



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Análisis de las respuestas ecofisiológicas de los bosques de *Polylepis* dentro del páramo andino al sur del Ecuador frente a las condiciones climáticas

Aldemar Carabajo Hidalgo

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

Análisis de las respuestas ecofisiológicas de los bosques de *Polylepis* dentro del páramo andino al sur del Ecuador frente a las condiciones climáticas



ALDEMAR CARABAJO HIDALGO



UNIVERSITAT DE BARCELONA

Facultad de Biología
Programa de doctorado Ecología, Ciencias Ambientales y Fisiología Vegetal

Departamento de Biología Evolutiva, Ecología y Ciencias Ambientales

Análisis de las respuestas ecofisiológicas de los bosques de *Polylepis* dentro del páramo andino al sur del Ecuador frente a las condiciones climáticas

Memoria presentada por

Aldemar Carabajo Hidalgo

para optar al grado de doctor por la Universitat de Barcelona

Una firma manuscrita en tinta azul que parece decir "Aldemar Carabajo Hidalgo".

Doctorando

Aldemar Carabajo Hidalgo

Director y tutor

Santiago Sabaté Jorba

Codirectora

Heidi Asbjornsen

Esta tesis doctoral fue desarrollada dentro del proyecto “The ecohydrologic functions of *Polylepis* forests within the Andean páramo and their resilience and vulnerability to the climate change”, desarrollado por el Departamento de Recursos Hídricos y Ciencias Ambientales de la Universidad de Cuenca (iDRHICA) y el Laboratorio de Ecohidrología (Ecohydrology Laboratory) de la Universidad de New Hampshire (UNH). Dicho proyecto fue financiado por el Vicerrectorado de Investigación de la Universidad de Cuenca (VIUC) y la Universidad de New Hampshire.

El diseño de la cubierta y el crédito de las imágenes utilizadas en esta tesis corresponden a María Roo Calvo y Aldemar Carabajo Hidalgo.

The trees will tell their secrets to those that tune in.

-Steve Magee

AGRADECIMIENTOS

El maravilloso camino que condujo al desarrollo de esta tesis doctoral estuvo lleno de mucho trabajo y sacrificios, lleno de noches, madrugadas y días enteros con actividades científicas de campo, laboratorio y oficina; también lleno de viajes, lleno de momentos buenos e inolvidables, pero, sobre todo, lleno de muchas personas que fueron apareciendo poco a poco para contribuir de una u otra manera al desarrollo de este proyecto doctoral, así como de mi propia experiencia personal.

Agradezco profundamente a mi director de tesis, Santiago Sabaté Jorba, que con su experiencia ha sabido trasmitirme su conocimiento y dirigir este proyecto doctoral desde las etapas iniciales hasta las finales. Apoyó incondicionalmente cada una de estas etapas y se adaptó a las distintas situaciones a las que me llevó el desarrollo de esta tesis, incluyendo las relacionadas con actividades en medio de una pandemia mundial que nos sorprendió a todos.

También quiero agradecer profundamente a mi co-directora, Heidi Asbjornsen, que de igual manera ha sabido transmitir su conocimiento a todas mis actividades. Aparte de su apoyo personal, me ha involucrado directamente en actividades científicas de gran interés, permitiéndome compartir momentos de mucho aprendizaje en su laboratorio “Ecohydrology lab” de la University of New Hampshire (UNH), mostrándome un nuevo universo en las mediciones del flujo de la savia en árboles y sus relaciones en el continuo suelo-planta-atmósfera.

Además, quiero agradecer de la manera más cordial a los profesores Francesc Sabater, Beatriz Duguy y Emilia Gutiérrez, que formaron parte de la comisión de seguimiento de esta tesis brindando de la manera más atinada guías y consejos para afrontar los retrasos de actividades producidas por la pandemia, y por sus sugerencias a lo largo de todo el proyecto doctoral. Muchas gracias Emilia por el apoyo en tu laboratorio, donde pude aprender técnicas de muestreo y de análisis de cortes histológicos de madera.

Agradezco a David Moore, Daniel Nadal Sala, José Gutiérrez López y Emily Beard por todas las tutorías en técnicas de muestreo en campo y en el análisis de datos, claves para mi desarrollo profesional. Gracias por su paciencia y, sobre todo, por su amistad. Dani,

agradezco infinitamente tu apoyo en las etapas finales de este camino. Además, agradezco al profesor Carlos Gracia Alonso por iniciar mi interés en la ecología forestal, enseñándome técnicas y manejo de equipos que fueron claves en el desarrollo de mi tesis doctoral. Muchas gracias, Carlos, por el apoyo incondicional transmitiendo tu extendida experiencia en la investigación, y también por tu amistad.

Realizar un trabajo de campo de gran magnitud no sería posible sin el apoyo de un gran grupo de investigación. Gracias de todo corazón a las personas que conforman el grupo de investigación del Departamento de Recursos Hídricos y Ciencias Ambientales (iDRHICA) de la Universidad de Cuenca (Ecuador). Sobre todo, muchas gracias al profesor Patricio Crespo, director del proyecto “The ecohydrologic functions of *Polylepis* forests within the Andean páramo and their resilience and vulnerability to the climate change”, financiado por el Vicerrectorado de Investigación de la Universidad de Cuenca (VIUC) en conjunto con la UNH, y en el cual se enmarca mi tesis doctoral. Muchas gracias, Patricio, por tu apoyo en todas las etapas de este proceso doctoral, sobre todo en los momentos donde la pandemia paralizó muchas de las actividades de campo, animándome a continuar y buscando alternativas para poder trabajar directamente en campo y obtener la información necesaria.

De la misma manera agradezco profundamente a la comunidad de Chumblín Sombrederas (San Fernando, Azuay) por permitirnos el ingreso en su reserva territorial comunal y a la empresa “INV Metals S.A.” por su apoyo logístico durante las distintas etapas del desarrollo de actividades en el Observatorio Ecohidrológico Zhurucay de la Universidad de Cuenca (ZEO). Además, un agradecimiento al Ministerio del Ambiente del Ecuador (MAE), que por medio de los respectivos permisos de investigación, nos permitió desarrollar el proyecto en los parches de bosque de *Polylepis*.

Agradezco a las profesoras Henrietta Hampel y Ximena Palomeque por su apoyo logístico con el préstamo de equipos, así como a mis compañeros de trabajo Franklin Marin y Amanda Suqui, que estuvieron presentes en distintas etapas de este proyecto doctoral apoyando en actividades de campo y brindando su amistad y compañerismo. Asimismo, un agradecimiento a los estudiantes Alberto Macancela, Karina Puma y Byron Poma, quienes apoyaron el muestreo en campo en distintas etapas del proyecto.

El apoyo de los amigos es muy importante en este largo camino de laboratorio, campo y escritorio. Agradezco a Fausto Chasi por las largas charlas en la oficina y laboratorio durante la construcción de sensores. También quiero agradecer a mis amigos Omar y Boris Landázuri, Cristian Zhimnay, Freddy Campoverde, Lucía Lojano, Gilmer Cordero y Rafa Vilas, por las largas charlas en relación a este largo camino de superación académica y por su sincera amistad.

El apoyo familiar es el más importante a la hora de conseguir nuestros propósitos, y no tendría mucho sentido recorrer todo este camino si no contara con la motivación y apoyo de mi familia. Gracias de todo corazón a mis padres, Jorge y Elsa, por el apoyo que siempre me han dado en todo mi desarrollo académico. A mis hermanos, Raúl y Vladimir, que por medio de su madurez han sabido alentarme en este camino, y a toda mi familia en general: sobrinos, Madeline, Joaquín y Amelia, a los que quiero un montón, cuñadas, tíos y primos. Además, un profundo agradecimiento a la familia Roo Calvo, mi familia adoptiva en España, que me han tratado como un miembro más de su familia mostrándome su amor, paciencia y amistad de la manera más sincera en los momentos de más relax, así como en los momentos más duros de este proceso. Gracias a Maruja y Aurelio por su apoyo incondicional y a sus hijos, Carlos, Pablo e Isabel, que han llegado a ser parte de mi familia.

Y aunque aparezcas al final de mis agradecimientos, eres una de las personas más importantes en el desarrollo de esta tesis. Gracias, María, por todo tu apoyo en los momentos más difíciles, desempeñaste muchas veces el papel de: *coach*, revisora, tutora, guía, organizadora de viajes y aventuras, fan de conciertos, etc., pero sobre todo has sido una compañera de vida en todo este proceso. No me cabe toda la gratitud que te tengo, has sido la luz en los momentos de oscuridad, sabiendo guiarme en los caminos personales y profesionales. Hay que tener un don para enseñar, pero además de eso, dentro de ti tienes el arte de transmitir todo ese conocimiento que adquieres. Sé que llegarás lejos y espero seguir recorriendo el mundo juntos, conociendo esos nuevos sitios que siempre disfrutamos al máximo.

ABSTRACT

Polylepis forests grow in the highest elevation world-wide and play an important ecological role in the Andean mountain region. *Polylepis reticulata* is endemic from the Andean páramo ecosystem and grows between 3800 and 4500 masl, in the forest tree line. As other species that live at high altitude in the páramo, *P. reticulata* trees face extreme environmental conditions, namely low temperatures and frequent and persistent cloudiness and fog, creating extremes in solar irradiance. However, despite its ecological importance, little is known about its ecophysiology. The aim of this thesis is to study the ecophysiology of *P. reticulata*, specifically, to assess its transpiration dynamics, its photosynthetic potential, its water use efficiency in growth and its life traits. To fulfill this objectives, we measured sap flow dynamics with heat pulse techniques, we obtained photosynthetic response curves to light and CO₂ to characterize photosynthesis kinetics, we used sap flow and radial growth measurements to assess *P. reticulata* water use efficiency and intra-annual patterns in water use efficiency and growth and we studied species functional traits.

Our results show that *P. reticulata* exhibits physiological strategies enabling it to take advantage of short windows with more favorable conditions in the páramo environment. Higher transpiration rates occur when both vapor pressure deficit (VPD) > 0.15 kPa and soil water content (VWC) < 0.73 cm³ cm⁻³. However, these conditions only were found in 11% of our measurements, suggesting that these periods are brief and rare. Transpiration rates were higher in trees located at the edge of the forest, and in drier years, when the optimal conditions for transpiration are more frequent. To survive in the páramo extreme conditions, *P. reticulata* photosynthetic apparatus is highly efficient, saturating at relatively low photosynthetic active radiation (PAR) and showing high photosynthetic rates if compared with tree species from ecosystems with more favorable conditions. Lastly, we found that despite the low seasonality in the Ecuadorian region, *P. reticulata* water use efficiency and growth present intra-annual seasonality patterns, increasing in periods with higher temperature and PAR, and decreasing in periods with high wind speed. The study of plant traits shows that *P. reticulata* has high-altitude typical functional and structural traits, such as high leaf thickness or low specific leaf area. When we relate those life traits with water

use efficiency, a positive relationship exists between water use efficiency and chlorophyll content and C/N soil ratio. On the contrary, water use efficiency is negatively correlated with leaf nutrient content and water potential. We conclude that energy availability is a limiting factor for *P. reticulata*'s transpiration and growth, so it has developed ecophysiological adaptations to take advantage of the brief periods with higher energy availability to survive in extreme páramo environmental conditions. Results from this thesis fill a gap in *P. reticulata* ecophysiology knowledge and contribute to a better understanding of the species responses to the changing environmental conditions in which these trees develop.

RESUMEN

Los bosques de *Polylepis* cumplen un papel ecológico muy importante al ser los que se desarrollan a mayor altitud en el mundo. Dentro de este género, *Polylepis reticulata* es una de las especies arbóreas endémica de la cordillera de los Andes que se desarrolla entre 3800 y 4500 msnm, en la línea de bosque alto andino del ecosistema páramo. Al igual que las demás especies que viven en estos ecosistemas, está expuesta a condiciones ambientales extremas, tales como bajas temperaturas y periodos de alta nubosidad y niebla que crean una elevada variabilidad en la radiación solar incidente. Sin embargo, existen muy pocos estudios en estos bosques y se conoce muy poco sobre su ecofisiología. El objetivo de esta tesis es estudiar la ecofisiología de *P. reticulata*, evaluando la dinámica de su transpiración, sus tasas fotosintéticas potenciales y su eficiencia en el uso del agua en el crecimiento, así como sus rasgos funcionales. Para abordar estos objetivos, se midió la dinámica del flujo de savia utilizando técnicas de pulso de calor, se obtuvieron curvas de respuesta fotosintética a la luz y al CO₂ para caracterizar la cinética de su fotosíntesis, se utilizaron medidas de flujo de savia y de crecimiento radial para determinar su eficiencia en el uso del agua y sus patrones intra- anuales de crecimiento y se describieron sus rasgos funcionales.

Los resultados muestran que *P. reticulata* está adaptada para aprovechar los cortos momentos de condiciones más favorables en el páramo para transpirar, y que las condiciones óptimas ocurren cuando el déficit de presión de vapor (VPD) es mayor a 0,15 kPa y el contenido de agua en el suelo (VWC) es menor a 0,73 cm³ cm⁻³. Sin embargo, estas dos condiciones se cumplen solo en el 11% de nuestras mediciones, lo que sugiere que estas ventanas de oportunidad son breves y escasas. Las tasas de transpiración son mayores en árboles situados en el borde del bosque y en años menos lluviosos, en los que se producen las condiciones óptimas para la transpiración con mayor frecuencia. Para adaptarse a las condiciones del páramo, *P. reticulata* posee un aparato fotosintético altamente eficiente que responde rápido a las condiciones cambiantes, saturándose en valores relativamente bajos de radiación fotosintéticamente activa (PAR) y mostrando tasas fotosintéticas altas comparadas con las de otras especies que viven en condiciones ambientales más favorables. Por último, se ha encontrado que a pesar de la baja estacionalidad existente en la zona ecuatorial, tanto el crecimiento como la eficiencia en el uso de agua de *P. reticulata* presentan patrones de estacionalidad intra-anual marcados, incrementando en periodos con mayores temperaturas

y PAR, y reduciéndose en periodos con mayor velocidad del viento. El estudio de los rasgos funcionales y estructurales de *P. reticulata* muestran características típicas de las especies que viven en altitud, como hojas gruesas o áreas foliares específicas bajas. Al relacionarlos con la eficiencia en el uso del agua se observa una relación positiva con el ratio C/N del suelo y el contenido de clorofila, y una relación negativa con el potencial hídrico al mediodía y el contenido de nutrientes en las hojas. Se concluye que la disponibilidad de energía es limitante para la transpiración y el crecimiento de la especie, por lo que ha desarrollado adaptaciones ecofisiológicas que le permiten aprovechar los escasos momentos en los que tiene acceso a la energía, manteniendo un balance de carbono positivo para sobrevivir en las condiciones extremas del páramo. Los resultados de esta tesis aportan conocimiento novedoso sobre la ecofisiología de *P. reticulata* y contribuyen a un mejor conocimiento de sus respuestas a las condiciones climáticas cambiantes en las que se desarrolla.

ÍNDICE DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	19
1. Bosques de alta montaña: los bosques de <i>Polylepis</i> en el páramo andino	21
2. Ecofisiología en los bosques de <i>Polylepis</i>	26
3. Efectos del cambio climático en los bosques de <i>P. reticulata</i>	31
4. Descripción de la zona de estudio	34
OBJETIVOS	39
CAPÍTULO 1	43
Brief windows with more favorable atmospheric conditions explain patterns of <i>Polylepis reticulata</i> tree water use in a high altitude Andean forest	45
CAPÍTULO 2	79
Characterizing the photosynthetic potential at the top of the Andean treeline. The case of <i>Polyelpis reticulata</i>	81
CAPÍTULO 3	105
Low energy availability limits growth and water use efficiency in <i>Polylepis reticulata</i> at extreme altitude in the Andes.	107
DISCUSIÓN GENERAL	137
1. Periodos breves pero fundamentales en la ecofisiología de <i>P. reticulata</i>	139
2. El aparato fotosintético también está adaptado a las condiciones limitantes	143
3. <i>P. reticulata</i> sigue una estacionalidad aunque esté en la zona ecuatorial	145
4. Adaptaciones morfológicas de <i>P. reticulata</i> a las condiciones ambientales	147
5. Respuesta potencial de los bosques de <i>P. reticulata</i> al cambio climático.....	149
CONCLUSIONES	151
BIBLIOGRAFÍA	155

INTRODUCCIÓN



INTRODUCCIÓN

1. Bosques de alta montaña: los bosques de *Polylepis* en el páramo andino

Los bosques de montaña representan el 23% de la cobertura forestal de la Tierra y desempeñan servicios ecosistémicos importantes tanto para las comunidades de montaña como para las de tierras más bajas. Estos servicios ecosistémicos incluyen el aprovisionamiento de materiales como madera, leña o plantas medicinales, servicios reguladores como su papel en el ciclo del carbono y del agua, y también servicios culturales, como fuente de turismo y recreación (FAO 2011). Los bosques de montaña presentan características ambientales únicas, ya que la temperatura y la precipitación cambian rápidamente en altitud en distancias cortas, causando cambios en la vegetación y en la hidrología y generando diferentes ecosistemas a lo largo de las laderas (Beniston 2003, Diaz et al. 2014). En general, la respuesta de los bosques a los factores ambientales se puede clasificar en dos grandes grupos: masas forestales limitadas por la disponibilidad de agua y masas forestales limitadas por la disponibilidad de energía (Yepes and Buckeridge 2011). En los bosques limitados por la disponibilidad hídrica la evapotranspiración potencial es superior a la cantidad de agua disponible (Running and Gower 1991); por el contrario, en los bosques limitados por energía -que suelen encontrarse en alta montaña o altas latitudes-, la evapotranspiración potencial es inferior a la disponibilidad hídrica (Hubbell et al. 1999). La alta variabilidad en las condiciones climáticas propia de las montañas propicia que alberguen una gran biodiversidad, a menudo con ecotonos que marcan la transición entre ecosistemas o comunidades ecológicas diferentes. Entre la biodiversidad presente se incluyen endemismos que surgen cuando las especies permanecen aisladas en altitud, a diferencia de las poblaciones de tierras bajas que pueden ocupar nichos más amplios (Beniston 2003).

Un ejemplo de endemismo de alta montaña es el género *Polylepis* Ruiz & Pav. (Rosaceae, Sanguisorbeae), un género de árboles y arbustos perennes muy extendido a largo de la cordillera de los Andes en América del Sur, desde Venezuela hasta el centro de Argentina (Kessler 1995). El género *Polylepis* presenta una taxonomía muy compleja, por lo que el número de especies incluidas en este género varía entre autores. En un inicio, Bitter (1911) reconoció 33 especies, 10 subespecies y 22 variedades en el género *Polylepis*, que más

adelante, en una revisión de Simpson (1979) se simplificaron en 15 especies (Kessler 1995). Aunque algunos autores todavía utilizan la clasificación propuesta por Simpson, los estudios más recientes reconocen 28 especies dentro del género, que pueden llegar a ser 33 según el tratamiento taxonómico, ya que existe una gran dificultad para comprender los procesos de especiación y delimitar claramente el número de especies dentro del género *Polylepis* (Segovia-Salcedo et al. 2018). Las mayores dificultades que surgen en el estudio de su taxonomía se deben a la frecuente variabilidad morfológica entre poblaciones de la misma especie, así como a la pequeña variación entre diferentes especies, a la hibridación y a la poliploidía (Boza Espinoza et al. 2019). Independientemente del número de especies reconocidas, los países andinos con la mayor cantidad son Perú, Bolivia y Ecuador (Kessler and Schmidt-Lebuhn 2006). Todas estas especies se desarrollan a grandes altitudes en los Andes, desde los 2500 m sobre el nivel del mar hasta los 5200 m s.n.m. en el Nevado Sajama (Bolivia), en el caso de *Polylepis tarapacana*, la especie arbórea que crece a mayor altitud en el mundo (Hoch and Körner 2005). En cuanto a su morfología y fisiología, los árboles de *Polylepis* comparten algunos aspectos, como sus características cortezas formadas por múltiples láminas que le dan nombre al género (del griego “*Poly*”, muchas; “*letis*”, láminas) o sus lentas tasas de crecimiento (Alvites et al. 2019). Pero pese a sus similitudes, presentan diferencias morfológicas que siguen un gradiente altitudinal: los individuos que crecen en los límites inferiores de los bosques de montaña son más altos, con hojas delgadas e inflorescencias múltiples, mientras que los que crecen en las zonas más elevadas presentan una menor altura, hojas más gruesas e inflorescencias pequeñas (Segovia-Salcedo et al. 2018).

La amplia distribución del género a lo largo de los Andes propicia que las diferentes especies se desarrollen en ambientes muy diversos. Algunas de ellas se desarrollan en ecosistemas semiáridos de puna limitados por el agua, como es el caso de la especie que se desarrolla a mayor altitud en el mundo, *P. tarapacana*. Esta especie se encuentra en ambientes semiáridos tropicales de los Andes, como la ladera del volcán Sajama, en Bolivia, donde la temperatura media anual es de 3,4 °C y la precipitación media anual de 347 mm, con marcados cambios estacionales. La radiación fotosintéticamente activa (PAR) tiene un promedio de aproximadamente 1400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en la época seca y 720 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en la época lluviosa (García-Núñez et al. 2004), lo que sugiere que en el ecosistema hay limitación hídrica, pero

no de energía (radiación solar). En cambio, otras especies habitan en ecosistemas de páramo andino, donde el agua es raramente limitante y es la energía la que limita el crecimiento, como es el caso de *P. quadrijuga*, la única especie del género *Polylepis* endémica de Colombia. Esta especie se desarrolla en zonas de páramo de los Andes donde la precipitación media anual alcanza los 1950 mm pero la PAR en el interior de algunos bosques no supera los $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Ramos et al. 2013), lo que sugiere que no hay limitación por agua, pero sí por energía. Teniendo en cuenta esto, en las regiones secas el crecimiento de los bosques de *Polylepis* se ve limitado por la disponibilidad de agua, mientras que en las regiones húmedas y nubosas la radiación solar (energía) es el factor abiótico más limitante (Kessler et al. 2007).

El páramo es el nombre que recibe comúnmente la extensión más amplia de bosques tropicales alpinos situados en el norte de la cordillera de los Andes, que cubre un área de aproximadamente 36000 km^2 formando un cinturón discontinuo desde Venezuela hasta el norte de Perú (Buytaert et al. 2011). Al sur de la cordillera andina el páramo está bordeado por la *jalca*, un ecosistema de transición entre el páramo y la puna más árida que domina el sur de Perú y Bolivia. Al norte, fuera de la cordillera, se distinguen dos complejos de páramo independientes situados en Colombia y Costa Rica (Buytaert et al. 2011). El ecosistema de páramo de los Andes está formado por valles y planicies accidentadas principalmente de origen glacial y volcánico caracterizado por áreas abiertas con gran cantidad de lagunas y turberas (Buytaert et al. 2006) que aportan servicios hidrológicos imprescindibles, constituyendo un reservorio de agua para el desarrollo social y económico de las poblaciones de las zonas más bajas (Mosquera et al. 2015, Correa et al. 2017). Los páramos son ecosistemas aislados y fragmentados, lo que deriva en una alta especiación y endemismo: cuentan con unas 5000 especies diferentes, de las cuales aproximadamente el 60% es endémico (Buytaert et al. 2006). Por este motivo, los páramos están considerados como *hotspots* de biodiversidad (Myers et al. 2000). La vegetación está dominada por el pajonal, plantas herbáceas, arbustos, almohadillas y rosetas caulescentes. En este paisaje abierto, aparecen algunos árboles aislados y, ocasionalmente, parches de bosque dominados por el género *Polylepis*, situados en zonas topográficamente favorables para su desarrollo, como zonas resguardadas del viento (Toivonen et al. 2017, Mosquera et al. 2023). En cuanto a las condiciones climáticas, el páramo se caracteriza por sus bajas temperaturas medias y su gran

amplitud térmica diaria con oscilaciones entre el día y la noche que pueden llegar a los 20°C, que Hedberg (1964) describió como: “*summer every day and winter every night*”. La radiación solar y la temperatura media son más o menos constantes durante el año debido a la proximidad a la línea ecuatorial. En cambio, la precipitación en el páramo de la región andina es altamente variable, con rangos entre 700 y 3000 mm anuales. Esta variación se debe a pequeña escala a diferencias en la velocidad del viento y a la topografía, pero también a gran escala está determinada por la circulación atmosférica, que es diferente a lo largo de la cordillera. En general, la ladera Este, que está influenciada por el Atlántico y la cuenca del Amazonas, es permanentemente húmeda, mientras que en la zona Noreste de la cordillera existe una marcada estación seca. Por otro lado, la ladera Oeste está influenciada por el Pacífico y se caracteriza por humedad continua en forma de lluvia y niebla, mientras que los páramos situados al sur de los Andes son menos lluviosos por la influencia de la corriente de Humboldt, con aire frío y seco (Buytaert et al. 2006). En cuanto a los suelos de los páramos en la región andina se distinguen Andisoles, Regosoles, Umbrisoles e Histosoles (FAO/ISRIC/ISSS 1998), con profundidad variable entre unos pocos cm a varios metros. La mayoría de los suelos tienen un origen volcánico y son, en general, ricos en materia orgánica, ya que el clima frío y húmedo ralentiza la descomposición de la materia por la microbiota edáfica (Buytaert et al. 2006).

En términos relativos, el país que más páramo tiene con relación a su extensión total es Ecuador, donde el ecosistema páramo ocupa aproximadamente un 6% del territorio nacional (Vásconez and Hofstede 2006). En los páramos ecuatorianos se puede encontrar la especie *Polylepis reticulata*, comúnmente conocida como quinua o árbol del papel, que es una especie arbórea nativa de Ecuador que se encuentra catalogada como “Vulnerable” en la Lista Roja de las Especies Amenazadas de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza, UICN (Romoleroux and Pitman 2004). Los árboles de *P. reticulata* tienen una altura de entre 4 y 15 metros y se caracterizan por presentar ramas y troncos retorcidos con numerosas capas de láminas finas que constituyen su corteza. *P. reticulata* presenta hojas compuestas formadas por 3 a 5 folíolos elípticos (Suqui et al. 2021), con cutícula gruesa y una densa pubescencia en su cara abaxial. En cuanto a sus flores, estas se agrupan en inflorescencias y presentan sépalos de color verde y anteras con filamentos de polen largos, pero carecen de pétalos. Los árboles de *P. reticulata*, al igual que los demás de su género,

crecen agrupados formando manchas o parches de bosque en zonas donde las condiciones topográficas y microclimáticas son más favorables para la especie, como zonas resguardadas del viento pero con alta radiación solar (Toivonen et al. 2017). A pesar de su limitada superficie, estos parches de bosque constituyen zonas de importancia ecológica como islas de biodiversidad en los páramos andinos (Azócar et al. 2007), ya que se han reportado más de 780 especies de plantas, aves, mamíferos, mariposas y reptiles asociados a los bosques de *Polylepis* (Gareca, Hermy, et al. 2010).



Figura 1. Detalle de la especie *Polylepis reticulata*. (A) Tronco y ramas retorcidas. (B) Corteza formada por numerosas láminas finas. (C) Hojas y flores.

Los bosques de *Polylepis*, y el ecosistema páramo en general, han sido explotados desde la llegada del ser humano a Sudamérica (Mosquera et al. 2023) y hoy en día siguen amenazados principalmente por actividades como el sobrepastoreo, la agricultura, la plantación de

especies forestales exóticas y la extracción de recursos naturales (Vásconez and Hofstede 2006, Renison et al. 2018, Pinos 2020, Mosquera et al. 2023). Para mantener estos ecosistemas únicos es importante llevar a cabo estudios que determinen la mejor manera de gestionarlos de forma sostenible, que ayuden a comprender el papel de la vegetación en el ciclo hídrico y que aporten información sobre los impactos del cambio climático, ya que las especies que se desarrollan en los ecotonos –como es el caso de *P. reticulata*–, son particularmente sensibles a los cambios de clima (Rehm and Feeley 2015) y pueden considerarse bioindicadores de cambio climático (Kimball and Weihrauch 2000, Haeberli et al. 2007). Sin embargo, a pesar de su importancia ecológica, los estudios en los bosques de *Polylepis* siguen siendo escasos, en parte debido a su inaccesibilidad y a las condiciones tan extremas que dificultan la investigación, por lo que la ecofisiología de estos bosques sigue siendo muy desconocida.

2. Ecofisiología en los bosques de *Polylepis*

Entender la ecofisiología de los bosques nos permite comprender cómo se comporta la vegetación en relación con su entorno y con las condiciones climáticas, lo que es útil para ayudar a predecir cómo reaccionará ante un cambio de estas condiciones. Una forma rápida de evaluar la respuesta de una planta a cambios en la humedad del suelo o de la atmósfera es estudiar su transpiración.

La transpiración a escala de ecosistema supone el $61\% \pm 15$ de la evapotranspiración total, alcanzando los porcentajes más altos $70\% \pm 14$ en los bosques tropicales húmedos (Schlesinger and Jasechko 2014). Existen varios estudios que han analizado la dinámica del uso de agua en ecosistemas tropicales como los bosques premontanos tropicales o los bosques nubosos, conocidos habitualmente como TMCF (*Tropical Montane Cloud Forests*), analizando los factores ambientales que interfieren en las tasas de transpiración. En los bosques premontanos tropicales se ha visto que la variación en la transpiración depende del tamaño del árbol (tanto a nivel de dosel como de la ratio entre el área de albura y el área basal) y de la humedad de las hojas (Aparecido et al. 2016, Moore et al. 2018). En los TMCF la humedad de las hojas también juega un papel importante en la dinámica del agua, ya que periodos largos de hojas húmedas incrementan la absorción de agua foliar y permiten

recuperar parte del agua perdida durante las estaciones secas. En estos ecosistemas la transpiración está controlada principalmente por el déficit de presión de vapor (VPD, *vapor pressure deficit*) y también por la presencia de niebla (Alvarado-Barrientos et al. 2014).

En el ecosistema páramo hasta ahora no existían estudios que midieran la transpiración de manera continua en árboles. El único estudio de este tipo se realizó en el páramo de Colombia, pero no en árboles, sino en rosetas caulescentes del género *Espeletia* spp., una especie arbustiva con capacidad para almacenar agua en sus troncos y que, en consecuencia, sigue patrones de transpiración irregulares en el tiempo (Cárdenas et al. 2018). En los bosques de *Polylepis* del páramo solo se disponía de medidas de transpiración instantáneas realizadas con equipos de intercambio de gases en hojas de *P. sericea*, en las que se encontró que las tasas de transpiración se reducían con el aumento VPD para evitar las pérdidas de agua durante la estación más seca (Rada et al. 1996). En los bosques de *Polylepis* de ecosistemas semiáridos de puna la información sobre el uso de agua también es escasa, a pesar de que sí se han realizado mediciones instantáneas del intercambio gaseoso a nivel de hoja que indican limitación por el déficit de agua en la época seca y por falta de energía en la época lluviosa (García-Núñez et al. 2004, Macek et al. 2009). Estudios en otros ecosistemas señalan que las tasas de transpiración pueden seguir gradientes con respecto a la ubicación de los árboles en el bosque, con mayores tasas en los individuos situados en el borde que en los del interior, debido a diferencias en las condiciones microclimáticas entre ambas zonas del bosque (Giambelluca et al. 2003, Hernandez-Santana et al. 2011). En los parches de bosques de *Polylepis* se ha reportado también variabilidad ambiental que podría cambiar las respuestas ecofisiológicas de los árboles según su ubicación: en general, los árboles del borde están más expuestos al viento y a la radiación solar, mientras que el suelo en esa zona tiene menor contenido de agua (Ramos et al. 2013). Sin embargo, la dinámica del uso del agua y las variaciones espaciales de la misma en los bosques de *Polylepis* no había sido estudiada hasta ahora.

De manera simultánea a la pérdida de agua por transpiración tiene lugar la captación de carbono para la fotosíntesis, proceso fundamental mediante el cual las plantas transforman el CO₂ de la atmósfera en compuestos orgánicos que necesitan para su crecimiento y desarrollo (sacarosa, almidón, celulosa) utilizando energía lumínica (Yepes and Buckeridge 2011). En

los ecosistemas de alta montaña las bajas temperaturas pueden inhibir la actividad enzimática de las reacciones químicas (García-Plazaola et al. 2015), limitando la fotosíntesis. Sin embargo, estudios recientes (Westerband et al. 2023) en lugares con temperatura media anual inferior a 15°C evidenciaron que con temperaturas bajas la velocidad máxima de carboxilación (V_{cmax}) aumenta, lo que se traduce en una actividad fotosintética más eficiente (máxima ganancia de carbono por pérdida de agua a través de los estomas). Parece evidente, por lo tanto, que las plantas de alta montaña han desarrollado estrategias para adaptarse a las condiciones del entorno en el que se desarrollan. En árboles del género *Polylepis* se han descrito tasas altas de asimilación de carbono gracias a aparatos fotosintéticos adaptados a las bajas temperaturas (Rada et al. 2001, García-Plazaola et al. 2015), así como cambios en los pigmentos para protegerse de las altas radiaciones solares incidentes en altitud, tanto visibles (PAR, *photosynthetic active radiation*) como ultravioletas (González et al. 2007). Se han observado balances de carbono positivos tanto en especies de *Polylepis* del páramo (Rada et al. 1996) como de ecosistemas semiáridos de puna (García-Núñez et al. 2004), lo que sugiere que las diferentes especies de *Polylepis* han acoplado su actividad fotosintética a las condiciones en las que viven, superando las limitaciones –baja energía en el páramo, altas radiaciones y escasez de agua en ecosistemas semiáridos– y sacando ventaja de los breves momentos con condiciones favorables (García-Plazaola et al. 2015).

A pesar de que el aparato fotosintético de las plantas que habitan regiones frías está adaptado para ser eficiente (Tranquillini 1979), las condiciones de bajas temperaturas tienen como consecuencia tasas de crecimiento menores en los árboles, ya que el crecimiento de los árboles no solo depende del aporte de carbono por fotosíntesis, sino de las condiciones que permiten convertir ese carbono en biomasa (Körner 2007, 2015). Las variables climáticas y el crecimiento de los árboles se pueden relacionar a partir de la dendrocronología, es decir, del estudio de los anillos de crecimiento. Los estudios dendrocronológicos han sido ampliamente utilizados para derivar reconstrucciones paleoclimáticas en zonas templadas y boreales. Sin embargo, en zonas tropicales hay muy poca información sobre los anillos de los árboles (Bräuning et al. 2009), en parte debido a que la mayoría de los árboles tropicales no muestran anillos anatómicamente distinguibles debido a la baja estacionalidad de la región (Argollo et al. 2004). Sin embargo, en las últimas décadas se ha intentado aumentar el conocimiento sobre las series de anillos de crecimiento en la región andina, prestando

especial atención a las especies de *Polylepis* que viven en zonas con marcada estacionalidad de temperatura y precipitación, como es el caso de *P. tarapacana*, ya que su longevidad, de hasta 750 años, podría aportar una valiosa información para reconstruir paleoclimáticamente la región tropical de los Andes (Argollo et al. 2004, Rodríguez-Caton et al. 2022). Las relaciones entre el crecimiento y las variables climáticas basadas en anillos de crecimiento han sido estudiadas para especies de climas semiáridos como *P. tarapacana* (Argollo et al. 2004, Rodríguez-Caton et al. 2022), *P. besseri* (Gareca, Fernández, et al. 2010), *P. pepeí*, *P. subsericans* y *P. rugulosa* (Jomelli et al. 2012), encontrando relaciones variables entre el crecimiento y la precipitación y la temperatura. De manera general, el crecimiento está positivamente relacionado con el aumento de la precipitación durante la época seca y con el aumento de la temperatura en la época lluviosa. En el páramo, Alvites et al. (2019) estudiaron los anillos de crecimiento poco visibles de *P. reticulata*, encontrando relaciones poco concluyentes -ya que solo se encontraron en algunas muestras-, que sugieren que el crecimiento tiene una relación positiva con la temperatura, y negativa con la precipitación.

A pesar de lo valiosos que son estos primeros estudios dendrocronológicos en las especies del género *Polylepis*, resulta interesante también estudiar las respuestas a corto y medio plazo en el incremento radial de los árboles frente a las condiciones climáticas. Los dendrómetros de alta resolución permiten registrar variaciones en el diámetro de los troncos que se pueden asociar con los cambios en las condiciones ambientales. Parte de esa variación será la respuesta a los ciclos diarios de depleción y reposición del agua almacenada en los tejidos que dependen de las tasas de transpiración y que generarán incrementos del diámetro del tronco reversibles (Deslauriers et al. 2007). Sin embargo, un estudio a mayor escala temporal permitirá determinar el incremento irreversible del diámetro y estimar así el crecimiento por la actividad del cámbium (Bräuning et al. 2008). Además, para comprender mejor cómo las especies de *Polylepis* consiguen tener éxito en las difíciles condiciones en las que se desarrollan, el crecimiento radial puede estudiarse en conjunto con los episodios de transpiración del árbol para analizar las respuestas conjuntas y valorar las estrategias de uso del agua de la especie (Nadal-Sala et al. 2017). Si se considera un periodo de crecimiento, se puede obtener el incremento del área basal acumulado y luego relacionarlo con la transpiración a nivel de árbol para valorar su eficiencia en el uso del agua durante el crecimiento (WUE_{BAI} , *water use efficiency - basal area increment*), es decir, la tasa de

carbono ganado por unidad de agua perdida, así como las variables ambientales que favorecen o limitan el crecimiento.

