio en el  $\Delta\Psi_{\text{hoja}}$  de hojas rociadas entre tratamientos para una misma especie. La interacción triple en este modelo no fue significativa ( $F_{4-40} = 1,01$ ;  $p = 0,41$ ), tampoco lo fueron las siguientes interacciones dobles: diseño experimental con especie ( $F_{4-44} = 1,77$ ;  $p = 0,15$ ), tratamiento anidado con especie ( $F_{4-44} = 2,09$ ;  $p = 0,09$ ) y diseño experimental con tratamiento anidado ( $F_{4-44} = 0,18$ ;  $p = 0,67$ ). La especie fue significativa en el modelo ( $F_{4-53} = 6,04$ ;  $p < 0,0001$ ), no así el diseño experimental ( $F_{1-53} = 0,38$ ;  $p = 0,53$ ) ni el tratamiento anidado ( $F_{1-53} = 1,23$ ;  $p = 0,27$ ).



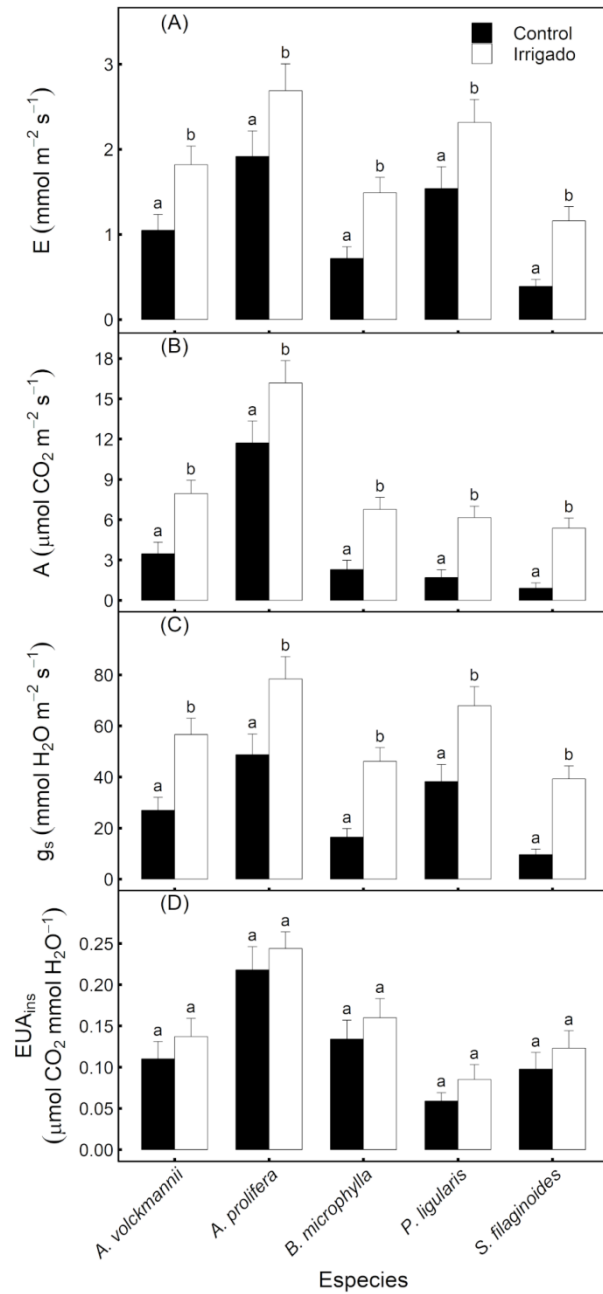
**Figura 5.7.** Diferencias entre el potencial hídrico de hojas control en condiciones de campo (hojas transpirando libremente y sin rociar durante 1 hora) (barras grises), el potencial hídrico de hojas con su superficie mantenida húmeda por 1 hora (barras negras) y el potencial hídrico de hojas cubiertas (hojas con transpiración reducida) (barras blancas) con el potencial hídrico inicial. El panel (A) corresponde al tratamiento control y el panel (B) al tratamiento irrigado. Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error ( $n=3$ ). Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas en el  $\Delta \Psi_{\text{hoja}}$  de hojas rociadas y hojas sin transpirar con respecto a las hojas control dentro de una misma especie. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas en  $\Delta \Psi_{\text{hoja}}$  de hojas rociadas entre tratamientos para una misma especie.

La transpiración fue mayor en todas las especies en las parcelas irrigadas ( $F_{1-24}=22,21$ ;  $p < 0,001$ ) (**Fig. 5.8.A**). Todas las especies respondieron de manera similar al tratamiento y el aumento fue de entre 0,77 y 0,78  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  en todas las especies. La especie fue también significativa en el modelo ( $F_{1-24}=11,08$ ;  $p < 0,001$ ) y la interacción entre tratamiento y especie no fue significativa ( $F_{4-20}=1,59$ ;  $p=0,21$ ).

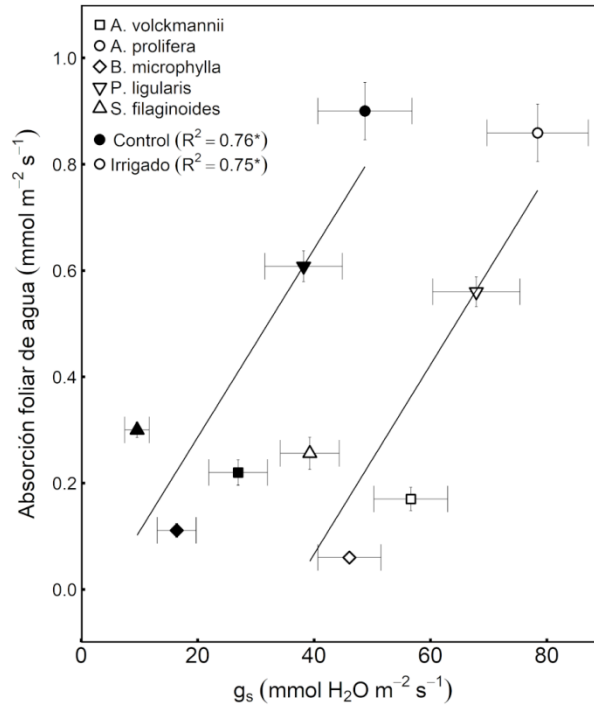
La tasa de fotosíntesis neta también aumentó en las parcelas irrigadas con respecto a las control ( $F_{1-24}= 35,04$ ;  $p < 0,0001$ ) (**Fig. 5.8.B**). *Azorella prolifera* fue la especie con mayor tasa de fotosíntesis, con valores de  $16,19 \pm 1,65 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  en las parcelas irrigadas y de  $11,72 \pm 1,6 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  en las parcelas control. Esta es además la especie donde más diferencia entre tratamientos se observó, mientras que *P. ligularis* fue la especie en la que la diferencia en la tasa fotosintética entre los tratamientos fue menor ( $6,16 \pm 0,84 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  en las parcelas irrigadas y  $1,7 \pm 0,58 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  en las parcelas control). La especie fue significativa en el modelo ( $F_{1-24}= 11,80$ ;  $p < 0,0001$ ) y la interacción no fue estadísticamente significativa en el modelo ( $F_{4-20}= 0,91$ ;  $p = 0,47$ ).

*Azorella prolifera* fue la especie con mayor conductancia estomática tanto en las parcelas control como en las irrigadas ( $48,76 \pm 8,099$  y  $78,42 \pm 8,699 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , respectivamente) mientras que *S. filaginoides* presentó los valores más bajos ( $9,61 \pm 2,11$  en las parcelas control y  $39,27 \pm 5,06 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  en el tratamiento de riego) (**Fig. 5.8.C**). El tratamiento y la especie fueron significativos ( $F_{1-24}= 35,56$ ;  $p < 0,0001$  y  $F_{1-24}= 10,25$ ;  $p < 0,0001$ , respectivamente) y su interacción no fue estadísticamente significativa ( $F_{4-20}= 0,87$ ;  $p = 0,49$ ). Se encontró una relación lineal y positiva entre  $g_s$  y AFA ( $y = -0,068 + 0,17x$ ;  $R^2 = 0,76$ ;  $p = 0,05$  para el tratamiento control;  $y = -0,064 + 0,17x$ ;  $R^2 = 0,75$ ;  $p = 0,05$  para el tratamiento irrigado). Las especies con mayor  $g_s$  presentaron mayor absorción foliar de agua (**Fig. 5.9**).

La EUA instantánea varió entre  $0,085 \pm 0,018 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol H}_2\text{O}$  y  $0,243 \pm 0,02 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol H}_2\text{O}$  entre tratamientos y especies (**Fig. 5.8.D**). El mínimo valor correspondió a la gramínea *P. ligularis* y el máximo al arbusto *A. prolifera*, ambos en las parcelas irrigadas. La interacción entre especie y tratamiento no fue significativa ( $F_{4-20}= 1,18$ ;  $p = 0,34$ ), así como tampoco el tratamiento ( $F_{1-24}= 2,10$ ;  $p = 0,15$ ), mientras que la especie fue significativa en el modelo ( $F_{1-24}= 7,14$ ;  $p < 0,0001$ ).



**Figura 5.8.** (A) Transpiración, (B) fotosíntesis, (C) conductancia estomática y (D) eficiencia de uso de agua instantánea para cada especie y tratamiento. Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error (n= 5). Diferentes letras minúsculas indican diferencia entre tratamientos para una misma especie.



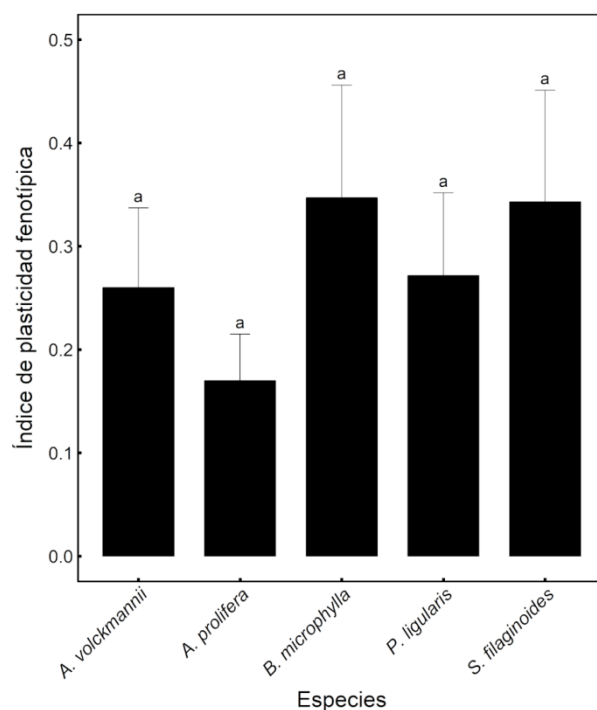
**Figura 5.9.** Relación entre la absorción foliar de agua y la conductancia estomática ( $g_s$ ) para cada especie en las parcelas control e irrigadas. Cada símbolo representa el valor medio  $\pm$  error estándar de 10 hojas para absorción específica y de 5 hojas para  $g_s$ . Cada línea representa la función que se ajusta a la ecuación  $y = -0,068 + 0,17x$ ;  $R^2 = 0,76$ ;  $p = 0,05$  para el tratamiento control, y  $y = -0,064 + 0,17x$ ;  $R^2 = 0,75$ ;  $p = 0,05$  para el tratamiento irrigado.

Los índices más altos de plasticidad fenotípica se observaron en la tasa de fotosíntesis, los cuales variaron entre 0,27 y 0,83 entre las especies (**Tabla 5.1**), mientras que todas las especies mostraron baja plasticidad en el ángulo de contacto (entre 0,01 y 0,05). El índice de plasticidad fenotípica en la absorción foliar varió desde 0,04 (*A. prolifera*) hasta 0,46 (*B. microphylla*).

**Tabla 5.1.** Índice de plasticidad fenotípica en cinco especies de la estepa patagónica entre control e irrigado para las siguientes variables biofísicas y ecofisiológicas: adhesividad, ángulo de contacto, absorción foliar de agua, potencial hídrico foliar, transpiración, fotosíntesis, conductancia estomática y eficiencia de uso de agua instantánea.

	<b>Especie</b>				
	<i>A. volckmannii</i>	<i>A. prolifera</i>	<i>B. microphylla</i>	<i>P. ligularis</i>	<i>S. filaginoides</i>
<b>Adhesividad</b>	0,04	0,10	0,30	0,21	0,07
<b>Ángulo de contacto</b>	0,02	0,03	0,02	0,05	0,01
<b>Absorción foliar de agua</b>	0,22	0,04	0,46	0,07	0,14
<b>Potencial hídrico foliar</b>	0,09	0,13	0,14	0,27	0,05
<b>Transpiración</b>	0,42	0,28	0,52	0,33	0,66
<b>Fotosíntesis</b>	0,56	0,27	0,66	0,72	0,83
<b>Conductancia estomática</b>	0,52	0,38	0,64	0,43	0,75
<b>Eficiencia de uso de agua instantánea</b>	0,19	0,10	0,16	0,30	0,20

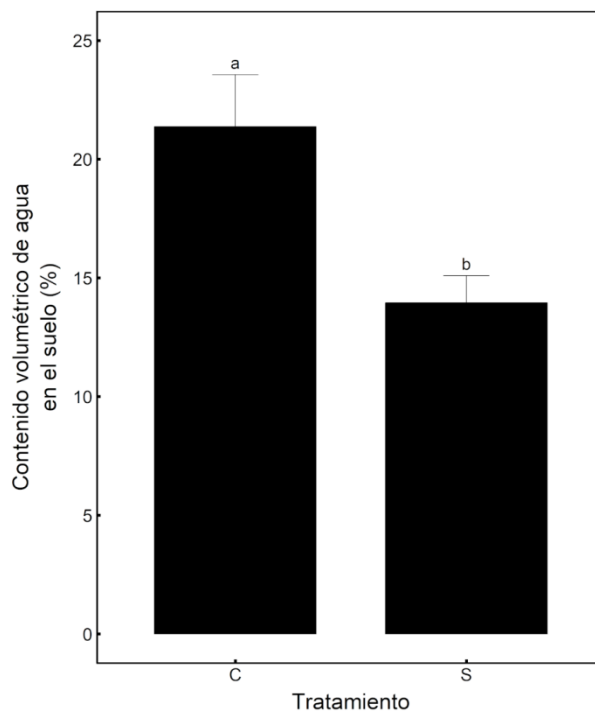
Al promediar los índices de plasticidad de todas las características analizadas dentro de una especie se observó que *B. microphylla* y *S. filaginoides* fueron las especies con mayor plasticidad fenotípica ( $0,347 \pm 0,109$  y  $0,343 \pm 0,108$ , respectivamente) (**Fig. 5.10**), mientras que *A. prolifera* fue la especie con menor índice de plasticidad ( $0,17 \pm 0,045$ ). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre las especies ( $F_{4-35} = 1,12$ ;  $p = 0,36$ ).



**Figura 5.10.** Índice de plasticidad fenotípica para 5 especies de la estepa patagónica calculada como: (valor promedio máximo - valor promedio mínimo) / valor promedio máximo. Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error de 8 variables por especie. Diferentes letras representan diferencias significativas entre especies.

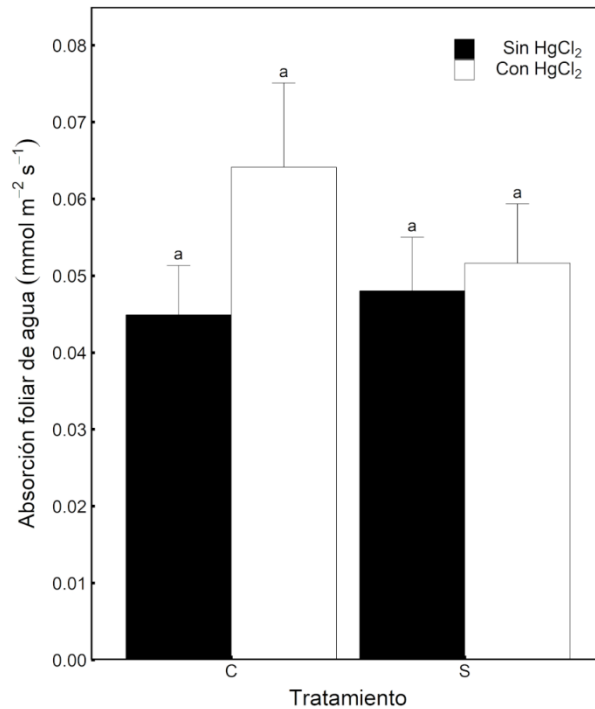
### 5.3.2 Resultados del experimento de déficit hídrico a corto plazo y en condiciones de laboratorio

En el experimento de déficit hídrico el contenido volumétrico de agua de las macetas en el tratamiento control fue  $21,37 \pm 2,19$  % mientras que en las macetas en el tratamiento de sequía fue  $13,95 \pm 1,14$  % (**Fig. 5.11**). Las diferencias entre tratamientos fueron significativas ( $F_{1,35} = 9,04$ ;  $p = 0,02$ ).



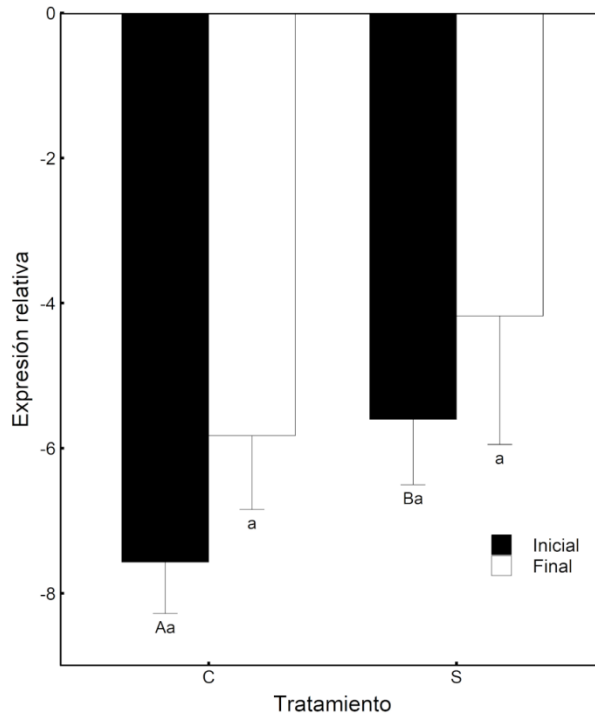
**Figura 5.11.** Contenido volumétrico de agua en las macetas (%) en los tratamientos control (C) y con estrés hídrico (S). Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error de 4 macetas por tratamiento. Diferentes letras representan diferencias significativas entre tratamientos.

La absorción foliar de agua de *S. polygamus* varió entre  $0,045 \pm 0,006 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  en el tratamiento control y  $0,048 \pm 0,06 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  en el tratamiento de sequía (**Fig. 5.12**). La absorción foliar de agua incrementó en ambos tratamientos cuando fue agregado  $\text{HgCl}_2$ , siendo el mayor aumento de  $0,02 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ; sin embargo, las diferencias no fueron significativas ( $F_{1,16} = 0,81$ ;  $p = 0,50$ ).



**Figura 5.12.** Absorción foliar de agua para los tratamientos control (C) y sequía (S), sin y con HgCl<sub>2</sub> (barra negra y barra blanca, respectivamente), luego de sumergir en agua las hojas durante 180 min. Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error de 5 muestras por tratamiento y 2 hojas por muestra. Diferentes letras representan diferencias significativas entre tratamientos.

El nivel de expresión relativo de las acuaporinas *PIP2-1* con respecto al gen de referencia *gapc-2* tuvo una diferencia de 1,742 entre el nivel basal y el valor después de mantener las hojas rociadas durante 1 hora en el tratamiento control, mientras que para el tratamiento de sequía esta diferencia fue de 1,424, pero ninguna de estas diferencias fue estadísticamente significativa ( $p= 0,14$  y  $p= 0,231$ , respectivamente) (**Fig. 5.13**). La diferencia de valores basales entre tratamientos fue estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ), observándose que el nivel basal de la acuaporina *PIP2-1* en el tratamiento control se encontraba “up-regulado” mientras que en el tratamiento de sequía se encontraba “down-regulado”.



**Figura 5.13.** Respuesta de la acuaporina *PIP2-1* para el tratamiento control (C) y sequía (S), antes (barra negra) y después (barra blanca) de mantener la superficie foliar con una capa de agua durante 1 hora. Cada barra representa el valor medio  $\pm$  error de la diferencia en la expresión de la acuaporina *PIP2-1* con respecto al gen de referencia *gapc-2* de 3 muestras por tratamiento. Diferentes letras minúsculas representan diferencias significativas entre el valor inicial y final dentro de un tratamiento. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias en el nivel basal entre tratamientos.

## 5.4 DISCUSIÓN

El aumento en las precipitaciones durante la estación de crecimiento a través de pulsos de 5 mm incrementó la tasa de fotosíntesis al mismo tiempo que aumentó la pérdida de agua por transpiración en todas las especies analizadas. Algunos estudios indican que el aumento en las precipitaciones produce mayores cambios en la vegetación en ambientes secos que en ambientes húmedos (Zeppel et al., 2014) y otros indican que las plantas expuestas a sequía tienen escasa capacidad de responder a pulsos de lluvia (Blackman et al., 2009; Resco et al., 2009; Brodribb et al., 2010; Laurenroth & Sala, 1992). El cambio en la cantidad de precipitación produjo también cambios en el contenido de agua del suelo, el

cual varió de acuerdo a la profundidad. La respuesta observada en todas las especies indica un mayor uso de agua por la vegetación, lo cual resultó en una disminución de la humedad del suelo a 40 y 200 cm en las parcelas irrigadas. Los resultados también indican que aun las especies que tienen acceso a más abundante agua a lo largo del año aprovecharon el aumento en la disponibilidad de agua en el suelo para mejorar la asimilación de carbono. Este resultado contradice estudios previos en una estepa similar en Patagonia. Golluscio et al. (1998) observaron que solo los pastos son capaces de responder a un incremento en la disponibilidad de agua aumentando el crecimiento foliar y mejorando el estado hídrico. La discrepancia entre ambos resultados puede radicar en el patrón y tiempo de aplicación del tratamiento de irrigación. En el caso del estudio de Golluscio et al. (1998) se aplicó solo un pulso de 30 mm una vez por año durante tres años con precipitación entre 158 y 171 mm. El aumento de las precipitaciones puede tener diferentes efectos dependiendo de si estas ocurren en la estación de crecimiento o en el invierno, y si ocurre en forma de pequeños o grandes pulsos (Zeppel et al., 2014).

A pesar del aumento en la conductancia estomática de las especies en las parcelas de irrigación, la eficiencia de uso de agua se incrementó en este tratamiento respecto a la de las parcelas control. Generalmente la eficiencia de uso de agua disminuye con el aumento en la disponibilidad de agua porque la conductancia estomática incrementa linealmente con la disponibilidad de agua mientras que la fotosíntesis es limitada además por otros factores ambientales. Sin embargo, la irrigación pudo disparar un aumento en la disponibilidad de N favoreciendo la actividad de las enzimas fotosintéticas. Estos resultados son similares a los encontrados por Golluscio & Oesterheld (2007) en especies de la estepa patagónica cuando compararon años húmedos con años secos.

El aumento en el intercambio de gases con la irrigación, similar a lo observado en otros estudios y ecosistemas (Sultan et al., 1998, Lazaro-Nogal et al., 2015) fue acompañado por una disminución en la capacidad de absorber la humedad depositada sobre las hojas. La absorción foliar disminuyó en todas las especies consistente con la hipótesis planteada. A diferencia de lo observado en el capítulo 2 donde la sequía estival incrementa la absorción foliar al incrementar la fuerza motriz entre el interior de la hoja y la superficie (Simonin et al., 2009, Schreel & Steppe ,2019), en este estudio no se observó un aumento

del potencial hídrico foliar en las parcelas irrigadas lo que pudo reducir esta fuerza motriz. Sin embargo, los cambios en las características de la superficie foliar fueron dirigidos hacia una reducción de la humectabilidad y de la capacidad de retención de agua. Otros cambios a nivel de la hoja, como por ejemplo en los tricomas (Holesky, 2007; 2010), hidátodos (Chen & Chen, 2006; Pillitteri et al., 2008) y densidad estomática (Fraser et al., 2009; Stojnic et al., 2005), no analizadas en este experimento y que afectan las vías de entrada del agua pudieron disminuir la absorción de agua en el tratamiento de irrigación. Considerando que el agua puede entrar como salir de los estomas (Limm et al., 2009; Burkhardt et al., 2012), el aumento en la conductancia estomática con el aumento en las precipitaciones no posibilitó un incremento en la absorción foliar sugiriendo que la vía estomática no es relevante en estas especies. Esto también fue confirmado en el Capítulo 3 con la relación inversa entre la absorción foliar y la densidad estomática. El efecto de la disponibilidad de agua sobre la absorción foliar fue similar en el tratamiento de sequía, donde luego de mantener los plantines de *S. polygamus* bajo condiciones hídricas favorables, la exposición a déficit hídrico tendió a incrementar la absorción foliar, aunque el cambio no fue significativo. Rice et al., (1993) propuso que plantas muy jóvenes pueden tener una inercia fenotípica, lo cual pudo ser una probable causa de la menor respuesta de la absorción foliar a cambios en la disponibilidad de agua. Un incremento de la absorción foliar en plantas bajo tratamiento de sequía fue observado también por Schreel et al., (2019) en especies arbóreas de bosques templados.

En términos generales, la plasticidad fenotípica de las hojas fue baja en características biofísicas de su superficie que determinan su humectabilidad y mayor en características funcionales como la tasa de fotosíntesis, transpiración y conductancia estomática. Algunos estudios sugieren que las respuestas fisiológicas tienden a ser más fuertes y rápidas que las morfológicas (Valladares et al., 2000; Wyka et al., 2007, 2012; Grossiord et al., 2017) dado que no se requiere reconstrucción de los tejidos o grandes costos de mantenimiento (Metlen et al., 2009; Wyka et al., 2012). La humectabilidad de las hojas depende de las propiedades químicas y físicas de la superficie foliar, las cuales varían con la edad de la hoja. Estudios demuestran que la ontogenia es un factor importante cuando se evalúa la plasticidad fenotípica (Coleman et al., 1994; Valladares et al., 2006), por lo que no podemos descartar que estas características hayan sido más plásticas al

principio de la estación de crecimiento. Las especies estudiadas variaron en su grado de plasticidad cuando se consideraron todas las propiedades analizadas. Couso & Fernandez (2012) indicaron que las especies más tolerantes a la sequía son las menos plásticas. Por ejemplo, en el estudio de Couso & Fernández (2012), quienes trabajaron con tres especies de gramíneas de las estepa patagónica, encontraron que las especies más xeromórficas fueron las menos plásticas frente a cambios en la disponibilidad de agua. Los costos asociados a ser más tolerantes bajo condiciones de déficit hídrico tendrían desventajas frente a condiciones de crecimiento más favorables. En el presente estudio, *A. prolifera* fue la especie menos plástica pero es una de las especies más abundantes de la estepa patagónica y tolerantes a la sequía (Bucci et al., 2009, Golluscio et al., 1998; Scholz et al., 2012) comparada con la especie más plástica, *B. microphylla*, menos abundante y con raíces que acceden a las capas más profundas del suelo (Bucci et al., 2009; Scholz et al., 2012). De acuerdo a Couso & Fernández (2012), en ambientes más ricos en recursos la selección favorecería a los genotipos capaces de capitalizar el recurso y de responder ante cambios en el ambiente.

Hay estudios que indican que una de las funciones de las acuaporinas podría ser la regulación de la absorción foliar de agua (Ohruí et al., 2007; Laur & Hacke, 2014; Yan et al., 2015). Yan et al. (2015) propusieron para *Tamarix ramosissima* que la acuaporina *PIP2-1* es la principal acuaporina involucrada en el proceso de absorción foliar de agua. Ohruí et al. (2007) encontraron una disminución en la absorción foliar de agua con el agregado del inhibidor  $\text{HgCl}_2$  a partir de concentraciones mayores a  $150 \mu\text{M}$ , lo que indicaría que las acuaporinas están directamente involucradas con este mecanismo. En el presente experimento de déficit hídrico se observó un pequeño incremento en la absorción foliar de *S. polygamus* en el tratamiento de sequía, sin embargo, el agregado de  $\text{HgCl}_2$  tendió a aumentar la absorción foliar tanto en el tratamiento de sequía como en las plantas control. El mercurio ha sido usado en varios estudios para indicar la presencia de acuaporinas ya que actúa como un inhibidor de estas proteínas (Lovisoló & Schubert, 2006; Ohruí et al., 2007; Secchi & Zwieniecki, 2010); sin embargo, en otros estudios la inhibición por mercurio ha sido baja o nula (Daniels et al., 1994; Biela et al., 1999; Alleva et al., 2006). Los mecanismos de expresión de las acuaporinas son complejos y todavía se requiere un mayor conocimiento de los mecanismos que regulan su expresión. En este

experimento solo se evaluó la acuaporina *PIP2-1*, pudiendo haber otra o un complejo de AQP involucradas en el proceso de absorción foliar, por lo que no podemos descartar el rol que tienen estas proteínas en la absorción foliar de agua. Es importante tener en cuenta que las acuaporinas tienen un ritmo circadiano (Moshelion et al., 2002; Takase et al., 2010; Sakurai-Ishikawa et al., 2011), el cual no fue considerado en este estudio al momento de tomar las muestras. Yan et al. (2015) encontraron en *Tamarix ramosissima* que durante la noche y en presencia de alta humedad relativa la expresión de la acuaporina *PIP2-1* aumentaba significativamente mientras que el flujo de savia era reverso (desde la atmósfera hacia dentro de la planta), por lo que los autores concluyeron que estas acuaporinas son las principales involucradas en el proceso de absorción foliar. La toma de muestras en el presente experimento fue realizado durante la tarde, por lo que el ritmo circadiano de las acuaporinas pudo evitar la observación de una diferencia significativa en el nivel de expresión luego de realizar el tratamiento de rociado sobre las plantas control y bajo estrés hídrico. El nivel basal de expresión de acuaporinas fue significativamente mayor en el tratamiento control que en el tratamiento bajo estrés hídrico, lo que indicaría una mayor actividad en las plantas bajo condiciones hídricas favorables. Sin embargo y contrario a lo esperado, la presencia de humedad sobre las hojas tuvo una tendencia a reducir el nivel de expresión de las acuaporinas en ambos tratamientos.