La cuantificación de la WUE y la comparación entre diferentes estudios es compleja, ya que presenta una dinámica estacional que varía en función de diferentes factores, como la región, el clima, el tipo de vegetación o la historia del uso del suelo. En general, se puede observar una tendencia entre la latitud y el WUE que responde a cambios zonales en la radiación solar y la disponibilidad de agua: hay un aumento desde las regiones subtropicales hacia latitudes más altas, y luego un descenso. A la misma latitud, los bosques perennes tienen un mayor WUE que los caducifolios, y se encontraron también variaciones relacionadas con cambios estacionales en la disponibilidad hídrica (Tang et al. 2014). Los cambios en la WUE se deben a cambios en la conductancia estomática, que juega un papel fundamental en los balances de agua y carbono de las plantas (Medlyn et al. 2011) y que es el resultado de un proceso complejo que depende de las condiciones microclimáticas, de la concentración de CO₂ en la hoja, de las hormonas de la planta y del potencial hídrico de la hoja y del suelo (Zweifel et al. 2007). De manera general, las plantas de ecosistemas con escasez de agua o sometidas a eventos de demanda evaporativa alta cierran sus estomas para evitar pérdida de agua por transpiración, manteniendo una mayor eficiencia, mientras que las plantas que viven en ecosistemas húmedos tienen estrategias menos conservadoras, perdiendo más agua a través de los estomas, debido a la alta disponibilidad hídrica que tienen en su entorno (Zweifel et al. 2007, Medlyn et al. 2011, Gotsch et al. 2016). En los bosques de montaña como los bosques de *Polylepis*, la dificultad para llevar a cabo mediciones de transpiración, de fotosíntesis o de crecimiento tiene como consecuencia una ausencia de estudios sobre el WUE. Sin embargo, diversos estudios describen ecuaciones para estimar la eficiencia en el uso del agua intrínseca a nivel de hoja (iWUE) a partir de la composición isotópica de carbono en los tejidos de la planta (Farquhar et al. 1982, McCarroll and Loader 2004, Bonal et al. 2011, Bauters et al. 2020). La composición isotópica de carbono aporta más información sobre la historia de la planta y su crecimiento que medidas instantáneas de intercambio gaseoso (Macek et al. 2009), y puede aportar información del estrés hídrico al que está sometida la planta, ya que un descenso en el contenido de $\delta^{13}\text{C}$ de la hoja se ha asociado con un descenso de la iWUE (Bauters et al. 2020). En los bosques de *Polylepis*, también los estudios de composición isotópica son escasos, pero Macek et al. (2009)

exploraron el contenido de $\delta^{13}\text{C}$ en hojas de *P. rugulosa*, *P. tarapacana* y *P. tomentella* en la puna semiárida del Altiplano boliviano, encontrando valores más altos de $\delta^{13}\text{C}$, y por lo tanto un mayor estrés hídrico y una mayor WUE , en *P. rugulosa*, que se desarrolla en zonas más secas y cálidas que las otras especies estudiadas. En el ecosistema páramo, la eficiencia en el uso de agua de *Polylepis* no había sido abordada hasta la presente investigación.

El WUE en latitudes similares varía con las condiciones climáticas, pero también tiene un componente biológico al depender del tipo de vegetación y, de manera más concreta, de los rasgos estructurales y fisiológicos de cada especie. Los rasgos de las plantas determinan cómo las plantas responden a las condiciones ambientales y suponen la base de investigaciones más extensas, como pueden ser las respuestas ecofisiológicas (Kattge et al. 2019). A su vez, estos rasgos tienen una relación muy estrecha con las condiciones ambientales, observándose de manera general que con la altitud –y, por tanto, con el descenso de temperaturas y de disponibilidad de agua-, las estructuras aéreas de las plantas se vuelven más pequeñas, con menor altura, menor área foliar y mayor área foliar específica debido al aumento del grosor (Hertel and Wesche 2008, Segovia-Salcedo et al. 2018). El estudio de rasgos como la altura de los árboles, el grosor de la cutícula de la hoja o el área foliar pueden ser útiles para identificar patrones en las características ecofisiológicas como el intercambio gaseoso, el crecimiento o el uso del agua (Macek et al. 2009). Los rasgos morfológicos y funcionales que la evolución ha seleccionado en el género *Polylepis* les ha permitido tener éxito y desarrollarse en las condiciones extremas en las que viven, gracias a componentes genéticos y fenotípicos (Toivonen et al. 2014, García-Plazaola et al. 2015).

3. Efectos del cambio climático en los bosques de *P. reticulata*

Las simulaciones de los modelos basados en los informes especiales de escenarios de emisiones del Panel Intergubernamental del Cambio Climático (IPCC-SRES, por sus siglas en inglés) prevén que para finales del S. XXI haya un aumento de la temperatura a nivel global, que será más acusado en zonas altas como los bosques de alta montaña (Pepin et al. 2015). En la región andina modelar el cambio climático es particularmente complejo debido a su topografía accidentada y a los gradientes climáticos que existen a lo largo de las diferentes laderas de la cordillera. Aun así, se prevé un aumento de temperatura de entre +2

y +7 °C para finales de siglo, dependiendo del escenario del IPCC que se considere (A2 o B2) y de la localización (Urrutia and Vuille 2009). Este calentamiento puede tener un impacto negativo en los ecosistemas, modificando propiedades como la composición vegetal, las tasas de crecimiento, la arquitectura del dosel o la profundidad de las raíces (Yepes and Buckeridge 2011). Uno de los efectos de la subida de las temperaturas que ya se ha reportado en diferentes zonas del mundo es el desplazamiento en altitud de la vegetación, buscando temperaturas más bajas y causando el reemplazo o sustitución de las especies previamente presentes por otras nuevas (Lenoir et al. 2008). En el caso de los bosques de alta montaña, que ya se desarrollan en altitud, la capacidad de desplazarse a zonas más altas es limitada, tanto por aspectos fisiológicos como por la propia morfología de las montañas, que suelen ser cónicas con menos superficie en las zonas más altas (Dullinger et al. 2012). En consecuencia, los bosques húmedos de las regiones altoandinas como los formados por *P. reticulata* se encuentran entre los ecosistemas terrestres más vulnerables al cambio climático (Buytaert et al. 2011). Los parches de bosque que resistan este desplazamiento quedarán aislados y esto conducirá a la extinción de algunas especies, provocando cambios negativos en la riqueza específica (Buytaert et al. 2011, Ramírez-Villegas et al. 2014).

Por otra parte, los aumentos de temperatura proyectados se deben al aumento de gases de efecto invernadero en la atmósfera, principalmente el CO₂, que seguirá aumentando hasta finales de siglo. Este enriquecimiento en CO₂ afecta directamente a uno de los aspectos clave de los ecosistemas: la fotosíntesis de las plantas. Con el contenido de CO₂ atmosférico actual, la maquinaria fotosintética de las plantas C3 no se encuentra saturada, de hecho, el crecimiento de estas plantas está todavía limitado por la obtención de carbono (Körner 2003), especialmente en las plantas que viven a elevadas altitudes, donde la presión parcial de CO₂ es mucho menor que a nivel del mar (Hoch and Körner 2005). Esto sugiere que, a corto plazo, un aumento del carbono atmosférico puede estimular la fotosíntesis de estas plantas, de manera que la iWUE aumente al ser mayor la captación de carbono que el agua transpirada, y, en consecuencia, aumente el crecimiento de los árboles (Körner 2003, Keenan et al. 2013). Los incrementos en la iWUE se han observado ya a lo largo de los últimos veinte años en bosques boreales y templados y parecen responder a un cierre parcial de los estomas para mantener la concentración de CO₂ dentro de la hoja constante, aunque en la atmósfera las concentraciones sean cada vez mayores (Keenan et al. 2013). Sin embargo, el aumento de la

iWUE no siempre se asocia a un crecimiento radial del árbol (Peñuelas et al. 2011). El crecimiento no solo se ve limitado por el aporte de carbono (*source activity*), sino que su principal limitación es la tasa de formación de nuevo tejido (*sink activity*), que depende en gran medida de que se produzcan las condiciones apropiadas para poder convertir el carbono en biomasa (Körner 2015). Por esta razón se hace necesario evaluar el WUE en crecimiento (WUE_{BAI}) para poder comprender cuáles son las condiciones ambientales que potencian el crecimiento de las especies ya que, a largo plazo, cuando el carbono ya no sea limitante debido a su alta disponibilidad, el crecimiento podría verse limitado por otros factores como la temperatura, la disponibilidad de nutrientes, el aumento de la demanda evaporativa, el tiempo de regeneración de las enzimas, el transporte de electrones o la disponibilidad hídrica (Körner 2003, 2015, Yepes and Buckeridge 2011).

En cuanto a la disponibilidad hídrica, los patrones de precipitación también se prevé que varíen en la región andina, con alta variabilidad entre diferentes localizaciones. Para los Andes ecuatorianos la cantidad de precipitación anual se mantendrá o incluso aumentará, pero la distribución intra-anual de las lluvias será diferente, dándose periodos secos más largos (Marengo et al. 2010, Mora et al. 2014). Si el clima se vuelve más seco, más cálido y con estacionalidad más marcada, las propiedades hidráulicas del suelo también se verán afectadas, produciéndose una descomposición de la materia orgánica que llevará a una menor capacidad de retención de agua y, al mismo tiempo, a una liberación de CO₂ a la atmósfera procedente de la descomposición por la microbiota del suelo (Buytaert et al. 2006). En los ecosistemas, en condiciones normales, el carbono perdido por la descomposición de la materia orgánica se compensa con el carbono asimilado por las plantas en la fotosíntesis, pero todavía es un reto comprender cómo afectarán al ciclo de carbono de los ecosistemas los cambios en las condiciones ambientales proyectados para el futuro.

Se espera que las diferentes especies de *Polylepis* respondan de forma diferente ante el cambio climático. La evidencia dendrocronológica sugiere que las especies que viven en ambientes secos serán especialmente vulnerables al estrés hídrico (Moya and Lara 2011, Jomelli et al. 2012). Sin embargo, las especies de ecosistemas no limitados por el agua pero con déficit de energía, como es el caso del páramo ecuatoriano, podrían sacar ventaja de los cambios proyectados, ya que, aunque se espera que aumente la precipitación anual, los

periodos secos serán más prolongados (Marengo et al. 2010, Mora et al. 2014), y, por lo tanto, habrá mayor aporte de energía al ecosistema la temperatura dejará de ser un limitante para el crecimiento. Sin embargo, las respuestas a largo plazo no están claras todavía, y podrían no ser tan ventajosas si la capacidad del suelo de retener agua cambia o si las condiciones ambientales alteran rutas metabólicas como la producción de sacarosa o de almidón, imprescindibles para el crecimiento y reservas de la planta (Yepes and Buckeridge 2011). Además, el incremento de las radiaciones ultravioleta derivados de la reducción de la capa de ozono pueden generar consecuencias negativas para la planta, tales como un aumento de la fotooxidación y daños en el aparato fotosintético, así como cambios morfológicos como reducción del crecimiento radicular o aumento del grosor de las hojas (Kataria et al. 2014).

Ante el nuevo escenario que genere el cambio climático, solo resistirán los individuos que presenten características ecofisiológicas que permitan adaptarse a las nuevas condiciones ambientales, por lo que conocer los rasgos estructurales y ecofisiológicos de las especies es clave para conocer su potencial respuesta al cambio climático (Macek et al. 2009). Además, el hecho de que los bosques de alta montaña sean las zonas más afectadas por el cambio climático los convierte en zonas únicas para detectar los impactos derivados del mismo (Beniston 2003). Por lo tanto, es importante conocer cuáles son las condiciones microclimáticas que determinan los comportamientos ecofisiológicos de *P. reticulata* y que le permiten sobrevivir en la actualidad, para ayudar a comprender cómo los futuros cambios en el clima pueden afectar a la especie.

4. Descripción de la zona de estudio

La investigación realizada en esta tesis se llevó a cabo en un parche de bosque de *Polylepis reticulata* situado en el páramo andino al sur del Ecuador, aproximadamente a 85 km al suroeste de la ciudad de Cuenca, en el lado de la cordillera de los Andes que drena al océano Pacífico. Este parche se encuentra dentro de la microcuenca del río Zhurucay, que tiene una superficie de 7,53 km². La vegetación de la cuenca es la típica del ecosistema páramo, compuesta mayoritariamente por áreas abiertas en las que predomina el pajonal, que cubre un 72% del área y está dominado por especies del género *Calamagrostis* y *Festuca*. Las almohadillas, compuestas principalmente por *Plantago rigida*, *Xenophyllum humile* y

Azorella spp, cubren el 24% de la cuenca que se corresponde con las zonas permanentemente saturadas de agua. Otro 2% de la cuenca está ocupado por plantaciones de pinos (*Pinus patula*) y pastizales, y el 2% restante está cubierto por especies arbóreas autóctonas, principalmente *Polylepis incana* y *Polylepis reticulata*, que forman parches de vegetación boscosa en las áreas abiertas del páramo.

La geomorfología de la cuenca corresponde a rocas volcánicas compactadas por la actividad glacial, con un valle rodeado de laderas con pendientes medias de entre 0-20%, aunque en raras ocasiones se alcanza el desnivel del 40% (Mosquera et al. 2015). La geología de la cuenca pertenece en la parte norte a la formación Quimsacocha (compuesta por flujos basálticos, plagioclasas, feldespatos y piroclastos andesíticos) y en la parte sur a la formación Turi (compuesta por breccas tobáceas andesíticas, conglomerados, flujos de escombros y arenas con estratificación horizontal) (Quichimbo et al. 2012). Los suelos dominantes en la cuenca son los Andosoles y los Histosoles, según el sistema de clasificación de suelos de la FAO (FAO/ISRIC/ISSS 1998). Los Andosoles suponen aproximadamente un 72% del suelo de la cuenca y se encuentran en las laderas, asociados a zonas de pajonal, mientras que los Histosoles representan aproximadamente un 24% de la cuenca y están restringidos al fondo de los valles, asociados a las almohadillas y zonas siempre húmedas. La pequeña fracción de suelo restante (<5%) corresponde a Leptosoles, suelos poco profundos que se desarrollan directamente sobre la roca (Quichimbo et al. 2012, Mosquera et al. 2015, Correa et al. 2017). En cuanto a sus propiedades físicas, los suelos presentan pH ácido ($\text{pH} < 5$), una densidad baja con alta porosidad ($< 0,9 \text{ g cm}^{-3}$), con un alto contenido de materia orgánica y alta capacidad de retención de agua por su contenido en arcilla, limo y materia orgánica ($> 0,6 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-3}$ a capacidad de campo) (Quichimbo et al. 2012, Mosquera et al. 2021).

En esta microcuenca se encuentra el Observatorio Ecohidrológico del río Zhurucay de la Universidad de Cuenca ($3^{\circ}04'S$, $79^{\circ}14'W$), que ha registrado datos meteorológicos durante más de 10 años. En las inmediaciones del Observatorio se halla el bosque de *Polylepis* donde se ha desarrollado esta tesis, un parche de bosque con una superficie total de 15633 m^2 y un rango altitudinal que varía desde 3765 m s.n.m. hasta 3809 m s.n.m. La especie vegetal dominante es *Polylepis reticulata*, pero se encuentran también presentes otras especies arbóreas como *Escallonia myrtilloides*, *Weinmannia* sp. o *Gynoxys* sp. (Suqui et al. 2021).



Figura 2. Vista del parche de bosque estudiado y del Observatorio Ecohidrológico del río Zhuruca y de la Universidad de Cuenca. Se aprecian las condiciones cambiantes del páramo, donde se alternan momentos de alta radiación con momentos de mayor nubosidad y niebla.

Los árboles de *P. reticulata* deben soportar las duras condiciones del ecosistema en el que se desarrollan. La temperatura media anual en el bosque es de 5,9 °C (considerando los datos meteorológicos de los años 2018 y 2019), pero la amplitud térmica varía enormemente entre la noche y el día, alcanzando los 14 °C en los días cálidos y descendiendo hasta algunos grados bajo cero en las noches más frías, algo común en el ecosistema de páramo (Buytaert et al. 2006). Además, también existe una gran variación en la radiación solar incidente, que alcanza sus máximos al mediodía en los días claros y a nivel anual se incrementa notablemente de octubre a diciembre (Carrillo-Rojas et al. 2019). Esta radiación solar se alterna con periodos de alta nubosidad y niebla, muy frecuente en el páramo, limitando la energía disponible. La humedad relativa media anual es del 88% y la precipitación media anual de 1298 mm (datos meteorológicos de 2018 - 2019). El régimen de precipitación está distribuido de manera que se pueden diferenciar dos periodos: los meses de junio a diciembre son más secos y el periodo de enero a mayo más húmedo (Ochoa-Sánchez et al. 2019). La precipitación siempre supera a la evapotranspiración, cuya media anual es de 622 mm (Ochoa-Sánchez et al. 2018), lo que hace del sitio de estudio un ecosistema húmedo con suelos muy próximos a la saturación durante la mayor parte del año, en el que el agua no es un factor limitante para la vegetación.

OBJETIVOS



OBJETIVOS

La presente tesis tiene como objetivo principal estudiar la ecofisiología de los bosques de *Polylepis* en el ecosistema páramo frente a las condiciones climáticas, ya que la información que se tiene sobre este tipo de bosques es muy limitada y puede aportar conocimiento de interés sobre la potencial respuesta de esta especie ante el actual cambio climático. Concretamente, esta tesis se centra en conocer el comportamiento de un bosque de la especie *Polylepis reticulata* situado en el páramo andino al sur del Ecuador.

Los objetivos específicos establecidos son:

- Evaluar la dinámica del uso de agua de árboles de *Polylepis reticulata* para determinar las variables microclimáticas que la controlan.
- Evaluar el potencial fotosintético de *Polylepis reticulata* y caracterizar la cinética de la fotosíntesis.
- Evaluar el crecimiento y la eficiencia en el uso de agua de *Polylepis reticulata*, y caracterizar sus rasgos funcionales y morfológicos.

Estos objetivos se desarrollan a lo largo de tres capítulos.

- En el Capítulo 1 se analiza el uso del agua en *P. reticulata* a partir de datos obtenidos en campo durante dos años. Los objetivos concretos para este capítulo fueron evaluar la dinámica del uso de agua anual y estacional, identificar las variables microclimáticas que más afectan a la transpiración en esta especie, determinar los umbrales de estas variables a partir de los cuales se activa la transpiración y evaluar

diferencias en las tasas fotosintéticas entre árboles situados en el interior y en el borde del bosque, así como entre períodos más secos y más lluviosos.

- En el Capítulo 2 se caracteriza el potencial fotosintético de la especie *P. reticulata* a través de curvas de respuesta fotosintética obtenidas en una campaña de cinco meses de duración. En este capítulo se cuantifica la fotosíntesis en respuesta a cambios en la PAR y en la concentración de CO₂, se caracteriza la cinética con medidas de V_{cmax} , J_{max} y A_{nmax} y se caracteriza su comportamiento estomático para determinar su estrategia de uso del agua.
- En el Capítulo 3 se evalúa el crecimiento y la eficiencia en el uso del agua de *P. reticulata* a partir de datos de dendrómetros de punto y de medidas de flujo de savia. Se determinan patrones intra-anales de crecimiento y de uso del agua, se estima la eficiencia en el uso del agua neta de la especie, se identifican las variables microclimáticas principales que controlan el crecimiento y la eficiencia en el uso del agua, se evalúa la eficiencia en el uso del agua intrínseca a nivel de hoja y se caracterizan los principales rasgos estructurales y ecofisiológicos de la especie. El capítulo 3 pretende integrar los conocimientos obtenidos en los capítulos 1 y 2 para poder comprender la ecofisiología de la especie, que le permite mantener un balance positivo de carbono y agua en las condiciones en las que se desarrolla.

CAPÍTULO 1



CAPÍTULO 1

Brief windows with more favorable atmospheric conditions explain patterns of *Polylepis reticulata* tree water use in a high altitude Andean forest

Aldemar Carabajo-Hidalgo^{1,2}, Santiago Sabaté^{2,3}, Patricio Crespo¹ and Heidi Asbjornsen⁴

¹Departamento de Recursos Hídricos y Ciencias Ambientales, Universidad de Cuenca, Campus Balzay, Cuenca, 010107, Ecuador; ²Departamento de Biología Evolutiva, Ecología y Ciencias Ambientales, Universitat de Barcelona, Av. Diagonal, 643, 08028, Barcelona, Spain; ³CREAF (Centre de Recerca i Aplicacions Forestals), Campus de Bellaterra (UAB) Edifici C., Cerdanyola del Vallès, 08193, Spain; ⁴Department of Natural Resources and the Environment and Earth Systems Research Center, University of New Hampshire, 114 James Hall, Durham, NH 03824, USA.

El texto, tablas y figuras de este capítulo han sido publicados en **Tree Physiology** (2023), vol. 43: 2085-2097.

Cita del artículo:

Aldemar Carabajo-Hidalgo, Santiago Sabaté, Patricio Crespo, Heidi Asbjornsen, Brief windows with more favorable atmospheric conditions explain patterns of *Polylepis reticulata* tree water use in a high-altitude Andean forest, *Tree Physiology*, Volume 43, Issue 12, December 2023, Pages 2085–2097, <https://doi.org/10.1093/treephys/tpad109>

Resumen del capítulo 1

Los árboles de *Polylepis* se distribuyen a lo largo de la región montañosa de los Andes, y son el género de árboles que crece a mayor elevación del mundo. En los Andes húmedos, donde la humedad rara vez es limitante, los árboles de *Polylepis* deben adaptarse a condiciones ambientales extremas, especialmente fluctuaciones rápidas de temperatura, radiación ultravioleta y déficit de presión de vapor (VPD). Sin embargo, los patrones de uso de agua de esta especie apenas se conocen, a pesar de la importancia de comprender su respuesta a variaciones microclimáticas para determinar su capacidad de resiliencia ante los futuros cambios ambientales. Llevamos a cabo un estudio en un bosque de *Polylepis reticulata* Kunt en los Andes ecuatorianos para evaluar su dinámica del uso del agua e identificar los principales controladores ambientales de su transpiración. El flujo de savia de los árboles fue monitoreado simultáneamente con el contenido volumétrico de agua en el suelo (VWC) y variables microclimáticas durante 2 años en árboles creciendo en el borde y en el interior del bosque. Encontramos que el flujo de savia está controlado principalmente por el VPD y que el VWC ejerce un rol secundario en la dinámica del flujo de savia. Los valores más altos para las tasas de flujo de savia se encontraron cuando $VPD > 0,15 \text{ KPa}$ y $VWC < 0,73 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-3}$, pero estas condiciones solo ocurrieron durante breves periodos de tiempo y solo se encontraron en un 11% de las mediciones. Además, estas breves ventanas de mejores condiciones ocurrieron con mayor frecuencia en el borde del bosque, en comparación con el interior, lo que resultó en un flujo de savia un 46% más alto en los árboles situados en los bordes que en los de interior. Nuestros resultados también sugieren que *P. reticulata* tiene un bajo control estomático de la transpiración, dado que el flujo de savia no disminuyó con el aumento del VPD. Esta investigación proporciona información de valor sobre los potenciales impactos de los incrementos de VPD proyectados con el futuro cambio climático sobre la dinámica del uso de agua de *P. reticulata*, que incluyen tasas de flujo de savia más altas, conduciendo a una mayor pérdida de agua vía transpiración debido al pobre control estomático de esta especie.

Abstract

Polylepis trees occur throughout the Andean mountain region and is the tree genus that grows at the highest elevation world-wide. In the humid Andes where moisture is rarely limiting, *Polylepis* trees must adapt to extreme environmental conditions, especially rapid fluctuations in temperature, ultraviolet radiation and vapor pressure deficit (VPD). However, *Polylepis*' water use patterns remain largely unknown, despite the importance of understanding their response to microclimate variation to determine their capacity to maintain resilience under future environmental change. We conducted a study in a *Polylepis reticulata* forest in the Ecuadorian Andes to evaluate its tree water use dynamics and identify the main environmental drivers of transpiration. Tree sap flow was monitored simultaneously with soil volumetric water content (VWC) and microclimate during two years for trees growing in forest edge and interior locations. We found that sap flow was primarily controlled by VPD and that VWC exerted a secondary role in driving sap flow dynamics. The highest values for sap flow rates were found when $VPD > 0.15 \text{ kPa}$ and $VWC < 0.73 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-3}$, but these threshold conditions only occurred during brief periods of time and were only found in 11% of our measurements. Moreover, these brief windows of more favorable conditions occurred more frequently in forest edge compared to forest interior locations, resulting in edge trees maintaining 46% higher sap flow compared to interior trees. Our results also suggest that *P. reticulata* has low stomatal control of transpiration, as sap flow did not decline with increasing VPD. This research provides valuable information about the potential impacts of projected future increases in VPD due to climate change on *P. reticulata* water use dynamics, which include higher sap flow rates leading to greater transpirational water loss due to this species' poor stomatal control.

Key words: ecophysiology; páramo; sap flow; stomatal control; water relations.

1. Introduction

Polylepis is the tree genus that grows at the world's highest treelines (Hoch and Körner 2005), and many *Polylepis* species are widespread throughout the Andean mountains of South America. Highland mountain areas such as the páramo ecosystem are expected to be one of the most sensitive to climatic variation worldwide (Diaz et al. 2014) and are projected to experience negative changes in species richness and high rates of species turnover (Ramírez-Villegas et al. 2014). Moreover, some studies suggest that climate change may

cause shifts in species distribution (Feeley et al. 2012), so treelines like *Polylepis* forests may be used as indicators of the ecosystem response to climate change (Kimball and Weihrauch 2000). However, our understanding of the underlying physiological strategies and mechanisms that determine *Polylepis*' response to climate drivers and, ultimately, growth and survival under changing climate conditions, remains poor.

For instance, in the Ecuadorian Andean páramo, *Polylepis* tree species must adapt to extreme environmental conditions characterized by low temperatures and a high daily thermal amplitude, with nighttime and daytime temperatures ranging from below 0 °C to above 14 °C, as well as extremes in high ultraviolet radiation (UV) that are more pronounced at noon when the sky is clear (Carrillo-Rojas et al. 2019). Previous studies have reported that *Polylepis* trees show specialized adaptations to these páramo environmental conditions such as highly efficient photosynthesis, supercooling capacity and flavonoids that provide UV protection (Azócar et al. 2007, González et al. 2007, Toivonen et al. 2014, García-Plazaola et al. 2015). In addition, seasonality of temperature and precipitation are low, and evapotranspiration is consistently below precipitation (Mosquera et al. 2015, Padrón et al. 2015, Ochoa-Sánchez et al. 2018) due to the frequent presence of fog and clouds, leading to high relative air humidity and high moisture content in well-developed organic soils (Cárdenas et al. 2018), such that water is rarely limiting and evaporative demand is low. Only during periods with low cloudiness and high solar radiation, relative humidity decreases and temperature and evaporative demand increase, but these periods are less frequent than cloudy periods. The combination of these factors results in *Polylepis* forests being largely energy-limited ecosystems, where efficient use of short periods with more favorable available energy is critical to plant survival.

Polylepis plant water use patterns in response to microclimate fluctuations can provide valuable insight on the ecophysiological strategies that determine these species' capacity to adjust to and maintain resilience under changing environmental conditions. Further, because stomatal control of transpiration has direct consequences for photosynthesis and is often the most immediate response to changes in soil or atmospheric moisture, information about plant water use can serve as an integrated measure of a plant's strategy for optimizing available resources while managing environmental constraints (Zweifel et al. 2007). For example, a

study on another páramo genus, frailejones (*Espeletia* spp.), by Cárdenas et al. (2018) showed that transpiration in these plants responds quickly to rapid fluctuations in temperature, solar irradiance, and changing presence of fog or low clouds, indicating a strategy of tight stomatal control to buffer against environmental extremes. Similar results were reported for tropical montane cloud forests, which share similar climatic conditions to the páramo, where tree transpiration was shown to be strongly controlled by vapor pressure deficit (VPD) and reduced by fog (Alvarado-Barrientos et al. 2014), with a midday threshold VPD value of > 1.0 kPa leading to sharp decreases in stomatal conductance (Gotsch et al. 2016).

In addition to having a highly variable climate, páramo landscapes are also characterized by a high degree of topographic variability and vegetation patchiness, and the distribution of *Polylepis* forest patches is strongly influenced by differences in microclimate in relation to topography. *Polylepis* forest patches develop in sheltered zones with low wind exposure but high solar radiation that create suitable habitats for the species (Toivonen et al. 2017). Microclimate heterogeneity also exists within *Polylepis* patches, with edge environments having higher air temperature and exposure to wind and solar radiation, and lower soil water holding capacity compared to the interior (Ramos et al. 2013), which may lead to higher transpiration rates by edge trees compared to interior trees (Giambelluca et al. 2003, Herbst et al. 2007, Hernandez-Santana et al. 2011). Consequently, edge trees in ecosystems with high soil moisture availability such as the Ecuadorian Andean páramo could take advantage, at least in the short-term, of these longer drier periods, especially if they are associated with short more favorable periods with high energy availability that increase water use and support gas exchange (Carswell 2002, Da Rocha et al. 2004) and growth (Alvites et al. 2019).

To date, transpiration in *Polylepis* trees has only been measured at the leaf level with instantaneous gas exchange measurements (García-Núñez et al. 2004, Macek et al. 2009), and we are not aware of previous measurements for whole tree water use dynamics over longer time scales. Indeed, a global meta-analysis of sap flow across species and ecosystems indicated a lack of sap flow studies throughout the Andean region (Poyatos et al. 2021). However, given the high climatic variability in the páramo, and the anticipated negative consequences of climate change on páramo ecosystems, knowledge about tree water use patterns is critical to identify the main environmental drivers of transpiration in *Polylepis*

trees—and the factors that determine the long-term success and survival of these ecosystems. To advance our understanding of *Polylepis* trees water use dynamics in the páramo, we conducted, in two different years, a study of transpiration in a *Polylepis reticulata* forest located in the south Ecuadorian Andes.

The objectives of this study were to (1) evaluate the annual and seasonal water use dynamics of *P. reticulata*, and (2) identify the microclimate and landscape drivers that control sap flow patterns. We hypothesized that *P. reticulata* sap flow is primarily controlled by solar radiation and evaporative demand in this energy-limited ecosystem, and thus, that water use is largely restricted to short periods – “brief windows” – of time with more favorable conditions. Additionally, we expected transpiration rates to be higher in trees located at the edge of the forest due to greater canopy exposure to atmospheric drivers compared to forest interior trees.

2. Materials and methods

2.1. Experimental site

This study was carried out within an Andean *P. reticulata* forest (3800 masl) in the Zhurucay Ecohydrological Observatory (ZEO) (3°04'S, 79°14'W). The Zhurucay micro-catchment has a drainage area of 7.53 km² and is located on the Pacific side of the Andean cordillera in southern Ecuador (Figure 1.1), situated in a perennially humid páramo region (Ochoa-Sánchez et al. 2018). Mean annual precipitation is approximately 1200±100 mm (Padrón et al. 2015), mean annual air temperature is 6 °C, mean annual relative humidity is 91% and mean annual wind velocity is 3.6 m s⁻¹ (Córdova et al. 2015). A more detailed description of the climate in the study region can be found in Carrillo-Rojas et al. (2019) and Ochoa-Sánchez et al. (2019). The dominant vegetative community in the Zhurucay micro-catchment is comprised of tussock grass (72% of the micro-catchment area, mainly in the genera *Calamagrostis* and *Festuca*), cushion plants (24% of the micro-catchment area, mainly *Plantago rigida*, *Xenophyllum humile* and *Azorella* spp.), planted *Pinus patula* trees and pastures (representing 2% of the micro-catchment area) and *Polylepis* forests (*Polylepis incana* and *Polylepis reticulata*, covering the remaining 2% of the micro-catchment area) (Mosquera et al. 2015, Correa et al. 2016). Andosols comprise the dominant soil type, located

on the slopes and covering 72% of the micro-catchment area. Histosols represent 24% of the area and are located in the wet valley bottoms. The remaining area (4%) is covered by Leptosols situated on steep valley slopes lying directly on the bedrock (Quichimbo et al. 2012, Correa et al. 2017).

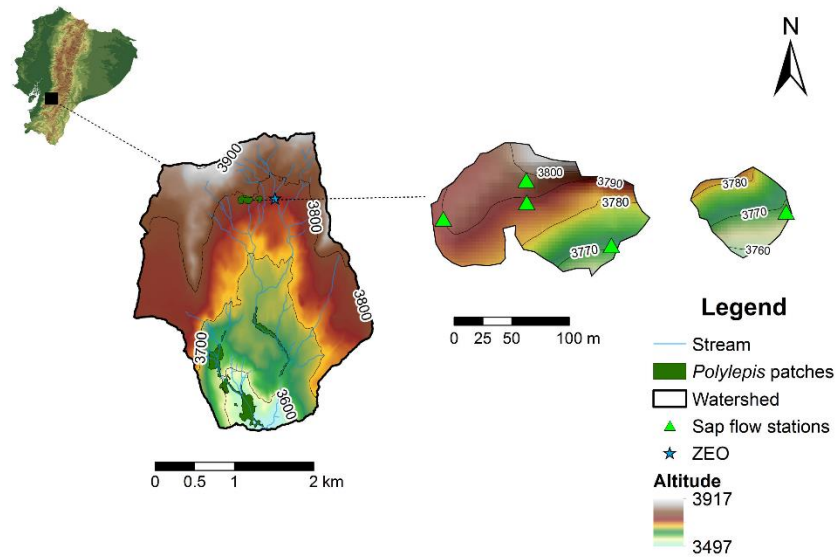


Figure 1.1. Experimental sites at *P. reticulata* forest in the Zhurucay Ecohydrological Observatory (ZEO) in the South of Ecuador

We installed five sap flow stations at different locations in the *P. reticulata* forest for comparative purposes: two at the forest edge (EF, <3 m from the forest edge) and three in the forest interior (IF, >10 m from the forest edge). Data were collected during two different time periods: February 1st to December 31st 2018 and February 1st to December 31st 2019.

2.2. Meteorological data and soil water content

We measured meteorological variables and soil water content to explore relationships between microclimate drivers and water use dynamics in *P. reticulata* trees. Precipitation (mm) was obtained from the main meteorological station of the Department of Water Resources and Environmental Sciences at University of Cuenca located at ZEO (500 m from study site), using a precipitation gauge (TE525 Texas Electronics Inc., Dallas, TX) connected to a datalogger (CR1000, Campbell Scientific, Inc., Logan, UT) that recorded data at 5 min

intervals. We also obtained data from a micrometeorological station located outside of an EF plot, equipped with an anemometer to measure wind speed at 2.5 m above the ground surface (wind speed, m s^{-1} ; Met-One 034B - Campbell Scientific, Inc., Logan, UT) and with a quantum sensor to measure photosynthetically active radiation, also at 2.5 above the ground (PAR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; LI-190, LI-COR Bioscience, Lincoln, NE). Air temperature (temperature, $^{\circ}\text{C}$) and relative humidity (RH, %) were measured with three Vaisala HMP45 sensors (Vaisala, Woburn, MA), two installed in EF stations, and one in an IF station. Soil volumetric water content (VWC, $\text{cm}^3 \text{cm}^{-3}$) was measured with CS616 water content reflectometers (WCRs, Campbell Scientific, Inc., Logan, UT) installed at the five stations at three different depths: organic superficial horizon (VWC- 10 cm depth), organic medium horizon, where most roots are found (VWC- 25 cm depth) and mineral horizon, over 35 cm depth (VWC- 35 cm depth). VWC was calculated with calibration curves derived in the laboratory according to the procedure described by Ochoa et al. (2018). In total, we obtained 15 calibration curves that are depicted in Table S1.1 (see Table S1.1 available as Supplementary Data at the end of this chapter). Leaf wetness (LW, mV) was measured using dielectric leaf wetness sensors at the five stations at a mean height of 12 m from the ground (LW sensors, Campbell Scientific, Inc., Logan, UT). Vapor pressure deficit (VPD, kPa) was calculated from air temperature and relative humidity values obtained from the EF and IF stations. Environmental variables in the EF and IF stations were recorded at 15 min intervals on a datalogger (CR1000, Campbell Scientific, Inc., Logan, UT) from February to December in 2018 and 2019, except for LW, which was measured only from February to December 2019.

2.3. *Whole tree sap flow measurements*

Sap flow measurements have become increasingly important in plant science in order to understand sap flow dynamics and sap flow processes (Vandegehuchte and Steppe 2013). Here, we used the Heat Ratio Method (HRM) described by Burgess et al. (2001) which is appropriate for measuring low and reverse rates of sap flow in woody plants, to measure sap flow ($\text{l h}^{-1} \text{tree}^{-1}$) in *P. reticulata* trees. HRM probe sets were constructed in the laboratory and consisted of two temperature probes placed equidistant above and below one heater element. Each of the two temperature probes were introduced in a stainless steel 18-gauge

needle and had three fine-gauge (36 AWG) copper-constantan thermocouple junctions, situated at 0.5 cm (outer), 1.75 cm (middle) and 3 cm (interior) from the needle tip (Burgess et al. 2001, Gebauer et al. 2008, Hernandez-Santana et al. 2011). Heaters were formed by tightly coiling 20 cm of fine-gauge (36 AWG) nichrome wire which were inserted in a stainless-steel needle (Burgess et al. 2001).

We randomly selected 11 healthy mature *P. reticulata* trees that had relatively straight and uniform stems to measure water use patterns, six trees in the EF plots and five trees in the IF plots (Table 1.1). First, we removed the outer bark, taking care to leave the cambium layer intact (Bleby et al. 2004, Hernandez-Santana et al. 2011). Then, probes were inserted in each study tree by drilling 1.3 mm diameter holes 30 mm deep into the active xylem tissue. We used a steel drilling guide to ensure that holes were drilled parallel at fixed spacing along the plant stem–root axis (Burgess et al. 2001).

Individual thermocouple circuits were connected to a 64-channel multiplexer (Model AM32, Campbell Scientific Inc., Logan, UT), which was connected to a data logger (CR1000, Campbell Scientific Inc., Logan, UT). Heaters were connected in parallel to a 12 V lead acid battery by a relay that allowed a controlled pulse of heat during 3 seconds to be released every 15 minutes. A 12 W photovoltaic solar panel was used to maintain battery voltage in the field (Burgess et al. 2001). We determined sap velocity (cm h^{-1}) and derived whole tree sap flow ($\text{cm}^3 \text{h}^{-1} \text{tree}^{-1}$) as the product of sap velocity and cross-sectional area of conducting sapwood, and finally expressed sap flow as $\text{l h}^{-1} \text{tree}^{-1}$. Zero flows were determined from the ratio of the temperature values close to 1, since the equidistant placement of temperature probes around the heater allows for identifying periods of time when sap flow is zero (Lopez et al. 2021). At the end of the experiment, wood cores from each studied tree ($n = 11$) were obtained with a Pressler increment borer and sapwood thickness was determined based on the color, which in this species is lighter in the sapwood than in the heartwood. In some cases, it was necessary to hold the wood core up against a bright light to distinguish sapwood and heartwood, since sapwood vessels are visible to light whereas heartwood do not transmit light (Vertessy et al. 1995, Hernandez-Santana et al. 2011) (Table 1.1). All sap flow variables were recorded at 15 min intervals. During the measurement periods, weekly visits were made to

the study site to replace damaged sensors and verify their proper operation under the high humidity conditions of the páramo.

Table 1.1. Description of trees measured with sap flow probes.

	Diameter at breast height (cm)	Height (m)	Basal area (m ²)	Sapwood area (m ²)
EF trees				
Tree 1	48.3	13	0.183	0.102
Tree 2	43	13	0.146	0.084
Tree 3	33.7	4	0.089	0.053
Tree 4	28.7	6	0.064	0.043
Tree 5	28.2	9	0.062	0.033
Tree 6 ^a	24.2	6	0.046	0.029
IF trees				
Tree 1	41.5	9	0.135	0.062
Tree 2	30	7	0.071	0.039
Tree 3	29.7	10	0.069	0.036
Tree 4	39.8	9	0.124	0.076
Tree 5 ^a	27.8	8	0.061	0.031

^aTree only measured in 2019 period

2.4. Data analysis

We considered a total of 9 independent variables in our analyses. The meteorological variables precipitation, VPD, VWC- 10 cm depth, VWC- 25 cm depth, VWC- 35 cm depth, PAR and wind speed were averaged monthly. Canopy was considered wet when LW sensors

readings were >275 mV (since during days with precipitation = 0 mm, LW sensors measurements were 275 mV) and we calculated the percentage of dry and wet measurements during the 2019 study period. The landscape factor (location) was established as a variable with two factors (edge and interior trees). As the sap flow and the independent parameters are related, involve complex nonlinear interactions, and did not follow a normal distribution of residuals (Shapiro–Wilks: $p > 0.05$), we used descriptive statistics and nonparametric tests to describe water use dynamics in *P. reticulata* and identify differences among EF and IF study trees, and between 2018 and 2019 study periods. For all the statistical analyses we used only daytime data, from 5:00 am to 7:00 pm.

We used random forest and regression tree statistical analyses to identify the most hierarchically important microclimate variables that control *P. reticulata* sap flow (Ochoa-Sánchez et al. 2018, Pesántez et al. 2018). These analytical approaches have been widely used in ecological and hydrological studies for their ability to handle missing values, outliers, complex interactions between explanatory variables, and their ease of implementation and interpretation (Moisen 2008, Ochoa-Sánchez et al. 2018, Pesántez et al. 2018). Random forests and regression tree analyses were coded in R x 64 3.6.1 software (R Core Team 2024) using the “randomForest” (Liaw and Wiener 2002) and “rpart” (Therneau and Atkinson 2019) packages. Random forests helped to reduce the number of variables included in the building of a tree. Random forest is a combination of trees that is created independently and allows determining the relative importance of each variable (Ochoa-Sánchez et al. 2018). A regression tree was constructed to derive sap flow events in homogenous groups through repeated splits of the data by binary condition. Regression trees enabled the selection of the dependent variable while finding its relationship with the independent variables (Ochoa-Sánchez et al. 2018, Pesántez et al. 2018). This method yields two mutually exclusive subgroups, using as predefined splitting criteria random combinations of the microclimate variables. Each group is characterized by a typical sap flow value, the number of observations, and the values of the microclimate variables that define the group. In our total random forest and regression tree analyses we included the two period data (2018 and 2019) for 8 of the 9 independent variables, since LW was only measured in 2019. Additionally, we conducted a random forest and regression tree only for the 2019 study period considering

LW, but this variable did not present a high relative importance in the sap flow dynamics, so we removed this variable from our total analyses.

We also used a Mann-Whitney Wilcoxon test to detect differences between the sap flow dynamics at the edge and in the interior of the *P. reticulata* forest, and between both study periods.

3. Results

3.1. Meteorological variables and soil water content

Figure 1.2a shows the cumulative precipitation for 2018 (1224 mm in total), 2019 (1371 mm in total) and the 6-year (2012-2017) reference period (1240 mm in total, 6-year period mean). Thus, 2018 was slightly drier than the reference period, while 2019 was slightly wetter, although annual differences were not remarkable. Focusing on the 90 driest consecutive days of each year, the average cumulative precipitation in 2012-2017 period was 173 mm, in 2018 it was 143 mm and in 2019 it was 222 mm, which suggests that conditions in 2018 were more favorable for enhancing water use compared to conditions in 2019 (Figure 1.2b). Mean monthly precipitation was lower in 2018 than in 2019, except for April, May, September, and November (Figure 1.2c). Moreover, in general, RH was relatively high during both study periods and locations, as expected in the páramo ecosystem, with monthly values ranging from 82% in 2018 for IF stations to 95.6% in 2019 for EF stations (see Tables S1.2 and S1.3 available as Supplementary Data at the end of this chapter). Measurements of LW sensors in 2019 were coherent with such high RH, showing wet canopy conditions in 80% of the measurements. Mean monthly VWC values were always $> 0.5 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-3}$ in both study periods, which indicates no soil water limitation with values near saturation during most of the year (Figure 1.2d). EF stations presented higher mean monthly values for VWC- 10 cm depth compared to IF stations; however, the deepest sensors (25 and 35 cm depth) showed higher mean monthly values for IF stations (see Tables S1.2 and S1.3 available as Supplementary Data at the end of this chapter).

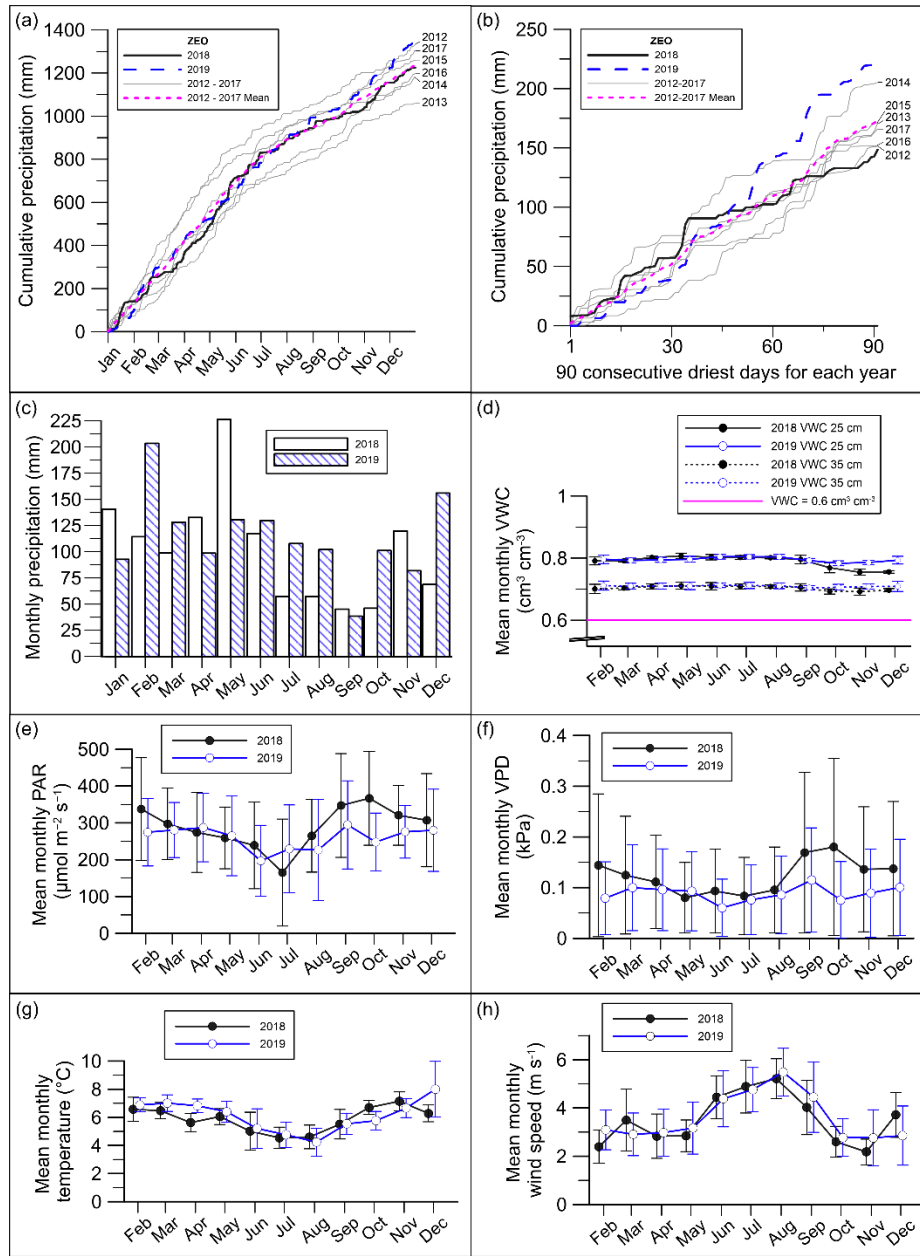


Figure 1.2. Meteorological variables and soil water content during both study periods, February 1st - December 31st 2018 and February 1st - December 31st 2019. **(a)** Cumulative annual precipitation for 2018 (black), 2019 (blue) and mean value for the reference period 2012-2017 (pink); **(b)** Cumulative precipitation during the 90 driest days period for 2018 (black), 2019 (blue) and mean value for the reference period 2012-2017 (pink); **(c)** Monthly precipitation; **(d)** Mean monthly VWC; **(e)** Mean monthly VPD; **(f)** Mean monthly PAR; **(g)** Mean monthly air temperature and **(h)** Mean monthly wind speed. Precipitation is the cumulative monthly precipitation. For the other variables, mean monthly values were obtained from daily values of each month (Mean $\pm$ SD, n = number of days for each month).

In accordance with the study site's high altitude and location in the equatorial zone, PAR mean values were high during both study periods, but they showed certain seasonality according to cloudiness periods. Both VPD and PAR followed a similar pattern (Figure 1.2e, f). Mean monthly values were higher in the second part of 2018 (June-December), corresponding to a period with lower precipitation and cloudiness, and higher VPD and PAR. Differences in cumulative PAR for both study periods showed higher energy availability in 2018, for both the annual period and the 90 driest consecutive days of each year (see Figure S1.1 a, b available as Supplementary Data at the end of this chapter). The inter-annual differences in VPD were mainly due to their higher maximum values in 2018 than in 2019 (except May). Minimum values were nearly zero in both periods, as evaporative demand was very low most of the year.

Mean monthly temperature values were similar in both study periods (except for April and October) and showed seasonal patterns, with higher temperature values during February-May and September-December (Figure 1.2g). The daily thermal amplitude ranged from nighttime values $< 0^{\circ}\text{C}$ to daytime values $> 14^{\circ}\text{C}$ (see Figure S2 a, b available as Supplementary Data at the end of this chapter). Wind speed presented a seasonal pattern with higher values from May to September (Figure 1.2h), which corresponds to months with the least cloudiness and lowest temperature.

3.2. Water use patterns and drivers of sap flow dynamics

Random forest algorithm analysis was used to hierarchically classify the most important variables affecting sap flow dynamics (Figure 1.3). VPD emerged as the most important driver of sap flow dynamics, with an MSE (Mean Squared Error) of 60% and the highest node purity. VWC- 25 cm and VWC- 35 cm depths were the second and third variables in the hierarchy, followed by PAR. VWC- 10 cm depth, location, precipitation and wind speed were not relevant for sap flow dynamics. The model with these four variables explained 73.28% of the variance observed during the entire study period.

Based on the regression tree analysis, $r^2 = 0.73$ (see Figure S1.3 a, b available as Supplementary Data at the end of this chapter), VPD was the main driver of sap flow dynamics with a threshold of 0.15 kPa. When $\text{VPD} < 0.15 \text{ kPa}$ (68% of measured data) we found the lower sap flow values, whereas when $\text{VPD} > 0.15 \text{ kPa}$ (32% of measured data), we

found the higher sap flow values. In both cases VWC- 25 cm depth also exerted a control on sap flow dynamics, leading to higher sap flow values when both $VPD > 0.15$ kPa and $VWC-25 \text{ cm depth} < 0.73 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-3}$, but these conditions only comprised 11% of the data, with an average value of $6.5 \text{ l h}^{-1} \text{ tree}^{-1}$. This low percentage of the measurement period with sufficiently high VPD to support significantly higher sap flow rates corroborates that this páramo ecosystem is primarily energy limited, with soil moisture playing a role in sap flow dynamics when its availability is reduced to below saturation during periods of high VPD.

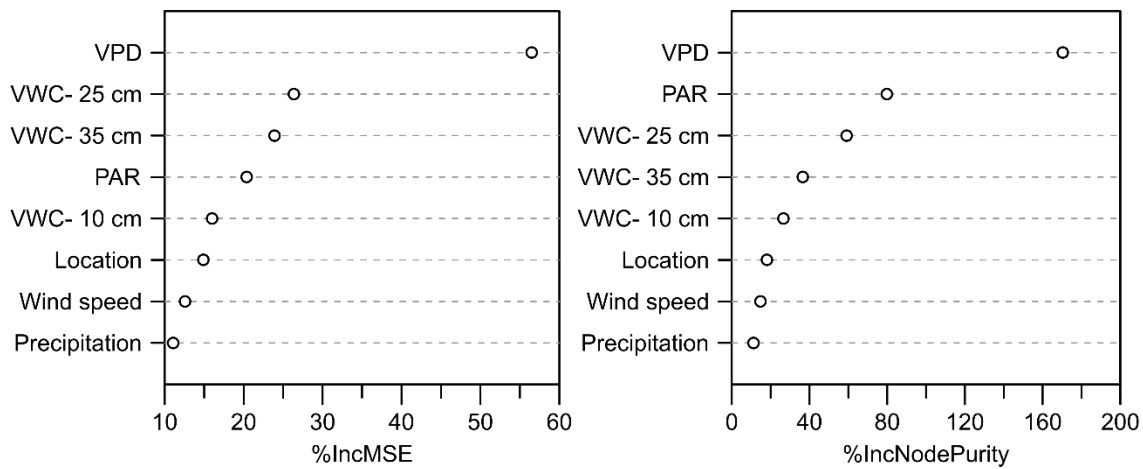


Figure 1.3. Hierarchical importance of the possible environmental drivers that explain sap flow dynamics according to the random forest algorithm, based on the mean squared error presented as percentages (%IncMSE), and node purity (IncNodePurity).

Figure 1.4a shows *P. reticulata* hourly sap flow responses to VPD for EF trees. When $VPD > 0.15$ kPa, sap flow started to increase, as indicated in the regression tree. Figure 1.4b shows the same data for IF trees, for which the response to increasing VPD was much less pronounced compared to EF trees. Sap flow response to VPD also differed among individual study trees, with a more pronounced response in EF tree with larger diameter at breast height. In fact, sap flow values above $10 \text{ l h}^{-1} \text{ tree}^{-1}$ were found only in the tree with the largest diameter (48.3 cm). Nevertheless, even after removing data on this tree from the analyses, sap flow rates were significantly higher in EF trees. Details of individual tree responses are presented in Figure S1.4 and S1.5 (see Supplementary Data at the end of this chapter). Figures 1.4c and 1.4d show tree hourly sap flow responses to WVC- 25 cm depth for EF and

IF trees, respectively, indicating that values were greatest when VWC- 25 cm depth was $< 0.73 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-3}$, which was also confirmed in the regression tree. The lower VWC- 25 cm depth values were found for EF trees, of which 59.9% of the measurements were less than the $0.73 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-3}$ threshold, whereas in IF trees only 2.3% of the measurements were under this threshold. These findings may explain why EF trees presented the highest sap flow values.

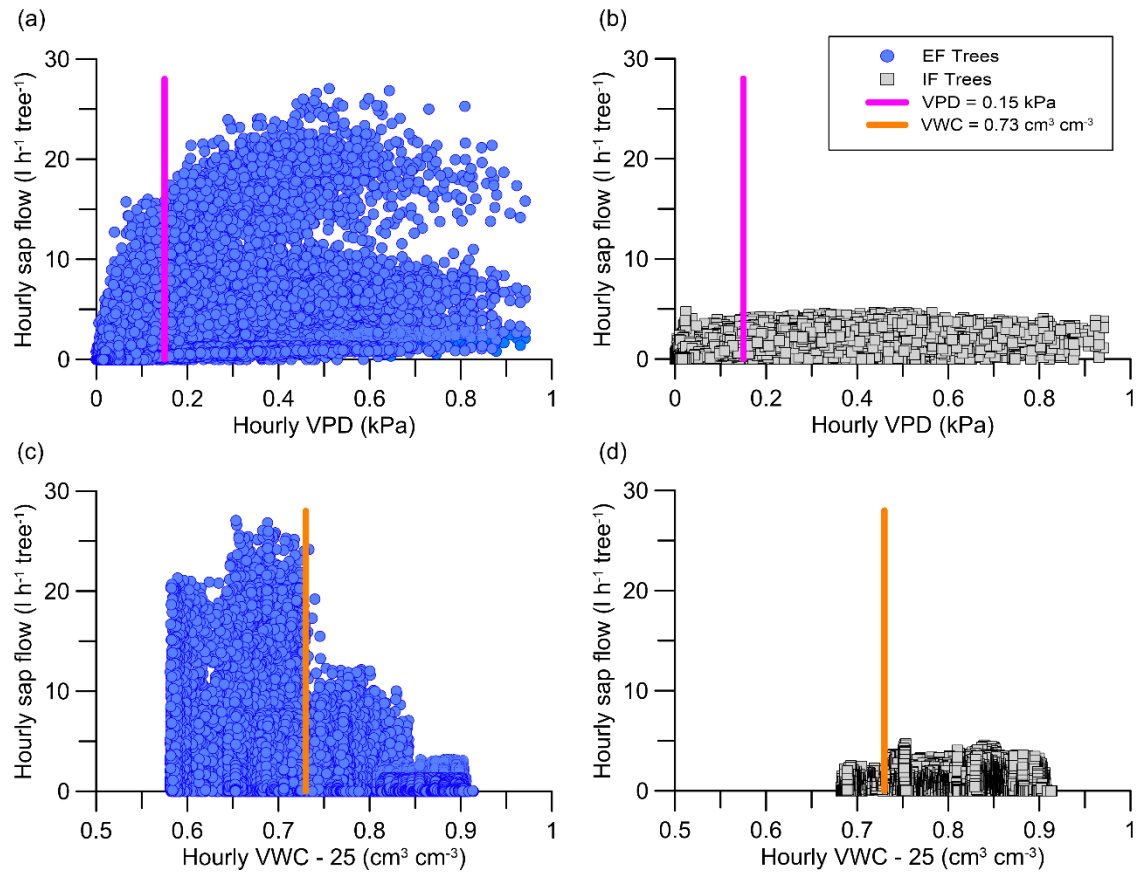
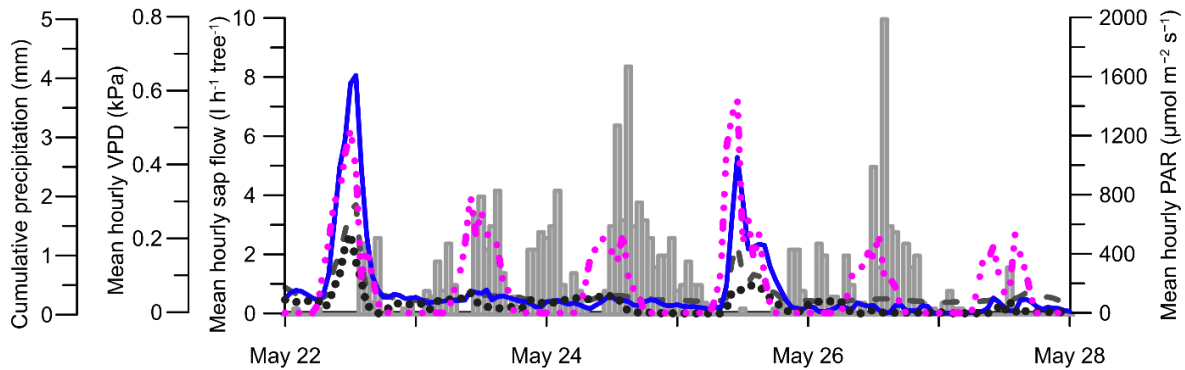


Figure 1.4. (a) General patterns of sap flow dynamics during both study periods, February 1st - December 31st, 2018 and February 1st - December 31st, 2019, in relation to hourly VPD for EF trees; (b) General patterns of sap flow dynamics during both study periods in relation to hourly VPD for IF trees; (c) Relationship between hourly sap flow and hourly VWC- 25 cm depth during both study periods for EF trees; (d) Relationship between hourly sap flow and hourly VWC- 25 cm depth during both study periods for IF trees. EF = Edge of the forest (n = 6 trees); IF = Interior of the forest (n = 5 trees).

3.3 Water use dynamics in windows with more favorable atmospheric conditions

(a) Window during wet period in 2019



(b) Window during dry period in 2018

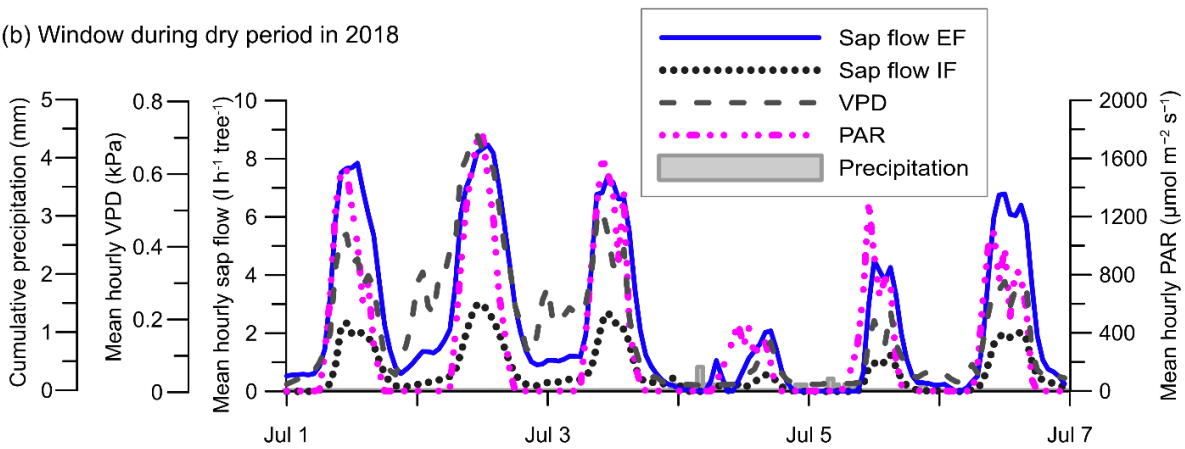


Figure 1.5. (a) Hourly values of precipitation, VPD, sap flow and PAR within a wet window of the 2019 study period (May 22nd – May 28th 2019) for EF and IF trees. (b) Hourly values of precipitation, VPD, sap flow and PAR within a dry window of the 2018 study period (July 1st – July 7th 2018) for EF and IF trees.

Figure 1.5a shows the relationship between *P. reticulata* sap flow for EF and IF trees and daily values of PAR, VPD and precipitation within a wet window in May 22-28, 2019. During this wet window, precipitation events are associated with both low VPD and low sap flow values, with sap flow only increasing during brief rainless windows when PAR and VPD are high. In contrast, Figure 1.5b shows *P. reticulata* sap flow in relation to daily values of PAR, VPD and precipitation within a dry window, July 1-7, 2018. In this case, wider windows without precipitation and high PAR and VPD are correlated with relatively high

sap flow values. This sap flow response is more pronounced for EF trees, which presented higher values than IF trees. These wet and dry windows are typical at the study site during the dry and wet period, respectively.

3.4 Whole tree sap flow for the studied years and tree location in the forest patch

Mean sap flow values for all trees were 23% higher in 2018 than in 2019 ($p < 0.001$, Mann-Whitney Wilcoxon test), with 27.4 ± 0.8 (SEM, Standard Error of the Mean) $\text{l day}^{-1} \text{ tree}^{-1}$ in 2018 and $21.1 \pm 0.8 \text{ l day}^{-1} \text{ tree}^{-1}$ in 2019 (Figure 1.6a). EF trees consistently presented higher sap flow values than IF trees ($p < 0.001$, Mann-Whitney Wilcoxon test) for both years (Figure 1.6b), with mean sap flow values 46% higher in EF than in IF. Mean daily sap flow values for EF trees were $34.7 \pm 1.1 \text{ l day}^{-1} \text{ tree}^{-1}$ (2018) and $25.1 \pm 0.9 \text{ l day}^{-1} \text{ tree}^{-1}$ (2019); mean values for IF trees were $18.3 \pm 0.6 \text{ l day}^{-1} \text{ tree}^{-1}$ (2018) and $14.1 \pm 0.5 \text{ l day}^{-1} \text{ tree}^{-1}$ (2019).

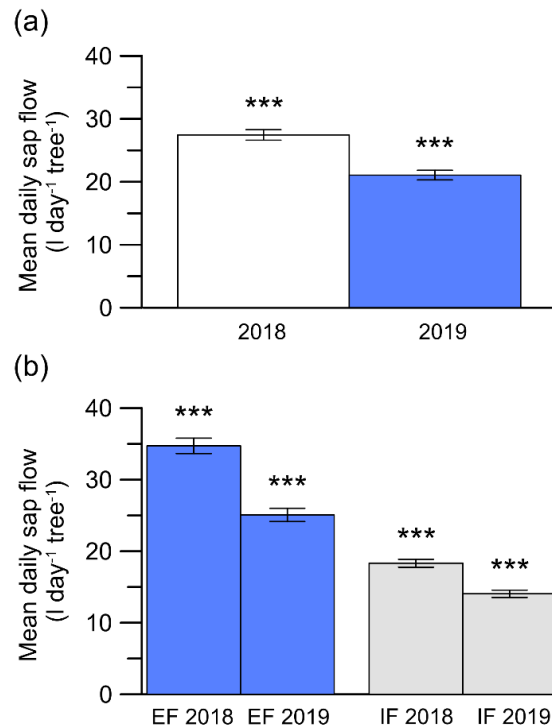


Figure 1.6. (a) Mean daily sap flow (mean $\pm$ SEM) for all the trees in both study periods; **(b)** Mean daily sap flow (mean $\pm$ SEM) for IF and EF trees in both study periods. For each case ($n = 334$ days); EF 2018, $n = 5$ trees; IF 2018, $n = 4$ trees; EF 2019, $n = 6$ trees; IF 2019, $n = 5$ trees; *** = $p < 0.001$, Mann-Whitney Wilcoxon test.

4. Discussion

4.1. Environmental drivers that control *P. reticulata* sap flow dynamics

In this study, we found that VPD is the main controller of *P. reticulata* sap flow dynamics, followed by soil VWC- 25 cm depth. Most sap flow occurs within restricted brief windows of high VPD and energy availability. Soil water content plays a secondary role in driving sap flow dynamics, being near saturation most of the year. These brief windows of most favorable conditions for sap flow are rare (11% of our measurements) and are likely critical for *P. reticulata*'s growth and survival, since tree-ring width in this species has been positively related with temperature, and, therefore, with energy availability (Alvites et al. 2019).

Previous studies on *Polylepis* water use measured instantaneous gas exchange at the leaf level over short time periods and in Andean páramo regions characterized by a more pronounced dry season (Rada et al. 1996, García-Núñez et al. 2004, Macek et al. 2009). For example, García-Núñez et al. (2004) compared *Polylepis* leaf gas exchange in a dry-cold and a wet-warm season in a semiarid tropical high mountain environment in the Bolivian Andes. They found significantly higher values of leaf conductance in the wet-warm season, but no significant differences in transpiration or photosynthetic rates, which suggests that trees were water limited in the dry season and energy limited in the wet season. The only previous study on *Polylepis* water use in the páramo (Rada et al. 1996) found that leaf conductance values were lower in the dry season despite higher VPD, compared to the wet season, which restricted transpiration losses. While direct comparison with these other studies is not possible due to the different methods used, our findings that *P. reticulata* sap flow increased with increasing VPD suggests that in contrast to these studies, *Polylepis* transpiration is not moisture limited at our much wetter *Polylepis* forest study site in the Ecuadorian Andes.

Studies on high montane and premontane tropical forests also found that VPD exerts a strong control on sap flow dynamics. Alvarado-Barrientos et al. (2014), working in a tropical montane cloud forest, found that high VPD together with low incoming solar radiation associated with the presence of dense fog reduced suppressed transpiration by 90% relative to sunny conditions. Since the presence of fog is frequent at our study site according to Berrones et al. (2021), it may play a role in reducing PAR and, therefore, energy availability

in *Polylepis* forests in the páramo. Aparecido et al. (2016), working in a premontane tropical forest, reported that in addition to VPD and PAR, LW also played a significant role in sap flux, reducing it by 28% with leaves being completely wet for about one third of the year. In our study, canopy wetness was only measured in the 2019 study period, and we found that the canopy was wet 80% of the time. Nevertheless, in contrast to the Aparecido et al. (2016) study, LW was not a main driver of sap flow in our *P. reticulata* trees for that period. Given that 2019 was a relatively wet year, further research is needed to understand the role of LW in controlling *P. reticulata* sap flow dynamics, especially during brief periods when leaf wetting events are followed by relatively low RH. Notably, Aparecido et al. (2016) and Alvarado-Barrientos et al. (2014) did not measure soil VWC, which was our second most important variable controlling sap flow dynamics when VPD and PAR conditions were very high, such that water demand from soil became more relevant. Nevertheless, soil VWC in this high páramo ecosystem is near saturation most of the year due the combination of soil type (e.g., organic soils with high moisture holding capacity) and the predominant climatic conditions (cool temperatures and relatively high rainfall evenly distributed throughout the year) (Bader et al. 2007). Sap flow increased when VWC- 25 cm depth was below the saturation threshold of $0.73 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-3}$ during periods of high VPD, but these conditions are not frequent in páramo ecosystem, and therefore soil VWC only exerted a significant control on sap flow 32% of the total measurement period.

The only previous study that continuously measured sap flow in páramo plant species was conducted in two caulescent rosette species belonging to the genus *Espeletia* spp. shrubs in an open páramo grassland in the Colombian Andes (Cárdenas et al. 2018). In agreement with our results, 76% of *Espeletia* spp. sap velocity variation was related to temperature, solar irradiance and relative humidity. Nevertheless, the study reported that transpiration in these species was a discontinuous process during the day that occurred chaotically over time: in some periods when environmental factors favored transpiration *Espeletia* sap flow values tended to decrease. Moreover, *Espeletia* spp. can store water and use it when water availability from the soil is limited (Cárdenas et al. 2018). For these reasons, the relationship between sap flow and environmental drivers was not significant, contrary to our findings for *P. reticulata* trees.

4.2 Differences in sap flow between dry and wet periods

P. reticulata sap flow dynamics was different in dry and wet conditions during the entire study period, which demonstrates that water use is restricted to windows with high evaporative demand and solar radiation, which are more frequent during dry periods. On the contrary, water use is suppressed during wet periods. Although annual cumulative precipitation was quite similar in 2018 and 2019, *P. reticulata* mean sap flow was higher in 2018, in agreement with the importance of windows with high energy availability for driving tree water use in our ecosystem. Although both years maintained relatively high soil VWC, in 2018 there were 36 % more favorable windows for transpiration (i.e. high VPD, high PAR and low VWC) than in 2019, leading to higher sap flow values. Other studies conducted in relatively wet environments have also documented higher evapotranspiration during dry periods compared to wet periods, due to high PAR and VPD (Carswell 2002, Da Rocha et al. 2004). This pattern is opposite to sap flow responses in water limited ecosystems such as the Mediterranean, where VWC is limiting and sap flow is higher during wet years with higher soil water availability (Sánchez-Costa et al. 2015). Some studies in water-limited ecosystems also highlighted the importance of groundwater to maintain transpiration rates in dry years (O’Grady et al. 1999, Nadal-Sala et al. 2019, Zimmerman et al. 2023), which suggests that in such ecosystems sap flow activity is driven by soil water availability, not by energy. At our tropical Andean high mountain site, intra-annual sap flow activity is restricted to brief periods with favorably high energy and VPD. The patterns of sap flow behavior discussed above are strongly dependent on water or energy limitation, depending on the ecosystem.

4.3 Differences in sap flow in forest edge vs. interior locations

The higher values of sap flow found in the EF trees compared to IF trees could be due to differences in VWC- 25 cm depth, since when $VPD > 0.15$ KPa, VWC became an important limiting factor below the saturation threshold for both EF and IF trees. EF trees were under that threshold for longer time periods than IF trees (59.9% of the measurement period vs. 2.3%), suggesting that in conditions of high evaporative demand, EF trees can use soil water to transpire, leading to differences in sap flow values between EF and IF trees. However, VWC is likely not the only factor that explains the differences in sap flow, since numerous other studies highlight the importance of advective energy in edge environment in driving

transpiration, especially under non-moisture limiting conditions (Taylor et al. 2001, Giambelluca et al. 2003, Herbst et al. 2007). The higher exposure of EF trees to advective energy and high VPD likely contribute to their higher values of sap flow compared to IF trees. A similar pattern was found in a riparian buffer forest in a humid temperate grassland-cropland landscape, where edge trees showed much higher transpiration than the interior trees (Hernandez-Santana et al. 2011). Gotsch et al. (2014) also reported higher volumetric sap flow values in the forest edge than in the interior of the forest, due to higher VPD exposure. The same was found in a Czech forest, where transpiration in edge trees was up to 16% higher than in the interior of the forest (Özçelik et al. 2022). Further, because *P. reticulata* primarily occur as small, scattered patches within the dominant páramo grassland landscape, a high proportion of these trees occur in edge environments where they are more likely to experience relatively higher transpiration rates.

4.4 Potential climate change implications for P. reticulata forests.

Our study provides valuable information to evaluate potential responses of *P. reticulata* trees in a humid Andean páramo to future climate conditions. Climate change projections predict significant warming in the tropical Andes by the end of the 21st century, which will be especially pronounced at higher elevations (Urrutia and Vuille 2009). Precipitation patterns in the Ecuadorian Andes are projected to increase in intensity during rainy periods, but with a reduction in the total number of wet days, leading to an increase in mean annual precipitation, but also more prolonged dry periods (Mora et al. 2014). Thus, under these projected climate conditions, the brief windows of high VPD discussed above will likely become more pronounced, potentially increasing *P. reticulata*'s transpiration if VWC remains relatively high. However, if longer dry periods lead to reduced soil water recharge, soil VWC could exert greater limitation on transpiration and growth. Nevertheless, since our results pertain to healthy and mature *P. reticulata* woodlands, sap flow patterns may be different for younger or less healthy trees.

Considering different species and biomes (deciduous forest, evergreen forest, grassland and savannah), a review by Grossiord et al. (2020) showed that, in general, at high VPD conditions, stomatal conductance declines, resulting in a reduced response of transpiration to VPD. However, the relationship between VPD and stomatal conductance is highly variable

across species, and even between leaves within the same plant (Gotsch, Asbjornsen, et al. 2014, Grossiord et al. 2020). In a tropical montane cloud forest in the southern Ecuadorian Andes, Motzer et al. (2005) found that transpiration was restricted by stomatal closure when $VPD > 1 - 1.2$ kPa. Information on the stomatal conductance response to VPD in *Polylepis* genus is scarce. In a study conducted in the páramo ecosystem, Rada et al. (1996) measured instantaneous gas exchange at the leaf level and found that *P. sericea* also responds to high VPD ($VPD > 1.4$ kPa) with a decrease in leaf conductance to reduce water loss by transpiration. In our case, *P. reticulata* seems to show a low stomatal sensitivity to increased VPD given that no significant constraint on transpiration occurred under high VPD conditions ($VPD > 0.8$ kPa). Since low stomatal sensitivity has been associated with high vulnerability to hydraulic dysfunction due to embolism (Hoffmann et al. 2011), if high VPD periods become prolonged in the future promoting higher transpiration and water loss, *P. reticulata* could experience excessive damage to its hydraulic conductive tissues.

4.5 Future perspective and conclusion

To conclude, we have shown the relevance of brief windows with high VPD ($VPD > 0.15$ kPa) for mature *P. reticulata* trees water use dynamics in the Ecuadorian Andean páramo, which is clearly an energy limited ecosystem. We have also shown the secondary role of soil VWC, that only gains importance with high VPD when $VWC - 25$ cm depth < 0.73 cm³ cm⁻³, since soil moisture typically remains near saturation year-round under current conditions. Moreover, we found higher sap flow values in 2018, which were associated with the greater frequency of windows with more favorable conditions compared to the 2019 year. Finally, we observed higher sap flow values for edge trees than for interior trees. Future research to advance understanding of *P. reticulata*'s strategies for adapting to future climate change should focus on using controlled experimental field manipulations to simulate future conditions and allow for a more precise assessment of physiological and environmental thresholds. Another important area of research is to assess the implications of climate change-induced changes to *Polylepis*' transpiration patterns on páramo water balance.

5. Funding

This research was financially supported by Central Research Office (DIUC) of the Universidad de Cuenca (Ecuador) and by the University of New Hampshire in the framework

of the project “The ecohydrologic functions of *Polylepis* forests within the Andean páramo and their resilience and vulnerability to climate change”.

6. Author’s contributions

All authors planned and designed the research. P.C. and H.A. obtained financial support. A.C-H. built sap flow sensors, conducted field measurements and analyzed data. A.C-H. wrote the manuscript. S.S., P.C. and H.A. discussed and edited the manuscript until the final version approval.

7. Acknowledgements

Authors thank the following for their contributions to field and lab work and scientific advice: David Moore, José Gutiérrez, Emily Beard, Amanda Suqui, Franklin Marín and María Roo. We extend a special thank you to Kathy Steppe and three anonymous reviewers for valuable suggestions that improved this paper. Authors also thank the Ecuadorian Environmental Ministry for the provision of the research permits to conduct this study (164-18-IC-FLO-DPAA/MA). This manuscript is an outcome of the Doctorate Program in Ecology, Environmental Sciences and Plant Physiology by Universitat de Barcelona, Spain.

8. Supplementary Data

Table S1.1. Calibration curves equations for the 15 WCR sensors, obtained by plotting VWC (Volumetric Soil Water Content, in cm^3/cm^3) against P (CS616 WCR output period, in microseconds).