# CAPÍTULO 6

## 6.1 DISCUSIÓN GENERAL

La coexistencia de especies en ecosistemas limitados por agua responde principalmente a la utilización de diferentes estrategias para la absorción de agua. Estudios previos en la estepa patagónica (Schulze et al., 1996; Bucci et al., 2009; Pereyra et al., 2017) indican que los pastos utilizan principalmente el agua de las primeras capas del suelo mientras que los arbustos utilizan agua disponible a diferentes profundidades a lo largo del perfil de suelo. Esta partición espacial del recurso agua emerge de las diferencias en la profundidad de los sistemas radicales y del uso de diferentes fuentes verticales de agua en el suelo. Este comportamiento en las especies de ecosistemas áridos amortigua la competencia por el agua y resulta en una mayor eficiencia en su uso (Walter 1971; Noy-Meir 1973, Pereyra et al. 2017). Sin embargo, aun así el acceso a agua edáfica está limitado por restricciones hidráulicas a nivel del sistema de transporte de agua de la planta, desde las raíces a las hojas, principalmente durante la estación seca (Bucci et al. 2013). Bajo estas condiciones de restricciones funcionales y de mayor déficit hídrico en el suelo, las plantas de la estepa patagónica presentan otras estrategias de captura de agua. Este estudio presenta evidencias conclusivas de que pastos y arbustos de la estepa patagónica utilizan otras fuentes de agua no edáficas como el agua depositada sobre la superficie foliar producto de los pequeños eventos de precipitación o de formación de rocío que ocurren durante la estación de crecimiento y en la estación de mayor déficit hídrico (verano).

A diferencia del agua edáfica, los eventos de precipitación o la formación de rocío dejan agua disponible para las especies de un modo más homogéneo, en el sentido que el canopeo de todas las especies está expuesto a los mismos eventos. El análisis de la interceptación de agua de pulsos pequeños de lluvia indicó que más del 50% del agua que cae sobre el área de cobertura de la planta es interceptada por el canopeo de las plantas. Este valor lógicamente puede ser reducido sustancialmente durante los pulsos de mayor magnitud e intensidad, pero aun así y extrapolando la interceptación a nivel de ecosistema, el valor obtenido es mayor a la interceptación previamente estimada para regiones áridas (~10%

Braddford & Lauenroth 2006; Longepierre et al. 2014). Esto sugiere que la intercepción es un parámetro esencial y a considerar en los estudios eco-hidrológicos de la estepa patagónica, no solo porque reduce la cantidad de agua que alcanza el suelo, sino también porque es agua disponible para la absorción foliar. En otros ecosistemas áridos la intercepción de la precipitación por el canopeo está relacionada con la adhesividad de las hojas (Holder 2012; 2013), sin embargo para las especies de la estepa patagónica no se encontró tal relación ( $y = 77,07 - 0,02x$ ;  $R^2 = 0,09$ ;  $p = 0,49$ ), siendo las especies deciduas las principales causantes de la falta de correlación. Pero esta gran capacidad del canopeo de almacenar agua puede estar relacionada con el elevado nivel de humectabilidad y retención de las gotas de agua que presentan las superficies de las hojas de todas las especies analizadas.

La absorción foliar varió entre 0,04 y 0,75  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  entre las especies. Considerando el índice de área foliar y el porcentaje de cobertura de cada especie en el área de estudio de acuerdo a Pereyra (2020), así como la tasa de absorción foliar y el tiempo acumulado en que las hojas tienen su superficie mojada (obtenido de los sensores wetness, capítulo 2), la cantidad total de agua absorbida a nivel del ecosistema por la vegetación entre la primavera y el verano fue de 50 moles/ $\text{m}^2$ . Así, el agua absorbida a través de las hojas representa, aproximadamente, 1,6% de la transpiración total de los pastos y arbustos de la estepa patagónica (56 mm; Pereyra et al., 2017). Este valor podría estar subestimado dado que no se ha considerado que las especies perennes también podrían hacer uso de esta fuente complementaria de agua durante el otoño e invierno cuando la absorción de agua desde el suelo se encuentra limitada por la formación de hielo o por una disminución en la conductancia hidráulica en las raíces.

Aunque la cantidad de agua absorbida por las hojas es de pequeña magnitud, su efecto es significativo para el balance hídrico. Durante la estación seca las especies disminuyen su potencial hídrico en respuesta a la menor disponibilidad de agua en el suelo y a la mayor demanda de agua por la atmósfera (Scholz et al. 2012). Sin embargo, frente a eventos que depositen agua sobre la superficie foliar, las especies no solo pueden absorber el agua sino que incrementan o evitan la reducción del potencial hídrico. El efecto de la absorción foliar sobre el estado hídrico de las hojas fue dependiente del módulo de

elasticidad del tejido foliar durante la estación de crecimiento. Las especies con paredes celulares más rígidas disminuyen rápidamente su potencial hídrico frente a una disminución en la disponibilidad de agua. Esta es una característica que presentan las especies de ecosistemas áridos, brindándole a las plantas una rápida recuperación del estado hídrico luego de eventos de precipitación. Esta adaptación ha sido siempre asociada a la recuperación del estado hídrico vía absorción radical de agua, pero no a su efecto en la recuperación del estado hídrico vía absorción foliar de agua.

Si bien no se encontró una relación directa entre características biofísicas de la superficie foliar y la absorción foliar, se observó que las plantas de la estepa patagónica tienden a favorecer la formación de una capa de agua sobre sus hojas (o la formación de múltiples gotas de pequeño tamaño). La elevada humectabilidad y retención hídrica de la superficie foliar promueve el aprovechamiento del agua depositada o evita la transpiración. Si bien la difusión del  $\text{CO}_2$  es menor en el agua que en el aire, con lo cual esta característica foliar podría ser desventajosa para la captura de  $\text{CO}_2$ , los eventos de precipitación o de formación de rocío se generan u ocurren cuando la densidad de flujo fotónico es baja debido a la nubosidad (en el caso de un evento de precipitación) o durante la noche (en el caso del rocío). Holder (2013) sugiere que las plantas de ecosistemas áridos y semiáridos aumentan la hidrofobicidad de su canopeo para disminuir la intercepción de agua de lluvia y favorecer el escurrimiento a través de las hojas y el tallo hacia el suelo. Sin embargo, nuestros resultados sugieren que las plantas de la estepa utilizan una estrategia adaptativa opuesta favoreciendo la intercepción de agua de lluvia. Esta adaptación no solo permite mejorar o evitar que el potencial hídrico continúe disminuyendo sino que permite aumentar rápidamente la tasa de fotosíntesis posterior al evento de mojado de las hojas.

Conocer la significancia funcional de la absorción foliar puede contribuir a predecir el comportamiento que tendrán las especies de la estepa patagónica ante diferentes escenarios de cambio climático. Los escenarios climáticos para la Región Patagónica indican desde una disminución a un aumento de las precipitaciones dependiendo del área. Los resultados de este trabajo sugieren que las especies se pueden aclimatar a estos cambios a través de respuestas plásticas. Mientras que frente a un aumento en las precipitaciones la absorción foliar tiende a disminuir acompañada por un aumento en la asimilación de

carbono y en la eficiencia de uso de agua, cuando la disponibilidad de agua es reducida y las plantas no pueden o están limitadas para absorberla a través de las raíces, las hojas pueden aprovechar en mayor medida otras fuentes de agua. Aunque esta estrategia no compense totalmente la pérdida de absorción por las raíces bajo condiciones de sequía edáfica, permite mantener la funcionalidad de las hojas por más tiempo durante periodos de escasa disponibilidad de agua en el suelo. Dado que las características funcionales son relativamente más plásticas que las morfológicas, las plantas pueden tener respuestas rápidas frente a cambios ambientales.

En conclusión, los principales resultados encontrados en este estudio son:

- La estepa patagónica dispone de diferentes fuentes de agua para las plantas: agua freática, edáfica, agua de lluvia depositada sobre las hojas y rocío.
- Las especies de gramíneas y arbustos presentan características morfológicas de su canopeo y biofísicas de la superficie foliar que favorecen la intercepción y retención de agua e incrementan la humectabilidad.
- Todas las especies absorben agua a través de su superficie foliar, tanto en la estación de mayor crecimiento (primavera) como en la estación seca (verano).
- La absorción foliar está inversamente relacionada con la profundidad del sistema radical, de manera que especies con sistema radical más superficial presentan mayor absorción foliar de agua.
- La absorción foliar es mayor durante la estación seca, principalmente en especies con sistemas radicales superficiales, lo que confirma que el gradiente de potencial hídrico entre el interior de la hoja y la superficie es la fuerza motriz.
- Las especies con mayor absorción foliar promedio (primavera y verano) son aquellas con mayor tasa de transpiración.
- La absorción foliar mejora o evita la reducción del potencial hídrico, pero la magnitud del efecto está relacionada con la elasticidad de las paredes

celulares. La absorción foliar tiene un efecto positivo también sobre el intercambio gaseoso.

- La absorción foliar es una característica plástica, siendo mayor cuando las especies crecen bajo mayor déficit hídrico en el suelo y disminuye cuando la disponibilidad de agua se incrementa.
- La absorción foliar representa aproximadamente el 1,6% de la transpiración total a nivel de ecosistema.

## **6.2 PERSPECTIVAS FUTURAS**

Los resultados de esta tesis demuestran que las plantas nativas de la estepa patagónica tienen la capacidad de aprovechar fuentes de agua alternativas a la disponible en el suelo, similar a lo observado en otros ecosistemas áridos y semiáridos (Yan et al., 2015; Wang et al., 2016; Gong et al., 2019). Las plantas de la estepa patagónica son capaces de absorber agua proveniente de eventos de rocío y de pequeños pulsos de lluvia durante la estación de crecimiento y verano que no alcanzan a humedecer la rizosfera, sin embargo aún resta analizar si este mecanismo se mantiene a lo largo del año en las plantas perennes. En invierno, aunque el suelo presenta un mayor contenido de agua, las bajas temperaturas e incluso el congelamiento en las capas superficiales del suelo podrían restringir la disponibilidad de agua para las plantas. La absorción foliar en invierno podría también representar una estrategia para la supervivencia durante el periodo frío, teniendo en cuenta también, que las raíces superficiales experimentan una reducción de su conductividad hidráulica por congelamiento y descongelamiento del agua dentro del xilema (Bucci et al. 2013).

Si bien la absorción foliar ha adquirido gran importancia en el último tiempo y se han realizado numerosos estudios en todo el mundo, aún existe escaso conocimiento sobre las vías de entrada de agua al interior del tejido foliar, y si este camino es el mismo para todas las especies o si presenta variabilidad inter-específica. La absorción foliar y el grado de humectabilidad de la superficie foliar se tornan más importantes al analizar los diferentes escenarios de cambio climático. Un aspecto no analizado en este estudio sobre la humectabilidad y los eventos de lluvia o rocío es su efecto sobre el balance térmico de la

hoja, un aspecto fundamental teniendo en cuenta que para la Región Patagónica se espera un aumento en la temperatura del aire (Saurral, Camilloni & Barros, 2017). Las hojas más humectables podrían tener ventajas durante el verano, presentando temperaturas más óptimas para el intercambio de gases.

Los modelos ecológicos son herramientas útiles que permiten predecir procesos ecológicos a largo plazo. En el caso de la estepa patagónica, la dinámica del agua ha sido simulada con el modelo DINAQUA (Paruelo & Sala, 1995), mientras que una adaptación del modelo DINVEG fue realizada por Cipriotti et al. (2012) y simula la dinámica espacio-temporal de los arbustos y pastos dominantes. El siguiente paso en el desarrollo de modelos eco-hidrológicos para este ecosistema debería considerar fuentes de agua no edáficas para las plantas, como la absorción foliar, así como características biofísicas de las hojas que afectan la dinámica del agua en el ecosistema.

# BIBLIOGRAFÍA

- Adam, N.K. (1963). Principles of water repellency. In JL Molliet, ed. *Waterproofing and water repellency*. Elsevier, Pp.1-23.
- Agam, N., & Berliner, P. R. (2006). Dew formation and water vapor adsorption in semi-arid environments—a review. *Journal of Arid Environments*, 65(4), 572-590.
- Agre, P., Preston, G. M., Smith, B. L., Jung, J. S., Raina, S., Moon, C., ... & Nielsen, S. (1993). Aquaporin CHIP: the archetypal molecular water channel. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 265(4), F463-F476.
- Ali, M., Jensen, C. R., Mogensen, V. O., Andersen, M. N., & Henson, I. E. (1999). Root signalling and osmotic adjustment during intermittent soil drying sustain grain yield of field grown wheat. *Field Crops Research*, 62(1), 35-52.
- Alexandersson, E., Fraysse, L., Sjövall-Larsen, S., Gustavsson, S., Fellert, M., Karlsson, M., ... & Kjellbom, P. (2005). Whole gene family expression and drought stress regulation of aquaporins. *Plant Molecular Biology*, 59(3), 469-484.
- Alleva, K., Niemietz, C. M., Sutka, M., Maurel, C., Parisi, M., Tyerman, S. D., & Amodeo, G. (2006). Plasma membrane of *Beta vulgaris* storage root shows high water channel activity regulated by cytoplasmic pH and a dual range of calcium concentrations. *Journal of Experimental Botany*, 57(3), 609-621.
- Almeida, G. D., Nair, S., Borém, A., Cairns, J., Trachsel, S., Ribaut, J. M., ... & Babu, R. (2014). Molecular mapping across three populations reveals a QTL hotspot region on chromosome 3 for secondary traits associated with drought tolerance in tropical maize. *Molecular Breeding*, 34(2), 701-715.
- Alvarado-Barrientos, M. S., Holwerda, F., Asbjornsen, H., Dawson, T. E., & Bruijnzeel, L. A. (2014). Suppression of transpiration due to cloud immersion in a seasonally dry Mexican weeping pine plantation. *Agricultural and Forest Meteorology*, 186, 12-25.