Sap flow station	Location	WCR depth	Calibration curve equation
1	Interior	Organic superficial horizon (VWC – 10 cm depth)	$\text{VWC} = 0.0011\text{P}^2 - 0.0324\text{P} + 0.3433$
1	Interior	Organic medium horizon (VWC – 25 cm depth)	$\text{VWC} = -0.0018\text{P}^2 + 0.1449\text{P} - 2.1046$
1	Interior	Mineral horizon (VWC – 35 cm depth)	$\text{VWC} = 0.0235\text{P} - 0.0512$
2	Interior	Organic superficial horizon (VWC – 10 cm depth)	$\text{VWC} = 0.0377\text{P} - 0.6418$
2	Interior	Organic medium horizon (VWC – 25 cm depth)	$\text{VWC} = 1\text{E-}05\text{P}^2 + 0.0341\text{P} - 0.4965$
2	Interior	Mineral horizon (VWC – 35 cm depth)	$\text{VWC} = -0.001\text{P}^2 + 0.0844\text{P} - 1.1423$
3	Interior	Organic superficial horizon (VWC – 10 cm depth)	$\text{VWC} = -0.0007\text{P}^2 + 0.0722\text{P} - 0.8242$
3	Interior	Organic medium horizon (VWC – 25 cm depth)	$\text{VWC} = -0.0038\text{P}^2 + 0.2959\text{P} - 5.007$
3	Interior	Mineral horizon (VWC – 35 cm depth)	$\text{VWC} = 0.0027\text{P}^2 - 0.137\text{P} + 2.0068$
4	Edge	Organic superficial horizon (VWC – 10 cm depth)	$\text{VWC} = 0.0013\text{P}^2 - 0.0457\text{P} + 0.6884$
4	Edge	Organic medium horizon (VWC – 25 cm depth)	$\text{VWC} = -0.0002\text{P}^2 + 0.0327\text{P} - 0.1999$
4	Edge	Mineral horizon (VWC – 35 cm depth) *	$\text{VWC} = -0.0002\text{P}^2 + 0.0327\text{P} - 0.1999$
5	Edge	Organic superficial horizon (VWC – 10 cm depth)	$\text{VWC} = -0.0004\text{P}^2 + 0.0576\text{P} - 0.79$
5	Edge	Organic medium horizon (VWC – 25 cm depth)	$\text{VWC} = 0.0003\text{P}^2 + 0.0147\text{P} - 0.0103$
5	Edge	Mineral horizon (VWC – 35 cm depth)	$\text{VWC} = 0.0061\text{P}^2 - 0.3947\text{P} + 6.7515$

***In this case, mineral horizon was at the same depth than organic medium horizon**

Table S1.2. Characterization of forest interior and forest edge conditions during 2018 study period for air temperature, relative humidity (RH), vapor pressure deficit (VPD) and soil volumetric water content (VWC) at three different depths.

IF = interior of the forest (gray); EF = edge of the forest (blue)

	2018										
	February	March	April	May	June	July	August	September	October	November	December
Temperature IF (°C)	6.5 ± 0.9	6.4 ± 0.7	5.4 ± 0.6	5.8 ± 0.5	4.6 ± 1.8	4.2 ± 0.7	4.3 ± 0.9	5.4 ± 1.2	6.7 ± 0.6	7.0 ± 0.7	6.2 ± 0.7
Temperature EF (°C)	6.6 ± 0.9	6.5 ± 0.6	5.6 ± 0.7	6.1 ± 0.6	5.0 ± 1.4	4.5 ± 0.8	4.6 ± 0.8	5.5 ± 1.0	6.7 ± 0.5	7.1 ± 0.7	6.3 ± 0.6
RH IF (%)	84.8 ± 7.9	87.3 ± 4.5	88.8 ± 7.0	91.8 ± 2.4	89.8 ± 5.6	90.1 ± 6.9	89.4 ± 4.9	81.7 ± 11.5	81.9 ± 10.4	87.1 ± 6.5	85.6 ± 10.0
RH EF (%)	89.1 ± 8.4	91.6 ± 4.3	91.4 ± 8.8	95.0 ± 3.0	92.8 ± 7.3	93.3 ± 8.5	93.2 ± 5.1	85.5 ± 12.7	85.5 ± 11.8	90.1 ± 7.9	89.8 ± 10.9
VPD IF (kPa)	0.16 ± 0.09	0.14 ± 0.06	0.11 ± 0.07	0.08 ± 0.03	0.10 ± 0.06	0.09 ± 0.07	0.10 ± 0.05	0.18 ± 0.11	0.20 ± 0.11	0.14 ± 0.07	0.15 ± 0.12
VPD EF (kPa)	0.14 ± 0.08	0.12 ± 0.05	0.11 ± 0.08	0.08 ± 0.04	0.09 ± 0.07	0.08 ± 0.07	0.10 ± 0.05	0.17 ± 0.11	0.18 ± 0.11	0.14 ± 0.08	0.14 ± 0.11
VWC- 10 cm IF (cm ³ cm ⁻³)	0.55 ± 0.03	0.56 ± 0.02	0.60 ± 0.01	0.63 ± 0.02	0.62 ± 0.02	0.62 ± 0.02	0.62 ± 0.01	0.59 ± 0.03	0.48 ± 0.04	0.47 ± 0.04	0.48 ± 0.02
VWC- 10 cm EF (cm ³ cm ⁻³)	0.72 ± 0.03	0.72 ± 0.02	0.76 ± 0.01	0.78 ± 0.01	0.78 ± 0.02	0.78 ± 0.01	0.78 ± 0.01	0.75 ± 0.03	0.66 ± 0.03	0.64 ± 0.03	0.65 ± 0.01
VWC- 25 cm IF (cm ³ cm ⁻³)	0.79 ± 0.01	0.79 ± 0.00	0.80 ± 0.00	0.81 ± 0.00	0.80 ± 0.01	0.80 ± 0.00	0.80 ± 0.00	0.80 ± 0.01	0.77 ± 0.01	0.75 ± 0.01	0.76 ± 0.00
VWC- 25 cm EF (cm ³ cm ⁻³)	0.70 ± 0.02	0.71 ± 0.01	0.75 ± 0.01	0.78 ± 0.02	0.78 ± 0.01	0.79 ± 0.01	0.79 ± 0.01	0.77 ± 0.02	0.68 ± 0.02	0.66 ± 0.02	0.65 ± 0.01
VWC- 35 cm IF (cm ³ cm ⁻³)	0.70 ± 0.00	0.70 ± 0.00	0.71 ± 0.00	0.71 ± 0.00	0.71 ± 0.00	0.71 ± 0.00	0.71 ± 0.00	0.71 ± 0.00	0.69 ± 0.01	0.69 ± 0.01	0.70 ± 0.00
VWC- 35 cm EF (cm ³ cm ⁻³)	0.58 ± 0.03	0.57 ± 0.01	0.60 ± 0.02	0.61 ± 0.02	0.59 ± 0.03	0.59 ± 0.02	0.58 ± 0.01	0.57 ± 0.02	0.51 ± 0.01	0.51 ± 0.01	0.52 ± 0.01

Table S1.3. Characterization of forest interior and forest edge conditions during 2019 study period for air temperature, relative humidity (RH), vapor pressure deficit (VPD) and soil volumetric water content (VWC) at three different depths.

IF = interior of the forest (gray); EF = edge of the forest (blue)

	2019										
	February	March	April	May	June	July	August	September	October	November	December
Temperature IF (°C)	6.6 ± 0.7	6.9 ± 0.7	0.6 ± 0.4	6.1 ± 0.7	4.6 ± 1.8	4.5 ± 0.9	3.9 ± 1.2	5.4 ± 0.8	5.6 ± 0.7	6.5 ± 0.8	8.0 ± 2.3
Temperature EF (°C)	6.9 ± 0.5	7.0 ± 0.6	6.8 ± 0.5	6.4 ± 0.7	5.2 ± 1.4	4.8 ± 0.9	4.2 ± 1.0	5.5 ± 0.8	5.8 ± 0.7	6.7 ± 0.7	8.0 ± 2.0
RH IF (%)	90.8 ± 3.8	89.4 ± 2.8	89.7 ± 4.0	89.8 ± 4.1	91.7 ± 6.2	89.8 ± 8.4	88.6 ± 8.9	86.3 ± 5.5	89.8 ± 3.5	89.0 ± 3.5	88.7 ± 6.3
RH EF (%)	95.6 ± 3.1	94.4 ± 2.6	94.1 ± 4.5	94.1 ± 4.6	95.7 ± 3.8	94.2 ± 5.2	92.5 ± 7.2	91.0 ± 6.0	94.6 ± 4.0	94.3 ± 3.7	93.5 ± 5.9
VPD IF (kPa)	0.10 ± 0.05	0.12 ± 0.04	0.11 ± 0.05	0.11 ± 0.05	0.08 ± 0.06	0.09 ± 0.08	0.10 ± 0.09	0.14 ± 0.06	0.10 ± 0.04	0.12 ± 0.04	0.13 ± 0.09
VPD EF (kPa)	0.08 ± 0.05	0.10 ± 0.04	0.10 ± 0.06	0.09 ± 0.06	0.06 ± 0.08	0.08 ± 0.09	0.09 ± 0.10	0.11 ± 0.07	0.08 ± 0.05	0.09 ± 0.05	0.10 ± 0.09
VWC- 10 cm IF (cm ³ cm ⁻³)	0.57 ± 0.02	0.57 ± 0.02	0.59 ± 0.02	0.61 ± 0.02	0.65 ± 0.02	0.66 ± 0.02	0.67 ± 0.02	0.62 ± 0.02	0.60 ± 0.02	0.60 ± 0.02	0.62 ± 0.03
VWC- 10 cm EF (cm ³ cm ⁻³)	0.73 ± 0.02	0.74 ± 0.02	0.76 ± 0.01	0.78 ± 0.02	0.81 ± 0.01	0.81 ± 0.01	0.81 ± 0.01	0.77 ± 0.02	0.76 ± 0.02	0.78 ± 0.02	0.78 ± 0.02
VWC- 25 cm IF (cm ³ cm ⁻³)	0.80 ± 0.01	0.79 ± 0.01	0.79 ± 0.00	0.80 ± 0.01	0.80 ± 0.01	0.80 ± 0.00	0.80 ± 0.00	0.79 ± 0.01	0.78 ± 0.00	0.79 ± 0.00	0.79 ± 0.01
VWC- 25 cm EF (cm ³ cm ⁻³)	0.77 ± 0.02	0.77 ± 0.01	0.77 ± 0.01	0.78 ± 0.02	0.80 ± 0.01	0.81 ± 0.01	0.81 ± 0.01	0.78 ± 0.01	0.78 ± 0.02	0.79 ± 0.01	0.79 ± 0.02
VWC- 35 cm IF (cm ³ cm ⁻³)	0.71 ± 0.00	0.71 ± 0.00	0.71 ± 0.00	0.71 ± 0.00	0.71 ± 0.00	0.71 ± 0.00	0.71 ± 0.00	0.70 ± 0.00	0.71 ± 0.00	0.71 ± 0.00	0.71 ± 0.00
VWC- 35 cm EF (cm ³ cm ⁻³)	0.61 ± 0.03	0.58 ± 0.02	0.58 ± 0.02	0.59 ± 0.03	0.61 ± 0.02	0.61 ± 0.02	0.60 ± 0.02	0.56 ± 0.01	0.56 ± 0.02	0.57 ± 0.02	0.59 ± 0.04

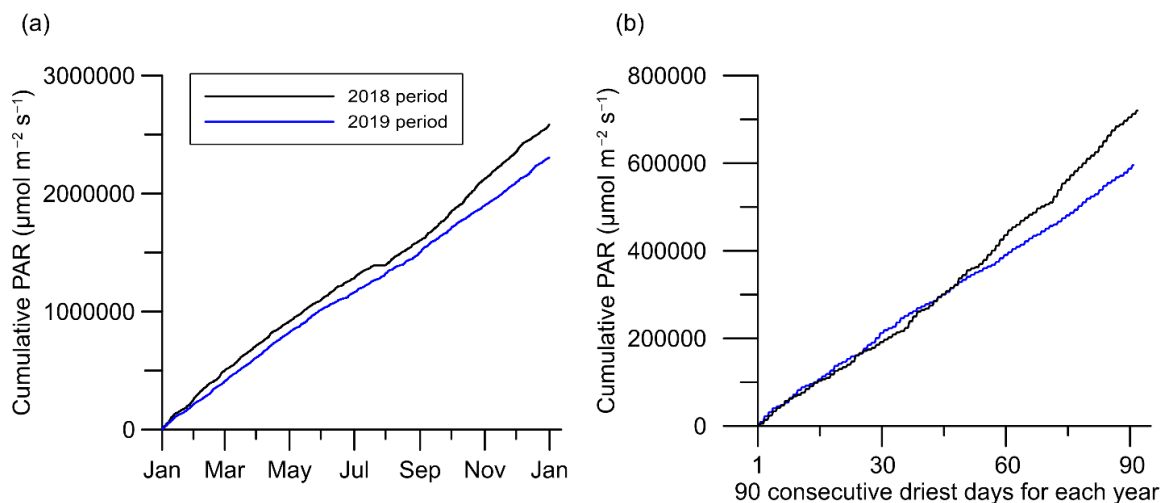


Figure S1.1. (a) Cumulative PAR during the 2018 and 2019 study periods; **(b)** Cumulative PAR during the 2018 and 2019 90 consecutive driest days.

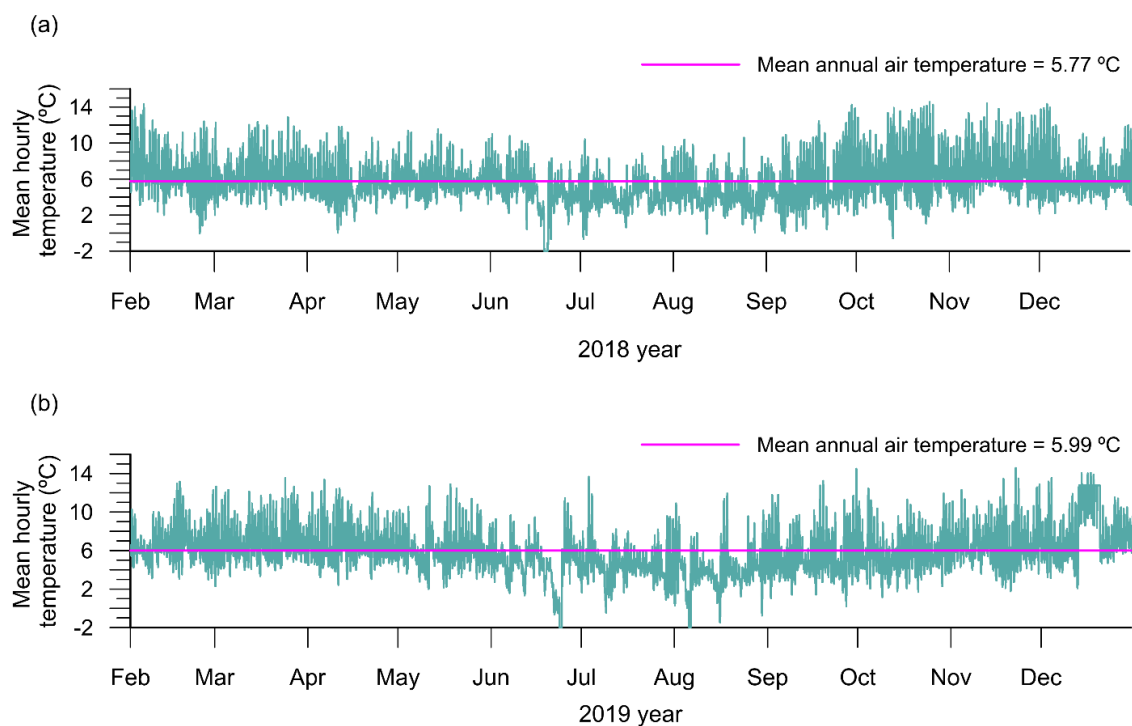
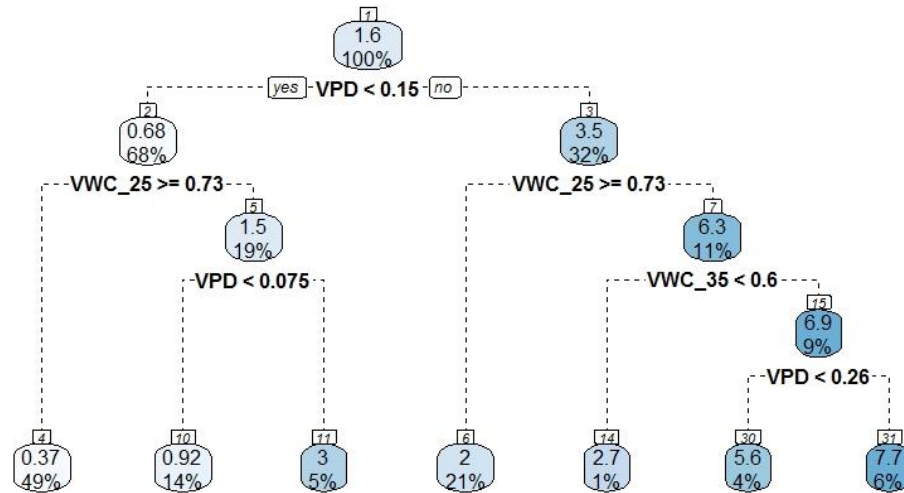


Figure S1.2. (a) Mean hourly and mean annual air temperature during the 2018 study period; **(b)** Mean hourly and mean annual air temperature during the 2019 study period.

(a)



(b)

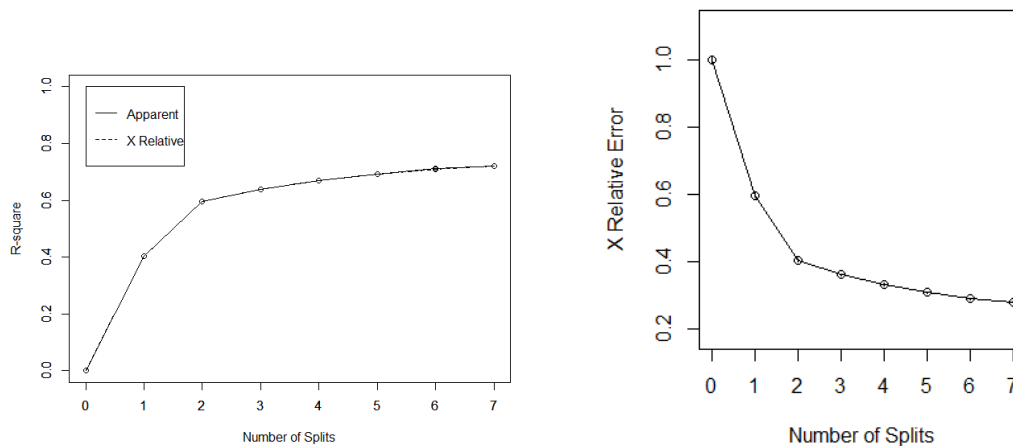


Figure S1.3. (a) *P. reticulata* sap flow dynamics regression tree. Each node shows the mean sap flow ($\text{l h}^{-1} \text{ tree}^{-1}$) and the percentage of data included in the node. The first split shows that VPD controls 100% of the transpiration with a threshold of 0.15 kPa. Then, transpiration is also controlled by VWC- 25 cm depth, with a threshold of $0.73 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-3}$. Light blue represents the lower sap flow values, whereas dark blue represents the higher ones, that occur when $\text{VPD} > 0.15 \text{ kPa}$ and $\text{VWC- 25 cm depth} < 0.73 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-3}$ (11% of the data) **(b)** Cross validation analysis.

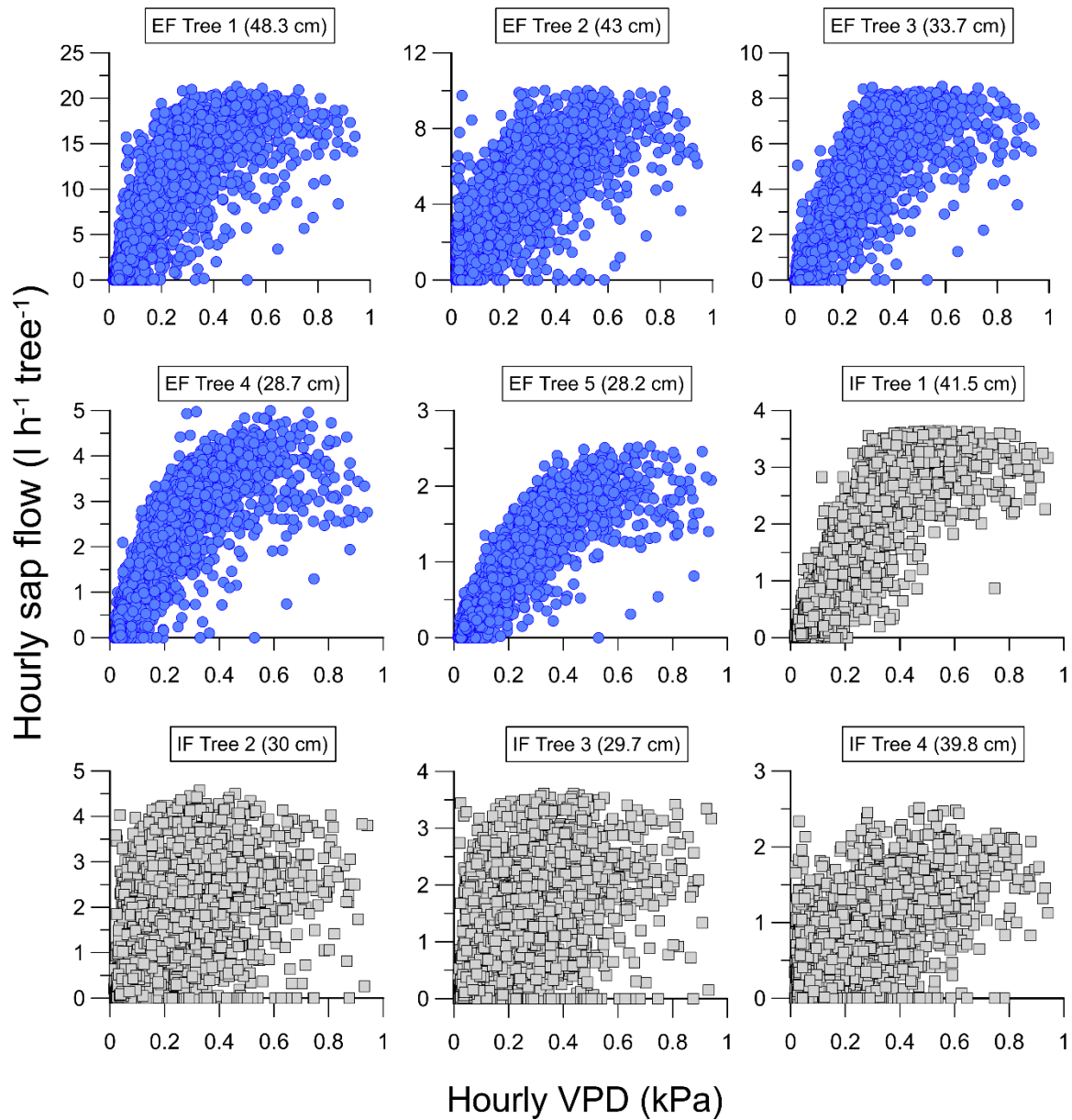


Figure S1.4. Relation between hourly sap flow and hourly VPD for each measured tree during the 2018 period (n = 9). In brackets, diameter at breast height value in cm.

EF = Edge of the forest; IF = Interior of the forest.

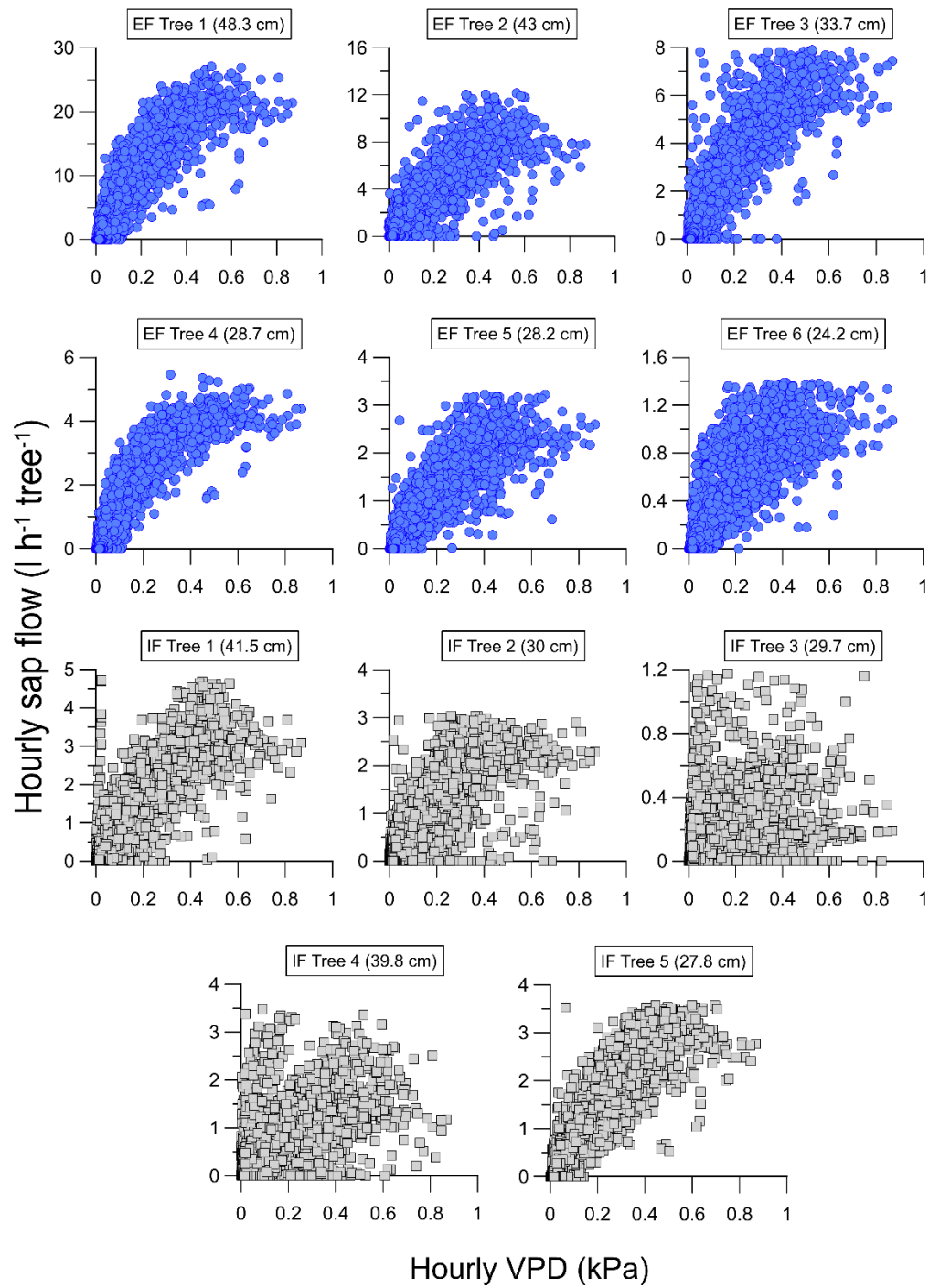


Figure S1.5. Relation between hourly sap flow and hourly VPD for each measured tree during the 2019 period (n = 11). In brackets, diameter at breast height value in cm.

EF = Edge of the forest; IF = Interior of the forest.

CAPÍTULO 2



CAPÍTULO 2

Characterizing the photosynthetic potential at the top of the Andean treeline. The case of *Polyelpis reticulata*.

Aldemar Carabajo-Hidalgo^{1,2}, Daniel Nadal-Sala^{2,3}, Heidi Asbjornsen⁴, Patricio Crespo¹, Henrietta Hampel⁵ and Santiago Sabaté^{2,3}

¹Departamento de Recursos Hídricos y Ciencias Ambientales, Facultad de Ingeniería, Universidad de Cuenca, Campus Balzay, Cuenca, 010107, Ecuador; ²Departamento de Biología Evolutiva, Ecología y Ciencias Ambientales, Universitat de Barcelona, Av. Diagonal, 643, 08028, Barcelona, Spain; ³CREAF (Centre de Recerca i Aplicacions Forestals), Campus de Bellaterra (UAB) Edifici C., Cerdanyola del Vallès, 08193, Spain; ⁴Department of Natural Resources and the Environment and Earth Systems Research Center, University of New Hampshire, 114 James Hall, Durham, NH 03824, USA; ⁵Laboratorio de Ecología Acuática, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Cuenca, Campus Balzay, Cuenca, 010107, Ecuador.

El texto, tablas y figuras de este capítulo han sido enviados para su publicación a **Tree Physiology**, TP-2024-118 y actualmente se encuentran bajo revisión.

Resumen del capítulo 2

Polylepis reticulata es una especie amenazada endémica del páramo andino del género que crece a mayor altitud en el mundo. A pesar de tener abundante disponibilidad de agua durante todo el año, los árboles de *P. reticulata* enfrentan condiciones ambientales extremas, tales como bajas temperaturas y eventos frecuentes y persistentes de alta nubosidad y niebla, que crean una elevada variabilidad en la radiación solar incidente. Sin embargo, se conoce muy poco sobre cómo el aparato fotosintético de la especie se adapta a este ambiente extremo, debido a la inaccesibilidad del ecosistema páramo y a la escasez de investigaciones previas. En este estudio medimos el potencial fotosintético de *P. reticulata* a 3800 m.s.n.m. utilizando el modelo de Farquhar para caracterizar su fotosíntesis en respuesta a condiciones ambientales cambiantes. También aplicamos el modelo de comportamiento estomático óptimo para caracterizar el comportamiento estomático y la estrategia de uso del agua de esta especie. Encontramos que la fotosíntesis de *P. reticulata* se satura a una PAR relativamente baja ($340 - 730 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Además, la elevada cinética de carboxilación de la Rubisco de esta especie ($V_{\text{cmax}25} = 83.1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ [73.5-92.7 95% CI]) indica un elevado potencial fotosintético. El análisis del costo de carbono por unidad de agua transpirada sugiere una estrategia de uso poco ahorradora del agua ($g_1 = 4.38 \pm 0.11$). La combinación de estos resultados sugiere que *P. reticulata* tiene un aparato fotosintético altamente eficiente y un control estomático relativamente débil, aprovechando las escasas ventanas de alta radiación en el páramo y adaptándose a un ambiente limitado por la energía en lugar de limitado por el agua.

Abstract

Polylepis reticulata is an endangered Andean páramo endemic species from the tree genus that grows at the highest altitude in the world. Despite having abundant available water year-round, *P. reticulata* trees face extreme environmental conditions, namely low temperatures and frequent and persistent clouds and fog, which create extremes in solar irradiance. Yet, little is known about how its photosynthetic apparatus adapts to this extreme environment due to the páramo's inaccessibility and paucity of previous research. We measured its photosynthetic potential at 3800 m.a.s.l. and used the Farquhar model to characterize its photosynthesis in response to changing environmental conditions. We also applied the Optimal Stomatal Behavior model to characterize this species' stomatal behavior and water management strategy. We found *P. reticulata*'s photosynthesis saturates at relatively low PAR (340 – 730 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Additionally, this species' high Rubisco carboxylation kinetics ($V_{\text{cmax}25} = 83.1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ [73.5-92.7 95% CI]) indicates an elevated photosynthetic potential. The carbon cost per unit of water transpired analysis suggests a profligate water use strategy ($g_1 = 4.38 \pm 0.11$). Combined, these results point towards *P. reticulata* having a highly efficient photosynthetic apparatus and relatively weak stomatal control, taking advantage of the rare high radiation conditions in the páramo and adapting to an energy-limited rather than water-limited environment.

Key words: carbon balance, energy limitation of photosynthesis, Farquhar model, high-mountain forests, leaf gas exchange, photosynthesis kinetics.

3. Introduction

The *Polylepis* genus is distributed across high altitudes in the Andes of South America from Venezuela to northern Argentina (Kessler and Schmidt-Lebuhn 2006). It includes the tree species that grow at the highest altitude world-wide (Hoch and Körner 2005). In the Ecuadorian Andes, *Polylepis reticulata* develops under the extreme climatic conditions of the páramo, characterized by large daily thermal amplitudes, as well as elevated cloudiness and recurrent fog, all combined with periods of high solar radiation. Such periods of high

photosynthetically active radiation (PAR) are limited and brief, which makes the páramo an energy-limited ecosystem (Carabajo-Hidalgo et al. 2023). Moreover, despite these solar radiation bursts, temperatures are usually low, inhibiting enzymatic reactions (García-Plazaola et al. 2015) and therefore tree growth (Alvites et al. 2019). On the other hand, water is hardly a limiting resource in the *P. reticulata* forest, since soil moisture is close to saturation most of the year and annual evaporative demand is about half of the precipitation (Alvites et al. 2019, Ochoa-Sánchez et al. 2019, Carabajo-Hidalgo et al. 2023). Under such extreme environmental conditions, *P. reticulata* mostly develops in forest patches within topographically protected areas, with high solar radiation and low wind exposure (Toivonen et al. 2017). Similar to other high-altitude tree species, *P. reticulata* forests are recognized as sentinels for potential impacts of climate change (Kimball and Weihrauch 2000). Hence, understanding the adaptive strategies of this species' to its environment can provide valuable insight into anticipated future responses and resilience of the páramo ecosystem to climate change and inform adaptive management approaches.

Notably, the harsh conditions in the páramo render “*in situ*” measurements of gas exchange to evaluate transpiration and photosynthetic responses to environmental conditions particularly challenging. Early evaluations of gas exchange dynamics for *P. sericea* showed that it maintains a positive carbon balance throughout the year, including prolonged dry and wet periods (Rada et al. 1996), suggesting a strong adaptive capacity to low temperatures and mild to moderate seasonal drought stress. García-Núñez et al. (2004) found *P. tarapacana* carbon assimilation to be constrained by low PAR during the wet season and by water deficit during the dry season; nevertheless, their results suggest that the species has coupled its gas exchange to these extreme environmental variations. Similar results were found in Azócar et al. (2007) and in García-Plazaola et al. (2015), with different *Polylepis* species showing positive carbon balances throughout the year, suggesting photosynthetic strategies to cope with unfavorable environmental factors. This agrees with recent observations that maximum carboxylation velocity (V_{cmax}) increases with decreasing temperatures in tree species growing (including *P. reticulata*) on sites with mean annual temperatures (MAT) below 15 °C, enabling these trees to maximize the carbon gain per unit of stomatal conductance (Westerband et al. 2023). Moreover, carbon assimilation and growth in most of *Polylepis* species studied so far have been found to be limited to some degree by moisture stress

(García-Núñez et al. 2004, Macek et al. 2009, García-Plazaola et al. 2015). While these observations provide valuable information on *Polylepis* species' photosynthetic responses to climate drivers, further research is needed to advance understanding of the unique adaptations of their photosynthetic apparatus to environmental extremes. For example, to the best of our knowledge, no studies have quantified the photosynthetic parameters derived from carbon assimilation response curves in relation to PAR or CO₂ for *P. reticulata*. These parameters are fundamental to characterize the photosynthetic potential of *P. reticulata*. Moreover, the characterization of such response is essential to parameterize the process-based models needed to explore the potential responses of *Polylepis* species to climate change (Peng et al. 2021, Han et al. 2023).

The aim of this study was to evaluate the photosynthetic potential of *P. reticulata*, a species growing in the high Andean tree line in Ecuador. To do so, we conducted a five-month field monitoring campaign at the Zhurucay Ecohydrological Observatory (ZEO) in southern Ecuador. Our specific objectives were to (1) quantify *P. reticulata*'s photosynthesis in response to changes in photosynthetic active radiation (A_n -PAR response) and atmospheric CO₂ concentration (A_n -C_a); (2) to characterize *P. reticulata* photosynthesis kinetics with measurements of V_{cmax} , J_{max} and A_{nmax} ; and (3) to characterize *P. reticulata*'s stomatal behavior to determine its water use strategy. Our starting hypotheses were that i) *P. reticulata*'s photosynthesis is highly responsive to increases in PAR, to take advantage of the infrequent and brief windows of favorable atmospheric conditions in the páramo; ii) carboxylation velocity of this species will be high, to sustain fast assimilation rates under PAR-saturated conditions; iii) relatively weak stomatal regulation of water use, due to year-long abundant water availability; finally iv) photosynthesis potential will be higher in trees located at the edge of the forest than in the interior, due to greater canopy exposure to atmospheric drivers.

4. Materials and methods

4.1. Experimental site

The study was conducted within an Andean *P. reticulata* forest at 3800 m a.s.l. in the Zhurucay Ecohydrological Observatory (ZEO) (3°04'S, 79°14'W), located on the Pacific side

of the eastern Andean cordillera in southern Ecuador (Figure 2.1). The Zhurucay micro-catchment has a drainage area of 7.53 km², and its land cover is characterized by tussock grasses (mainly *Calamagrostis intermedia*), cushion plants (mainly *Plantago rigida*), planted pine trees (*Pinus patula*), pastures, and patches of *Polylepis* forest, which represent 2% of the total land cover (Mosquera et al. 2015, Correa et al. 2016). Andosols and Histosols are the dominant soils, covering 72% and 24% of the micro-catchment area, respectively. The remaining area (4%) is covered by Leptosols. *Polylepis* trees are commonly covering the organic-rich Histosols (Correa et al. 2017). In the studied forest patch the dominant specie is *P. reticulata*, accompanied by other tree species such as *Escallonia myrtilloides*, *Oreopanax* sp., *Weinmannia* sp. and *Gynoxis* sp. (Suqui et al. 2021). Regarding microclimatic conditions, for a 2-year period (2018-2019) mean annual precipitation was 1298 mm, mean annual air temperature was 5.9 °C, mean annual relative humidity was 88%, mean annual photosynthetic active radiation was 274.5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and mean annual wind velocity was 3.55 m s⁻¹ (Carabajo-Hidalgo et al. 2023).