- Aparecido, L. M. T., Moore, G. W., Miller, G. R., & Cahill, A. T. (2015). Photosynthetic responses to leaf surface wetness in tropical plant species of Costa Rica with varying leaf traits. *AGUFM*, 2015, B51D-0460.
- Aparecido, L. M., Miller, G. R., Cahill, A. T., & Moore, G. W. (2017). Leaf surface traits and water storage retention affect photosynthetic responses to leaf surface wetness among wet tropical forest and semiarid savanna plants. *Tree Physiology*, 37(10), 1285-1300.
- Aranda, P. S., LaJoie, D. M., & Jorcyk, C. L. (2012). Bleach gel: a simple agarose gel for analyzing RNA quality. *Electrophoresis*, 33(2), 366-369.
- Arias, N. S., Scholz, F. G., Goldstein, G., & Bucci, S. J. (2017). The cost of avoiding freezing in stems: trade-off between xylem resistance to cavitation and supercooling capacity in woody plants. *Tree Physiology*, 37(9), 1251-1262.
- Aryal, B., & Neuner, G. (2010). Leaf wettability decreases along an extreme altitudinal gradient. *Oecologia*, 162(1), 1.
- Aston, A. R. (1979). Rainfall interception by eight small trees. *Journal of Hydrology*, 42(3-4), 383-396.
- Barros, V., Camilloni, I. (2016). *La Argentina y el cambio climático: de la física a la política*. Buenos Aires: Eudeba.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., & Walker, S. (2014). Fitting linear mixed-effects models using lme4. arXiv preprint arXiv:1406.5823.
- Beltrán, A. (1997) *Caracterización microclimática del distrito occidental de la estepa Patagónica*. Masters Thesis. Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.
- Ben-Asher, J., Alpert, P., & Ben-Zvi, A. (2010). Dew is a major factor affecting vegetation water use efficiency rather than a source of water in the eastern Mediterranean area. *Water Resources Research*, 46(10).

- Berg, M. P., & Ellers, J. (2010). Trait plasticity in species interactions: a driving force of community dynamics. *Evolutionary Ecology*, 24(3), 617-629.
- Berry, Z. C., & Smith, W. K. (2013). Ecophysiological importance of cloud immersion in a relic spruce–fir forest at elevational limits, southern Appalachian Mountains, USA. *Oecologia*, 173(3), 637-648.
- Berry, Z. C., Emery, N. C., Gotsch, S. G., & Goldsmith, G. R. (2019). Foliar water uptake: processes, pathways, and integration into plant water budgets. *Plant, Cell & Environment*, 42(2), 410-423.
- Beysens, D. (1995). The formation of dew. *Atmospheric Research*, 39(1-3), 215-237.
- Biela, A., Grote, K., Otto, B., Hoth, S., Hedrich, R., & Kaldenhoff, R. (1999). The *Nicotiana tabacum* plasma membrane aquaporin NtAQP1 is mercury-insensitive and permeable for glycerol. *The Plant Journal*, 18(5), 565-570.
- Binks, O., Mencuccini, M., Rowland, L., da Costa, A. C., de Carvalho, C. J. R., Bittencourt, P., ... & Ferreira, L. (2019). Foliar water uptake in Amazonian trees: Evidence and consequences. *Global Change Biology*, 25(8), 2678-2690.
- Blackman, C. J., Brodribb, T. J., & Jordan, G. J. (2009). Leaf hydraulics and drought stress: response, recovery and survivorship in four woody temperate plant species. *Plant, Cell & Environment*, 32(11), 1584-1595.
- Boaneres, D., Ferreira, B. G., Kozovits, A. R., Sousa, H. C., Isaias, R. M. S., & França, M. G. C. (2018). Pectin and cellulose cell wall composition enables different strategies to leaf water uptake in plants from tropical fog mountain. *Plant Physiology and Biochemistry*, 122, 57-64.
- Boaneres, D., Kozovits, A. R., Lemos-Filho, J. P., Isaias, R. M., Solar, R. R., Duarte, A. A., ... & França, M. G. (2019). Foliar water-uptake strategies are related to leaf water status and gas exchange in plants from a ferruginous rupestrian field. *American Journal of Botany*, 106(7), 935-942.

- Bogie, N. A., Bayala, R., Diedhiou, I., Conklin, M. H., Fogel, M. L., Dick, R. P., & Ghezzehei, T. A. (2018). Hydraulic redistribution by native sahelian shrubs: bioirrigation to resist in-season drought. *Frontiers in Environmental Science*, 6, 98.
- Boom, A., Damsté, J. S., & De Leeuw, J. W. (2005). Cutan, a common aliphatic biopolymer in cuticles of drought-adapted plants. *Organic Geochemistry*, 36(4), 595-601.
- Boucher, J. F., Munson, A. D., & Bernier, P. Y. (1995). Foliar absorption of dew influences shoot water potential and root growth in *Pinus strobus* seedlings. *Tree Physiology*, 15(12), 819-823.
- Boyce, R. L., McCUNE, D. C., & Berlyn, G. P. (1991). A comparison of foliar wettability of red spruce and balsam fir\* growing at high elevation. *New Phytologist*, 117(4), 543-555.
- Bradford, J. B., Schlaepfer, D. R., Lauenroth, W. K., & Burke, I. C. (2014). Shifts in plant functional types have time-dependent and regionally variable impacts on dryland ecosystem water balance. *Journal of Ecology*, 102(6), 1408-1418.
- Bradley, D. J., Gilbert, G. S., & Parker, I. M. (2003). Susceptibility of clover species to fungal infection: the interaction of leaf surface traits and environment. *American Journal of Botany*, 90(6), 857-864.
- Bradshaw, A. D. (1965). Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Advances in Genetics*, 13(1), 115-155.
- Bradshaw, A. D., & Hardwick, K. (1989). Evolution and stress—genotypic and phenotypic components. *Biological Journal of the Linnean Society*, 37(1-2), 137-155.
- Breshears, D. D., McDowell, N. G., Goddard, K. L., Dayem, K. E., Martens, S. N., Meyer, C. W., & Brown, K. M. (2008). Foliar absorption of intercepted rainfall improves woody plant water status most during drought. *Ecology*, 89(1), 41-47.

- Brewer, C. A., Smith, W. K., & Vogelmann, T. C. (1991). Functional interaction between leaf trichomes, leaf wettability and the optical properties of water droplets. *Plant, Cell & Environment*, 14(9), 955-962.
- Brewer, C. A., & Smith, W. K. (1995). Leaf surface wetness and gas exchange in the pond lily *Nuphar polysepalum* (Nymphaeaceae). *American Journal of Botany*, 82(10), 1271-1277.
- Brewer, C. A., & Smith, W. K. (1997). Patterns of leaf surface wetness for montane and subalpine plants. *Plant, Cell & Environment*, 20(1), 1-11.
- Brewer, C. A., & Nunez, C. I. (2007). Patterns of leaf wettability along an extreme moisture gradient in western Patagonia, Argentina. *International Journal of Plant Sciences*, 168(5), 555-562.
- Brodribb, T. J., Feild, T. S., & Sack, L. (2010). Viewing leaf structure and evolution from a hydraulic perspective. *Functional Plant Biology*, 37(6), 488-498.
- Brooks, M. E., Kristensen, K., van Benthem, K. J., Magnusson, A., Berg, C. W., Nielsen, A., ... & Bolker, B. M. (2017). glmmTMB balances speed and flexibility among packages for zero-inflated generalized linear mixed modeling. *The R Journal*, 9(2), 378-400.
- Bruijnzeel, L. A., & Veneklaas, E. J. (1998). Climatic conditions and tropical montane forest productivity: the fog has not lifted yet. *Ecology*, 79(1), 3-9.
- Bucci, S. J., Goldstein, G., Meinzer, F. C., Franco, A. C., Campanello, P., & Scholz, F. G. (2005). Mechanisms contributing to seasonal homeostasis of minimum leaf water potential and predawn disequilibrium between soil and plant water potential in Neotropical savanna trees. *Trees*, 19(3), 296-304.
- Bucci, S. J., Scholz, F. G., Goldstein, G., Meinzer, F. C., & Arce, M. E. (2009). Soil water availability and rooting depth as determinants of hydraulic architecture of Patagonian woody species. *Oecologia*, 160(4), 631-641.

- Bucci, S. J., Scholz, F. G., Iogna, P. A., & Goldstein, G. H. (2011). Economía del agua de especies arbustivas de las Estepas Patagónicas. *Ecología Austral* 21:43-60.
- Bucci, S. J., Scholz, F. G., Peschiutta, M. L., Arias, N. S., Meinzer, F. C., & Goldstein, G. (2013). The stem xylem of P atagonian shrubs operates far from the point of catastrophic dysfunction and is additionally protected from drought-induced embolism by leaves and roots. *Plant, Cell & Environment*, 36(12), 2163-2174.
- Burgess, S. S., Adams, M. A., Turner, N. C., & Ong, C. K. (1998). The redistribution of soil water by tree root systems. *Oecologia*, 115(3), 306-311.
- Burgess, S. S. O., & Dawson, T. E. (2004). The contribution of fog to the water relations of *Sequoia sempervirens* (D. Don): foliar uptake and prevention of dehydration. *Plant, Cell & Environment*, 27(8), 1023-1034.
- Burkhardt, J. (2010). Hygroscopic particles on leaves: nutrients or desiccants?. *Ecological Monographs*, 80(3), 369-399.
- Burkhardt, J., Basi, S., Pariyar, S., & Hunsche, M. (2012). Stomatal penetration by aqueous solutions—an update involving leaf surface particle. *New Phytologist*, 196(3), 774-787.
- Burnham, K. P., & Anderson, D. R. (2002). A practical information-theoretic approach. *Model selection and multimodel inference*, 2nd ed. Springer, New York, 2.
- Burnham, K. P., Anderson, D. R., & Huyvaert, K. P. (2011). AIC model selection and multimodel inference in behavioral ecology: some background, observations, and comparisons. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 65(1), 23-35.
- Cape, J. N. (1983). Contact angles of water droplets on needles of scots pine (*Pinus sylvestris*) growing in polluted atmospheres. *New Phytologist*, 93(2), 293-299.
- Cape, J. N. (1996). Surface wetness and pollutant deposition. *Plant cuticles: an integrated approach*. Oxford: BIOS Scientific Publishers, 283-300.

- Carbonell Silletta, L.M., (2020). Efectos del incremento experimental a campo de agua y nutrientes sobre procesos ecológicos y fisiológicos de la vegetación de la estepa patagónica. PhD Thesis. Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco.
- Cassana, F. F., Eller, C. B., Oliveira, R. S., & Dillenburg, L. R. (2016). Effects of soil water availability on foliar water uptake of *Araucaria angustifolia*. *Plant and Soil*, 399(1-2), 147-157.
- Castagnino, J. M. (2004). Premio Nobel de Química 2003: las acuaporinas. *Acta Bioquím. Clín. Latinoam*, 443-445.
- Cavallaro, A., Silletta, L. C., Pereyra, D. A., Goldstein, G., Scholz, F. G., & Bucci, S. J. (2020). Foliar water uptake in arid ecosystems: seasonal variability and ecophysiological consequences. *Oecologia*, 193(2), 337-348.
- Cavelier, J., & Goldstein, G. (1989). Mist and fog interception in elfin cloud forests in Colombia and Venezuela. *Journal of Tropical Ecology*, 309-322.
- Challen, S. B. (1960). The contribution of surface characters to the wettability of leaves. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 12(1), 307-311.
- Chang, M. (2006). *Forest hydrology: an introduction to water and forests*. CRC press.
- Chaumont, F., Barrieu, F., Wojcik, E., Chrispeels, M. J., & Jung, R. (2001). Aquaporins constitute a large and highly divergent protein family in maize. *Plant Physiology*, 125(3), 1206-1215.
- Chaumont, F., Moshelion, M., & Daniels, M. J. (2005). Regulation of plant aquaporin activity. *Biology of the Cell*, 97(10), 749-764.
- Chaves, M. M., Pereira, J. S., Maroco, J., Rodrigues, M. L., Ricardo, C. P. P., Osório, M. L., ... & Pinheiro, C. (2002). How plants cope with water stress in the field? Photosynthesis and growth. *Annals of Botany*, 89(7), 907-916.

- Chen, C. C., & Chen, Y. R. (2006). Study on laminar hydathodes of *Ficus formosana* (Moraceae) II. Morphogenesis of hydathodes. *Botanical Studies (Taipei, Taiwan)*, 47, 279-292.
- Chen, X., Zhou, Z., Teng, M., Wang, P., & Zhou, L. (2015). Accumulation of three different sizes of particulate matter on plant leaf surfaces: effect on leaf traits. *Archives of Biological Sciences*, 67(4), 1257-1267.
- Clifford, S. C., Arndt, S. K., Corlett, J. E., Joshi, S., Sankhla, N., Popp, M., & Jones, H. G. (1998). The role of solute accumulation, osmotic adjustment and changes in cell wall elasticity in drought tolerance in *Ziziphus mauritiana* (Lamk.). *Journal of Experimental Botany*, 49(323), 967-977.
- Cody, M. L. (1986). Structural niches in plant communities. *Community Ecology*, 381, 405.
- Coleman, J. S., McConnaughay, K. D., & Ackerly, D. D. (1994). Interpreting phenotypic variation in plants. *Trends in Ecology & Evolution*, 9(5), 187-191.
- Couso, L. L., & Fernández, R. J. (2012). Phenotypic plasticity as an index of drought tolerance in three Patagonian steppe grasses. *Annals of Botany*, 110(4), 849-857.
- Cunningham, S. A., Summerhayes, B., & Westoby, M. (1999). Evolutionary divergences in leaf structure and chemistry, comparing rainfall and soil nutrient gradients. *Ecological Monographs*, 69(4), 569-588.
- Cristiano, P. M., Campanello, P. I., Bucci, S. J., Rodriguez, S. A., Lezcano, O. A., Scholz, F. G., ... & Goldstein, G. (2015). Evapotranspiration of subtropical forests and tree plantations: A comparative analysis at different temporal and spatial scales. *Agricultural and Forest Meteorology*, 203, 96-106.
- Crisp, D. J. (1963). Waterproofing mechanisms in animals and plants. *Waterproofing and water repellency*, 416-481.

- Daniels, M. J., Mirkov, T. E., & Chrispeels, M. J. (1994). The plasma membrane of *Arabidopsis thaliana* contains a mercury-insensitive aquaporin that is a homolog of the tonoplast water channel protein TIP. *Plant Physiology*, 106(4), 1325-1333.
- Davis, S. D., & Mooney, H. A. (1986). Water use patterns of four co-occurring chaparral shrubs. *Oecologia*, 70(2), 172-177.
- Dawson, T. E. (1998). Fog in the California redwood forest: ecosystem inputs and use by plants. *Oecologia*, 117(4), 476-485.
- Dawson, T. E., & Goldsmith, G. R. (2018). The value of wet leaves. *New Phytologist*, 219(4), 1156-1169.
- Domingo, F., Sánchez, G., Moro, M. J., Brenner, A. J., & Puigdefábregas, J. (1998). Measurement and modelling of rainfall interception by three semi-arid canopies. *Agricultural and Forest Meteorology*, 91(3-4), 275-292.
- Donohue, K., Pyle, E. H., Messiqua, D., Heschel, M. S., & Schmitt, J. (2001). Adaptive divergence in plasticity in natural populations of *Impatiens capensis* and its consequences for performance in novel habitats. *Evolution*, 55(4), 692-702.
- Du, S., Dai, Q. L., Chen, C., Feng, B., Liu, T. T., Tian, X., ... & Wang, J. (2011). Molecular cloning and characterization of the plasma membrane aquaporin gene (OvPIP) from *Orychophragmus violaceus*. *African Journal of Biotechnology*, 10(19), 3709-3714.
- Dudley, S. A. (2004). The functional ecology of phenotypic plasticity in plants. *Phenotypic plasticity: functional and conceptual approaches*. Oxford University Press, Oxford, 151-172.
- Dunkerley, D. (2000). Hydrologic effects of dryland shrubs: defining the spatial extent of modified soil water uptake rates at an Australian desert site. *Journal of Arid Environments*, 45(2), 159-172.
- Ehleringer, J., & Mooney, H. A. (1983). Productivity of desert and Mediterranean-climate plants. In *Physiological plant ecology IV* (pp. 205-231). Springer, Berlin, Heidelberg.

- Elissalde, N., Escobar, J., & Nakamatsu, V. (2002). Inventario y evaluación de pastizales naturales de la zona árida y semiárida de la Patagonia. Ed. PAN-SDSyPA-INTAGTZ, Trelew, Argentina.
- Eller, C. B., Lima, A. L., & Oliveira, R. S. (2013). Foliar uptake of fog water and transport belowground alleviates drought effects in the cloud forest tree species, *Drimys brasiliensis* (Winteraceae). *New Phytologist*, 199(1), 151-162.
- Evans, G. C. (1972). *The quantitative analysis of plant growth* (Vol. 1). Univ of California Press.
- Evans, K. J., Nyquist, W. E., & Latin, R. X. (1992). A model based on temperature and leaf wetness duration for establishment of *Alternaria* leaf blight of muskmelon. *Phytopathology*, 82(8), 890-895.
- Farquhar, G. D., Ehleringer, J. R., & Hubick, K. T. (1989). Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual Review of Plant Biology*, 40(1), 503-537.
- Feijóo, M. S., Arce, M. E., & D'Ambrogio, A. (2005). Variación morfoanatómica en una población de *Senecio filaginoides* (Asteraceae). *Polibotánica*, (19), 1-17.
- Fernandez, R. J., Sala, O. E., & Golluscio, R. A. (1991). Woody and herbaceous aboveground production of a Patagonian steppe. *Rangeland Ecology & Management/Journal of Range Management Archives*, 44(5), 434-437.
- Fernández, S.E. 2007. Las especies del género *Schinus* L.(Anacardiaceae) en Patagonia. Un estudio anatómico aplicado al diseño de estrategias de monitoreo fitosanitario y ambiental. PhD thesis, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Comodoro Rivadavia, 193 pp. Inédita.
- Fernández, V., Sancho-Knapik, D., Guzmán, P., Peguero-Pina, J. J., Gil, L., Karabourniotis, G., ... & Gil-Pelegrín, E. (2014). Wettability, polarity, and water absorption of holm oak leaves: effect of leaf side and age. *Plant Physiology*, 166(1), 168-180.

- Fernández, V., Bahamonde, H. A., Javier Peguero-Pina, J., Gil-Pelegrín, E., Sancho-Knapik, D., Gil, L., ... & Eichert, T. (2017). Physico-chemical properties of plant cuticles and their functional and ecological significance. *Journal of Experimental Botany*, 68(19), 5293-5306.
- Fleischbein, K., Wilcke, W., Goller, R., Boy, J., Valarezo, C., Zech, W., & Knoblich, K. (2005). Rainfall interception in a lower montane forest in Ecuador: effects of canopy properties. *Hydrological Processes: An International Journal*, 19(7), 1355-1371.
- Flexas, J., Barón, M., Bota, J., Ducruet, J. M., Gallé, A., Galmés, J., ... & Tomàs, M. (2009). Photosynthesis limitations during water stress acclimation and recovery in the drought-adapted *Vitis* hybrid Richter-110 (*V. berlandieri* × *V. rupestris*). *Journal of Experimental Botany*, 60(8), 2361-2377.
- Fogg, G. E. (1947). Quantitative studies on the wetting of leaves by water. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B-Biological Sciences*, 134(877), 503-522.
- Fogg -Banuet, A., Verdú, M., Valladares, F., & García-Fayos, P. (2010). Functional and evolutionary correlations of steep leaf angles in the mexical shrubland. *Oecologia*, 163(1), 25-33.
- Forcone, A. E., Ayestarán, M. G., & Ayestarán, M. (1996). Anatomía foliar de cinco especies patagónicas de *Mulinum* (Apiaceae). *Darwiniana*, 121-132.
- Fowler, N. (1986). The role of competition in plant communities in arid and semiarid regions. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 17(1), 89-110.
- Fraser, L. H., Greenall, A., Carlyle, C., Turkington, R., & Friedman, C. R. (2009). Adaptive phenotypic plasticity of *Pseudoroegneria spicata*: response of stomatal density, leaf area and biomass to changes in water supply and increased temperature. *Annals of Botany*, 103(5), 769-775.
- Galdos, F. V., Álvarez, C., García, A., & Revilla, J. A. (2012). Estimated distributed rainfall interception using a simple conceptual model and Moderate Resolution Imaging Spectroradiometer (MODIS). *Journal of Hydrology*, 468, 213-228.

- Galmés, J., Pou, A., Alsina, M. M., Tomas, M., Medrano, H., & Flexas, J. (2007). Aquaporin expression in response to different water stress intensities and recovery in Richter-110 (*Vitis* sp.): relationship with ecophysiological status. *Planta*, 226(3), 671-681.
- Gambino, G., Perrone, I., & Gribaudo, I. (2008). A rapid and effective method for RNA extraction from different tissues of grapevine and other woody plants. *Phytochemical Analysis*, 19(6), 520-525.
- Garcia-Estringana, P., Alonso-Blázquez, N., & Alegre, J. (2010). Water storage capacity, stemflow and water funneling in Mediterranean shrubs. *Journal of Hydrology*, 389(3-4), 363-372.
- Gedroc, J. J., McConnaughay, K. D. M., & Coleman, J. S. (1996). Plasticity in root/shoot partitioning: optimal, ontogenetic, or both?. *Functional Ecology*, 44-50.
- Gerlein-Safdi, C., Gauthier, P. P., & Caylor, K. K. (2018). Dew-induced transpiration suppression impacts the water and isotope balances of *Colocasia* leaves. *Oecologia*, 187(4), 1041-1051.
- Ghalambor, C. K., McKay, J. K., Carroll, S. P., & Reznick, D. N. (2007). Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Functional Ecology*, 21(3), 394-407.
- Gianoli, E. (2003). Phenotypic responses of the twining vine *Ipomoea purpurea* (Convolvulaceae) to physical support availability in sun and shade. *Plant Ecology*, 165(1), 21-26.
- Goldsmith, G. R., Matzke, N. J., & Dawson, T. E. (2013). The incidence and implications of clouds for cloud forest plant water relations. *Ecology Letters*, 16(3), 307-314.
- Goldsmith, G. R., Lehmann, M. M., Cernusak, L. A., Arend, M., & Siegwolf, R. T. (2017). Inferring foliar water uptake using stable isotopes of water. *Oecologia*, 184(4), 763-766.

- Goldstein, G., Rada, F., Sternberg, L., Burguera, J. L., Burguera, M., Orozco, A., ... & Celis, A. N. D. A. (1989). Gas exchange and water balance of a mistletoe species and its mangrove hosts. *Oecologia*, 78(2), 176-183.
- Golluscio, R. A., León, R. J. C., & Perelman, S. B. (1982). Caracterización fitosociológica de la estepa del Oeste de Chubut; su relación con el gradiente ambiental. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 21(1-4), 199-324.
- Golluscio, R. A., Sala, O. E., & Lauenroth, W. K. (1998). Differential use of large summer rainfall events by shrubs and grasses: a manipulative experiment in the Patagonian steppe. *Oecologia*, 115(1-2), 17-25.
- Golluscio, R. A., Oesterheld, M., & Aguiar, M. R. (2005). Relationship between phenology and life form: a test with 25 Patagonian species. *Ecography*, 28(3), 273-282.
- Golluscio, R. A., & Oesterheld, M. (2007). Water use efficiency of twenty-five co-existing Patagonian species growing under different soil water availability. *Oecologia*, 154(1), 207.
- Golluscio, R. A., Escalada, V. S., & Pérez, J. (2009). Minimal plant responsiveness to summer water pulses: ecophysiological constraints of three species of semiarid Patagonia. *Rangeland Ecology & Management*, 62(2), 171-178.
- Gomes, D., Agasse, A., Thiébaud, P., Delrot, S., Gerós, H., & Chaumont, F. (2009). Aquaporins are multifunctional water and solute transporters highly divergent in living organisms. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1788(6), 1213-1228.
- Gong, X. W., Lü, G. H., He, X. M., Sarkar, B., & Yang, X. D. (2019). High air humidity causes atmospheric water absorption via assimilating branches in the deep-rooted tree *Haloxylon ammodendron* in an arid desert region of Northwest China. *Frontiers in Plant Science*, 10, 573.

- Gouvra, E., & Grammatikopoulos, G. (2003). Beneficial effects of direct foliar water uptake on shoot water potential of five chasmophytes. *Canadian Journal of Botany*, 81(12), 1278-1284.
- Grammatikopoulos, G., & Manetas, Y. (1994). Direct absorption of water by hairy leaves of *Phlomis fruticosa* and its contribution to drought avoidance. *Canadian Journal of Botany*, 72(12), 1805-1811.
- Grimm, A. M., Barros, V. R., & Doyle, M. E. (2000). Climate variability in southern South America associated with El Niño and La Niña events. *Journal of Climate*, 13(1), 35-58.
- Grossiord, C., Sevanto, S., Adams, H. D., Collins, A. D., Dickman, L. T., McBranch, N., ... & McDowell, N. G. (2017). Precipitation, not air temperature, drives functional responses of trees in semi-arid ecosystems. *Journal of Ecology*, 105(1), 163-175.
- Guo, X., Zha, T., Jia, X., Wu, B., Feng, W., Xie, J., ... & Peltola, H. (2016). Dynamics of dew in a cold desert-shrub ecosystem and its abiotic controls. *Atmosphere*, 7(3), 32.
- Gupta, A. B., & Sankararamakrishnan, R. (2009). Genome-wide analysis of major intrinsic proteins in the tree plant *Populus trichocarpa*: characterization of XIP subfamily of aquaporins from evolutionary perspective. *BMC Plant Biology*, 9(1), 134.
- Gutiérrez, J. R. (1993). The effect of water, nitrogen, and human-induced desertification on the structure of ephemeral plant communities in the Chilean coastal desert. *Revista Chilena de Historia Natural*, 66, 337-344.
- Guzmán-Delgado, P., Mason Earles, J., & Zwieniecki, M. A. (2018). Insight into the physiological role of water absorption via the leaf surface from a rehydration kinetics perspective. *Plant, Cell & Environment*, 41(8), 1886-1894.
- Hadley, N. F., & Szarek, S. R. (1981). Productivity of desert ecosystems. *BioScience*, 31(10), 747-753.
- Haines, B. L., Jernstedt, J. A., & Neufeld, H. S. (1985). Direct foliar effects of simulated acid rain: ii. leaf surface characteristics. *New Phytologist*, 99(3), 407-416.

- Hanba, Y. T., Moriya, A., & Kimura, K. (2004). Effect of leaf surface wetness and wettability on photosynthesis in bean and pea. *Plant, Cell & Environment*, 27(4), 413-421.
- Hayes, M. A., Chapman, S., Jesse, A., O'Brien, E., Langley, J. A., Bardou, R., ... & Cavanaugh, K. C. (2020). Foliar water uptake by coastal wetland plants: A novel water acquisition mechanism in arid and humid subtropical mangroves. *Journal of Ecology*.
- Herwitz, S. R. (1985). Interception storage capacities of tropical rainforest canopy trees. *Journal of Hydrology*, 77(1-4), 237-252.
- Hoad, S. P., Grace, J., & Jeffree, C. E. (1996). A leaf disc method for measuring cuticular conductance. *Journal of Experimental Botany*, 47(3), 431-437.
- Holanda, A. E. R., Souza, B. C., Carvalho, E. C. D., Oliveira, R. S., Martins, F. R., Muniz, C. R., ... & Soares, A. A. (2019). How do leaf wetting events affect gas exchange and leaf lifespan of plants from seasonally dry tropical vegetation?. *Plant Biology*, 21(6), 1097-1109.
- Holder, C. D. (2007). Leaf water repellency of species in Guatemala and Colorado (USA) and its significance to forest hydrology studies. *Journal of Hydrology*, 336(1-2), 147-154.
- Holder, C. D. (2012). The relationship between leaf hydrophobicity, water droplet retention, and leaf angle of common species in a semi-arid region of the western United States. *Agricultural and Forest Meteorology*, 152, 11-16.
- Holder, C. D. (2013). Effects of leaf hydrophobicity and water droplet retention on canopy storage capacity. *Ecohydrology*, 6(3), 483-490.
- Holeski, L. M. (2007). Within and between generation phenotypic plasticity in trichome density of *Mimulus guttatus*. *Journal of Evolutionary Biology*, 20(6), 2092-2100.
- Holeski, L. M., Chase-Alonge, R., & Kelly, J. K. (2010). The genetics of phenotypic plasticity in plant defense: trichome production in *Mimulus guttatus*. *The American Naturalist*, 175(4), 391-400.