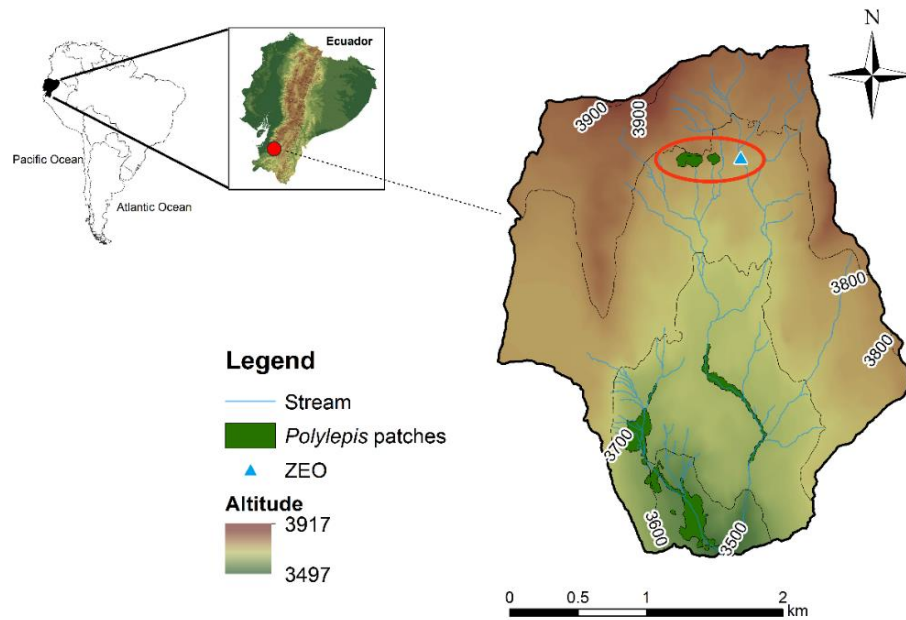


Figure 2.1. Location of the *P. reticulata* forest and the Zhurucay Ecohydrological Observatory (ZEO) in the Zhurucay microcatchment, Southern Ecuador.

2.2. Sampling

The páramo's dynamic weather precluded *in situ* measurements of *P. reticulata*'s photosynthetic responses due to the confounding effects of high atmospheric humidity and near-constant drizzle. In addition, the low temperatures in this high-altitude ecosystem quickly depletes the equipment's batteries, making it difficult to maintain the standard operating temperature of 20°C, and the trees' height (8 m on average) with inaccessible topographic positions greatly restrict access to canopy leaves. Consequently, all physiological measurements were conducted on trigs cut in field and transported to the laboratory. We tested the validity of this method by comparing the laboratory results with *in situ* measurements conducted during favorable weather conditions (i.e., low fog/cloud, high solar radiation) on the same plants (n=14), which showed no significant differences ($P > 0.88$, Mann-Whitney Wilcoxon test) (see Figure S2.1 available as Supplementary Data at the end of this chapter). This approach has also proven reliable in previous studies (Haldimann and Feller 2004, Niinemets et al. 2005, Sperlich et al. 2014).

We collected twigs with leaves from the upper canopy of healthy and mature *P. reticulata* trees randomly selected using pruning shears with telescope handle located in both the forest edge (n=127) and interior (n=97). Twigs were immediately cut again under water and kept in containers with water to avoid embolism (Haldimann and Feller 2004, Niinemets et al. 2005, Sperlich et al. 2014). We then transferred the twigs to the Department of Water Resources and Environmental Sciences laboratory at the University of Cuenca (Ecuador) for further measurements, which were conducted between September and December 2020, immediately after collection.

2.3. Photosynthetic measurements

Photosynthesis was measured on a Li-Cor LI-6400XT portable photosynthesis system equipped with a LI-6400-40 Leaf Chamber Fluorometer (Li-Cor, Inc., Lincoln, NE, USA). In total, we measured 224 curves in the collected twigs (132 light-response curves, A_n , in $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; and 92 CO_2 -response curves, C_i , in $\mu\text{mol mol}^{-1}$). For all response curve measurements leaves were dark-adapted for 45 min and then exposed to a saturating light pulse to determine the state of chloroplast's photosynthetic system, as indicated by fluorescence (F_v/F_m). We verified that the maximal fluorescence ratio were within the

optimum range (0.75-0.85), as stipulated by the manufacturing company. Leaves were then light-adapted for another 45 min, followed by measurements taken under constant conditions of leaf temperature (20 °C), air flow (300 $\mu\text{mol s}^{-1}$), and a time between logs (10-12 min). In cases where *P. reticulata* leaves were too small to fill the leaf cuvette (2 cm^2), leaf area was adjusted to the measurements (Sperlich et al. 2014).

Light-response curves (A_n -PAR) were obtained by changing PAR with the LI-6400XT light source following a sequence of eleven points: 0 $\rightarrow$ 2500 $\rightarrow$ 2000 $\rightarrow$ 1500 $\rightarrow$ 1000 $\rightarrow$ 600 $\rightarrow$ 400 $\rightarrow$ 200 $\rightarrow$ 100 $\rightarrow$ 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. These response curves were measured using four constant values of ambient CO_2 (C_a): 200, 400, 800 and 1200 $\mu\text{mol mol}^{-1}$.

CO_2 -response curves (A_n - C_i) were obtained by changing the values of C_a with a CO_2 mixer, following the sequence: 0 $\rightarrow$ 400 $\rightarrow$ 600 $\rightarrow$ 800 $\rightarrow$ 1000 $\rightarrow$ 1500 $\mu\text{mol mol}^{-1}$. After further analysis of the results, the initial six measurements for each curve were discarded because the inertia of the leaf photosynthesis provided anomalously high assimilation results, probably due to methodological issues. The points were measured at four constant values of PAR intensity: 200, 500, 1500 and 2500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

After data revision, we discarded 36 curves, some of them in which the state of the chloroplast's photosynthetic system were out of the optimum range (0.75-0.85), and some curves in which there wasn't a response to different light intensities and CO_2 concentration. Finally, we obtained 119 light-response curves, 64 measured in twigs from edge trees and 55 in twigs from interior trees; and 69 CO_2 -responses curves, 36 from edge trees and 33 from interior trees.

2.5. Data analysis

2.5.1 Assimilation response to PAR characterization

We characterized A_n responses to PAR increments from 119 individual response curves, assuming a Michaelis-Menten response, in the form of equation 1:

$$A_n = \frac{A_{n\max} \cdot \text{PAR}}{\text{PAR} + K_m} \quad \text{Equation 1]$$

Where PAR is the photosynthetically active radiation and K_m is the PAR at which $A_n = 0.5 \times A_{n\max}$ occurs, both in $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, and $A_{n\max}$ is the maximum assimilation rate (in μmolC

$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$). K_m and $A_{n\text{max}}$ parameters were obtained from inverse Bayesian calibration for each curve using the “BayesianTools” R package (Hartig et al. 2023). We used broad, uninformative uniform priors for each parameter, and we assumed a Gaussian likelihood distribution. We used the Differential Evolution algorithm with snooker update as a sampler, DEzs (Ter Braak and Vrugt 2008). Each calibration consisted of 30k model runs, with a burn-in of 15k runs. All calibrations for all curves had converged at this point (Gelman-Rubin score < 1.1 for all curves (Brooks and Gelman 1998)). Finally, we built the combined posterior per treatment (i.e., *interior* vs. edge position within the stand) by merging all individual posteriors for the curves at this treatment.

2.5.2 Farquhar’s model calibration

To characterize the net assimilation (A_n , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) in response to changes in PAR and atmospheric CO_2 (C_a , $\mu\text{mol mol}^{-1}$) the Farquhar, von Caemmerer and Bell photosynthesis model, FvCB (Farquhar et al. 1980, De Pury and Farquhar 1997), was calibrated. The general form of the model assumes that the net assimilation at a given moment equals the minimum assimilation between the Rubisco carboxylation (A_c , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and the RuBP regeneration (A_j , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) minus the dark respiration (R_d , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), as stated in equation 2:

$$A_n = \text{argmin}(A_c, A_j) - R_d \quad \text{Equation 2]$$

For the FvCB model calibration, two key parameters are required in the form of the maximum Rubisco carboxylation velocity at a reference temperature, here at 25 °C ($V_{\text{cmax}25}$) and the maximum RuBP regeneration ($J_{\text{max}25}$). Those two key parameters can be derived from A_n - C_i curves at different C_a and PAR conditions, while R_d was assumed to be 0.015 times the $V_{\text{cmax}25}$, following Collatz et al. (1991). Here we used a subsample of 15 A_n - C_i curves measured at non-limiting C_a conditions (i.e. $C_a \sim 600 \mu\text{mol mol}^{-1}$) to calibrate the $J_{\text{max}25}$ parameter following the setup described in Section 2.5.1 and computed the combined posterior for $J_{\text{max}25}$. Then, we used the combined $J_{\text{max}25}$ posterior as the prior for $J_{\text{max}25}$ to calibrate both $V_{\text{cmax}25}$ and $J_{\text{max}25}$ in another independent subset of 20 A_n - C_i curves measured at saturating PAR ($\text{PAR} > 1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Finally, we merged all 20 calibrated posteriors for both variables ($J_{\text{max}25}$ and $V_{\text{cmax}25}$) into a single combined posterior, representative of the

photosynthetic response both for A_c and A_j for the whole *P. reticulata* population, independent of each tree's position within the stand. Analyses on the responses were performed by sampling 1,000 times the combined posterior to run the FvCB model, to obtain the posterior uncertainty associated to the calibrated parameters.

2.5.3 Optimal Stomatal Behavior parameterization

We characterized the stomatal behavior of *P. reticulata* following the Optimal Stomatal Behavior model (Medlyn et al. 2011) from 222 pairs of A_n and g_s measurements belonging to 32 A_n - C_i curves following Lin et al., (2015). We selected the measurements performed at $400 \leq C_a \leq 1500$ and $PAR > 1500$ conditions to ensure no C_a or light limitations on A_n . We obtained the g_1 parameter, which relates to the water cost for carbon fixation – low g_1 values indicate low water cost for carbon fixation and vice-versa, according to equation 3:

$$g_1 = \frac{g_s}{1.6(A_n / C_a \sqrt{VPD})} \quad \text{Equation 3]$$

Where g_s is the stomatal conductance ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), A_n is the net assimilation ($\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$), C_a is the in-chamber CO_2 concentration ($\mu\text{mol mol}^{-1}$), VPD is the in-chamber vapor pressure deficit (kPa), and 1.6 is the water-to-carbon leaf conductance coefficient. To simplify the calculations, we assumed no residual cuticular conductance g_0 (Lin et al. 2015).

According to equation 2, we fit a linear mixed model between g_s and $A_n / C_a \sqrt{VPD}$ [hereafter called the carbon gain covariable (CGC)], in which the slope was proportional to g_1 . A batch of models were fit with the “lme4” R package (Bates et al. 2023), with the most complex model containing the Curve as a random factor on the intercept, and the interaction between the CGC and the Position as the fixed part. From the most complex model, we built all the possible combinations, and we selected the most parsimonious model by AICc [Akaike Information Criterion corrected by sample size, (Hurvich et al. 1998)] comparison.

3. Results

3.1 Assimilation responses to irradiation

Table 2.1. Photosynthetic responses to different PAR intensities and atmospheric CO₂ concentrations (C_a). K_m is the PAR at which A_n (μmol m⁻² s⁻¹) is half the maximum A_n. A_{nmax} is the maximum net assimilation rate (μmol m⁻² s⁻¹). Results are provided as the median for the Bayesian calibration, with 95% credible intervals. Letters in the same column indicate non-overlapping credible intervals.

Tree Position	C _a (μmol mol ⁻¹)	K _m (μmol m ⁻² s ⁻¹) Median [CI]	A _{nmax} (μmol m ⁻² s ⁻¹) Median [CI]
Interior	200	341 [184 - 693]a	12.3 [9.1 - 17]a
	400	450 [193 - 812]a	20.8 [12.0 - 33.4]a,b
	800	671 [348 - 951]a	34.9 [26.7 - 63.9]b
	1200	730 [345 - 969]a	39.9 [29.3 - 72.9]b
Edge	200	344 [153 - 929]a	10.6 [4.2 - 19]a,b
	400	203 [383 - 886]a	19.3 [11.6 - 28.2]a,b
	800	526 [312 - 935]a	33.6 [18.5 - 53.7]b
	1200	609 [313 - 989]a	40.7 [21.5 - 67]b

Photosynthesis in *P. reticulata* saturated (i.e., reached K_m in the Michaelis-Menten relationship) at relatively low PAR intensities (median values ranged 340 – 730 μmol m⁻² s⁻¹) independent of the atmospheric CO₂ concentration (C_a), indicating a rapid response of *P. reticulata*'s photosynthetic apparatus to changes in light intensity, independent of tree position within the stand (Table 2.1, Figure 2.2). This result suggests a finely tuned on-off switch in *P. reticulata*'s photosynthetic apparatus, probably reflecting an adaptive strategy to the páramo's extreme and rapidly fluctuating light conditions. As expected, although increasing C_a had no significant impact on photosynthesis response to PAR, it led to an increase in the maximum assimilation rate (A_{nmax}) above actual C_a ambient conditions (C_a ~ 400 μmol mol⁻¹). No differences were found regarding tree position in the stand, indicating that between-leaf differences in photosynthetic potential offsets differences due to leaf exposure to solar radiation.

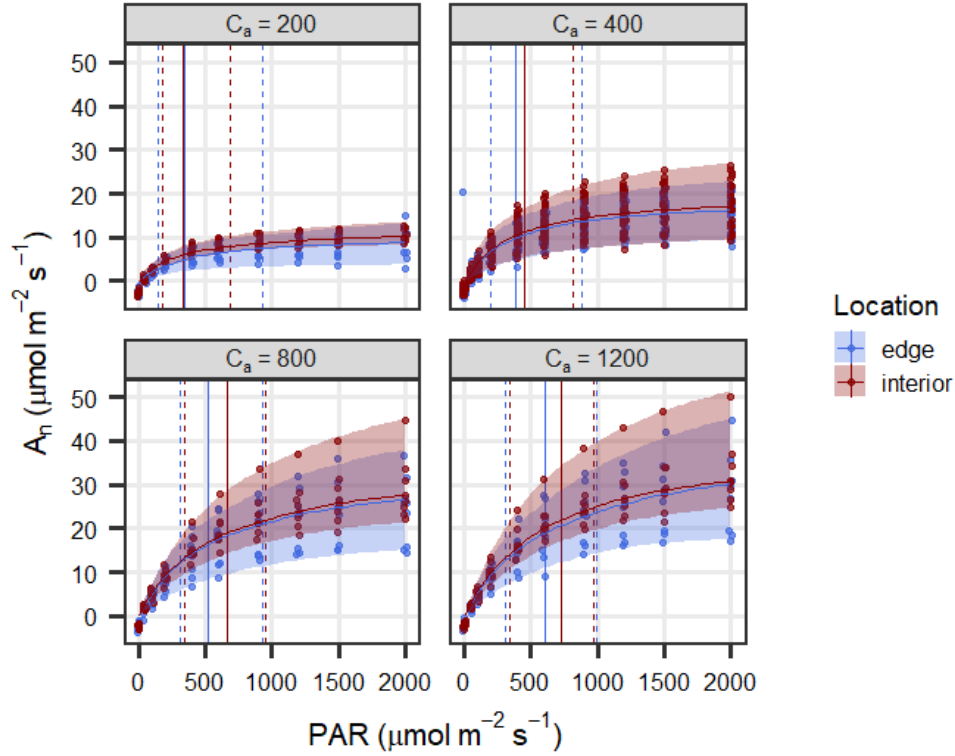


Figure 2.2. Photosynthetic assimilation (A_n , in $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) rate responses to changes in photosynthetically active radiation (PAR, in $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) for *P. reticulata* growing in the Zhurucay Ecological Observatory in the Ecuadorian páramo, and for four increasing in-chamber C_a concentrations. Shown are the median (solid line) and the 95% credible intervals (shadowed area) for a Michaelis-Menten relationship evaluated curve-wise over A_n responses to PAR, for each C_a concentration. The 14 curves were split in two groups (edge, interior), depending on the tree position within the stand. Vertical solid (dashed) lines represent the median (95% credible intervals) for the K_m parameter for each C_a concentration.

3.2 Photosynthesis kinetics in *P. reticulata*

After Farquhar's model inversion, median maximum carboxylation rate at 25 °C ($V_{\text{cmax}25}$, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) was $83.1 \pm 4.9 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (mean $\pm$ SE), whereas maximum RuBP-regeneration rate ($J_{\text{max}25}$) was $109.4 \pm 5.1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, highlighting the elevated photosynthetic potential of *P. reticulata*. Model simulations using the combined posterior

generally agreed well with the leaf-level A_n observations (Figure 2.3). Nonetheless, the model systematically overestimated assimilation at very low PAR conditions ($PAR < 400$), likely due to a systematic bias in the calibration curves obtained from light-saturated leaves.

The observed $J_{\max25} / V_{\max25}$ ratio of 1.31 was below average ratios previously reported in a systematic review by Kattge and Knorr (2007) for several temperate tree species (1.89) (Figure 2.4a). This indicates an elevated carboxylation potential for *P. reticulata*, likely linked to the páramo's environmental conditions characterized by short but intense bursts of solar radiation. This aligns with *P. reticulata*'s carboxylation velocity, which falls at the high end of the $V_{\max25}$ spectrum when compared with 58 plant species spanning a wide range of temperature and precipitation conditions (Westerband et al. 2023), with specially high values compared with species growing at similar MAP conditions (Figure 2.4b).

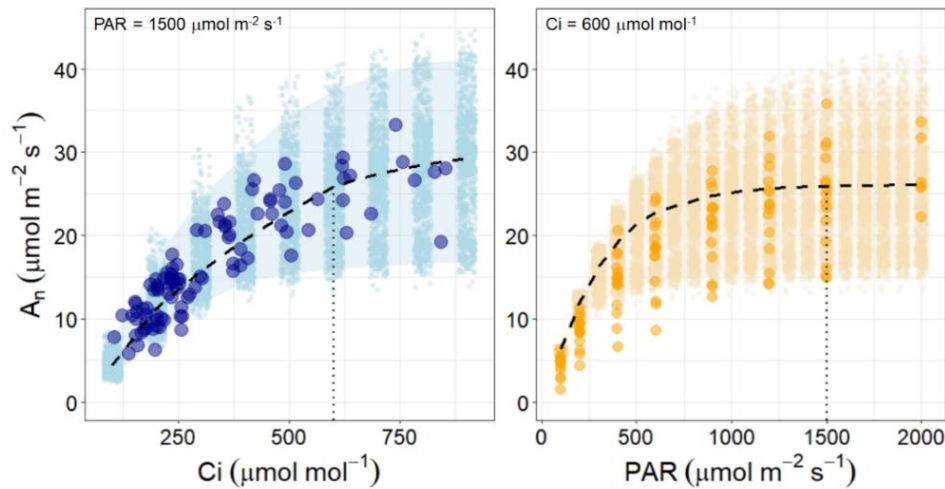


Figure 2.3. Modeled vs. measured assimilation rates (A_n , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) in response to varying interstitial carbon (C_i , $\mu\text{mol mol}^{-1}$) and photosynthetic active radiation (PAR $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) for *Polylepis reticulata* growing in the Zhurucay Ecological Observatory in the Ecuadorian páramo. A_n to C_i simulations used $PAR = 1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (right panel, dotted line), whereas A_n to PAR simulations used $C_i = 600 \mu\text{mol mol}^{-1}$ (left panel, dotted line), ensuring that the primary driver under evaluation was the limiting factor in each case. Solid dots: observations. Background dots: 1000 Farquhar's model simulations with combined posterior, showing their density distribution. Dashed black line: simulation median; color-shadowed area: 95% credible interval.

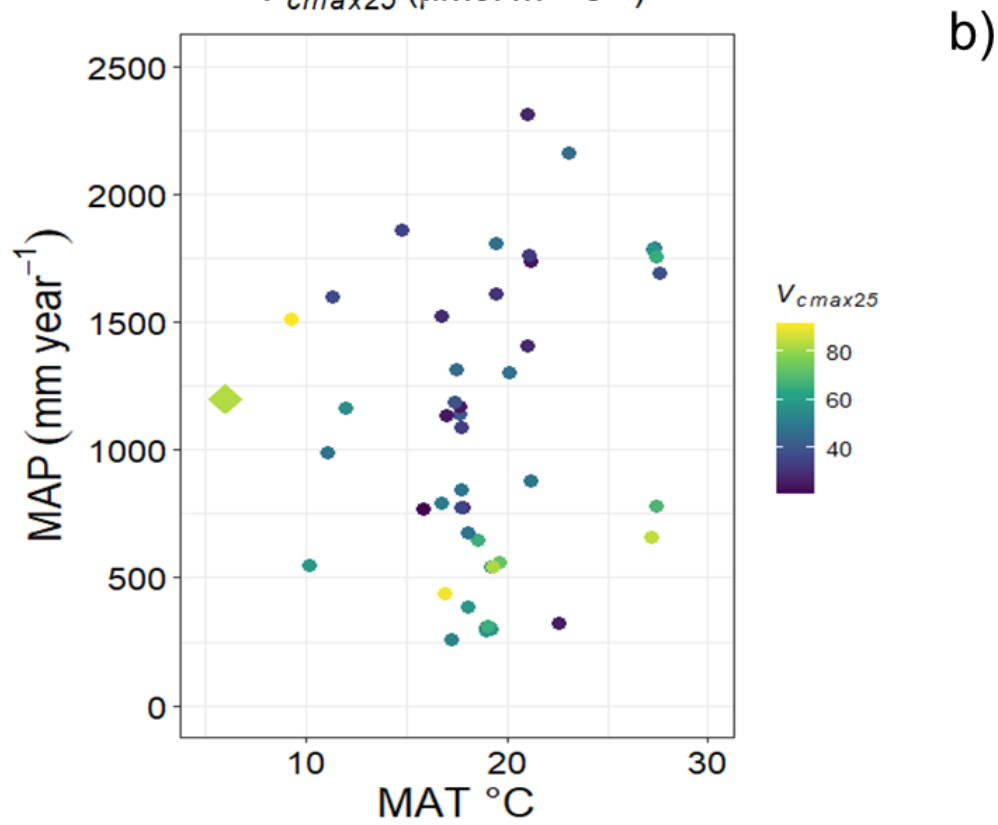
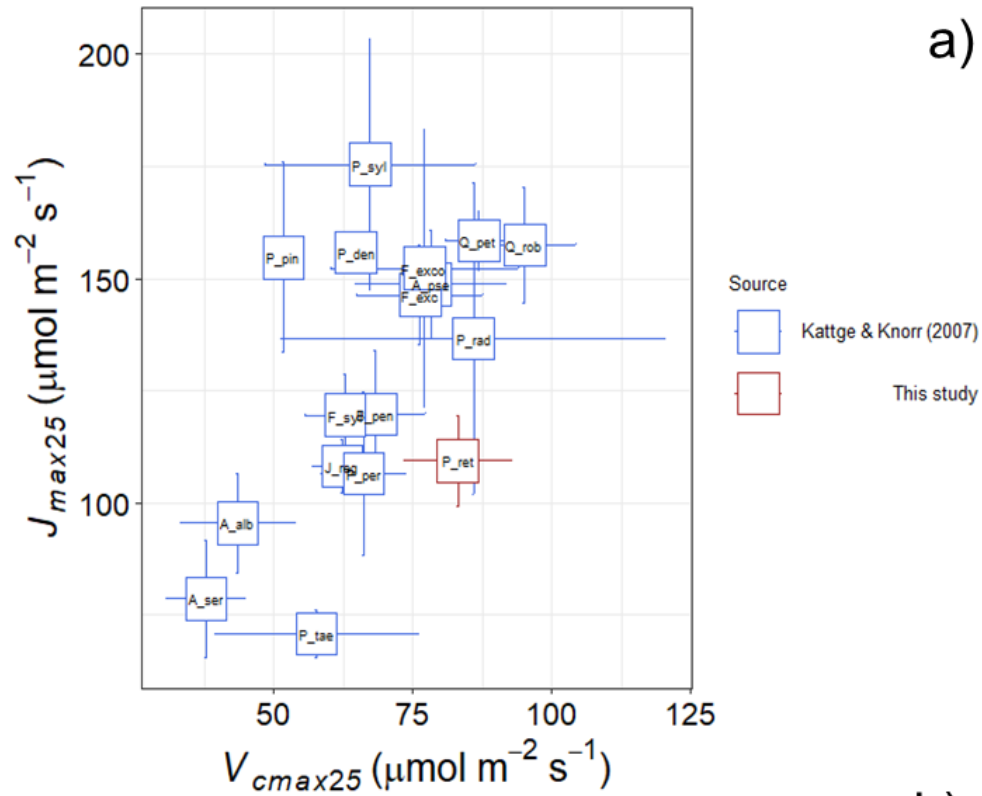


Figure 2.4. Modelled *P. reticulata* photosynthetic potential in relation to other tree species (n = 17 in panel a), n = 58 in panel b) and across a range of environmental conditions. **(a)** The ratio of maximum RuBP regeneration rates ($J_{\max25}$, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) to maximum carboxylation velocity rates ($V_{\max25}$, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) for *P. reticulata* (red box $\pm$ 95% confidence intervals) compared to the average values (blue boxes) for the different tree species as reported in Kattge and Knorr (2007). **(b)** $V_{\max25}$ values obtained for *P. reticulata* (diamond) compared to the site-averaged database of $V_{\max25}$ values reported by Westerbrand et al., (2023) (dots), all ordered within a site mean annual precipitation (MAP, mm year^{-1}) and mean annual temperature (MAT, $^{\circ}\text{C}$) axis. Species labels in (a): A_alb: *Abies alba*; A_pse: *Acer pseudoplatanus*; A_ser: *Aristotelia serrata*; B_pen: *Betula pendula*; F_exc: *Fraxinus excelsior*; F_exco: *Fuchsia excorticata*; F_sly: *Fagus sylvatica*; J_reg: *Juglans regia*; P_den: *Pinus densiflora*; P_per: *Prunus persica*; P_pin: *Pinus pinaster*; P_rad: *Pinus radiata*; P_sylv: *Pinus sylvestris*; P_tae: *Pinus taeda*; Q_pet: *Quercus petraea*; Q_rob: *Quercus robur*.

3.3 *Polylepis reticulata* 's stomatal behavior.

After model selection, the two most parsimonious models explaining *P. reticulata*'s stomatal behavior (difference in AICc < 6) contained tree position within the stand as a random effect, with one of the models only accounting for the g_1 parameter as fixed effect ($R^2_{\text{fixed}} = 0.89$, $R^2_{\text{combined}} = 0.95$, AICc = -1254.2, n = 222) (Figure 2.5a), and the other model accounting for the g_1 parameter as a fixed effect and its interaction with tree position within the stand ($R^2_{\text{fixed}} = 0.86$, $R^2_{\text{combined}} = 0.96$, AICc = -1256.9, n=222) (Figure 2.5b). According to the maximum parsimony criteria, we hereafter consider only the model without the interaction, considering the lack of strong evidence to reject the assumption of homogeneous response across the stand. Accordingly, the g_1 parameter (i.e., the slope between the g_s to $A_n/[C_a \times (\text{VPD})^{(1/2)}]$), which represents the inverse of carbon cost per unit of water transpired (i.e., the higher g_1 the less water use efficient a tree species) for the OSB model was found to be 4.38 ± 0.11 . This indicates an average g_1 value when compared with evergreen angiosperms having similar wood density as *P. reticulata*, while it falls at the upper end of

the g_1 parameter range observed for tree species at similar growing temperature conditions (Medlyn et al. 2011, Lin et al. 2015).

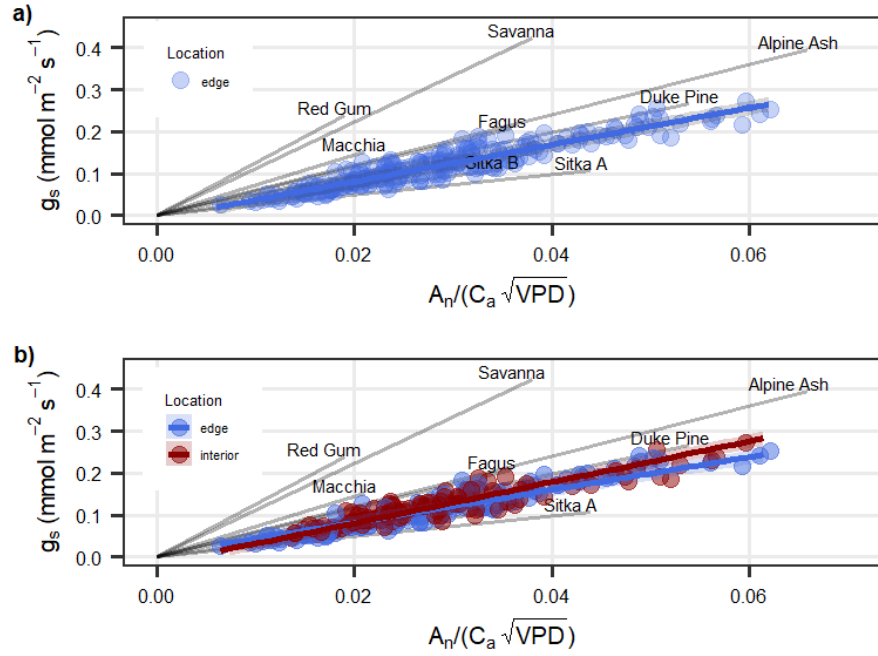


Figure 2.5. Evaluation of the Optimal Stomatal Behavior (OSB) model proposed by Medlyn et al. (2011) using observations from *P. reticulata* growing in the Ecuadorian páramo at the Zhurucay Ecological Observatory ($n=222$). The g_1 parameter is derived from the slope of the relationship between stomatal conductance (g_s , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), the ratio of assimilation (A_n , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) to atmospheric CO₂ concentration (C_a , $\mu\text{mol mol}^{-1}$), and the square root of the vapor pressure deficit (VPD , kPa). Reference ranges for g_1 and the observations are based on Medlyn et al.'s (2011) findings across diverse ecosystems. **(a)** The model results without accounting for tree position within the stand; **(b)** trees located at the interior (red trend) and at the edge (blue trend) of the stand.

4. Discussion

In this study, we evaluated the photosynthetic potential of *P. reticulata*, a tree species that grows under extreme environmental conditions within the Andean tree line (i.e. elevated cloudiness –daily solar radiation average of $14 \text{ MJ m}^{-2} \text{ day}^{-1}$ (Carrillo-Rojas et al. 2019)- and

low growth temperatures -annual average of 6 °C). Our results indicate that *P. reticulata* adapts to and thrives under conditions with year-round low growing temperatures, elevated cloudiness, and infrequent periods with sufficient incident solar radiation to sustain photosynthetic activity by developing an extremely efficient photosynthetic machinery. In the study site (Zhurucay microcatchment), PAR experiences a decrement of 62% during overcast sky and a decrement of 30% during cloudy sky compared to clear-sky conditions, that occur only in 5.5% of the days (Montenegro-Díaz et al. 2023). A consequence of *P. reticulata*'s highly specialized physiology is to maximize C gain during these small windows of opportunity occurring during rare high PAR and low cloudiness events experienced, since photosynthetic activity in this species is limited by energy availability. By systematizing *P. reticulata*'s photosynthetic potential within the Ecuadorian Andes, our work fills an important knowledge gap about physiological mechanisms by which plants are able to adapt to the colder edge of bioclimatic conditions than previously available (Westerband et al. 2023), thereby paving the way for posterior analysis of this iconic tree species' behavior to future climate change.

4.1 Photosynthetic adaptations of *P. reticulata* to thrive in the Andean tree line

Polylepis reticulata's photosynthetic apparatus is well adapted to optimize photosynthetic gain during the short windows of low cloud and fog presence. The species shows high carboxylation velocity ($V_{\text{cmax}25}$ around $80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), in agreement with the elevated $V_{\text{cmax}25}$ values that have been reported previously for cold-affiliated Andean species (Cox et al. 2023). Further, the low $V_{\text{cmax}25}$ to $J_{\text{max}25}$ ratio observed in our experiment (c.a. 1.3) compared to average ratios (c.a. 1.9) obtained in less extreme ecosystems (Kattge and Knorr 2007), suggests that *P. reticulata* tends to prioritize carboxylation activity over RuBP regeneration, likely due to the elevated irradiance during the high radiation conditions (instantaneous values of 1400 W m^{-2} were reported at our study site by Berrones et al. (2021)). This results in assimilation rates that are comparable to those reported for *Polylepis tarapacana* (García-Plazaola et al. 2015), which grows at warmer and drier conditions in the Chilean Altiplano, while being higher than *in situ* measurements in *Polylepis* species growing at similar environmental conditions such as *Polylepis sericea*, in the Venezuelan páramo (Rada et al. 1996). Our findings are also consistent with the idea that plants at high altitude

have very high photosynthetic capacity to compensate for the reduction of partial CO₂ pressure (Körner 1999). In this regard, the results presented here expand the current knowledge about photosynthetic potential in the cold and moist extremes of the climatic spectrum, synthesized recently by Westerbrand et al. (2023).

4.2 Energy-limited rather than water-limited behavior of *P. reticulata*

Results of *P. reticulata* photosynthetic potential showed slightly higher values than species growing in high energy but water-limited environments, like the Chilean Altiplano: 20 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ in *P. reticulata* vs. 16 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ in *P. tarapacana* (García-Plazaola et al. 2015). This suggests that, if enough energy is available, *P. reticulata* A_{max} could reach significantly high values, since soil water is available year-round and the limiting factor is the high cloudiness with low solar radiation in the páramo ecosystem, which limits the energy availability for photosynthesis. Regarding this, we hypothesized that energy availability for photosynthesis would be higher in the edge of the forest, where exposure to solar radiation would be higher too, and, hence, edge trees would have higher carbon assimilation rates. Moreover, a previous research in the study area reported higher transpiration rates in edge trees (Carabajo-Hidalgo et al. 2023), thus, carbon uptake could be higher too.

To further probe these ideas, we characterized the Optimal Stomatal Behavior model (Medlyn et al. 2011) and found that the most parsimonious model assumes that there is no edge effect on *P. reticulata* marginal carbon cost, suggesting that tree position doesn't have an important role in extrinsic water use efficiency in our study site, contrary to our initial hypothesis. This apparent contradiction with the results presented by Carabajo-Hidalgo et al. (2023) can be explained by edge effect on transpiration rates (e.g. by increased solar irradiance in the individuals located at the edge of the stand), which is not sustained at the leaf-level gas exchange rates, which would lead to less efficiency in the edge trees. Moreover, as we hypothesized, the results of the Optimal Stomatal Behavior model pointed towards a leaf C economy not limited by water availability but instead by energy availability. When we compared *P. reticulata*'s response with other species from contrasting ecosystems, the model consistently located *P. reticulata* parameters near Sitka spruce (*Picea sitchensis*), duke pine (*Pinus taeda*) and European beech (*Fagus sylvatica*), suggesting weak stomatal regulation. *Polylepis reticulata*'s lax stomatal regulation has been already proposed in Carabajo-Hidalgo

et al. (2023). This characterization reinforces the idea that water-saving has not been a selective pressure for the evolution of this species, as soil moisture in this páramo ecosystem remains near to saturation during most of the year.

4.3 Considerations under global warming

Global atmospheric CO₂ concentration is expected to reach 450 to 1100 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ by 2100 (IPCC 2021). Concurrently, air temperatures are predicted to increase by 1–3.7 °C (Ciais et al. 2013, Dusenge et al. 2019) and warming is expected to be more severe in high-altitude regions, like the Andes (Solarte et al. 2022). Furthermore, rainfall seasonality in the Ecuadorian Andes will likely be characterized by longer dry periods, despite little change to mean annual precipitation (Mora et al. 2014). Our results suggest that higher temperatures and PAR due to reduced cloudiness, together with higher atmospheric CO₂ concentration (Drake et al. 1997, Dusenge et al. 2019), should boost *P. reticulata*'s photosynthesis. This interpretation assumes no compensation due to acclimation (Pao et al. 2019, Crous et al. 2022), and that *P. reticulata* will be able to take advantage of extended periods of favorable conditions occurring during longer dry periods without reductions in soil water availability. Nevertheless, over longer timescales, the more frequent favorable conditions could stimulate prolonged stomatal opening, which given this species' weak stomatal control, may render it highly vulnerability to hydraulic dysfunction due to embolism (Hoffmann et al. 2011).

4.4 Concluding remarks

In the extreme conditions of páramo ecosystem, *P. reticulata*'s photosynthetic apparatus seems to have evolved to take advantage of short periods with more favorable conditions – i.e., higher energy availability– to maintain a positive carbon balance critical to its survival and persistence. In this sense, we found that *P. reticulata* presents an elevated photosynthetic potential that allows a rapid response to increases in PAR radiation, together with a profligate water use strategy. This allows the species to efficiently use short windows with high incident solar radiation, thereby compensating for the páramo's energy-limited environment due to frequent cloud and fog, and taking full advantage of the abundant water availability. Thus, *P. reticulata* represents an excellent study case of a tree species that may potentially have a positive response to global warming in the short term, despite many uncertainties remains regarding *P. reticulata* behavior under sustained global warming at the long-term. Future

research should focus on modelling *P. reticulata*'s behavior under different climate conditions, to accurately assess the physiological response of this species to global warming.

5. Funding

This research was financially supported by Central Research Office (DIUC) of the Universidad de Cuenca (Ecuador) and by the University of New Hampshire in the framework of the project “The ecohydrologic functions of *Polylepis* forests within the Andean páramo and their resilience and vulnerability to climate change”.

6. Author contributions

All authors planned and designed the research. P.C. and H.A. obtained financial support. P.C., H.A. and H.H. provided materials and equipment. A.C-H. conducted the investigation process. A.C-H. and D.N-S. applied formal analysis. D.N.-S. contributed with programming and software development. A.C-H., D.N-S. and S.S. wrote the original draft. All authors reviewed and edited the manuscript until the final version.

7. Acknowledgements

Authors thank María Roo for assistance with the field and lab work, and Carlos Gracia for teaching the sampling method and IRGA management. Authors also would like to thank the Ecuadorian Environmental Ministry for the provision of the research permits to conduct this study (164-18-IC-FLO-DPAA/MA). This manuscript is an outcome of the Doctorate Program in Ecology, Environmental Sciences and Plant Physiology by Universitat de Barcelona, Spain.