- Holloway, P. J. (1969). The effects of superficial wax on leaf wettability. *Annals of Applied Biology*, 63(1), 145-153.
- Holloway, P. J. (1970). Surface factors affecting the wetting of leaves.[Pap. presented at Symp." Physico-chemical aspects of penetration through the plant cuticle".]. *Pesticide Science*, 1(4), 156-63.
- Hothorn, T., Bretz, F., & Westfall, P. (2008). Simultaneous inference in general parametric models. *Biometrical Journal: Journal of Mathematical Methods in Biosciences*, 50(3), 346-363.
- Huang, Y. J., Evans, N., Li, Z. Q., Eckert, M., Chèvre, A. M., Renard, M., & Fitt, B. D. (2006). Temperature and leaf wetness duration affect phenotypic expression of Rlm6-mediated resistance to *Leptosphaeria maculans* in *Brassica napus*. *New Phytologist*, 170(1), 129-141.
- Hutchings, N. J., Milne, R., & Crowther, J. M. (1988). Canopy storage capacity and its vertical distribution in a Sitka spruce canopy. *Journal of Hydrology*, 104(1-4), 161-171.
- Iogna, P. A., Bucci, S. J., Scholz, F. G., & Goldstein, G. (2011). Water relations and hydraulic architecture of two Patagonian steppe shrubs: effect of slope orientation and microclimate. *Journal of Arid Environments*, 75(9), 763-772.
- Iogna, P. A., Bucci, S. J., Scholz, F. G., & Goldstein, G. (2013). Homeostasis in leaf water potentials on leeward and windward sides of desert shrub crowns: water loss control vs. high hydraulic efficiency. *Oecologia*, 173(3), 675-687.
- Iogna, P.A. 2017. Efectos del viento sobre las relaciones hídricas, arquitectura hidráulica y propiedades mecánicas de arbustos patagónicos. PhD thesis Universidad de Buenos Aires, Argentina
- Ishibashi, M., & Terashima, I. (1995). Effects of continuous leaf wetness on photosynthesis: adverse aspects of rainfall. *Plant, Cell & Environment*, 18(4), 431-438.

- Javot, H., & Maurel, C. (2002). The role of aquaporins in root water uptake. *Annals of Botany*, 90(3), 301-313.
- Johnson, D. M., & Smith, W. K. (2006). Low clouds and cloud immersion enhance photosynthesis in understory species of a southern Appalachian spruce–fir forest (USA). *American Journal of Botany*, 93(11), 1625-1632.
- Juniper, B. E., & Jeffree, C. E. (1983). *Plant surfaces*. Edward Arnold.
- Kabela, E. D., Hornbuckle, B. K., Cosh, M. H., Anderson, M. C., & Gleason, M. L. (2009). Dew frequency, duration, amount, and distribution in corn and soybean during SMEX05. *Agricultural and Forest Meteorology*, 149(1), 11-24.
- Kang, H., Graybill, P. M., Fleetwood, S., Boreyko, J. B., & Jung, S. (2018). Seasonal changes in morphology govern wettability of Katsura leaves. *PloS One*, 13(9), e0202900.
- Kardel, F., Wuyts, K., Babanezhad, M., Wuytack, T., Adriaenssens, S., & Samson, R. (2012). Tree leaf wettability as passive bio-indicator of urban habitat quality. *Environmental and Experimental Botany*, 75, 277-285.
- Karimi, P., Bastiaanssen, W. G., & Molden, D. (2013). Water Accounting Plus (WA+)—a water accounting procedure for complex river basins based on satellite measurements. *Hydrology and Earth System Sciences*, 17(7), 2459-2472.
- Katz, C., Oren, R., Schulze, E. D., & Milburn, J. A. (1989). Uptake of water and solutes through twigs of *Picea abies* (L.) Karst. *Trees*, 3(1), 33-37.
- Keim, R. F., Skaugset, A. E., & Weiler, M. (2006). Storage of water on vegetation under simulated rainfall of varying intensity. *Advances in Water Resources*, 29(7), 974-986.
- Kerstiens, G. (1996). Cuticular water permeability and its physiological significance. *Journal of Experimental Botany*, 47(12), 1813-1832.
- Kerstiens, G. (2006). Water transport in plant cuticles: an update. *Journal of Experimental Botany*, 57(11), 2493-2499.

- Kidron, G. J., Herrnsstadt, I., & Barzilay, E. (2002). The role of dew as a moisture source for sand microbiotic crusts in the Negev Desert, Israel. *Journal of Arid Environments*, 52(4), 517-534.
- Klamerus-Iwan, A., & Witek, W. (2018). Variability in the wettability and water storage capacity of common oak leaves (*Quercus robur* L.). *Water*, 10(6), 695.
- Koide, R. T., Robichaux, R. H., Morse, S. R., & Smith, C. M. (1989). Plant water status, hydraulic resistance and capacitance. In *Plant Physiological Ecology* (pp. 161-183). Springer, Dordrecht.
- Konrad, W., Ebner, M., Traiser, C., & Roth-Nebelsick, A. (2012). Leaf surface wettability and implications for drop shedding and evaporation from forest canopies. *Pure and Applied Geophysics*, 169(5-6), 835-845.
- Konrad, W., Burkhardt, J., Ebner, M., & Roth-Nebelsick, A. (2015). Leaf pubescence as a possibility to increase water use efficiency by promoting condensation. *Ecohydrology*, 8(3), 480-492.
- Koch, K., Hartmann, K. D., Schreiber, L., Barthlott, W., & Neinhuis, C. (2006). Influences of air humidity during the cultivation of plants on wax chemical composition, morphology and leaf surface wettability. *Environmental and Experimental Botany*, 56(1), 1-9.
- Koch, K., Bhushan, B., Jung, Y. C., & Barthlott, W. (2009). Fabrication of artificial Lotus leaves and significance of hierarchical structure for superhydrophobicity and low adhesion. *Soft Matter*, 5(7), 1386-1393.
- Krebs, C. J. (1972). *The experimental analysis of distribution and abundance*. Ecology. New York: Harper and Row, 1-14.
- Kubiske, M. E., & Abrams, M. D. (1991). Seasonal, diurnal and rehydration-induced variation of pressure-volume relationships in *Pseudotsuga menziesii*. *Physiologia Plantarum*, 83(1), 107-116.

- Kumar, S., & Sen, D. N. (1985). Survival adaptations of three *Euphorbia* spp. in arid ecosystem. *Folia Geobotanica et Phytotaxonomica*, 20(1), 57.
- Kumar, N., Pandey, S., Bhattacharya, A., & Ahuja, P. S. (2004). Do leaf surface characteristics affect *Agrobacterium* infection in tea [*Camellia sinensis* (L.) O Kuntze]?. *Journal of Biosciences*, 29(3), 309-317.
- Kupcinskiene, E., & Huttunen, S. (2005). Long-term evaluation of the needle surface wax condition of *Pinus sylvestris* around different industries in Lithuania. *Environmental Pollution*, 137(3), 610-618.
- Larcher, W., De Moraes, J. A. P. V., & Bauer, H. (1981). Adaptive responses of leaf water potential, CO<sub>2</sub>-gas exchange and water use efficiency of *Olea europaea* during drying and rewatering. In *Components of productivity of Mediterranean-climate regions Basic and Applied Aspects* (pp. 77-84). Springer, Dordrecht.
- Lázaro-Nogal, A., Matesanz, S., Godoy, A., Pérez-Trautman, F., Gianoli, E., & Valladares, F. (2015). Environmental heterogeneity leads to higher plasticity in dry-edge populations of a semi-arid Chilean shrub: insights into climate change responses. *Journal of Ecology*, 103(2), 338-350.
- Laur, J., & Hacke, U. G. (2014). Exploring *Pinus glauca* aquaporins in the context of needle water uptake and xylem refilling. *New Phytologist*, 203(2), 388-400.
- Lauenroth, W. K., & Sala, O. E. (1992). Long-term forage production of North American shortgrass steppe. *Ecological Applications*, 2(4), 397-403.
- AN y del Sur, A. D. N. (2004). Potential effects of climate change on the temperate zones of North and South America. *Revista Chilena de Historia Natural*, 77, 439-453.
- Letts, M. G., & Mulligan, M. (2005). The impact of light quality and leaf wetness on photosynthesis in north-west Andean tropical montane cloud forest. *Journal of Tropical Ecology*, 21(5), 549-557.

- Li, S., Xiao, H. L., Zhao, L., Zhou, M. X., & Wang, F. (2014). Foliar water uptake of *Tamarix ramosissima* from an atmosphere of high humidity. *The Scientific World Journal*, 2014.
- Li, X., Xiao, Q., Niu, J., Dymond, S., van Doorn, N. S., Yu, X., ... & Li, J. (2016). Process-based rainfall interception by small trees in Northern China: The effect of rainfall traits and crown structure characteristics. *Agricultural and Forest Meteorology*, 218, 65-73.
- Lian, H. L., Yu, X., Ye, Q., Ding, X. S., Kitagawa, Y., Kwak, S. S., ... & Tang, Z. C. (2004). The role of aquaporin RWC3 in drought avoidance in rice. *Plant and Cell Physiology*, 45(4), 481-489.
- Limm, E. B., Simonin, K. A., Bothman, A. G., & Dawson, T. E. (2009). Foliar water uptake: a common water acquisition strategy for plants of the redwood forest. *Oecologia*, 161(3), 449-459.
- Limm, E. B., & Dawson, T. E. (2010). *Polystichum munitum* (Dryopteridaceae) varies geographically in its capacity to absorb fog water by foliar uptake within the redwood forest ecosystem. *American Journal of Botany*, 97(7), 1121-1128.
- Limousin, J. M., Misson, L., Lavoit, A. V., Martin, N. K., & Rambal, S. (2010). Do photosynthetic limitations of evergreen *Quercus ilex* leaves change with long-term increased drought severity?. *Plant, Cell & Environment*, 33(5), 863-875.
- Loik, M. E., Breshears, D. D., Lauenroth, W. K., & Belnap, J. (2004). Climatology and ecohydrology of precipitation pulses in arid and semiarid ecosystems of the western USA. *Oecologia*, 141, 269-281.
- Lovisol, C., & Schubert, A. (2006). Mercury hinders recovery of shoot hydraulic conductivity during grapevine rehydration: evidence from a whole-plant approach. *New Phytologist*, 172(3), 469-478.
- Luu, D. T., & Maurel, C. (2005). Aquaporins in a challenging environment: molecular gears for adjusting plant water status. *Plant, Cell & Environment*, 28(1), 85-96.

- Maestre, F. T., Quero, J. L., Valladares, F., & Reynolds, J. F. (2007). Individual vs. population plastic responses to elevated CO<sub>2</sub>, nutrient availability, and heterogeneity: a microcosm experiment with co-occurring species. *Plant and Soil*, 296(1-2), 53-64.
- Malek, E., McCurdy, G., & Giles, B. (1999). Dew contribution to the annual water balances in semi-arid desert valleys. *Journal of Arid Environments*, 42(2), 71-80.
- Mariotte, E. (1676). De la vegetation des plantes. In *Essais de Physique Paris*.
- Martin, C. E., & von Willert, A. D. (2000). Leaf epidermal hydathodes and the ecophysiological consequences of foliar water uptake in species of *Crassula* from the Namib Desert in southern Africa. *Plant Biology*, 2(2), 229-242.
- Mason Earles, J., Sperling, O., Silva, L. C., McElrone, A. J., Brodersen, C. R., North, M. P., & Zwieniecki, M. A. (2016). Bark water uptake promotes localized hydraulic recovery in coastal redwood crown. *Plant, Cell & Environment*, 39(2), 320-328.
- Massman, W. J., Pederson, J., Delany, A., Grantz, D., Den Hartog, G., Neumann, H. H., ... & Shaw, R. H. (1994). An evaluation of the regional acid deposition model surface module for ozone uptake at three sites in the San Joaquin Valley of California. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 99(D4), 8281-8294.
- Matteucci, S. D., & Colma, A. (1982). *Metodología para el estudio de la vegetación* (Vol. 22). Washington: Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos.
- Matos, I. S., & Rosado, B. H. (2016). Retain or repel? Droplet volume does matter when measuring leaf wetness traits. *Annals of Botany*, 117(6), 1045-1052.
- Maurel, C., & Chrispeels, M. J. (2001). Aquaporins. A molecular entry into plant water relations. *Plant Physiology*, 125(1), 135-138.
- Maurel, C. (2007). Plant aquaporins: novel functions and regulation properties. *FEBS Letters*, 581(12), 2227-2236.
- Maurel, C., Verdoucq, L., Luu, D. T., & Santoni, V. (2008). Plant aquaporins: membrane channels with multiple integrated functions. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 595-624.

- Mayr, S., Schmid, P., Laur, J., Rosner, S., Charra-Vaskou, K., Dämon, B., & Hacke, U. G. (2014). Uptake of water via branches helps timberline conifers refill embolized xylem in late winter. *Plant Physiology*, 164(4), 1731-1740.
- McHugh, T. A., Morrissey, E. M., Reed, S. C., Hungate, B. A., & Schwartz, E. (2015). Water from air: an overlooked source of moisture in arid and semiarid regions. *Scientific Reports*, 5, 13767.
- Mediavilla, S., & Escudero, A. (2004). Stomatal responses to drought of mature trees and seedlings of two co-occurring Mediterranean oaks. *Forest Ecology and Management*, 187(2-3), 281-294.
- Meinzer, F. C., Rundel, P. W., Sharifi, M. R., & Nilsen, E. T. (1986). Turgor and osmotic relations of the desert shrub *Larrea tridentata*. *Plant, Cell & Environment*, 9(6), 467-475.
- Meinzer, F. C. (2002). Co-ordination of vapour and liquid phase water transport properties in plants. *Plant, Cell & Environment*, 25(2), 265-274.
- Metlen, K. L., Aschehoug, E. T., & Callaway, R. M. (2009). Plant behavioural ecology: dynamic plasticity in secondary metabolites. *Plant, Cell & Environment*, 32(6), 641-653.
- Misson, L., Lunden, M., McKay, M., & Goldstein, A. H. (2005). Atmospheric aerosol light scattering and surface wetness influence the diurnal pattern of net ecosystem exchange in a semi-arid ponderosa pine plantation. *Agricultural and Forest Meteorology*, 129(1-2), 69-83.
- Monson, R. K., Grant, M. C., Jaeger, C. H., & Schoettle, A. W. (1992). Morphological causes for the retention of precipitation in the crowns of alpine plants. *Environmental and Experimental Botany*, 32(4), 319-327.
- Moreira, M. Z., Scholz, F. G., Bucci, S. J., Sternberg, L. S., Goldstein, G., Meinzer, F. C., & Franco, A. C. (2003). Hydraulic lift in a neotropical savanna. *Functional Ecology*, 573-581.

- Moro, M. J., Were, A., Villagarcía, L., Cantón, Y., & Domingo, F. (2007). Dew measurement by Eddy covariance and wetness sensor in a semiarid ecosystem of SE Spain. *Journal of Hydrology*, 335(3-4), 295-302.
- Moshelion, M., Becker, D., Biela, A., Uehlein, N., Hedrich, R., Otto, B., ... & Kaldenhoff, R. (2002). Plasma membrane aquaporins in the motor cells of *Samanea saman*: diurnal and circadian regulation. *The Plant Cell*, 14(3), 727-739.
- Munné-Bosch, S., & Alegre, L. (1999). Role of dew on the recovery of water-stressed *Melissa officinalis* L. plants. *Journal of Plant Physiology*, 154(5-6), 759-766.
- Munné-Bosch, S., Nogues, S., & Alegre, L. (1999). Diurnal variations of photosynthesis and dew absorption by leaves in two evergreen shrubs growing in Mediterranean field conditions. *New Phytologist*, 144(1), 109-119.
- Munns, R., & Passioura, J. B. (1984). Hydraulic resistance of plants. III. Effects of NaCl in barley and lupin. *Functional Plant Biology*, 11(5), 351-359.
- Nada, R. M., & Abogadallah, G. M. (2014). Aquaporins are major determinants of water use efficiency of rice plants in the field. *Plant Science*, 227, 165-180.
- Nadezhkina, N., David, T. S., David, J. S., Ferreira, M. I., Dohnal, M., Tesař, M., ... & Jimenez, M. S. (2010). Trees never rest: the multiple facets of hydraulic redistribution. *Ecohydrology*, 3(4), 431-444.
- Naithani, K. J., Ewers, B. E., & Pendall, E. (2012). Sap flux-scaled transpiration and stomatal conductance response to soil and atmospheric drought in a semi-arid sagebrush ecosystem. *Journal of Hydrology*, 464, 176-185.
- Nawazish, S., Hameed, M., & Naurin, S. (2006). Leaf anatomical adaptations of *Cenchrus ciliaris* L. from the Salt Range, Pakistan against drought stress. *Pak. J. Bot*, 38(5), 1723-1730.
- Neinhuis, C., & Barthlott, W. (1997). Characterization and distribution of water-repellent, self-cleaning plant surfaces. *Annals of Botany*, 79(6), 667-677.

- Neinhuis, C., & Barthlott, W. (1998). Seasonal changes of leaf surface contamination in beech, oak, and ginkgo in relation to leaf micromorphology and wettability. *New Phytologist*, 138(1), 91-98.
- Nepstad, D. C., Tohver, I. M., Ray, D., Moutinho, P., & Cardinot, G. (2007). Mortality of large trees and lianas following experimental drought in an Amazon forest. *Ecology*, 88(9), 2259-2269.
- Nguyen, H. T., Meir, P., Wolfe, J., Mencuccini, M., & Ball, M. C. (2017). Plumbing the depths: Extracellular water storage in specialized leaf structures and its functional expression in a three-domain pressure–volume relationship. *Plant, Cell & Environment*, 40(7), 1021-1038.
- Nicotra, A. B., Atkin, O. K., Bonser, S. P., Davidson, A. M., Finnegan, E. J., Mathesius, U., ... & van Kleunen, M. (2010). Plant phenotypic plasticity in a changing climate. *Trends in Plant Science*, 15(12), 684-692.
- Niinemets, Ü. (2001). Global-scale climatic controls of leaf dry mass per area, density, and thickness in trees and shrubs. *Ecology*, 82(2), 453-469.
- Niu, F., Duan, D., Chen, J., Xiong, P., Zhang, H., Wang, Z., & Xu, B. (2016). Eco-physiological responses of dominant species to watering in a natural grassland community on the semi-arid Loess Plateau of China. *Frontiers in Plant Science*, 7, 663.
- Nobel, P. S. (1999). *Physicochemical & Environmental Plant Physiology*. Academic press.
- Noy-Meir, I. (1973). Desert ecosystems: environment and producers. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 4(1), 25-51.
- Ohruai, T., Nobira, H., Sakata, Y., Taji, T., Yamamoto, C., Nishida, K., ... & Tanaka, S. (2007). Foliar trichome-and aquaporin-aided water uptake in a drought-resistant epiphyte *Tillandsia ionantha* Planchon. *Planta*, 227(1), 47-56.
- Oñatibia, G. R. (2009). Efectos y respuestas al pastoreo selectivo doméstico sobre plantas, poblaciones y ecosistemas pastoriles áridos (Doctoral dissertation, Universidad de Buenos Aires).

- Owens, M. K., Lyons, R. K., & Alejandro, C. L. (2006). Rainfall partitioning within semiarid juniper communities: effects of event size and canopy cover. *Hydrological Processes: An International Journal*, 20(15), 3179-3189.
- Pan, Y. X., Wang, X. P., & Zhang, Y. F. (2010). Dew formation characteristics in a revegetation-stabilized desert ecosystem in Shapotou area, Northern China. *Journal of Hydrology*, 387(3-4), 265-272.
- Pan, Y., & Wang, X. (2014). Effects of shrub species and microhabitats on dew formation in a revegetation-stabilized desert ecosystem in Shapotou, northern China. *Journal of Arid Land*, 6(4), 389-399.
- Pangle, R. E., Hill, J. P., Plaut, J. A., Yopez, E. A., Elliot, J. R., Gehres, N., ... & Pockman, W. T. (2012). Methodology and performance of a rainfall manipulation experiment in a piñon–juniper woodland. *Ecosphere*, 3(4), 1-20.
- Paruelo, J. M., Beltrán, A., Jobbágy, E., Sala, O. E., & Golluscio, R. A. (1998). The climate of Patagonia: general patterns and controls on biotic processes. *Ecología Austral*, 8(02), 085-101.
- Pereyra, D. A., Bucci, S. J., Arias, N. S., Ciano, N., Cristiano, P. M., Goldstein, G., & Scholz, F. G. (2017). Grazing increases evapotranspiration without the cost of lowering soil water storages in arid ecosystems. *Ecohydrology*, 10(6), e1850.
- Pereyra, D.A. (2020). Efectos del pastoreo sobre la dinámica de agua en el suelo y el intercambio de agua y CO<sub>2</sub> en la estepa patagónica. PhD Thesis. Universidad del Comahue, Argentina.
- Pfaffl, M. W., Horgan, G. W., & Dempfle, L. (2002). Relative expression software tool (REST©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic Acids Research*, 30(9), e36-e36.
- Philip, J. R. (1966). Plant water relations: some physical aspects. *Annual Review of Plant Physiology*, 17(1), 245-268.

- Pillitteri, L. J., Bogenschutz, N. L., & Torii, K. U. (2008). The bHLH protein, MUTE, controls differentiation of stomata and the hydathode pore in *Arabidopsis*. *Plant and Cell Physiology*, 49(6), 934-943.
- Pina, A. L., Zandavalli, R. B., Oliveira, R. S., Martins, F. R., & Soares, A. A. (2016). Dew absorption by the leaf trichomes of *Combretum leprosum* in the Brazilian semiarid region. *Functional Plant Biology*, 43(9), 851-861.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., & Team, R. C. (2007). Linear and nonlinear mixed effects models. R package version, 3(57), 1-89.
- Polis, G. A. (1991). Complex trophic interactions in deserts: an empirical critique of food-web theory. *The American Naturalist*, 138(1), 123-155.
- Poole, D. K., & Miller, P. C. (1975). Water relations of selected species of chaparral and coastal sage communities. *Ecology*, 56(5), 1118-1128.
- Pressland, A. J. (1973). Rainfall partitioning by an arid woodland (*Acacia aneura* F. Muell.) in south-western Queensland. *Australian Journal of Botany*, 21(2), 235-245.
- Prusty, B. A. K., Mishra, P. C., & Azeez, P. A. (2005). Dust accumulation and leaf pigment content in vegetation near the national highway at Sambalpur, Orissa, India. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60(2), 228-235.
- Pypker, T. G., Bond, B. J., Link, T. E., Marks, D., & Unsworth, M. H. (2005). The importance of canopy structure in controlling the interception loss of rainfall: examples from a young and an old-growth Douglas-fir forest. *Agricultural and Forest Meteorology*, 130(1-2), 113-129.
- R Development Core Team (2018) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for statistical computing. Vienna: Austria.
- Raupach, M. R., Finkelde, K., & Zhang, L. (1997). SCAM: A soil-canopy-atmosphere model: description and comparisons with field data.

- Reinhardt, K., & Smith, W. K. (2008). Impacts of cloud immersion on microclimate, photosynthesis and water relations of *Abies fraseri* (Pursh.) Poiret in a temperate mountain cloud forest. *Oecologia*, 158(2), 229-238.
- Resco, V., Ewers, B. E., Sun, W., Huxman, T. E., Weltzin, J. F., & Williams, D. G. (2009). Drought-induced hydraulic limitations constrain leaf gas exchange recovery after precipitation pulses in the C3 woody legume, *Prosopis velutina*. *New Phytologist*, 181(3), 672-682.
- Reyes, M. F., & Aguiar, M. R. (2017). Root proliferation strategies and exploration of soil patchiness in arid communities. *Austral Ecology*, 42(7), 810-818.
- Reynolds, K. M., Madden, L. V., Reichard, D. L., & Ellis, M. A. (1989). Splash dispersal of *Phytophthora cactorum* from infected strawberry fruit by simulated canopy drip. *Phytopathology*, 79(4), 425-432.
- Reynolds, J. F., Virginia, R. A., Kemp, P. R., De Soyza, A. G., & Tremmel, D. C. (1999). Impact of drought on desert shrubs: effects of seasonality and degree of resource island development. *Ecological Monographs*, 69(1), 69-106.
- Rice, K. J., Gordon, D. R., Hardison, J. L., & Welker, J. M. (1993). Phenotypic variation in seedlings of a “keystone” tree species (*Quercus douglasii*): the interactive effects of acorn source and competitive environment. *Oecologia*, 96(4), 537-547.
- Richter, S., Kipfer, T., Wohlgemuth, T., Guerrero, C. C., Ghazoul, J., & Moser, B. (2012). Phenotypic plasticity facilitates resistance to climate change in a highly variable environment. *Oecologia*, 169(1), 269-279.
- Riederer, M., & Schreiber, L. (2001). Protecting against water loss: analysis of the barrier properties of plant cuticles. *Journal of Experimental Botany*, 52(363), 2023-2032.
- Rosado, B. H., & Holder, C. D. (2013). The significance of leaf water repellency in ecohydrological research: a review. *Ecohydrology*, 6(1), 150-161.
- Roth-Nebelsick, A., Ebner, M., Miranda, T., Gottschalk, V., Voigt, D., Gorb, S., ... & Konrad, W. (2012). Leaf surface structures enable the endemic Namib desert grass

- Stipagrostis sabulicola* to irrigate itself with fog water. *Journal of the Royal Society interface*, 9(73), 1965-1974.
- Ruijter, J. M. (2009). Ramakers C, Hoogaars WM, Karlen Y, Bakker O, van den Hoff MJ, Moorman AF. Amplification efficiency: linking baseline and bias in the analysis of quantitative PCR data. *Nucleic Acids Res*, 37, e45.
- Rundel, P. W. (1982). Water uptake by organs other than roots. In *Physiological plant ecology II* (pp. 111-134). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Sadeghi, S. M. M., Attarod, P., Van Stan II, J. T., Pypker, T. G., & Dunkerley, D. (2015). Efficiency of the reformulated Gash's interception model in semiarid afforestations. *Agricultural and Forest Meteorology*, 201, 76-85.
- Sala, O. E., Golluscio, R. A., Lauenroth, W. K., & Soriano, A. (1989). Resource partitioning between shrubs and grasses in the Patagonian steppe. *Oecologia*, 81(4), 501-505.
- Sala, O. E., Lauenroth, W. K., & Parton, W. J. (1992). Long-term soil water dynamics in the shortgrass steppe. *Ecology*, 73(4), 1175-1181.
- Sanchez-Gomez, D., Valladares, F., & Zavala, M. A. (2006). Functional traits and plasticity in response to light in seedlings of four Iberian forest tree species. *Tree Physiology*, 26(11), 1425-1433.
- Sanhueza, C., Bascunan-Godoy, L., Turnbull, M. H., & Corcuera, L. J. (2015). Response of photosynthesis and respiration to temperature under water deficit in two evergreen *Nothofagus* species. *Plant Species Biology*, 30(3), 163-175.
- Saurral, R. I., Camilloni, I. A., & Barros, V. R. (2017). Low-frequency variability and trends in centennial precipitation stations in southern South America. *International Journal of Climatology*, 37(4), 1774-1793.
- Sakurai-Ishikawa, J. U. N. K. O., Murai-Hatano, M. A. R. I., Hayashi, H., Ahamed, A., Fukushi, K., Matsumoto, T., & Kitagawa, Y. (2011). Transpiration from shoots

- triggers diurnal changes in root aquaporin expression. *Plant, Cell & Environment*, 34(7), 1150-1163.
- Savenije, H. H. (2004). The importance of interception and why we should delete the term evapotranspiration from our vocabulary. *Hydrological Processes*, 18(8), 1507-1511.
- Schlichting, C. D. (1986). The evolution of phenotypic plasticity in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 17(1), 667-693.
- Scholz, F. G., Bucci, S. J., Goldstein, G., Meinzer, F. C., & Franco, A. C. (2002). Hydraulic redistribution of soil water by neotropical savanna trees. *Tree Physiology*, 22(9), 603-612.
- Scholz, F. G., Bucci, S. J., Goldstein, G., Meinzer, F. C., Franco, A. C., & Salazar, A. (2008). Plant and stand-level variation in biophysical and physiological traits along tree density gradients in the Cerrado. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 20(3), 217-232.
- Scholz, F. G., Bucci, S. J., Hoffmann, W. A., Meinzer, F. C., & Goldstein, G. (2010). Hydraulic lift in a Neotropical savanna: experimental manipulation and model simulations. *Agricultural and Forest Meteorology*, 150(4), 629-639.
- Scholz, F. G., Bucci, S. J., Arias, N., Meinzer, F. C., & Goldstein, G. (2012). Osmotic and elastic adjustments in cold desert shrubs differing in rooting depth: coping with drought and subzero temperatures. *Oecologia*, 170(4), 885-897.
- Scholz, F. G., Bucci, S. J., & Goldstein, G. (2014). Strong hydraulic segmentation and leaf senescence due to dehydration may trigger die-back in *Nothofagus dombeyi* under severe droughts: a comparison with the co-occurring *Austrocedrus chilensis*. *Trees*, 28(5), 1475-1487.
- Schreel, J. D. M., & Steppe, K. (2017, May). Analysis of sap flow dynamics in saplings with mini-HFD (heat field deformation) sensors. In X International Workshop on Sap Flow 1222 (pp. 161-166).