8. Supplementary data

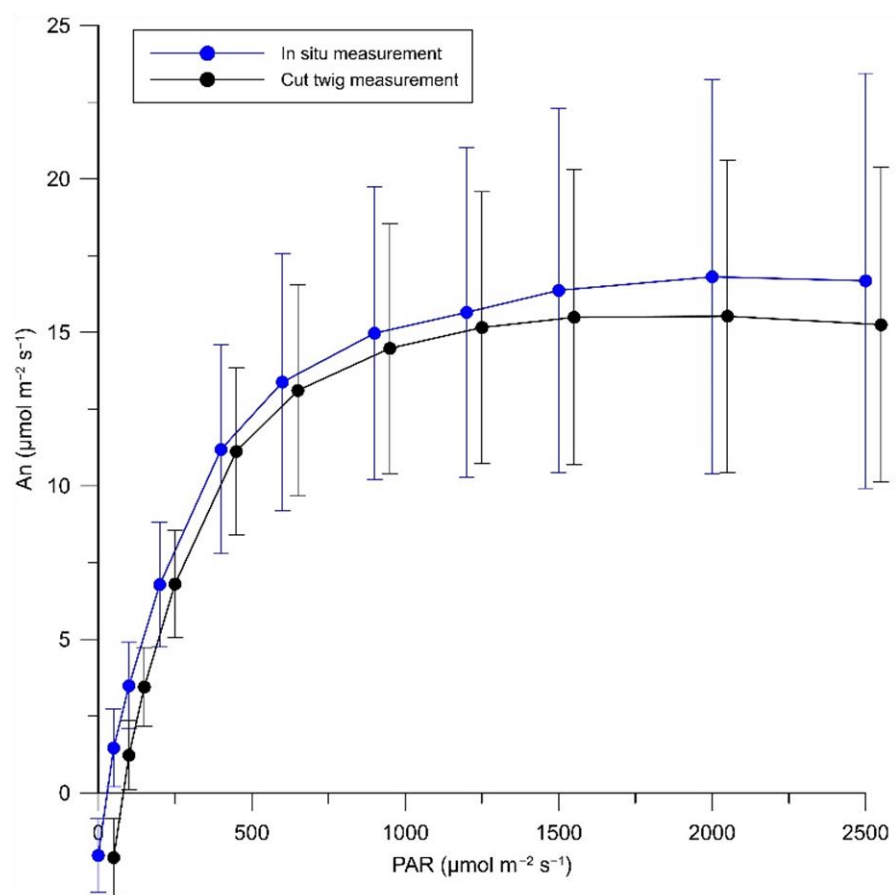


Fig. S2.1. *In situ* and cut twigs measurements of the same plants at laboratory (n=14) to test the validity of the used method.

CAPÍTULO 3



CAPÍTULO 3

Low energy availability limits growth and water use efficiency in *Polylepis reticulata* at extreme altitude in the Andes.

Aldemar Carabajo-Hidalgo^{1,2,*}, Daniel Nadal-Sala^{2,3,*}, Byron Poma¹, Heidi Asbjornsen⁴, Patricio Crespo¹ and Santiago Sabaté^{2,3}

¹Departamento de Recursos Hídricos y Ciencias Ambientales, Facultad de Ingeniería, Universidad de Cuenca, Campus Balzay, Cuenca, 010107, Ecuador; ²Departamento de Biología Evolutiva, Ecología y Ciencias Ambientales, Universitat de Barcelona, Av. Diagonal, 643, 08028, Barcelona, Spain; ³CREAF (Centre de Recerca i Aplicacions Forestals), Campus de Bellaterra (UAB) Edifici C., Cerdanyola del Vallès, 08193, Spain; ⁴Department of Natural Resources and the Environment and Earth Systems Research Center, University of New Hampshire, 114 James Hall, Durham, NH 03824, USA.

*These authors contributed equally

El contenido de este capítulo, íntegro o parcial, será enviado para su publicación en alguna revista científica enfocada en la ecofisiología vegetal.

Resumen del capítulo 3

Polylepis es el género arbóreo que crece a mayor altitud en el mundo. *Polylepis reticulata* se desarrolla bajo las condiciones climáticas extremas del páramo ecuatoriano, un ecosistema caracterizado por bajas temperaturas y una gran amplitud térmica, así como una elevada nubosidad y niebla recurrente, combinados con breves períodos de alta radiación fotosintéticamente activa. Las excepcionales condiciones que limitan el crecimiento de *P. reticulata* hacen de esta especie un potencial indicador del impacto de los cambios ambientales en la ecofisiología de los árboles. Son especialmente interesantes sus dinámicas de transpiración, de crecimiento y de eficiencia en el uso del agua en el crecimiento (WUE_{BAI}), que podrían ayudar a comprender las limitaciones del crecimiento por fuente-sumidero (*source-sink*). A pesar de la importancia ecológica de *P. reticulata*, se sabe muy poco sobre los efectos de los diferentes factores ambientales en su ecofisiología y de cómo esta se ve influenciada por los rasgos estructurales y funcionales de la especie. En este estudio abordamos los patrones de crecimiento estacionales y la dinámica del WUE_{BAI} de *P. reticulata*, y cómo esta se relaciona con los rasgos de la planta a nivel de tronco y hoja. Encontramos una clara reducción en el crecimiento de los árboles bajo condiciones de frío y de baja radiación solar incidente, lo que indica que existe una estacionalidad a pesar de que la especie no presenta anillos de crecimiento fácilmente visibles. Además, su WUE_{BAI} se correlacionó positivamente con la temperatura máxima y la incidencia de PAR, y negativamente con la velocidad del viento. Esto sugiere que el WUE_{BAI} de *P. reticulata* es mayor cuando existe energía disponible y pueden ocurrir simultáneamente tanto los procesos fotosintéticos como los procesos de diferenciación celular del cámbium. También encontramos que la WUE se relaciona positivamente con el contenido de clorofila y la relación C/N en el suelo, mientras que muestra una relación negativa con el contenido de nutrientes en las hojas y el potencial hídrico al mediodía. En conclusión, el crecimiento de *P. reticulata* podría verse beneficiado por el aumento de temperatura; sin embargo, debido a sus rasgos poco conservativos en el uso del agua y a su bajo control estomático, este crecimiento podría verse afectado si la disponibilidad hídrica en el suelo disminuye o la demanda evapotranspirativa incrementa.

Abstract:

Polylepis is the tree genus that grows at the highest altitude world-wide. *Polylepis reticulata* grows under the extreme climate conditions of the Ecuadorian páramo, an ecosystem characterized by low temperatures, large daily temperature variations, as well as elevated cloudiness and recurrent fog, that lead to brief periods of high photosynthetically active radiation. The exceptionally limiting growth conditions of *P. reticulata* make this tree species a potential sentinel for environmental changes' impacts on tree ecophysiology. Specially interesting are its transpiration, growth and water use efficiency in growth (WUE_{BAI}) dynamics, which could help to disentangle the source-sink growth limitation. Despite all of that, little is known about the effects of the different environmental drivers on *P. reticulata*'s ecophysiology, as well as how this response depends on its life traits. In this study we address the seasonal growth patterns and WUE_{BAI} dynamics of *P. reticulata*, and how they relate to its plant traits at stem and leaf level. We found a clear seasonal reduction in tree growth under cold and low irradiation conditions, although *P. reticulata* not presenting easily visible growth rings. Furthermore, its WUE_{BAI} was positively correlated to maximum temperature and PAR irradiance, and negatively to wind speed. This suggests that *P. reticula* WUE_{BAI} is higher when energy is available and photosynthesis and stem cambium cell differentiation can occur simultaneously. We also found that WUE is positively related with chlorophyll content and soil C/N ratio, whereas it is negatively related with C and N content in leaves and midday water potential. In summary, *P. reticulata*'s growth should be enhanced by temperature increases, whereas its non-conservative water use plant traits and low stomatal control should worsen its growth conditions if water in the soil would become scarce and evaporative demand increases.

Key words: high-altitude forests; plant functional traits; *Polylepis reticulata*; tree growth; water use efficiency in growth.

1. Introduction

Polylepis is the tree genus that grows at the highest altitude world-wide (Hoch and Körner 2005). It grows along the Andes mountains of South America from Venezuela to northern

Argentina (Kessler and Schmidt-Lebuhn 2006), with the species *Polylepis reticulata* growing under the extreme climatic conditions of the Ecuadorian páramo, an ecosystem characterized by large daily temperature variations, as well as elevated cloudiness and recurrent fog, that lead to brief periods of high photosynthetically active radiation (PAR). This makes the páramo an energy-limited ecosystem (Carabajo-Hidalgo et al. 2023). Moreover, temperatures are usually low, inhibiting enzymatic reactions (García-Plazaola et al. 2015) and tree growth (Álvarez et al. 2019). In response to such energy-limited conditions, *P. reticulata* shows patchy distribution in topographically protected areas with suitable conditions, such as high solar radiation and low wind exposure (Toivonen et al. 2017). Conversely, water is not a limiting resource in *P. reticulata* forests, since soil moisture is close to saturation most of the year, available for root uptake, and annual evaporative demand is below precipitation (Ochoa-Sánchez et al. 2019, Carabajo-Hidalgo et al. 2023).

Highland mountain areas such as the páramo ecosystem are expected to be one of the most sensitive to climate variation worldwide (Buytaert et al. 2011, Diaz et al. 2014). Understanding the ecophysiology of *P. reticulata* can provide valuable information to anticipate responses of páramo ecosystem to changes in environmental conditions, since, as with other high-altitude tree species, *P. reticulata* forests are sentinels for potential impacts of climate change (Kimball and Weihrauch 2000). To better understand survival and growth success of *P. reticulata* in páramo conditions and help to predict potential responses to climate change, it is important to determine the environmental factors that control tree growth, and evaluate the conditions in which water loss via transpiration translate into stem-growth, at an intra-annual level. Growth-based water use efficiency (WUE_{BAI}) can be explored by studying both stem radial increments and transpiration together (Nadal-Sala et al. 2017), to address the environmental drivers that differentiate the environmental conditions promoting wood formation and the ones in which wood formation stops. It is important to evaluate WUE_{BAI} , since water use efficiency in gas exchange at leaf level, that is, intrinsic WUE ($iWUE$), is not always related to tree radial growth (Peñuelas et al. 2011, Wang et al. 2012) as gained carbon is needed not only for wood formation, but also for respiration maintenance or leaves and roots regrowth. Moreover, dendrocronological studies that relate climate conditions with tree-ring width -and, therefore, growth- are scarce in tropical

mountain regions, since low seasonality at those latitudes hampers the formation of clearly visible tree-rings (Argollo et al. 2004, Bräuning et al. 2009).

On the other hand, studies of plant life traits -structural and functional traits- could give relevant information about the selection pressures experienced in the harsh conditions of páramo ecosystem, since plant traits determine how plants respond to environmental factors (Kattge et al. 2019). It is known that variation in traits with climate provides an indicator of plant resource-use (Cox et al. 2024), e.g., specific leaf area (SLA) is in many cases positively related with growth rate (Cornelissen et al. 2003), N foliar content is related with photosynthetic potential, and concentration of isotope ^{13}C is connected with iWUE (Cox et al. 2024). In general, in warm conditions and low altitude trees are tall, with large and thin leaves, whereas in cold conditions and high altitude trees are shorter, with smaller and thicker leaves (Hertel and Wesche 2008, Segovia-Salcedo et al. 2018). In agreement, Macek et al. (2009) found that *P. rugulosa* leaves were larger at lower altitudes, but the opposite was found for other *Polylepis* species, suggesting that not only temperature limitation, but also water limitation could determine plant life traits. Other functional strategies have been reported for *Polylepis* trees, such as photoprotective mechanisms to cope with high ultraviolet radiation or photosynthetic apparatus highly specialized to adapt to low temperatures (González et al. 2007, García-Plazaola et al. 2015). *Polylepis reticulata* is able to grow despite the low energy availability in páramo ecosystem, therefore, its photosynthetic apparatus should be likewise highly specialized to take advantage of short, intense high-radiation periods to fulfill its metabolic C requirements (Carabajo-Hidalgo et al., under review).

The aim of this study was to evaluate seasonal WUE_{BAI} dynamics and iWUE of *P. reticulata*. To do so, we combined field measurements of sap flow (Carabajo-Hidalgo et al. 2023) and stem radial growth to address seasonal WUE_{BAI} dynamics in a *P. reticulata* forest located in the Southern Ecuadorian Andes. Additionally, we conducted a field monitoring campaign to characterize several key plant life traits, namely tree and leaf morphological traits, leaf nutrient content and whole leaf carbon isotope composition to determine iWUE.

Our specific objectives were: (1) to determine *P. reticulata*'s intra-annual radial growth and water use efficiency patterns; (2) to determine under which environmental conditions *P.*

reticulata invests more resources to radial growth and (3) to characterize several important functional traits related to water use in *P. reticulata* trees. We hypothesized that i) *P. reticulata* shows a clear seasonality in its growth pattern despite not presenting easily visible growth rings ii) *P. reticulata* WUE_{BAI} also exhibits a strong seasonality, with higher values occurring during periods with more favorable conditions, i.e., higher temperature and PAR, iii) *P. reticulata*'s life traits show typical high-altitude mountain forests characteristics due to the extreme páramo conditions, and iv) plant life traits are different in a location gradient from the edge to the interior of the forest.

2. Materials and methods

2.1 Experimental Site

The study was conducted within a *P. reticulata* forest patch at 3800 m a.s.l., encompassing an area of 15633 m², in the Zhurucay Ecohydrological Observatory (3°04'S, 79°14'W), located in the Pacific side of the Andean cordillera in southern Ecuador. The Zhurucay micro-catchment has a drainage area of 7.53 km² and its land cover is typical of páramo grasslands, characterized by tussock grasses (mainly *Calamagrostis intermedia*), cushion plants (mainly *Plantago rigida*), planted pine trees (*Pinus patula*), pastures, and patches of *Polylepis* forest, which represent 2% of the total land cover (Mosquera et al. 2015, Correa et al. 2016). The dominant soils in the micro-catchment are Andosols (72% of the area), Histosols (24%) and Leptosols (4%), with *Polylepis* trees commonly covering the organic-rich Histosols (Correa et al. 2017).

Regarding microclimatic conditions, mean annual precipitation was 1298 mm, mean annual air temperature was 5.9 °C, mean annual relative humidity was 88%, mean annual photosynthetic active radiation was 274.5 μmol m⁻² s⁻¹ and mean annual wind velocity was 3.55 m s⁻¹, considering a 2-year period measurement from 2018-2019 (Carabajo-Hidalgo et al. 2023).

2.2 Whole tree transpiration data

We used Heat Ratio Method (HRM) following Burgess et al. (2001) as described in Carabajo-Hidalgo et al. (2023). In short, we installed self-made sensors with two temperature probes placed equidistant above and below a heater in *P. reticulata* trees I and recorded the

measurements every 15 min in a data logger (CR1000, Campbell Scientific, Inc.) from February 1st to December 31st 2019. We determined sap velocity (cm h^{-1}) and derived whole-tree sap flow ($\text{cm}^3 \text{ h}^{-1} \text{ tree}^{-1}$) as the product of sap velocity and cross-sectional area of conducting sapwood, and we finally expressed sap flow (transpiration) as $\text{l h}^{-1} \text{ tree}^{-1}$. Zero flows were determined from the ratio of the temperature values close to 1 since the equidistant placement of temperature probes around the heater allows for identifying periods of time when sap flow is zero (Lopez et al. 2021). Sapwood was determined at the end of the experiment by collecting wood cores and analyzing sapwood thickness based on difference in wood color and light transmission through the vessels (Vertessy et al. 1995, Hernandez-Santana et al. 2011).

2.3 Stem basal area increment (BAI_{tree}) and growth-based water use efficiency (WUE_{BAI})

We used high-resolution automatic point dendrometers (ZN11-T-WP, Natkon, Oetwil am See, Switzerland) to measure stem radius fluctuations and growth. Data were recorder at 15 min intervals in a datalogger (CR1000, Campbell Scientific, Inc. Logan, UT, USA) from February to December 2019. Point dendrometer ZN11 T-WP has a resolution of less than 1 μm (Zweifel et al. 2021) and it is based on a Linear Variable Displacement Transducer or LVDT-sensors that measures the linear displacement of a sensing rod pressed against the stem bark. This displacement, caused by the radius contraction or expansion of the stem, is converted into an electrical signal (Rossi et al. 2006). We installed the dendrometers at breast height, selecting four healthy *P. reticulata* trees located at the edge of the forest, with stems showing a more evident cylindrical shape and equipped with sap flow sensors, to obtain simultaneous measurements of stem diameter and sap flow. Before dendrometer installation, in order to minimize the influence of hygroscopic contraction and expansion, we removed dead bark tissue without damaging the cambial zone (Raffelsbauer et al. 2019). Initial diameter at breast height (DBH) values for the four trees are detailed in Table S3.1 available as Supplementary Data. At the end of the growing season we calculated accumulated BAI for a period with active growth and for a period with basal growth, avoiding the short-term basal area increments that could be due to changes in stem water. Growth-based water use efficiency (WUE_{BAI} , $\text{cm}^2 \text{ m}^{-3}$) was obtained by dividing the annual tree BAI (BAI_{tree} , cm^2)

by the annual transpiration of each individual tree (E_{tree} , m^3), following Equation (1) (Nadal-Sala et al. 2017).

$$WUE_{BAI} = BAI_{tree} \cdot E_{tree}^{-1} \quad \text{Equation 1]$$

2.4 Meteorological and soil water content data

We used meteorological variables and soil water content data measured from February to December 2019. Precipitation (mm) was obtained from the main meteorological station located at ZEO, property of the Department of Water Resources and Environmental Sciences at University of Cuenca, using a precipitation gauge (TE525 Texas Electronics Inc., Dallas, TX, USA) connected to a data logger (CR1000, Campbell Scientific, Inc., Logan, UT, USA) that recorded data at 5-min intervals.

We also obtained data from a micrometeorological station located outside the forest, equipped with an anemometer to measure wind speed at 2.5 m above the ground surface (W_s , $m\ s^{-1}$; Met-One 034B Campbell Scientific, Inc.) and with a quantum sensor to measure photosynthetically active radiation, also at 2.5 above the ground (PAR, $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$; LI-190, LI-COR Bioscience, Lincoln, NE, USA). Air temperature (temperature, $^{\circ}C$) and relative humidity (RH, %) were measured with three Vaisala HMP45 sensors (Vaisala, Woburn, MA, USA), two installed in the edge of the forest and one installed in the interior. Soil volumetric water content (VWC, $cm^3\ cm^{-3}$) was measured with CS616 water content reflectometers (Campbell Scientific, Inc.) installed at five locations in the forest at three different depths: organic superficial horizon (10 cm depth), organic medium horizon, where most roots are found (25 cm depth) and mineral horizon, over 35 cm depth. VPD (kPa) was calculated from air temperature and relative humidity. All environmental variables (except precipitation) and VWC were recorded at 15-min intervals on a data logger (CR1000, Campbell Scientific, Inc.). Mean average values for the main environmental variables during the study period can be found in Figure S3.1 in Supplementary Data.

2.5 Carbon isotope analysis and iWUE

The carbon isotope composition of whole leaves were determined using a Flash IRMS elemental analyzer (EA-IRMS, ThermoFisher Scientific Inc., MA, USA) connected to an isotope ratio mass spectrometer (DeltaV-Advantatge, ThermoFisher Scientific Inc., MA,

USA). The equipment calculate $\delta^{13}\text{C}$ through comparisons with referent standard gases. For the calculation of the iWUE we followed Bauters et al. (2020). First, we used the classic model of C isotope discrimination during photosynthesis to derive leaf $\Delta^{13}\text{C}$ from $\delta^{13}\text{C}_a$ and the leaf $\delta^{13}\text{C}$, which were obtained via the bulk leaf $\delta^{13}\text{C}$ measurements in Equation (2) (Farquhar et al. 1982, Bauters et al. 2020):

$$\Delta^{13}\text{C}_{leaf} = \frac{\delta^{13}\text{C}_a - \delta^{13}\text{C}_{leaf}}{1 + \delta^{13}\text{C}_{leaf}}. \quad \text{Equation 2]}$$

The CO_2 concentration in the stomatal cavity (C_i) was calculated as follows in Equation (3):

$$C_i = \frac{C_a * (\Delta^{13}\text{C}_{leaf} - a)}{b - a}. \quad \text{Equation 3]}$$

Where C_a is the atmospheric value in-situ ($C_a = 411.42 \mu\text{mols m}^{-2} \text{s}^{-1}$), the a term is the fractionation during CO_2 diffusion through the stomata ($a = 4.4\text{‰}$ (O'Leary 1981, Bauters et al. 2020)) and the b term is the fractionation associated with reactions by Rubisco and phosphoenolpyruvate carboxylase ($b = 27\text{‰}$ (Farquhar and Richards 1984, Bauters et al. 2020)). Finally, we obtained iWUE with Equation (4), as WUE is related to the ratio of photosynthesis (A) to stomatal conductance (g_s).

$$\text{iWUE} = \frac{A}{g_s} = \frac{C_a}{1.6} * \left(1 - \frac{C_i}{C_a}\right). \quad \text{Equation 4]}$$

2.6 Plant life traits

We measured tree and leaf traits to explore patterns in plant growth, transpiration and water use efficiency. Tree height was obtained from a clinometer (Suunto PM-5/360 PC Clinometer, Suunto, Vantaa, Finland). Wood density (WD, g cm^{-3}) was obtained from water volume displace measurements of tree cores. Leaf thickness (mm) was measured using a manual micrometer in the field. Leaf area (LA, mm^2) was obtained by scanning and measuring leaves with ImageJ software (ImageJ bundled with 64-bit Java 8.). Specific leaf area (SLA, $\text{mm}^2 \text{mg}^{-1}$) was calculated following Equation (5) (Macek et al. 2009).

$$\text{SLA} = \frac{\text{LA}}{\text{DW}} \quad \text{Equation 5]}$$

Where DW (mg) is leaf dry weight (dried out at 70 °C to constant weight). Leaf chlorophyll content (Chlorophyll, SPAD value transformed to mmol m^{-2}) was measured with a chlorophyll meter (Chlorophyll Meter SPAD-502Plus, Konica Minolta Holdings Inc, NJ, USA) with an accuracy of ± 1.0 SPAD units. SPAD units were converted to mmol m^{-2} following Equation (6) from Poorter and Bongers (2006):

$$\text{Chlorophyll} = -112.9 + 13.9 * \text{SPAD} \quad \text{Equation 6]}$$

Leaf nitrogen and carbon concentrations (N_{leaf} and C_{leaf} , mg g^{-1}) were determined using an elemental analyzer (EA-IRMS, ThermoFisher Scientific Inc., MA, USA). The same analyzers were used for soil nutrient analyses. Finally, predawn water potential and midday water potential (WP_{PD} and WP_{MD} , -MPa,) were measured using a Scholander pressure chamber (Model 600D, PMS Instrument Company, OR, USA).

2.7 Data analysis

2.7.1 Stem growth daily signal integration

Daily stem radius change was obtained daily from the 15-minutes stem diameter measurements, recording both the maximum value and the minimum radius measured. Then, in a similar manner than Knüsel et al., (2021), we obtained the daily net increase in tree diameter (DTDI, mm) if the maximum radius (MR, mm) for a given day above any previous daily MR recording, by subtracting the MR to this maximum value. By integrating the DTDI annually, we obtained the cumulated diametric tree growth (mm) and the cumulated annual basal area increment (mm^2) (Figure 3.1).

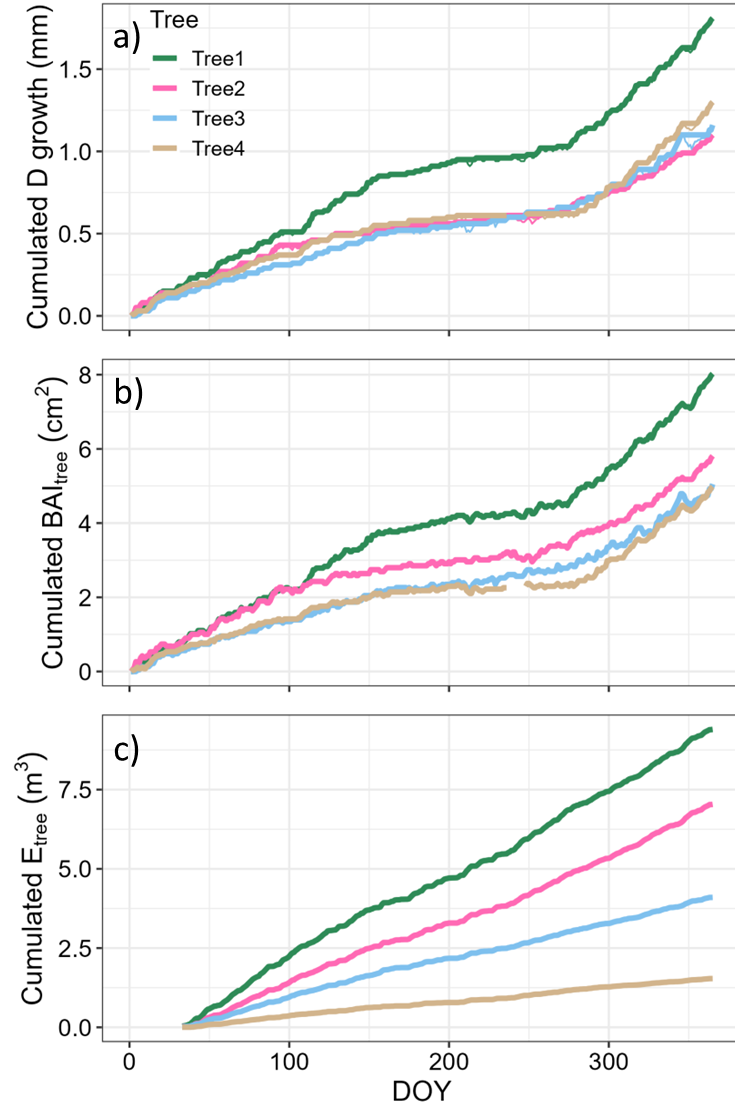


Figure 3.1. Tree growth and transpiration dynamics for *P. reticulata* growth at páramo (Ecuador) during year 2019. Panels depict: a) the daily cumulated diameter growth per tree (mm); b) the cumulated daily basal area increment per tree (BAI_{tree} , mm^2); and c) the cumulated daily transpiration (E_{tree} , m^3). Colors depict the values for the different trees measured.

2.7.2 Temporal integration of the growth, meteorological and transpiration series

To capture seasonal growth patterns, the growth trend for each individual at a “n” days lag was assessed by calculating the slope of daily BAI_{tree} growth at a given time lag, from 2 to 100 days. For each time lag, we obtained the tree growth trend (in $mm^2 day^{-1}$). Then, for each

temporal lag we addressed the average Spearman's correlation between the tree growth series, to detect the time lag that maximized both coordination among the growth signal among trees (maximum average correlation) and minimized the information loss (maximum number of growth trend observations). We identified the optimum time lag at 37 days (Figure 3.2). We then integrated the daily E_{tree} registers, and obtained the meteorological conditions within the given temporal lag accordingly (see Table 3.1 for the relevant meteorological variables considered). Finally, to obtain its seasonal variations, we calculated the WUE_{BAI} for each tree at a 37-day time lag by dividing the cumulated BAI_{tree} by the cumulated E_{tree} , during the same time lag. To reduce uncertainty related to tree size in both BAI_{tree} and WUE_{BAI} , we standardized both variables to correlate them to the environmental drivers.

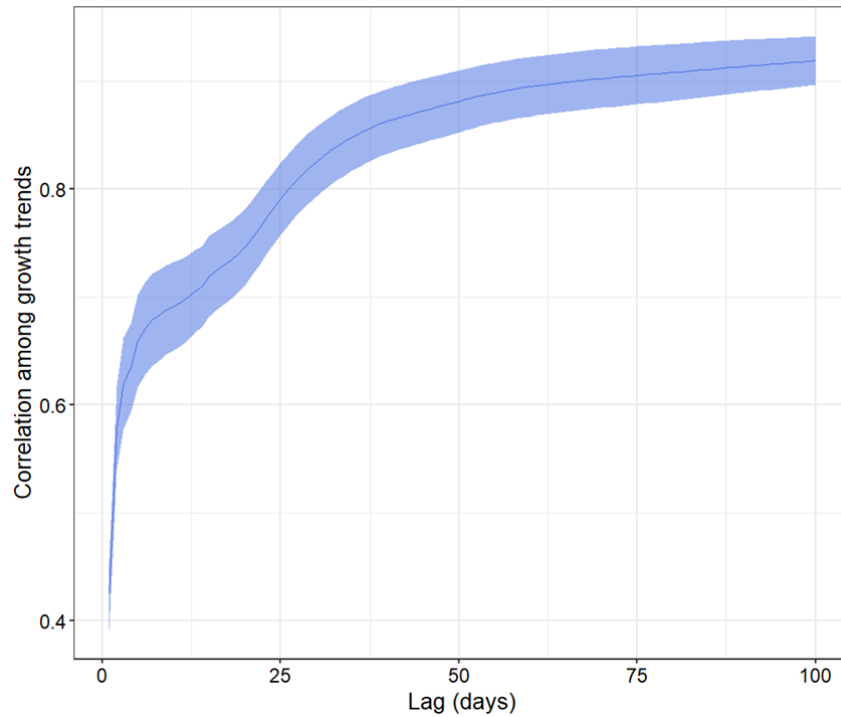


Figure 3.2. Correlation among the four *P. reticulata* growth trends in relation to time lag integrated. Autocorrelation among the time-series increases with increasing number of days integrated. The optimal temporal resolution was determined to be 37 days.

Table 3.1: List of 37-days aggregated meteorological variables, their abbreviation and their units.

Meteorological variable	Abbreviation	Units
Average maximum temperature	MaxT	°C
Average minimum temperature	MinT	°C
Sum of degrees day	DD	°C
Average minimum relative humidity	Rhmin	%
Average daily radiation	Qday	W m ⁻²
Average daily photosynthetic active radiation	PARday	μmol m ⁻² s ⁻¹
Average wind speed	Ws	m s ⁻¹
Number of hours with PAR > 250 μmol m ⁻² s ⁻¹	PAR > 250	unitless
Sum of potential evapotranspiration	CumPET	mm
Average potential evapotranspiration	MeanPET	mm day ⁻¹
Sum of precipitation	CumP	mm
Average vapor pressure deficit	MeanVPD	kPa

2.7.3 Plant life traits analyses

A Principal Component Analysis (PCA) was used to explore correlations among plant life traits and WUE. To test plant trait differences between interior and edge trees, an ANOVA analysis was run, with location in the forest as a categorical independent factor.

All the analyses were performed in R x 64 4.3.3 Software (R Core Team 2024)

3. Results

3.1 Growth and WUE_{BAI} dynamics

By the end of 2019, *P. reticulata* trees had experienced an average basal area growth of $6.6 \pm 1.8SE$ cm², and transpired an average of $5.5 \pm 3.4SE$ m³. Stem growth mostly occurred during August-May, when we also found the highest transpiration rates (Figure 3.3). Annual median WUE_{BAI} was related to tree size, with larger trees being less efficient in transforming the water transpired to stem growth than smaller ones ($F = 9.76$, $n = 4$, $p\text{-value} = 0.089$, Figure 3.4).

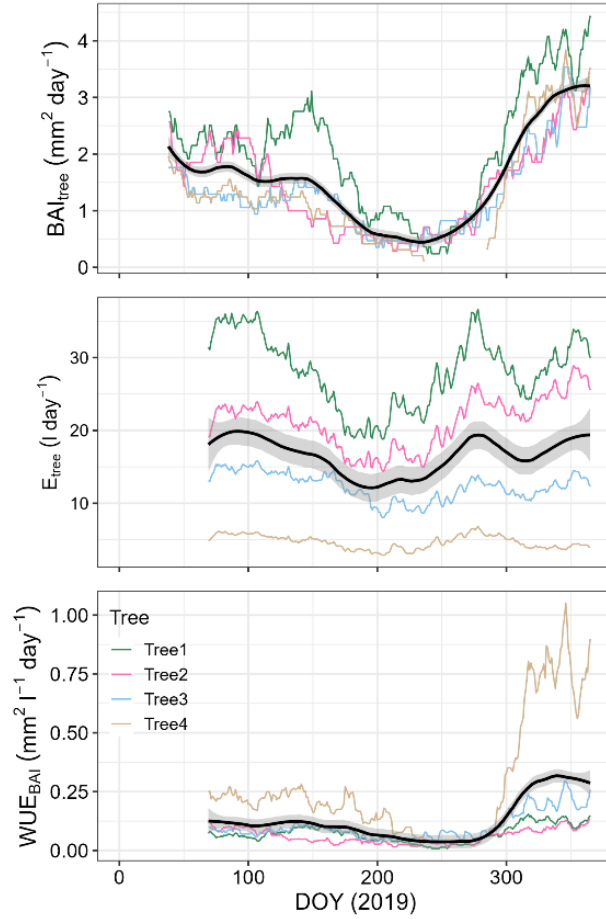


Figure 3.3. BAI_{tree} , E_{tree} and WUE_{BAI} in the four *P. reticulata* studied trees

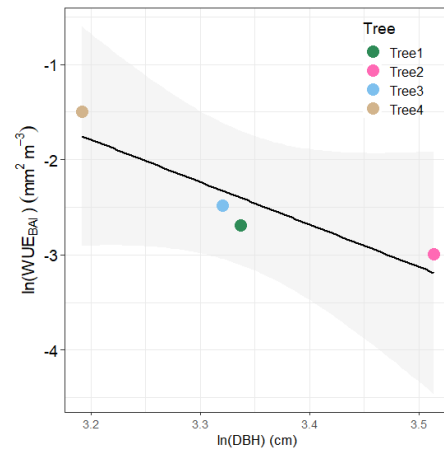


Figure 3.4. Relationship between the median water use efficiency in basal area increment (WUE_{BAI}) with tree diameter at breast height (DBH) for the four *P. reticulata* trees studied, both transformed as Napierian logarithms to linearize the relationship.

As with WUE_{BAI} , E_{tree} and BAI_{tree} also exhibited strong seasonal trends. Moreover, WUE_{BAI} was more closely related to changes in BAI_{tree} (Spearman's $r = 0.971$) than in E_{tree} (Spearman's $r = 0.179$), (Figure 3.5). Seasonality found for E_{tree} , BAI_{tree} and WUE_{tree} was determined mainly by three environmental variables: wind speed, maximum temperature and number of hours with PAR greater than $250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figure 3.5). We found that E_{tree} - and consequently BAI_{tree} and WUE_{tree} -, decreased during periods with high wind speed and low temperatures and PAR. On the contrary, the values of E_{tree} , BAI_{tree} and WUE_{BAI} were positively correlated with maximum temperature and PAR, and negatively correlated with wind speed (Figure 3.6). We also assessed the role of other environmental variables (i.e., relative humidity, precipitation and soil water content), but they did not show any relation with E_{tree} , BAI_{tree} or WUE_{BAI} (see Figures S3.2 and S3.3 in Supplementary Data).

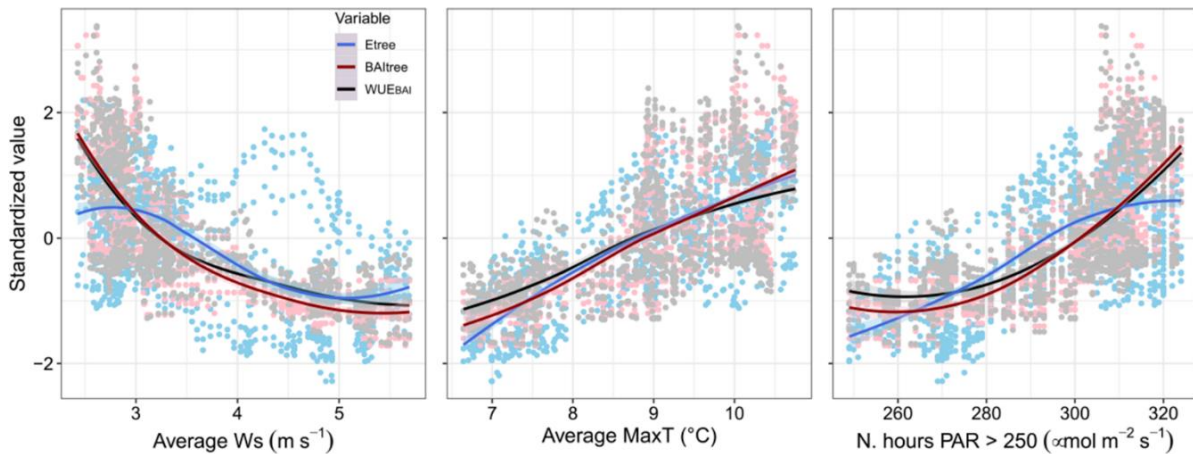


Figure 3.5. Correlations for E_{tree} , BAI_{tree} and WUE_{BAI} with environmental variables with 37 days lag, and for the four *P. reticulata* trees studied. A) Average maximum temperature, in °C; B) average wind speed, in m s^{-1} ; and C) sum of the number of hours with $\text{PAR} > 250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Regression trendlines indicate the results of a “loess” spline fit ($\pm 1\text{SE}$) among the explanatory variables (MaxT, Ws and $\text{PAR} > 250$) and the standardized responses of tree transpiration (E_{tree}), tree basal area growth (BAI_{tree}), and water use efficiency in growth (WUE_{BAI}).

As seen in Table 3.2 and Figure 3.6, we distinguished three different periods within the year: (1) from DOY 32 to 150, with high E_{tree} values and medium BAI_{tree} and WUE_{BAI} values, (2) from DOY 151 to 240, with low values of E_{tree} , BAI_{tree} and WUE_{BAI} , and (3) from DOY 241 to the end of the year, when E_{tree} values start to increase first, followed by BAI_{tree} and WUE_{BAI} . Finally, BAI_{tree} values exceeded E_{tree} values, probably due to an increase in WUE_{BAI} during this period, since E_{tree} values are similar to those found during the first period.