- Schreel, J. D., & Steppe, K. (2019). Foliar water uptake changes the world of tree hydraulics. *npj Climate and Atmospheric Science*, 2(1), 1-2.
- Schulze, E. D., Mooney, H. A., Sala, O. E., Jobbagy, E., Buchmann, N., Bauer, G., ... & Ehleringer, J. R. (1996). Rooting depth, water availability, and vegetation cover along an aridity gradient in Patagonia. *Oecologia*, 108(3), 503-511.
- Schuster, A. C., Burghardt, M., & Riederer, M. (2017). The ecophysiology of leaf cuticular transpiration: are cuticular water permeabilities adapted to ecological conditions?. *Journal of Experimental Botany*, 68(19), 5271-5279.
- Schwinning, S., & Sala, O. E. (2004). Hierarchy of responses to resource pulses in arid and semi-arid ecosystems. *Oecologia*, 141(2), 211-220.
- Scoffoni, C., Albuquerque, C., Brodersen, C. R., Townes, S. V., John, G. P., Bartlett, M. K., ... & Sack, L. (2017). Outside-xylem vulnerability, not xylem embolism, controls leaf hydraulic decline during dehydration. *Plant Physiology*, 173(2), 1197-1210.
- Seager, R., Osborn, T. J., Kushnir, Y., Simpson, I. R., Nakamura, J., & Liu, H. (2019). Climate variability and change of Mediterranean-type climates. *Journal of Climate*, 32(10), 2887-2915.
- Secchi, F., & Zwieniecki, M. A. (2010). Patterns of PIP gene expression in *Populus trichocarpa* during recovery from xylem embolism suggest a major role for the PIP1 aquaporin subfamily as moderators of refilling process. *Plant, Cell & Environment*, 33(8), 1285-1297.
- Shirtcliffe, N. J., Pyatt, F. B., Newton, M. I., & McHale, G. (2006). A lichen protected by a super-hydrophobic and breathable structure. *Journal of Plant Physiology*, 163(11), 1193-1197.
- Simonin, K. A., Santiago, L. S., & Dawson, T. E. (2009). Fog interception by *Sequoia sempervirens* (D. Don) crowns decouples physiology from soil water deficit. *Plant, Cell & Environment*, 32(7), 882-892.

- Smith, W. K., & McClean, T. M. (1989). Adaptive relationship between leaf water repellency, stomatal distribution, and gas exchange. *American Journal of Botany*, 76(3), 465-469.
- Smith, S.D. & Nobel, P.S. (1986). Desets. En (N.R.Baker & S.P. Long, eds.): *Photosynthesis in Contrasting Environments*, pp.13-62, Elsevier
- Soriano, A., & Sala, O. (1984). Ecological strategies in a Patagonian arid steppe. *Vegetatio*, 56(1), 9-15.
- Squeo, F. A., Caviers, L. A., Arancio, G., Novoa, J. E., Matthei, O., Marticorena, C., ... & Muñoz, M. (1998). Biodiversidad vegetal de Antofagasta. *Revista Chilena de Historia Natural*, 71, 571-591.
- Steinger, T., Roy, B. A., & Stanton, M. L. (2003). Evolution in stressful environments II: adaptive value and costs of plasticity in response to low light in *Sinapis arvensis*. *Journal of Evolutionary Biology*, 16(2), 313-323.
- Steppe, K., Vandegehuchte, M. W., Van de Wal, B. A., Hoste, P., Guyot, A., Lovelock, C. E., & Lockington, D. A. (2018). Direct uptake of canopy rainwater causes turgor-driven growth spurts in the mangrove *Avicennia marina*. *Tree Physiology*, 38(7), 979-991.
- Stedle, E. (2001). The cohesion-tension mechanism and the acquisition of water by plant roots. *Annual Review of Plant Biology*, 52(1), 847-875.
- Stojnic, S., Orlovic, S., Trudic, B., Zivkovic, U., von Wuehlisch, G., & Miljkovic, D. (2015). Phenotypic plasticity of European beech (*Fagus sylvatica* L.) stomatal features under water deficit assessed in provenance trial. *Dendrobiology*, 73.
- Sultan, S. E. (1987). Evolutionary implications of phenotypic plasticity in plants. In *Evolutionary biology* (pp. 127-178). Springer, Boston, MA.
- Sultan, S. E., & Bazzaz, F. A. (1993). Phenotypic plasticity in *Polygonum persicaria*. I. Diversity and uniformity in genotypic norms of reaction to light. *Evolution*, 47(4), 1009-1031.

- Sultan, S. E., Wilczek, A. M., Bell, D. L., & Hand, G. (1998). Physiological response to complex environments in annual *Polygonum* species of contrasting ecological breadth. *Oecologia*, 115(4), 564-578.
- Sultan, S. E. (2000). Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Science*, 5(12), 537-542.
- Tanakamaru, S., Takehana, T., & Kimura, K. (1998). Effect of rainfall exposure on leaf wettability in near-isogenic barley lines with different leaf wax content. *Journal of Agricultural Meteorology*, 54(2), 155-160.
- Takase, T., Ishikawa, H., Murakami, H., Kikuchi, J., Sato-Nara, K., & Suzuki, H. (2011). The circadian clock modulates water dynamics and aquaporin expression in *Arabidopsis* roots. *Plant and Cell Physiology*, 52(2), 373-383.
- Touchette, B. W., Marcus, S. E., & Adams, E. C. (2014). Bulk elastic moduli and solute potentials in leaves of freshwater, coastal and marine hydrophytes. Are marine plants more rigid?. *AoB Plants*, 6.
- Turner, N. C., Schulze, E. D., & Gollan, T. (1984). The responses of stomata and leaf gas exchange to vapour pressure deficits and soil water content. *Oecologia*, 63(3), 338-342.
- Tyerman, S. D., Niemietz, C. M., & Bramley, H. (2002). Plant aquaporins: multifunctional water and solute channels with expanding roles. *Plant, Cell & Environment*, 25(2), 173-194.
- Tyree, M. T., & Richter, H. (1981). Alternative methods of analysing water potential isotherms: some cautions and clarifications: I. The impact of non-ideality and of some experimental errors. *Journal of Experimental Botany*, 32(3), 643-653.
- Vaadia, Y., & Waisel, Y. (1963). Water absorption by the aerial organs of plants. *Physiologia Plantarum*, 16(1), 44-51.

- Valladares, F., & Pearcy, R. W. (1998). The functional ecology of shoot architecture in sun and shade plants of *Heteromeles arbutifolia* M. Roem., a Californian chaparral shrub. *Oecologia*, 114(1), 1-10.
- Valladares, F., Wright, S. J., Lasso, E., Kitajima, K., & Pearcy, R. W. (2000). Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian rainforest. *Ecology*, 81(7), 1925-1936.
- Valladares, F., Chico, J., Aranda, I., Balaguer, L., Dizengremel, P., Manrique, E., & Dreyer, E. (2002). The greater seedling high-light tolerance of *Quercus robur* over *Fagus sylvatica* is linked to a greater physiological plasticity. *Trees*, 16(6), 395-403.
- Valladares, F., Sanchez-Gomez, D. & Zavala, M. A. (2006). Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology*, 94(6), 1103-1116.
- Valladares, F., Gianoli, E., & Gómez, J. M. (2007). Ecological limits to plant phenotypic plasticity. *New Phytologist*, 176(4), 749-763.
- Van Kleunen, M., & Fischer, M. (2005). Constraints on the evolution of adaptive phenotypic plasticity in plants. *New Phytologist*, 166(1), 49-60.
- Vera, C., Silvestri, G., Liebmann, B., & González, P. (2006). Climate change scenarios for seasonal precipitation in South America from IPCC-AR4 models. *Geophysical Research Letters*, 33(13).
- Vera-Estrella, R., Barkla, B. J., Gallardo-Amarillas, C., Bohnert, H. J., & Pantoja, O. (2000). Aquaporin regulation under salt and osmotic stress in the halophyte *mesembryanthemum crystallinum* L. In *Molecular Biology and Physiology of Water and Solute Transport* (pp. 339-346). Springer, Boston, MA.
- Vera-Estrella, R., Barkla, B. J., Bohnert, H. J., & Pantoja, O. (2004). Novel regulation of aquaporins during osmotic stress. *Plant Physiology*, 135(4), 2318-2329.
- Verstraete, M. M., & Schwartz, S. A. (1991). Desertification and global change. *Vegetatio*, 91(1-2), 3-13.

- Yan, X., Zhou, M., Dong, X., Zou, S., Xiao, H., & Ma, X. F. (2015). Molecular mechanisms of foliar water uptake in a desert tree. *AoB Plants*, 7.
- Walker, B. H., & Noy-Meir, I. (1982). Aspects of the stability and resilience of savanna ecosystems. In *Ecology of tropical savannas* (pp. 556-590). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Wang, X. P., Li, X. R., Zhang, J. G., Zhang, Z. S., & Berndtsson, R. (2005). Measurement of rainfall interception by xerophytic shrubs in re-vegetated sand dunes/Mesure de l'interception de la pluie par des arbustes xérophiles sur des dunes de sable replantées. *Hydrological Sciences Journal*, 50(5).
- Wang, H. X., Shi, H., & Li, Y. Y. (2010). Leaf surface wettability of major plant species for urban greening in Xi'an and related affecting factors. *Chinese Journal of Ecology*, 29(4), 630-636.
- Wang, H., Shi, H., Li, Y., Yu, Y., & Zhang, J. (2013). Seasonal variations in leaf capturing of particulate matter, surface wettability and micromorphology in urban tree species. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 7(4), 579-588.
- Wang, H., Shi, H., Li, Y., & Wang, Y. (2014). The effects of leaf roughness, surface free energy and work of adhesion on leaf water drop adhesion. *PloS one*, 9(9), e107062.
- Wang, H., Shi, H., & Wang, Y. (2015). The wetting of leaf surfaces and its ecological significances. *Wetting and Wettability*, 295-321.
- Wang, X., Xiao, H., Cheng, Y., & Ren, J. (2016). Leaf epidermal water-absorbing scales and their absorption of unsaturated atmospheric water in *Reaumuria soongorica*, a desert plant from the northwest arid region of China. *Journal of Arid Environments*, 128, 17-29.
- Watanabe, T., & Mizutani, K. (1996). Model study on micrometeorological aspects of rainfall interception over an evergreen broad-leaved forest. *Agricultural and Forest Meteorology*, 80(2-4), 195-214.
- Weast, R. C. *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 66th Eds., 1985-1986.

- Westhoff, M., Zimmermann, D., Zimmermann, G., Gessner, P., Wegner, L. H., Bentrup, F. W., & Zimmermann, U. (2009). Distribution and function of epistomatal mucilage plugs. *Protoplasma*, 235(1-4), 101-105.
- Whitehead, D., Jarvis, P. G., & Waring, R. H. (1984). Stomatal conductance, transpiration, and resistance to water uptake in a *Pinus sylvestris* spacing experiment. *Canadian Journal of Forest Research*, 14(5), 692-700.
- Wieland, N. K., & Bazzaz, F. A. (1975). Physiological ecology of three codominant successional annuals. *Ecology*, 56(3), 681-688.
- Wilson, T. B., Bland, W. L., & Norman, J. M. (1999). Measurement and simulation of dew accumulation and drying in a potato canopy. *Agricultural and Forest Meteorology*, 93(2), 111-119.
- Whittaker, R. H., & Niering, W. A. (1975). Vegetation of the Santa Catalina Mountains, Arizona. V. Biomass, production, and diversity along the elevation gradient. *Ecology*, 56(4), 771-790.
- Wohlfahrt, G., Bianchi, K., & Cernusca, A. (2006). Leaf and stem maximum water storage capacity of herbaceous plants in a mountain meadow. *Journal of Hydrology*, 319(1-4), 383-390.
- Wu, Y., Gong, W., Wang, Y., Yong, T., Yang, F., Liu, W., ... & Liu, C. (2018). Leaf area and photosynthesis of newly emerged trifoliolate leaves are regulated by mature leaves in soybean. *Journal of Plant Research*, 131(4), 671-680.
- Wyka, T., Robakowski, P., & Zytowski, R. (2007). Acclimation of leaves to contrasting irradiance in juvenile trees differing in shade tolerance. *Tree physiology*, 27(9), 1293-1306.
- Wyka, T. P., Oleksyn, J., Żytowski, R., Karolewski, P., Jagodziński, A. M., & Reich, P. B. (2012). Responses of leaf structure and photosynthetic properties to intra-canopy light gradients: a common garden test with four broadleaf deciduous angiosperm and seven evergreen conifer tree species. *Oecologia*, 170(1), 11-24.

- Xiao, Q., McPherson, E. G., Ustin, S. L., Grismer, M. E., & Simpson, J. R. (2000). Winter rainfall interception by two mature open-grown trees in Davis, California. *Hydrological Processes*, 14(4), 763-784.
- Xiao, Q., & McPherson, E. G. (2016). Surface water storage capacity of twenty tree species in Davis, California. *Journal of Environmental Quality*, 45(1), 188-198.
- Yahdjian, L., & Sala, O. E. (2010). Size of precipitation pulses controls nitrogen transformation and losses in an arid Patagonian ecosystem. *Ecosystems*, 13(4), 575-585.
- Yan, X., Zhou, M., Dong, X., Zou, S., Xiao, H., & Ma, X. F. (2015). Molecular mechanisms of foliar water uptake in a desert tree. *AoB Plants*, 7.
- Yang, H., Li, Y., Wu, M., Zhang, Z. H. E., Li, L., & Wan, S. (2011). Plant community responses to nitrogen addition and increased precipitation: the importance of water availability and species traits. *Global Change Biology*, 17(9), 2936-2944.
- Yates, D. J., & Hutley, L. B. (1995). Foliar uptake of water by wet leaves of *Sloanea woollsii*, an Australian subtropical rainforest tree. *Australian Journal of Botany*, 43(2), 157-167.
- Zeppel, M. J., Wilks, J. V., & Lewis, J. D. (2014). Impacts of extreme precipitation and seasonal changes in precipitation on plants.
- Zhang, Z., Li, X., Dong, X., Jia, X., He, M., & Tan, H. (2009). Rainfall interception by sand-stabilizing shrubs related to crown structure. *Sciences in Cold and Arid Regions*, 1(2), 107-119.
- Zhang, Y.F., Wang, X.P., Hu, R., Pan, Y.X., Paradeloc, M., (2015). Rainfall partitioning into throughfall, stemflow and interception loss by two xerophytic shrubs within arid re-vegetated desert ecosystem, northwestern China. *J. Hydrol.* 527, 1084–1095. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2015.05.060>.

- Zhang, Z. S., Zhao, Y., Li, X. R., Huang, L., & Tan, H. J. (2016). Gross rainfall amount and maximum rainfall intensity in 60-minute influence on interception loss of shrubs: a 10-year observation in the Tengger Desert. *Scientific Reports*, 6(1), 1-10.
- Zhang, Y., Li, X. Y., Li, W., Wu, X. C., Shi, F. Z., Fang, W. W., & Pei, T. T. (2017). Modeling rainfall interception loss by two xerophytic shrubs in the Loess Plateau. *Hydrological Processes*, 31(10), 1926-1937.
- Zheng, Y., & Feng, Y. (2006). Fog water absorption by the leaves of epiphytes and non-epiphytes in Xishuangbanna. *Ying Yong Sheng tai xue bao= The Journal of Applied Ecology*, 17(6), 977-981.
- Zheng, C., & Jia, L. (2016). Global rainfall interception loss derived from multi-source satellite earth observations. In 2016 IEEE International Geoscience and Remote Sensing Symposium (IGARSS) (pp. 3532-3534). IEEE.
- Zhuang, Y. L., & Zhao, W. Z. (2010). Experimental study of effects of artificial dew on *Bassia dasyphylla* and *Agriophyllum squarrosum*. *Journal of Desert Research*, 30(5), 1068-1074.