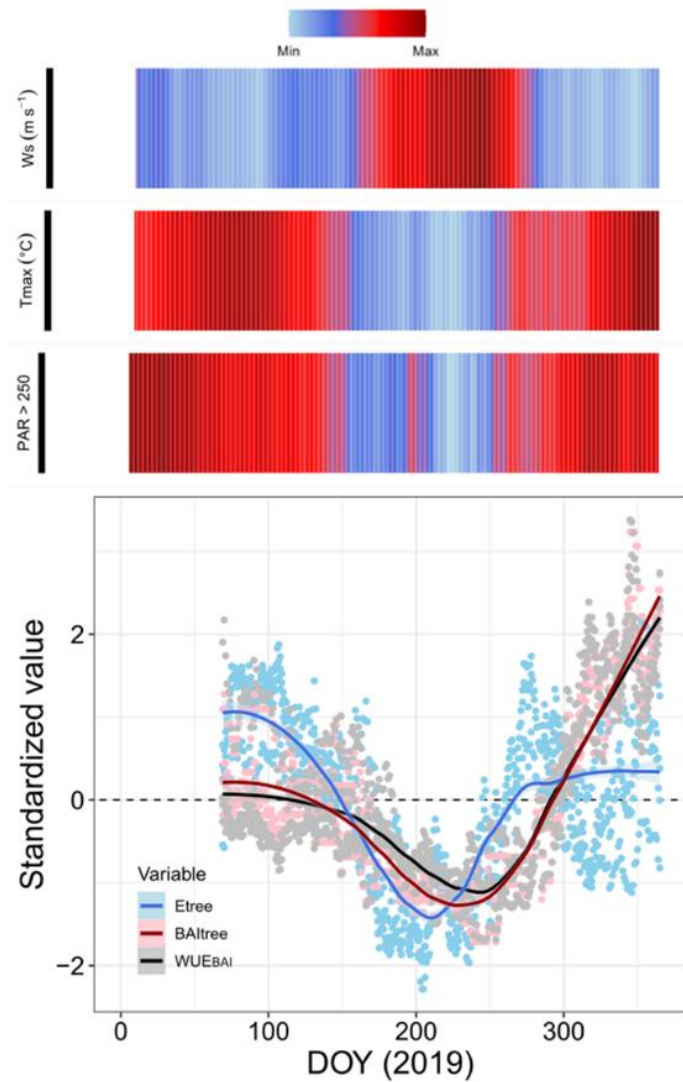


Figure 3.6. E_{tree} , BAI_{tree} and WUE_{BAI} dynamics in *P. reticulata*, and environmental variables that control those dynamics.

Table 3.2. Mean and standard deviation values for BAI_{tree} , E_{tree} and WUE_{BAI} during the entire 2019 year and the three different periods within the year.

Periods	BAI_{tree} ($cm^2 year^{-1}$)	E_{tree} ($m^3 year^{-1}$)	WUE_{BAI} ($cm^2 m^{-3}$)	n
	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	
2019_{year}	6.6 $\pm$ 1.8	5.5 $\pm$ 3.4	1.6 $\pm$ 0.9	4
32-150_{DOY}	2.0 $\pm$ 0.6	2.1 $\pm$ 1.3	1.3 $\pm$ 0.8	4
151-240_{DOY}	1.5 $\pm$ 1.1	1.1 $\pm$ 0.7	1.2 $\pm$ 0.4	4
241-365_{DOY}	3.2 $\pm$ 0.7	2.3 $\pm$ 1.5	2.0 $\pm$ 1.3	4

3.2 Plant traits relationships

The measured *P. reticulata* life traits are shown on Table 3.3, and correlations among tree, leaf and ecophysiological traits are shown in Figure 3.7. In this PCA analysis, the first and second axes explained 58.1 and 25.1% of variability, respectively. WUE_{BAI} and $iWUE$ showed a negative relationship with nutrient foliar content and water potential at midday (WP_{MD}), and a positive relationship with chlorophyll, $\delta^{13}C_{leaf}$ and ratio C/N in soil. SLA and wood density had a positive relationship between them, and both were inversely correlated with height and WP_{PD} . Finally, PCA showed a direct relationship among BAI, leaf area and leaf thickness. To test differences in plant traits depending on location in the forest, we conducted an ANOVA test between forest edge vs. interior trees, but we did not found significant differences.

Table 3.3. Description of *P. reticulata* tree, leaf and ecophysiological traits.

	n	Edge trees	Interior trees
DBH (cm)	7	33.57±8.84	35.74±8.18
Basal area (m ²)	7	0.09±0.05	0.10±0.05
Tree height (m)	7	8.29±3.50	9.43±1.81
WD (g cm ⁻³)	7	0.54±0.04	0.54±0.04
Sapwood area (m ²)	7	0.05±0.03	0.06±0.06
Leaf area (cm ²)	140	3.64±1.69	3.81±0.42
Leaf thickness (mm)	140	0.55±0.06	0.52±0.13
SLA (mm ² mg ⁻¹)	140	4.34±0.37	4.54±0.51
Chlorophyll (mmol m ⁻²)	140	0.57±0.04	0.57±0.04
N _{leaf} (%)	6	1.56±0.20	1.52±0.08
C _{leaf} (%)	6	49.38±2.65	50.14±1.03
δ ¹³ C _{leaf} (‰)	6	-28.26±0.49	-28.01±0.57
Δ ¹³ C _{leaf} (‰)	6	0.21±0.01	0.20±0.01
E _{tree} (m ³ year ⁻¹)	4	5.53±3.44	-
BAI (cm ² year ⁻¹)	4	6.57±1.82	-
WUE _{BAI} (cm ² m ³)	4	1.57±0.91	-
iWUE (μmols mol ⁻¹)	6	60.71±5.25	66.63±6.26
WP _{PD} (MPa)	7	0.15±0.02	0.20±0.012
WP _{MD} (MPa)	7	1.00±0.39	1.20±0.41
N _{SOIL} (%)	5	0.91±0.20	1.08±0.25
C _{SOIL} (%)	5	15.23±1.65	16.13±1.86
C/N _{SOIL}	5	19.89±5.05	17.56±4.79

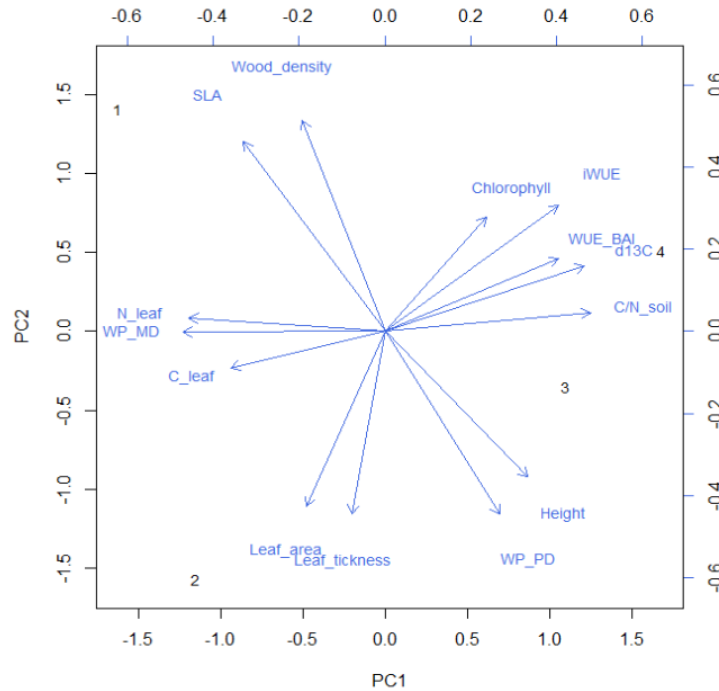


Figure 3.7. Principal Component Analysis for *P. reticulata* life traits and their relations with iWUE and WUE_{BAI}.

4. Discussion

There is an ongoing debate about whether tree growth is driven by C-source limitations –i.e. photosynthetic activity– or by C-sink limitations –e.g. reduced cambial cell differentiation under limiting conditions, such as reduced water potential or low temperature- (Körner 2015). *Polylepis reticulata* exhibited stem growth behavior that is highly temperature-dependent, indicative of sink-related growth limitations (Cabon et al. 2022). This was even more evident in its water use efficiency in growth (WUE_{BAI}) dynamics, which are much more dependent on stem growth than on transpiration changes along the year, highlighting that, under the prevailing environmental conditions, *P. reticulata*'s water management is not driven by strategies for water conservation by the need to conserve water due to water shortage, but rather, is more strongly controlled by reductions in growth potential due to low temperatures. Thus, water shortage has probably not exerted a strong selective pressure on *P. reticulata*'s physiology, a fact further confirmed by its low responsiveness to declining soil water content (Figure S3.3), and its low intrinsic water use efficiency (iWUE) determined

by its leaf isotopic $\delta^{13}\text{C}_{\text{leaf}}$ signature discrimination, with average values of ca. $60 \mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}\text{H}_2\text{O}$ that match the average values reported for tropical and subtropical moist broadleaved forests (Mathias and Thomas 2021).

4.1 Growth seasonality at the Andean tree line

Our results show that *P. reticulata*'s growth presents an intra-annual pattern, determined by the seasonality of the environmental drivers, especially temperature and irradiance. We found that growth was enhanced during periods with higher temperature and PAR, whereas no relationship was found between growth and precipitation, relative humidity or soil water content, suggesting that growth is mainly determined by energy availability rather than water availability. This agrees with previously reported páramo energy-limited conditions (Carabajo-Hidalgo et al. 2023).

These relationships between growth and environmental drivers are an important finding, since trees in Ecuadorian regions usually do not present visible tree-rings due to low seasonality (Bräuning et al. 2009), and previous dendrochronological research on *P. reticulata* conducted by Alvites et al. (2019) were unable to detect clear relationships between tree-ring width and climate, despite some samples showing a positive relationship between ring width and monthly average temperature.

4.2 Environmental constraints on tree growth

The observed growth temperature-dependence, combined with previously reported high photosynthetic potential of *P. reticulata* (Carabajo-Hidalgo et al, under review), suggest that growth is not limited by carbon assimilation (source limitation), but by tissue growth itself (sink limitation). High-altitude plants adapted to cold climates are able to perform photosynthesis at low temperatures (García-Plazaola et al. 2015), but the carbon gained is mostly accumulated as non-structural carbohydrates, and then mobilized to the growing tissues when temperature is not as limiting. This means that, although photosynthesis occurs at low temperatures, cell duplication in meristems and, therefore, growth, cease (Körner 2015). Also, the relationship with higher wind speed can be explained by the plant-to-environment heat exchange at higher wind speed conditions, by breaking the boundary layer more easily. Lower effective temperatures results in both photosynthesis reductions (Zhang

et al. 2021) and cambium cell division cessation, bolstering the effect of reduced temperatures. On the contrary, during periods with higher temperatures and low wind speed, aforementioned constraints disappear and *P. reticulata*'s growth increases, potentially compensating for the periods with less favorable conditions. It is worth mentioning that here we addressed the growth and water use efficiency patterns in a single year, in which temperature, wind speed and irradiation changes were highly correlated. Further observations on the effects of these drivers during years with less homogeneous changes in the behavior of the three environmental drivers would provide additional insight on their individual importance on *P. reticulata*'s growth patterns.

4.3 Intra-annual water use efficiency driven by stem growth patterns

We found that smaller trees are the most efficient in transforming transpired water to stem growth, while the larger trees are the least efficient, perhaps due to their higher canopy exposure to wind. Wind, as seen, can break the boundary leaf layer and alter transpiration rates, photosynthesis and growth by triggering changes in stomatal conductance and leaf temperature (Burgess et al. 2016). In addition, the higher WUE_{BAI} rates occurred starting on DOY 240 (from August onwards), when more favorable conditions –i.e., higher temperature, higher PAR and lower wind speed– resulted in growth exceeding transpiration and, consequently, an increase in WUE_{BAI}. WUE_{BAI} was strongly related to growth dynamics rather than transpiration (Figure 5), suggesting that sink limitation due to low temperatures is the key limiting factor for *P. reticulata*'s growth.

4.4 Morphological adaptations to environmental conditions

Life traits of *P. reticulata* show typical high-altitude characteristics, meeting the general pattern of decreasing tree height and aboveground structures with altitude due to lower temperatures and atmospheric pressure and higher irradiance. Moreover, we did not find differences in traits between trees located in forest edge and interior environments, which means that differences in their ecophysiology, such as transpiration rates, were likely due to environmental conditions rather than tree morphology. In other *Polylepis* forests differences in traits were found, suggesting that edge trees adjusted their functional traits to adapt to conditions of high solar radiation and wind speed and low night temperatures (Ramos et al. 2013), but this is not the case of *P. reticulata*.

When we compare *P. reticulata* traits with those of other *Polylepis* species, results are highly variable depending on environmental conditions such as temperature and precipitation. For instance, mean tree height of *P. reticulata* was around 8 m, whereas *P. pepeii* mean height in Bolivian Andes was 6 m (Hertel and Wesche 2008). The slightly higher values for *P. reticulata* could be explained by slightly higher temperatures (i.e. mean annual temperature is 5.9°C in our study to their average 2°C). Nevertheless, *P. rugulosa* grows in the puna ecosystem in Chile at 6.2°C (mean annual temperature), but its mean stature was around 2 m (Macek et al. 2009), which suggests that not only temperature limits growth, but also water availability, since the puna ecosystem is much drier than the páramo. Regarding leaf structural traits, interspecific difference were also found depending on climate conditions. For example, *P. reticulata* leaves were thinner and its SLA was higher compared with *P. tomentella* and *P. tarapacana*, probably because leaf thickness increases with low temperatures and SLA increases with precipitation (Toivonen et al. 2014), and both *P. tomentella* and *P. tarapacana* grow in a much colder and drier ecosystem than *P. reticulata*. Similar values were found for N foliar content among species: *P. reticulata*'s mean value was 15 mg g⁻¹, whereas *P. rugulosa* and *P. tarapacana* presented values over 10 and 11 mg g⁻¹, respectively (Macek et al. 2009). This high N content could explain the high photosynthetic potential reported for the genus (Carabajo-Hidalgo et al., under review). Finally, isotopic C composition was determined to estimate iWUE, since there was a positive relation between $\delta^{13}\text{C}$ and iWUE (Bauters et al. 2020), and higher $\delta^{13}\text{C}$ values point to greater drought stress. Values for *P. reticulata* were lower than those found for *P. rugulosa*, *P. tomentella* and *P. tarapacana*, species growing in drier ecosystems (Macek et al. 2009), which suggests that *P. reticulata* was not exposed to drought stress, as expected for páramo ecosystem.

When we analyzed relationships among plant traits and WUE, the PCA analysis showed that WUE is positively correlated with chlorophyll content and C/N ratio in soil, which is probably explained by an increase in its photosynthetic rate and, in turn, growth. On the other hand, WUE decreases with higher WP at midday, which is logical, since higher values for WP (this is, values close to zero) indicate poor stomatal control, and therefore, lower WUE. PCA also showed a negative relationship between WUE and nutrient foliar content, contrary to results reported in a recent study conducted in a much drier ecosystem (Querejeta et al.

2022). Since we had few samples for some plant traits, further research is needed, but our results are the first to significantly advance our understanding of the linkages between plant traits and WUE in *P. reticulata*.

4.5 Global warming likely to promote *P. reticulata*'s growth

IPCC projections for the Ecuadorian Andes predict an increase in atmospheric CO₂ and temperature, as well as changes in precipitation distribution (Urrutia and Vuille 2009, Mora et al. 2014). These conditions will probably lead to longer dry periods with higher temperature and solar radiation that could enhance *P. reticulata*'s growth, as currently the primary limitation on growth is low energy availability and carbon uptake will not be a limiting factor. Nevertheless, although higher energy availability could boost *P. reticulata*'s growth in the short term, it is not clear whether water availability will become a more important limiting factor in the future. Currently, páramo soils are rich in organic matter due to low decomposition rates derived from cold and wet conditions. Organic matter plays an important role in water storage, but if climate conditions change and higher temperatures and longer dry periods accelerate organic matter decomposition, water storage capacity of páramo soils could decrease (Buytaert et al. 2011). This, together with increases in evaporative demand, may lead to issues for *P. reticulata*, as this species is likely not adapted to water scarcity (Novick et al. 2024).

5. Conclusions

Growing at one of the highest altitudes where trees are able to grow, *P. reticulata* shows intra-annual seasonality in growth dynamics mostly determined by sink limitations due to low temperatures. Concurrently, *P. reticulata*'s water use efficiency in growth is higher when energy is available and photosynthesis and tissue formation can occur simultaneously. Accordingly, *P. reticulata*'s life traits promote a high photosynthetic potential to take advantage of the small windows of opportunity for photosynthesis to occur, without prioritizing water use efficiency. Our research suggests that *P. reticulata*'s growth should be extremely sensitive to rising temperatures due to global warming, with key uncertainties regarding its response to a declining soil water content and nutrient availability.

6. Funding

This research was financially supported by the University of New Hampshire and the Vice-Rectorate for Research of the University of Cuenca (Vicerrectorado de Investigación de la Universidad de Cuenca, VIUC) in the framework of the project “The ecohydrologic functions of *Polylepis* forests within the Andean páramo and their resilience and vulnerability to climate change”.

7. Author contributions

All authors planned and designed the research. P.C. and H.A. obtained financial support. A.C-H. and B.P. conducted the field investigation process. A.C-H. and D.N-S. applied formal analysis. D.N.-S. contributed with programming and software development. A.C-H., D.N-S., B.P. and S.S. wrote the original draft. All authors reviewed and edited the manuscript until the final version.

8. Acknowledgements

Authors thank the following for their contributions to field and lab work and scientific advice: Amanda Suqui, Karina Puma and María Roo. Authors also thank the Ecuadorian Environmental Ministry for the provision of the research permits to conduct this study (164-18-IC-FLO-DPAA/MA). This manuscript is an outcome of the AC-H Doctorate Program in Ecology, Environmental Sciences and Plant Physiology by Universitat de Barcelona, Spain. DN-S is funded by the EU INFORMA project (Grand Agreement: 101060309).

9. Supplementary Data

Table S3.1. Initial DBH for the four studied trees.

Tree	Initial DBH (cm)
Tree 1	33.5
Tree 2	28.1
Tree 3	27.8
Tree 4	24.2

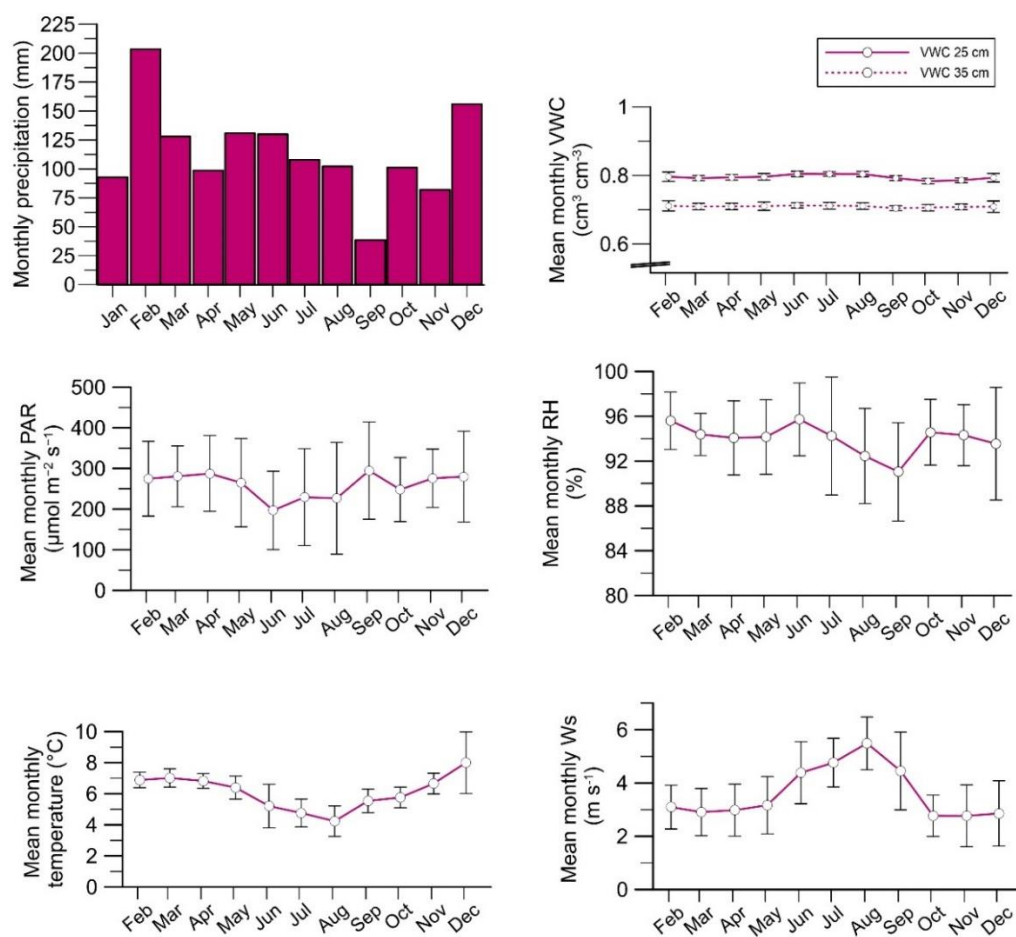


Figure S3.1 Mean monthly values for precipitation, VWC, PAR, RH, temperature and Ws for the study period (2019).

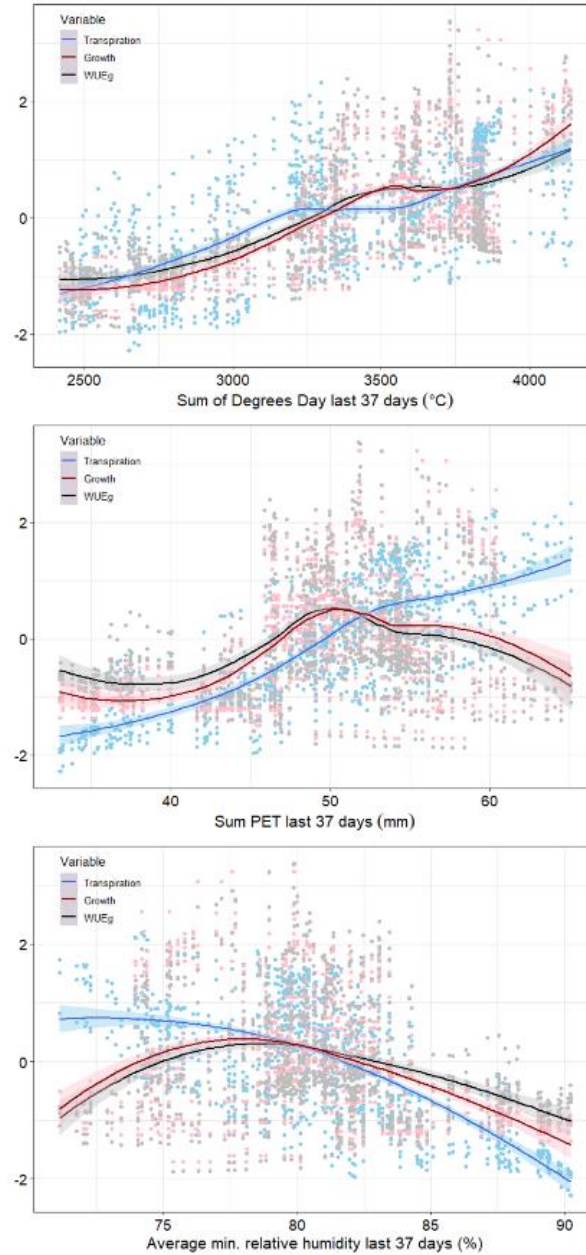


Figure S3.2. Correlations for E_{tree} , BAI_{tree} and WUE_{BAI} with environmental variables with 37 days lag, and for the four *P. reticulata* trees studied. Above) sum of degrees per day, in °C; middle) sum of precipitation, in mm; and below) average minimum relative humidity, in %. Regression trendlines indicate the results of a “loess” spline fit ($\pm 1\text{SE}$) among the explanatory variables (Temperature, Precipitation and Relative humidity) and the standardized responses of tree transpiration (E_{tree}), tree basal area growth (BAI_{tree}), and water use efficiency in growth (WUE_{BAI}).

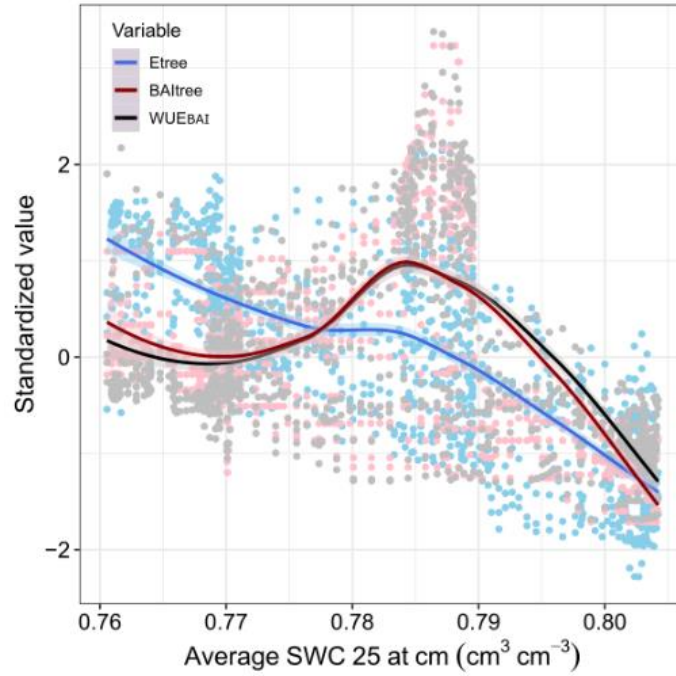


Figure S3.3: Standardized responses of 37-days integrated transpiration (E_{tree}), stem growth (BAI_{tree}) and water use efficiency in growth (WUE_{BAI}) to average soil water content (SWC) at 25 cm depth, for four *P. reticulata* trees growing at páramo, Ecuador, during the year 2019. Dots indicate the aggregated daily measurements, and trendlines indicate a “loess” fit to show the trend of the relationship.

DISCUSIÓN GENERAL



DISCUSIÓN GENERAL

El objetivo de esta tesis es estudiar la ecofisiología de la especie *Polylepis reticulata* en el ecosistema páramo de la región andina. Para ello, en el capítulo 1 se ha analizado la dinámica del uso del agua a nivel de árbol, los principales controladores climáticos que la regulan, las diferencias de dinámica entre periodos más secos y más húmedos y las diferencias entre árboles del borde y del interior del bosque. En el capítulo 2 se ha evaluado el potencial fotosintético de la especie a nivel de hoja, así como su estrategia de comportamiento estomático y de uso del agua. Por último, en el capítulo 3 se han analizado los patrones de crecimiento de área basal y de eficiencia en el uso del agua en el crecimiento (WUE_{BAI}), se han evaluado las variables ambientales que determinan dichos patrones y se ha relacionado la eficiencia en el uso del agua con varios rasgos morfológicos y funcionales de la especie.

1. Periodos breves pero fundamentales en la ecofisiología de *P. reticulata*

P. reticulata se desarrolla en el páramo andino, un ecosistema que, como se ha descrito previamente, presenta unas condiciones extremas para la supervivencia y crecimiento de la vegetación. Estas condiciones incluyen temperaturas bajas, con una amplitud diaria que puede llegar a los 20°C de diferencia entre el día y la noche y altas radiaciones incidentes por la proximidad a la línea ecuatorial alternadas con frecuentes nieblas y nubosidad que limitan la energía disponible (Buytaert et al. 2006). Sin embargo, *P. reticulata* es capaz de crecer y sobrevivir en este entorno, lo que sugiere que la especie está adaptada a las duras condiciones climáticas de la región. En esta tesis se ha estudiado un parche de *P. reticulata* situado al sur de Ecuador, en la microcuenca del río Zhurucay, donde la precipitación media anual es de 1200 mm y los suelos presentan una alta capacidad de retención de agua y una textura adecuada para el aprovechamiento hídrico por las raíces (Mosquera et al. 2015, Ochoa-Sánchez et al. 2019), lo que implica que la disponibilidad de agua no es un problema para este bosque. En cuanto a la disponibilidad de energía, la radiación solar media diaria es de 14 MJ m⁻², ya que los cielos nublados son frecuentes, además de darse condiciones de niebla aproximadamente 1630 horas al año, es decir, en un año, un 18% del tiempo hay niebla de

densidad variable. Esta situación lleva a que la energía sea un factor limitante para los procesos ecofisiológicos de los bosques. Sin embargo, se han registrado mediciones puntuales de radiación de 1400 W m^{-2} (Berrones et al. 2021) y se ha descrito un periodo desde octubre a diciembre donde la energía incidente es notablemente mayor (Carrillo-Rojas et al. 2019). Los resultados de esta tesis sugieren que los árboles de *P. reticulata* aprovechan estos momentos de mayor disponibilidad de energía (“*brief windows*”) para mantener su balance de carbono positivo y poder sobrevivir en las condiciones del páramo.

En el **capítulo 1** se ha evaluado la dinámica de flujo de savia de *P. reticulata*, encontrando que las mayores tasas tienen lugar en períodos de condiciones más favorables -es decir, con mayor disponibilidad de energía- determinados principalmente por un aumento del VPD ($\text{VPD} > 0,15 \text{ kPa}$) y, secundariamente, por un descenso del contenido de agua en el suelo por debajo de los niveles de saturación ($\text{VWC} < 0,73 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-3}$). Estas condiciones son más habituales en años con menor precipitación y mayor PAR, pero en un periodo de dos años de monitoreo en campo (2018-2019) solo se registraron estas condiciones en el 11% de las medidas realizadas, por lo que se deduce que son muy poco frecuentes. Sin embargo, aunque breves y poco usuales, estos breves periodos de condiciones más favorables podrían ser fundamentales para la supervivencia y crecimiento de la especie, ya que estudios previos han relacionado el grosor de los anillos de crecimiento de *P. reticulata* con las altas temperaturas, y por lo tanto, alta energía (Alvites et al. 2019). Hasta ahora, la transpiración en árboles del género *Polylepis* solo se había estimado a partir de medidas instantáneas realizadas con equipos de medida del intercambio gaseoso. A diferencia de las especies de *Polylepis* del páramo, como *P. reticulata*, en los árboles de *Polylepis* que se desarrollan en ecosistemas semiáridos de puna los períodos más favorables para el intercambio gaseoso y el crecimiento se dan en la época lluviosa y cálida, ya que en esos periodos la planta dispone de agua, radiación solar y buena temperatura. En estas condiciones se observó que *P. rugulosa* abre sus estomas para aumentar sus tasas de transpiración y de fotosíntesis, compensando así las tasas bajas que tienen en la época seca y fría y consiguiendo mantener un balance positivo de carbono (Macek et al. 2009). En *P. tarapacana* también se registraron valores más altos de conductancia estomática en la época lluviosa y cálida, sin embargo no se encontraron diferencias significativas en las tasas de transpiración o fotosíntesis con respecto a la época seca y fría, lo que indica que la especie tiene limitaciones en ambas épocas: limitación hídrica

en la época seca y limitación por energía en la época lluviosa (García-Núñez et al. 2004). En el páramo, Rada et al. (1996) reportó que durante la época seca *P. sericea* responde a los aumentos de VPD cerrando sus estomas para evitar la pérdida de agua por transpiración. Esto parece ir en contra del comportamiento que se ha encontrado en *P. reticulata*, en la que no se ha detectado cierre estomático con el aumento de VPD. Sin embargo, esto podría deberse a que el sitio de estudio de Rada et al. (1996), aunque también es de ecosistema páramo, es considerablemente menos lluvioso, con una precipitación entre 800-900 mm anuales frente a los 1200 mm que se registran en el bosque de *P. reticulata* de la microcuenca del río Zhurucay. Este menor aporte de precipitación podría causar un mayor déficit hídrico en la época seca y, por lo tanto, explicaría el cierre de estomas de *P. sericea* para evitar la pérdida de agua. Aun así, hay que tener en cuenta que las respuestas de las plantas al aumento del VPD son muy variables entre especies, e incluso entre individuos de la misma especie o entre las hojas del mismo individuo (Grossiord et al. 2020), lo que sin duda dificulta las comparaciones.

El único estudio en el páramo que midió de manera continua la transpiración de plantas se llevó a cabo en una especie arbustiva de roseta caulescente, por lo que los resultados no son comparables con los árboles de *Polylepis*. Aun así, se pueden encontrar ciertas similitudes, ya que Cárdenas et al. (2018) encontraron que un 76% de la transpiración en *Espeletia* spp. se puede explicar también por variables como la temperatura, la radiación solar o la humedad relativa. Sin embargo, *Espeletia* spp. puede acumular agua en su tallo, mostrando patrones caóticos de transpiración al desvincularse de las variables ambientales, algo que en *P. reticulata* no es posible. En otros ecosistemas con condiciones similares al páramo sí se llevaron a cabo mediciones continuas de transpiración en árboles. En un ecosistema de bosque nuboso, Alvarado-Barrientos et al. (2014) encontraron que la presencia de niebla reducía las tasas de transpiración hasta un 90%. Aunque no se midió el efecto de la niebla sobre la transpiración de *P. reticulata*, esta podría limitar la energía disponible y reducir la transpiración, ya que, como se ha mencionado, su presencia es frecuente en el sitio de estudio (Berrones et al. 2021). En un bosque premontano tropical, Aparecido et al. (2016) encontraron que la transpiración estaba controlada por el VPD y por la humedad de las hojas, cayendo las tasas de transpiración un 28% cuando las hojas estaban mojadas. En el caso de *P. reticulata*, la humedad de las hojas se ha medido durante el año 2019, resultando que el

80% de las mediciones registraban hojas húmedas. Sin embargo, el análisis de random forest realizado para determinar las variables que influyen en la transpiración no estableció que la humedad de las hojas tuviese ningún efecto sobre la misma.

Por otra parte, mientras que la humedad del suelo no fue considerada en los estudios citados, en *P. reticulata* es la segunda variable con más influencia en la dinámica del uso del agua, potenciándose la transpiración cuando el VPD es mayor a 0,15 kPa y la humedad del suelo baja de $0,73 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-3}$. En otros estudios se ha reportado que la transpiración aumenta cuando tanto el VPD como el agua disponible en el suelo presentan valores altos, y que se reduce ante una disminución de la cantidad de agua, debido a que el estrés hídrico lleva a las plantas a reducir su conductancia estomática y minimizar así la pérdida de agua por transpiración (Nie et al. 2021). Esta situación no es la observada en *P. reticulata*, donde las tasas más elevadas de transpiración ocurren al aumentar el VPD y disminuir el contenido de agua en el suelo. Esto puede deberse a la gran capacidad de retención de agua de los suelos del páramo, que llevan a que los suelos estén cerca de la saturación durante la mayor parte del año. Por otro lado, los estudios que describen cierre estomático con aumento del VPD reportan valores de demanda evaporativa superiores a los encontrados en nuestro estudio (Gotsch et al. 2016, Nie et al. 2021), donde la transpiración se activa a un valor de VPD superior a 0,15 kPa que, si bien es elevado en el páramo, es relativamente bajo en comparación a otros ecosistemas, lo que puede dificultar las comparaciones.

La transpiración de *P. reticulata* está también marcada por las diferencias microclimáticas que tienen lugar en los parches de bosque. Los árboles situados en los bordes del parche transpiraron un 46% más que aquellos situados en el interior. Las diferencias de transpiración entre árboles del interior y del borde se han reportado en estudios previos de diferentes ecosistemas, en los que se ha destacado el papel de la mayor energía de advección de los bordes sobre el aumento de la transpiración (Giambelluca et al. 2003, Hernandez-Santana et al. 2011, Gotsch, Crausbay, et al. 2014, Özçelik et al. 2022). En el caso de *P. reticulata* cabe destacar que en el borde del bosque se encontraron mucho más frecuentemente condiciones de humedad del suelo por debajo del umbral que activa la transpiración ($\text{VWC} < 0,73 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-3}$) que en el interior: en el borde se bajó de este umbral en un 59,9% de las medidas, mientras que en el suelo del interior del bosque solo un 2,3% de las medidas estaba por debajo

del umbral, lo que puede explicar las diferencias encontradas en las tasas de transpiración. Podría pensarse también que las diferencias se deben a diferencias estructurales o morfológicas de los árboles, adaptados a las diferentes ubicaciones dentro del parche. No obstante, en el **capítulo 2** de esta tesis se demuestra que no existen diferencias significativas en el potencial fotosintético de los árboles del interior y del borde, y en el **capítulo 3** el estudio de los rasgos de la especie tampoco ha arrojado diferencias significativas entre los individuos de ambas ubicaciones, lo que sugiere que las diferencias en su respuesta ecofisiológica no se deben a factores intrínsecos de los individuos, sino a las condiciones ambientales de su entorno. En los parches de *Polylepis* se ha visto que, en general, los árboles del borde están sometidos a una mayor exposición a la radiación solar, al viento y además el suelo tiene menor capacidad de retención de agua (Ramos et al. 2013). La particular distribución en parches de *Polylepis* propicia que una gran parte de los árboles estén expuestos a las condiciones particulares del borde, lo que puede estimular tasas más altas de transpiración.

2. El aparato fotosintético también está adaptado a las condiciones limitantes

La frecuente nubosidad y niebla en el páramo provocan que las temperaturas sean bajas y que los momentos de alta radiación solar sean poco frecuentes. Los momentos con mayor disponibilidad de energía son aprovechados por los árboles de *P. reticulata* para su transpiración y, de manera simultánea, para sus procesos fotosintéticos. A través de los estomas sale al exterior el agua transpirada, y entra el CO₂ del aire del que se obtendrá el carbono para procesos tan importantes como regenerar partes del árbol, almacenar carbohidratos no estructurales como almidón o crecer (Yepes and Buckeridge 2011).

En el **capítulo 2** se ha evaluado el potencial fotosintético de *P. reticulata*, y se ha encontrado que su aparato fotosintético está perfectamente adaptado para aprovechar los breves periodos con energía disponible y ser eficiente en las duras condiciones climáticas del páramo. En las curvas de respuesta fotosintética se ha encontrado que la fotosíntesis se satura rápido, a relativamente bajas intensidades de PAR, lo que sugiere que *P. reticulata* responde rápidamente a las condiciones variables de radiación del páramo. Para aprovechar los momentos con alta energía, muy limitados en el ecosistema, *P. reticulata* ha desarrollado

también un elevado potencial de carboxilación, que se refleja en su ratio $J_{\max 25}/V_{\max 25}$ de 1.31, un ratio inferior al observado en otras especies arbóreas que se desarrollan en condiciones menos limitantes (Kattge and Knorr 2007). En otras especies del género, como *P. tarapacana*, García-Plazaola et al. (2015) han reportado también una alta capacidad para aprovechar ventanas de oportunidades para asimilar carbono, con aparatos fotosintéticos adaptados a las bajas temperaturas que permiten alcanzar altas tasas de asimilación. También Körner (2015) ha destacado que las plantas de ambientes fríos están adaptadas para mantener una fotosíntesis del 50-70% de su máximo incluso por debajo de los 5°C, y de hasta un 30% de su máximo cerca del punto de congelación, lo que les permite asimilar carbono en las condiciones extremas en las que se desarrollan.

Para evaluar si las respuestas fotosintéticas varían entre árboles situados en el borde del bosque y en el interior, como se encontró para la transpiración en el **capítulo 1**, se realizaron curvas de respuesta fotosintética en ambos grupos de árboles. Sin embargo, no se ha encontrado evidencia significativa de que las respuestas sean diferentes. Es posible que en condiciones de campo los árboles del borde tengan tasas fotosintéticas mayores por su mayor exposición a la radiación solar (Ramos et al. 2013), pero bajo condiciones controladas, tanto los del borde como los del interior mantienen el mismo potencial fotosintético elevado.

En el **capítulo 2** también se ha caracterizado el comportamiento estomático de la especie, así como su estrategia de uso del agua, aplicando el modelo de “*Optimal Stomatal Behavior*” de Medlyn et al. (2011). Tanto los árboles del borde como los del interior muestran un bajo control estomático, con una estrategia poco conservativa en el uso del agua, comparable a bosques de coníferas de latitudes templadas. Esto puede explicarse porque el agua no es un factor limitante en el páramo, ya que la precipitación es abundante y el contenido de agua en el suelo está por encima de la saturación gran parte del año, disponible para las plantas gracias a la textura del suelo. Por lo tanto, es probable que *P. reticulata* no haya experimentado la escasez hídrica como una presión evolutiva, de ahí su reducido control estomático.

3. ***P. reticulata* sigue una estacionalidad aunque esté en la zona ecuatorial**

Como se ha demostrado en el **capítulo 2**, *P. reticulata* puede realizar eficientemente fotosíntesis a pesar de que las condiciones ambientales sean poco favorables, ya que su aparato fotosintético aprovecha los breves momentos de mayor energía disponible para asimilar carbono. Si la especie asimila carbono aun en las condiciones extremas en las que se desarrolla, se podría pensar que su crecimiento debería ser elevado, pero, por el contrario, las tasas de crecimiento son bajas (Alvites et al. 2019). Por lo tanto, se deduce que el crecimiento de *P. reticulata* no está limitado por el suministro de carbono, sino por otros factores que impiden que dicho carbono se transforme en biomasa para el crecimiento (Körner 2012, 2015). En el **capítulo 3** se ha analizado la dinámica del crecimiento a lo largo del año 2019 observando que existe una marcada estacionalidad intra-anual, con meses donde el crecimiento se reduce (mayo-agosto) y meses donde se reactiva (de agosto en adelante). Esto es llamativo dado que en las zonas próximas al ecuador la baja estacionalidad hace difícil distinguir los anillos de crecimiento de los árboles (Argollo et al. 2004), sin embargo, aunque los anillos no sean fácilmente visibles, la estacionalidad sí existe. Al relacionar la estacionalidad intra-anual de los patrones de crecimiento con las condiciones climáticas, se ha encontrado una vez más que la energía es el factor que gobierna el comportamiento de los árboles. El crecimiento, al igual que la transpiración, se ve incrementado en momentos con mayor disponibilidad energética, marcada por las temperaturas y la radiación solar. Es posible que los descensos de temperatura reduzcan las tasas fotosintéticas de la especie y, en consecuencia, la asimilación de carbono. No obstante, como se ha descrito previamente, los aparatos fotosintéticos de las especies que viven en ambientes fríos suelen estar adaptados para realizar fotosíntesis aun con temperaturas bajas, por lo que la temperatura no estaría limitando el crecimiento por medio de la inhibición de la fotosíntesis, sino por medio de la detención de los procesos de división y diferenciación celular en los meristemos. Körner (2015) detalla que esta es una limitación frecuente en los ambientes fríos de los bosques de alta montaña ($< 5^{\circ}\text{C}$) en los que a pesar de que la fotosíntesis tiene lugar, el carbono asimilado no se transforma en nuevo tejido, sino que se acumula como carbohidratos no estructurales que serán utilizados cuando las condiciones sean más favorables para el crecimiento. Por otro lado, además de la temperatura ambiente baja, el crecimiento de *P. reticulata* también se ve reducido cuando la velocidad del viento es alta. El viento puede ser un factor que interfiere

en el crecimiento de las plantas, especialmente en ecosistemas costeros o de alta montaña en los que la velocidad del viento puede aumentar y mantenerse durante periodos prolongados. Por un lado, vientos intensos pueden afectar al soporte mecánico de las plantas, limitando su altura, rompiendo sus tallos y aumentando su proporción de raíces para contrarrestar el empuje de las ráfagas de viento. Por otro lado, el viento tiene también efecto sobre las variables fisiológicas de las especies al romper la capa límite de las hojas (Burgess et al. 2016, Zhang et al. 2021). En el caso de *P. reticulata*, la capa límite podría romperse durante los episodios de viento y, al combinarse con las bajas temperaturas ambientales, reducir drásticamente la temperatura foliar, de manera que la fotosíntesis se reduciría al estar debajo de la temperatura óptima y los procesos celulares que permiten que se forme nuevo tejido se detendrían. Sin embargo, estudios previos que han manipulado la velocidad del viento para ver el efecto sobre el crecimiento vegetal no encontraron diferencias significativas en la producción de biomasa entre los diferentes tratamientos, lo que sugiere que los efectos negativos se compensan durante los periodos más favorables (Zhang et al. 2021). Este parece ser el caso de *P. reticulata*, en la que el crecimiento incrementa cuando el viento se reduce y la temperatura y la radiación aumentan.

En el **capítulo 1** y en el **capítulo 2** los resultados sugieren que *P. reticulata* tiene un bajo control estomático, ya que no se ha observado cierre de sus estomas ante un aumento del VPD y la aplicación del modelo de “*Optimal Stomatal Behavior*” de Medlyn et al. (2011) sitúa la estrategia de uso del agua de *P. reticulata* muy próxima a la de coníferas perennes, sugiriendo que no es conservativa en el uso del agua. En el **capítulo 3** al relacionar la transpiración y el crecimiento de *P. reticulata* se ha encontrado también un patrón intra-anual en la eficiencia en el uso del agua en el crecimiento (WUE_{BAI}). Esto indica que la eficiencia de la especie no es igual durante todo el año, sino que su eficiencia aumenta también con el aumento de energía. En los periodos con altas temperaturas, alta PAR y poco viento, el agua transpirada se convierte en crecimiento radial y, por lo tanto, es más eficiente que en los periodos fríos y ventosos, en los que el agua perdida por transpiración no se convierte en nueva biomasa. Se demuestra así que la WUE_{BAI} está mucho más ligada al crecimiento que a las tasas de transpiración, que son más o menos estables durante todo el año, por lo que la eficiencia en el uso del agua no está determinada por la necesidad de la especie de ahorrar agua, sino que se reduce como consecuencia de una disminución en el crecimiento debido a

las condiciones limitantes de baja temperatura. Se ha encontrado también que los árboles de menor tamaño son más eficientes que los de mayor tamaño, posiblemente porque los árboles más grandes tienen mayor exposición de sus copas a las variables ambientales que limitan el crecimiento, es decir, más exposición al viento y mayor probabilidad de ruptura de la capa límite, reduciendo la temperatura de las hojas. Además de evaluar el WUE_{BAI} , en el **capítulo 3** se ha analizado también la eficiencia en el uso del agua intrínseca (iWUE) a partir de la composición isotópica de carbono 13 ($\delta^{13}C$), encontrando también evidencias de una baja eficiencia, con valores próximos a los $60 \mu molCO_2 \text{ mol}^{-1}H_2O$, valores que encajan con los de otros bosques de regiones tropicales húmedas en los que el agua no es un factor limitante para el desarrollo de los árboles (Mathias and Thomas 2021). Por el contrario, en otras especies del género *Polylepis* que habitan ecosistemas de puna, más secos, los valores de $\delta^{13}C$ y de iWUE fueron superiores (Macek et al. 2009), demostrando que están sometidas a un mayor estrés hídrico que las especies de *Polylepis* que viven en el páramo, como *P. reticulata*.

4. Adaptaciones morfológicas de *P. reticulata* a las condiciones ambientales

El análisis de los rasgos morfológicos y funcionales de *P. reticulata* detallado en el **capítulo 3** confirma que la especie presenta características típicas de los árboles que se desarrollan en altitud, adaptándose así a las condiciones de menor temperatura, menor presión atmosférica y mayor viento típicas de la alta montaña. Al comparar los resultados de *P. reticulata* con otras especies de su género, se ha observado una gran variabilidad dependiendo fundamentalmente de la temperatura media anual y de la precipitación acumulada de los ecosistemas comparados. Por ejemplo, la altura de los árboles de *P. reticulata* y su área foliar específica muestran valores más altos que en especies como *P. tomentella* o *P. tarapacana*, que viven en ecosistema de puna, un ecosistema semiárido más seco y frío que el páramo (Toivonen et al. 2014). En cambio, los valores de contenido de nitrógeno foliar son bastante homogéneos entre *P. reticulata* y otras especies de su género. Mientras que en *P. reticulata* se han encontrado valores medios de 15 mg g^{-1} , *P. tarapacana* presentó $11,7 \text{ mg g}^{-1}$, *P. rugulosa* $10,2 \text{ mg g}^{-1}$ y *P. tomentella* $9,8 \text{ mg g}^{-1}$ de media (Macek et al. 2009), lo que puede explicar el alto rendimiento fotosintético registrado tanto para *P. reticulata* en el **capítulo 2**,

como para otras especies del género en estudios previos (García-Plazaola et al. 2015), ya que en general un mayor contenido de nitrógeno se asocia con mayores tasas máximas de fotosíntesis debido a que la mayor parte del nitrógeno foliar procede de las estructuras de los cloroplastos (Poorter and Evans 1998). Otros rasgos de la especie, como la caracterización de sus estomas, han sido abordados sin éxito debido a la complejidad de diferenciar estas estructuras por la elevada pubescencia que presentan las hojas (Figura 3). Solo se ha podido determinar que *P. reticulata* es una especie hipostomática.

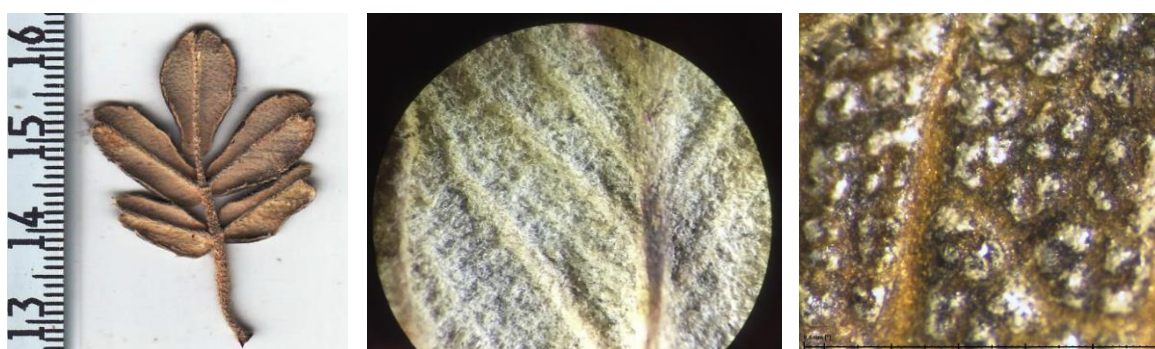


Figura 3. Detalle de una hoja de *P. reticulata* donde se puede apreciar la pubescencia característica y una alta densidad estomática.

Dado que los rasgos funcionales de las plantas responden a las condiciones ambientales y determinan en gran medida su ecofisiología, se han relacionado con la $iWUE$ y WUE_{BAI} de *P. reticulata*, encontrando una relación positiva con el contenido de clorofila y la relación C/N del suelo, y una relación inversa con el potencial hídrico y el nitrógeno y carbono foliar. Esta última relación es sorprendente, ya que en estudios previos se encontró que la relación entre los nutrientes foliares y el WUE_{BAI} era positiva (Querejeta et al. 2022). Sin embargo, dicho estudio fue llevado a cabo en un ecosistema con características muy diferentes al páramo, con una menor disponibilidad de agua.

5. Respuesta potencial de los bosques de *P. reticulata* al cambio climático

Como se ha comentado previamente, las predicciones de cambio climático del IPCC para la región andina prevén un incremento de la temperatura y, aunque la precipitación acumulada anual no va a variar, sí habrá cambios representativos en la distribución de esta precipitación, lo que podría dar lugar a periodos prolongados de condiciones más secas y cálidas (Urrutia and Vuille 2009, Mora et al. 2014). Es probable que, a corto plazo, estos periodos de mayor disponibilidad de energía sean aprovechados por los bosques de *P. reticulata*, ya que se darán las condiciones óptimas que se han detallado en esta tesis para que se incremente su transpiración, su fotosíntesis y -dado que la temperatura ya no será un limitante- también su crecimiento. El aumento en el crecimiento provocará a su vez un incremento del WUE_{BAI} , por lo que en las primeras etapas del cambio climático los árboles de *P. reticulata* posiblemente sean más eficientes, al menos, mientras el agua no sea un limitante. Sin embargo, con las condiciones más secas y cálidas la materia orgánica del suelo se descompondrá más rápido, lo que puede llevar a una menor capacidad de retención de agua en el suelo (Buytaert et al. 2011). Si la tendencia de baja retención de agua y alta demanda evaporativa continúan durante periodos prolongados, podría suponer un problema para *P. reticulata*, ya que como se ha visto, su comportamiento estomático probablemente no está adaptado para responder a condiciones de baja disponibilidad hídrica. En el peor de los escenarios, la falta de agua y la baja regulación estomática pueden aumentar la tensión hidráulica del xilema y producir problemas de embolismo (Brodribb and Cochard 2009). Además, la evidencia dendrocronológica en otras especies del género *Polylepis* sugieren una vulnerabilidad al estrés hídrico cuando el contenido de agua en el suelo es bajo (Moya and Lara 2011, Jomelli et al. 2012). Por lo tanto, a pesar de que en un principio *P. reticulata* pueda verse beneficiada por un cambio en las condiciones ambientales hacia una mayor disponibilidad de energía, a largo plazo los efectos pueden ser muy negativos para estos bosques debido a su baja adaptación a esas condiciones.

CONCLUSIONES



CONCLUSIONES

De los estudios realizados en el bosque de *Polylepis reticulata* desarrollados en los capítulos anteriores, se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- Los árboles de *P. reticulata* aprovechan los cortos periodos de condiciones más favorables que se dan en las condiciones ambientales extremas en las que se desarrollan.
- La transpiración está principalmente controlada por el VPD, y la humedad del suelo tiene un papel secundario, ya que solo tiene un efecto en la transpiración cuando el VPD es mayor a 0,15 kPa y el contenido volumétrico de agua en el suelo es menor a $0,73 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-3}$. Esto se debe a que en el ecosistema páramo donde se desarrolla *P. reticulata*, el suelo tiene valores de humedad muy cercanos a la saturación durante casi todo el año.
- Al comparar la transpiración de los árboles entre un periodo más seco y otro más lluvioso, las tasas de transpiración son mayores en el más seco. Se deduce que la especie tiene un bajo control estomático, ya que ante un aumento progresivo del VPD no se observó en ningún evento un cierre estomático.
- Las tasas de transpiración son más altas en los árboles de *P. reticulata* situados en el borde del bosque en comparación con los del interior. Sin embargo, esta diferencia no se mantiene para las tasas fotosintéticas, en las que no se encuentran diferencias significativas entre árboles situados en el bosque y árboles en el interior.
- *P. reticulata* posee un aparato fotosintético altamente eficiente que responde rápidamente a las condiciones cambiantes del sitio, saturándose a valores relativamente bajos de PAR.
- Las tasas fotosintéticas de la especie son potencialmente elevadas teniendo en cuenta las condiciones en las que se desarrolla, lo que indica que su aparato fotosintético debe estar bien adaptado para aprovechar las escasas oportunidades de condiciones de mayor disponibilidad de energía que se presentan en el páramo.

- *P. reticulata* presenta patrones estacionales de crecimiento intra-anales marcados, a pesar de la baja estacionalidad presente en la zona ecuatorial y a pesar que las muestras de madera de su tronco no presenten anillos de crecimiento fácilmente visibles.
- *P. reticulata* presenta también una estacionalidad muy marcada en la eficiencia del uso del agua, mostrando un notable incremento de su eficiencia en los periodos con mayor disponibilidad de energía, que son escasos en el ecosistema.
- Tanto el crecimiento como la eficiencia en el uso del agua en *P. reticulata* están controlados positivamente por la temperatura máxima y por la radiación fotosintéticamente activa (PAR), mientras que la velocidad del viento se correlaciona de manera negativa.
- El crecimiento de *P. reticulata* no está limitado por la asimilación de carbono (*source limitation*), sino por las bajas temperaturas que impiden la actividad meristemática (*sink limitation*).
- Los rasgos funcionales de *P. reticulata* presentan características típicas de especies que se desarrollan a condiciones de elevada altitud, marcadas por la baja temperatura.
- La eficiencia en el uso del agua de *P. reticulata* presenta una relación positiva con rasgos funcionales como la clorofila y C/N del suelo, y una relación negativa con el contenido de nutrientes en la hoja y con el bajo potencial hídrico.

BIBLIOGRAFÍA



BIBLIOGRAFÍA

- Alvarado-Barrientos MS, Holwerda F, Asbjornsen H, Dawson TE, Bruijnzeel LA (2014) Suppression of transpiration due to cloud immersion in a seasonally dry Mexican weeping pine plantation. *Agricultural and Forest Meteorology* 186:12–25.
- Alvites C, Battipaglia G, Santopuoli G, Hampel H, Vázquez RF, Matteucci G, Tognetti R (2019) Dendrochronological analysis and growth patterns of *Polylepis reticulata* (Rosaceae) in the Ecuadorian Andes De Micco V (ed). *IAWA* 40:331–S5.
- Aparecido LMT, Miller GR, Cahill AT, Moore GW (2016) Comparison of tree transpiration under wet and dry canopy conditions in a Costa Rican premontane tropical forest. *Hydrol Process* 30:5000–5011.
- Argollo J, Soliz C, Villalba R (2004) Potencialidad dendrocronológica de *Polylepis tarapacana* en los Andes Centrales de Bolivia. *Ecología en Bolivia* 39:5–24.
- Azócar A, Rada F, García-Núñez C (2007) Functional characteristics of the arborescent genus *Polylepis* along a latitudinal gradient in the high Andes. *Interciencia* 32:663–668.
- Bader MY, Van Geloof I, Rietkerk M (2007) High solar radiation hinders tree regeneration above the alpine treeline in northern Ecuador. *Plant Ecology* 191:33–45.
- Bates D, Maechler M, Bolker B, Walker S, Christensen RHB, Singmann H, Dai B, Scheipl F, Grothendieck G, Green P, Fox J, Bauer A, Krivitsky PN, Tanaka E (2023) Linear Mixed-Effects Models using ‘Eigen’ and S4. <https://github.com/lme4/lme4/>
- Bauters M, Meeus S, Barthel M, Stoffelen P, De Deurwaerder HPT, Meunier F, Drake TW, Ponette Q, Ebuy J, Vermeir P, Beeckman H, Wyffels F, Bodé S, Verbeeck H, Vandeloos F, Boeckx P (2020) Century-long apparent decrease in intrinsic water-use efficiency with no evidence of progressive nutrient limitation in African tropical forests. *Glob Change Biol* 26:4449–4461.
- Beniston M (2003) Climatic change in mountain regions: a review of possible impacts. *Climatic Change* 59:5–31.
- Berrones G, Crespo P, Wilcox BP, Tobón C, Céleri R (2021) Assessment of fog gauges and their effectiveness in quantifying fog in the Andean páramo. *Ecohydrology* 14:e2300.
- Bitter G (1911) Revision der Gattung *Polylepis*. *Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie* 45:564–656.
- Bleby TM, Burgess SSO, Adams MA (2004) A validation, comparison and error analysis of two heat-pulse methods for measuring sap flow in *Eucalyptus marginata* saplings. *Functional Plant Biology* 31:645–658.

- Bonal D, Ponton S, Le Thiec D, Richard B, Ningre N, Hérault B, Ogée J, Gonzalez S, Pignal M, Sabatier D, Guehl J (2011) Leaf functional response to increasing atmospheric CO₂ concentrations over the last century in two northern Amazonian tree species: a historical $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ approach using herbarium samples. *Plant Cell & Environment* 34:1332–1344.
- Boza Espinoza TE, Quispe-Melgar HR, Kessler M (2019) Taxonomic Reevaluation of the *Polylepis sericea* Complex (Rosaceae), with the Description of a New Species. *Systematic Botany* 44:324–334.
- Bräuning A, Volland-Voigt F, Burchardt I, Ganzhi O, Nauß T, Peters T (2009) Climatic control of radial growth of *Cedrela montana* in a humid mountain rainforest in southern Ecuador. *Erdkunde* 63:337–345.
- Bräuning A, Von Schnakenburg P, Volland-Voigt F, Peters T (2008) Seasonal growth dynamics and its climate forcing in a tropical mountain rain forest in southern Ecuador. *TRACE* 6:32–35.
- Brodribb TJ, Cochard H (2009) Hydraulic Failure Defines the Recovery and Point of Death in Water-Stressed Conifers. *Plant Physiology* 149:575–584.
- Brooks S, Gelman A (1998) Some Issues in Monitoring Convergence of Iterative Simulations.
- Burgess SSO, Adams MA, Turner NC, Beverly CR, Ong CK, Khan AAH, Bleby TM (2001) An improved heat pulse method to measure low and reverse rates of sap flow in woody plants. *Tree Physiology* 21:589–598.
- Burgess AJ, Retkute R, Preston SP, Jensen OE, Pound MP, Pridmore TP, Murchie EH (2016) The 4-Dimensional Plant: Effects of Wind-Induced Canopy Movement on Light Fluctuations and Photosynthesis. *Front Plant Sci* 7. <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fpls.2016.01392/abstract> (8 June 2024, date last accessed).
- Buytaert W, Céleri R, De Bièvre B, Cisneros F, Wyseure G, Deckers J, Hofstede R (2006) Human impact on the hydrology of the Andean páramos. *Earth-Science Reviews* 79:53–72.
- Buytaert W, Cuesta-Camacho F, Tobón C (2011) Potential impacts of climate change on the environmental services of humid tropical alpine regions: Climate change and environmental services. *Global Ecology and Biogeography* 20:19–33.
- Cabon A, Kannenberg SA, Arain A, Babst F, Baldocchi D, Belmecheri S, Delpierre N, Guerrieri R, Maxwell JT, McKenzie S, Meinzer FC, Moore DJP, Pappas C, Rocha AV, Szejner P, Ueyama M, Ulrich D, Vincke C, Voelker SL, Wei J, Woodruff D, Anderegg WRL (2022) Cross-biome synthesis of source versus sink limits to tree growth. *Science* 376:758–761.

- Carabajo-Hidalgo A, Sabaté S, Crespo P, Asbjornsen H (2023) Brief windows with more favorable atmospheric conditions explain patterns of *Polylepis reticulata* tree water use in a high-altitude Andean forest. *Tree Physiology* 43:2085–2097.
- Cárdenas MF, Tobón C, Rock BN, del Valle JI (2018) Ecophysiology of frailejones (*Espeletia* spp.), and its contribution to the hydrological functioning of páramo ecosystems. *Plant Ecol* 219:185–198.
- Carrillo-Rojas G, Silva B, Rollenbeck R, Céleri R, Bendix J (2019) The breathing of the Andean highlands: net ecosystem exchange and evapotranspiration over the páramo of southern Ecuador. *Agricultural and Forest Meteorology* 265:30–47.
- Carswell FE (2002) Seasonality in CO₂ and H₂O flux at an eastern Amazonian rain forest. *J Geophys Res* 107:8076.
- Ciais P, Sabine C, Bala G, Bopp L, Brovkin V, Canadell J, Chhabra A, DeFries R, Galloway J, Heimann M, Jones C, Le Quéré C, Myneni RB, Piao S, Thornton P (2013) Carbon and other biogeochemical cycles. In: Stocker, Quin D, Plattner G-K, Tignor M, Allen SK, Boschung J, Nauels A, Xia Y, Bex V, Midgley PM (eds) *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, pp 465–570.
- Collatz GJ, Ball JT, Grivet C, Berry JA (1991) Physiological and environmental regulation of stomatal conductance, photosynthesis and transpiration: a model that includes a laminar boundary layer. *Agricultural and Forest Meteorology* 54:107–136.
- Córdova M, Carrillo-Rojas G, Crespo P, Wilcox B, Céleri R (2015) Evaluation of the Penman-Monteith (FAO 56 PM) method for calculating reference evapotranspiration using limited data. *Mountain Research and Development* 35:230.
- Cornelissen JHC, Lavorel S, Garnier E, Díaz S, Buchmann N, Gurvich DE, Reich PB, Steege HT, Morgan HD, Heijden MGAVD, Pausas JG, Poorter H (2003) A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Aust J Bot* 51:335.
- Correa A, Windhorst D, Crespo P, Céleri R, Feyen J, Breuer L (2016) Continuous versus event-based sampling: how many samples are required for deriving general hydrological understanding on Ecuador's páramo region? *Hydrological Processes* 30:4059–4073.
- Correa A, Windhorst D, Tetzlaff D, Crespo P, Céleri R, Feyen J, Breuer L (2017) Temporal dynamics in dominant runoff sources and flow paths in the Andean Páramo. *Water Resour Res* 53:5998–6017.
- Cox AJF, González-Caro S, Meir P, Hartley IP, Restrepo Z, Villegas JC, Sanchez A, Mercado LM (2024) Variable thermal plasticity of leaf functional traits in Andean tropical montane forests. *Plant Cell & Environment* 47:731–750.

- Cox AJF, Hartley IP, Meir P, Sitch S, Dusenke ME, Restrepo Z, González-Caro S, Villegas JC, Uddling J, Mercado LM (2023) Acclimation of photosynthetic capacity and foliar respiration in Andean tree species to temperature change. *New Phytologist* 238:2329–2344.
- Crous KY, Uddling J, De Kauwe MG (2022) Temperature responses of photosynthesis and respiration in evergreen trees from boreal to tropical latitudes. *New Phytologist* 234:353–374.
- Da Rocha HR, Goulden ML, Miller SD, Menton MC, Pinto LDVO, de Freitas HC, e Silva Figueira AM (2004) Seasonality of water and heat fluxes over a tropical forest in eastern Amazonia. *Ecological Applications* 14:22–32.
- De Pury DGG, Farquhar GD (1997) Simple scaling of photosynthesis from leaves to canopies without the errors of big-leaf models. *Plant Cell & Environment* 20:537–557.
- Deslauriers A, Anfodillo T, Rossi S, Carraro V (2007) Using simple causal modeling to understand how water and temperature affect daily stem radial variation in trees. *Tree Physiology* 27:1125–1136.
- Diaz HF, Bradley RS, Ning L (2014) Climatic changes in mountain regions of the American cordillera and the tropics: historical changes and future outlook. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research* 46:735–743.
- Drake BG, González-Meler MA, Long SP (1997) More efficient plants: a consequence of rising atmospheric CO₂? *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 48:609–639.
- Dullinger S, Gattringer A, Thuiller W, Moser D, Zimmermann NE, Guisan A, Willner W, Plutzar C, Leitner M, Mang T, Caccianiga M, Dirnböck T, Ertl S, Fischer A, Lenoir J, Svenning J-C, Psomas A, Schmatz DR, Silc U, Vittoz P, Hülber K (2012) Extinction debt of high-mountain plants under twenty-first-century climate change. *Nature Clim Change* 2:619–622.
- Dusenke ME, Duarte AG, Way DA (2019) Plant carbon metabolism and climate change: elevated CO₂ and temperature impacts on photosynthesis, photorespiration and respiration. *New Phytol* 221:32–49.
- FAO (2011) Mountain forests in a changing world: realizing values, addressing challenges. FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma, Italia.
- FAO/ISRIC/ISSS (1998) World reference base for soil resources., 84th edn. FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma, Italia.
- Farquhar G, O’Leary M, Berry J (1982) On the Relationship Between Carbon Isotope Discrimination and the Intercellular Carbon Dioxide Concentration in Leaves. *Functional Plant Biol* 9:121.

- Farquhar G, Richards R (1984) Isotopic Composition of Plant Carbon Correlates With Water-Use Efficiency of Wheat Genotypes. *Functional Plant Biol* 11:539.
- Farquhar GD, Von Caemmerer S, Berry JA (1980) A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C3 species. *Planta* 149:78–90.
- Feeley KJ, Rehm EM, Machovina B (2012) perspective: The responses of tropical forest species to global climate change: acclimate, adapt, migrate, or go extinct? *Frontiers of Biogeography* 4
- García-Núñez C, Rada F, Boero C, González J, Gallardo M, Azócar A, Liberman-Cruz M, Hilal M, Prado F (2004) Leaf gas exchange and water relations in *Polylepis tarapacana* at extreme altitudes in the Bolivian Andes. *Photosynth* 42:133–138.
- García-Plazaola JI, Rojas R, Christie DA, Coopman RE (2015) Photosynthetic responses of trees in high-elevation forests: comparing evergreen species along an elevation gradient in the Central Andes. *AoB PLANTS* 7:plv058.
- Gareca EE, Fernández M, Stanton S (2010) Dendrochronological investigation of the high Andean tree species *Polylepis besseri* and implications for management and conservation. *Biodivers Conserv* 19:1839–1851.
- Gareca EE, Hermy M, Fjeldså J, Honnay O (2010) *Polylepis* woodland remnants as biodiversity islands in the Bolivian high Andes. *Biodivers Conserv* 19:3327–3346.
- Gebauer T, Horna V, Leuschner C (2008) Variability in radial sap flux density patterns and sapwood area among seven co-occurring temperate broad-leaved tree species. *Tree Physiology* 28:1821–1830.
- Giambelluca TW, Ziegler AD, Nullet MA, Truong DM, Tran LT (2003) Transpiration in a small tropical forest patch. *Agricultural and Forest Meteorology* 117:1–22.
- González JA, Gallardo MG, Boero C, Liberman Cruz M, Prado FE (2007) Altitudinal and seasonal variation of protective and photosynthetic pigments in leaves of the world's highest elevation trees *Polylepis tarapacana* (Rosaceae). *Acta Oecologica* 32:36–41.
- Gotsch SG, Asbjornsen H, Goldsmith GR (2016) Plant carbon and water fluxes in tropical montane cloud forests. *Journal of Tropical Ecology* 32:404–420.
- Gotsch SG, Asbjornsen H, Holwerda F, Goldsmith GR, Weintraub AE, Dawson TE (2014) Foggy days and dry nights determine crown-level water balance in a seasonal tropical montane cloud forest: foliar uptake and night-time transpiration determine crown-level water balance. *Plant Cell Environ* 37:261–272.
- Gotsch SG, Crausbay SD, Giambelluca TW, Weintraub AE, Longman RJ, Asbjornsen H, Hotchkiss SC, Dawson TE (2014) Water relations and microclimate around the upper limit of a cloud forest in Maui, Hawai'i. *Tree Physiology* 34:766–777.

- Grossiord C, Buckley TN, Cernusak LA, Novick KA, Poulter B, Siegwolf RTW, Sperry JS, McDowell NG (2020) Plant responses to rising vapor pressure deficit. *New Phytologist* 226:1550–1566.
- Haerberli W, Hoelzle M, Paul F, Zemp M (2007) Integrated monitoring of mountain glaciers as key indicators of global climate change: the European Alps. *Ann Glaciol* 46:150–160.
- Haldimann P, Feller U (2004) Inhibition of photosynthesis by high temperature in oak (*Quercus pubescens* L.) leaves grown under natural conditions closely correlates with a reversible heat-dependent reduction of the activation state of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. *Plant Cell Environ* 27:1169–1183.
- Han T, Feng Q, Yu T (2023) Parameter sensitivity analysis for a biochemically-based photosynthesis model. *Research in Cold and Arid Regions* 15:73–84.
- Hartig F, Minunno F, Paul S, Cameron D, Ott T, Pichler M (2023) BayesianTools: General-Purpose MCMC and SMC Samplers and Tools for Bayesian Statistics. R package version 0.1.8. <https://github.com/florianhartig/BayesianTools>
- Hedberg O (1964) Features of Afroalpine plant ecology. *Acta Phytogeogr Suec* 49:1–144.
- Herbst M, Roberts JM, Rosier PTW, Taylor ME, Gowing DJ (2007) Edge effects and forest water use: a field study in a mixed deciduous woodland. *Forest Ecology and Management* 250:176–186.
- Hernandez-Santana V, Asbjornsen H, Sauer T, Isenhardt T, Schilling K, Schultz R (2011) Enhanced transpiration by riparian buffer trees in response to advection in a humid temperate agricultural landscape. *Forest Ecology and Management* 261:1415–1427.
- Hertel D, Wesche K (2008) Tropical moist *Polylepis* stands at the treeline in East Bolivia: the effect of elevation on stand microclimate, above- and below-ground structure, and regeneration. *Trees* 22:303–315.
- Hoch G, Körner C (2005) Growth, demography and carbon relations of *Polylepis* trees at the world's highest treeline. *Funct Ecology* 19:941–951.
- Hoffmann WA, Marchin RM, Abit P, Lau OL (2011) Hydraulic failure and tree dieback are associated with high wood density in a temperate forest under extreme drought. *Global Change Biology* 17:2731–2742.
- Hubbell SP, Foster RB, O'Brien ST, Harms KE, Condit R, Wechsler B, Wright SJ, De Lao SL (1999) Light-Gap Disturbances, Recruitment Limitation, and Tree Diversity in a Neotropical Forest. *Science* 283:554–557.
- Hurvich CM, Simonoff JS, Tsai C-L (1998) Smoothing Parameter Selection in Nonparametric Regression Using an Improved Akaike Information Criterion. *Journal of the Royal Statistical Society Series B: Statistical Methodology* 60:271–293.

- IPCC (2021) Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- Jomelli V, Pavlova I, Guin O, Soliz-Gamboa C, Contreras A, Toivonen JM, Zetterberg P (2012) Analysis of the Dendroclimatic Potential of *Polylepis pepeii*, *P. subsericans* and *P. rugulosa* In the Tropical Andes (Peru-Bolivia). *Tree-Ring Research* 68:91–103.
- Kataria S, Jajoo A, Guruprasad KN (2014) Impact of increasing Ultraviolet-B (UV-B) radiation on photosynthetic processes. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 137:55–66.
- Kattge J, Bönisch G, Díaz S, Lavorel S (2019) TRY plant trait database – enhanced coverage and open access. *Glob Change Biol* 26:119–188.
- Kattge J, Knorr W (2007) Temperature acclimation in a biochemical model of photosynthesis: a reanalysis of data from 36 species. *Plant, Cell & Environment* 30:1176–1190.
- Keenan TF, Hollinger DY, Bohrer G, Dragoni D, Munger JW, Schmid HP, Richardson AD (2013) Increase in forest water-use efficiency as atmospheric carbon dioxide concentrations rise. *Nature* 499:324–327.
- Kessler M (1995) The genus *Polylepis* (Rosaceae) in Bolivia. *Candollea* 50:131–171.
- Kessler M, Böhner J, Kluge J (2007) Modelling tree height to assess climatic conditions at tree lines in the Bolivian Andes. *Ecological Modelling* 207:223–233.
- Kessler M, Schmidt-Lebuhn A (2006) Taxonomical and distributional notes on *Polylepis* (Rosaceae). *Organisms Diversity & Evolution* 6:67–69.
- Kimball KD, Weihrauch DM (2000) Alpine vegetation communities and the Alpine-treeline ecotone boundary in New England as biomonitors for climate change. *USDA Forest Service Proceedings RMRS* 3:93–101.
- Knüsel S, Peters RL, Haeni M, Wilhelm M, Zweifel R (2021) Processing and Extraction of Seasonal Tree Physiological Parameters from Stem Radius Time Series. *Forests* 12:765.
- Körner C (1999) *Alpine Plant Life*. Springer Berlin Heidelberg, Alemania. <http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-98018-3>
- Körner C (2003) Carbon limitation in trees. *Journal of Ecology* 91:4–17.
- Körner C (2007) The use of ‘altitude’ in ecological research. *Trends in Ecology & Evolution* 22:569–574.

- Körner C (2012) Alpine Treelines: Functional Ecology of the Global High Elevation Tree Limits. Springer, Basel, Switzerland. <https://doi.org/10.1007/978-3-0348-0396-0>
- Körner C (2015) Paradigm shift in plant growth control. *Current Opinion in Plant Biology* 25:107–114.
- Lenoir J, Gégout JC, Marquet PA, De Ruffray P, Brisse H (2008) A Significant Upward Shift in Plant Species Optimum Elevation During the 20th Century. *Science* 320:1768–1771.
- Liaw A, Wiener M (2002) Classification and Regression by randomForest. *R News* 2:18–22.
- Lin Y-S, Medlyn BE, Duursma RA, Prentice IC, Wang H, Baig S, Eamus D, De Dios VR, Mitchell P, Ellsworth DS, De Beeck MO, Wallin G, Uddling J, Tarvainen L, Linderson M-L, Cernusak LA, Nippert JB, Ocheltree TW, Tissue DT, Martin-StPaul NK, Rogers A, Warren JM, De Angelis P, Hikosaka K, Han Q, Onoda Y, Gimeno TE, Barton CVM, Bennie J, Bonal D, Bosc A, Löw M, Macinins-Ng C, Rey A, Rowland L, Setterfield SA, Tausz-Posch S, Zaragoza-Castells J, Broadmeadow MSJ, Drake JE, Freeman M, Ghannoum O, Hutley LB, Kelly JW, Kikuzawa K, Kolari P, Koyama K, Limousin J-M, Meir P, Lola Da Costa AC, Mikkelsen TN, Salinas N, Sun W, Wingate L (2015) Optimal stomatal behaviour around the world. *Nature Clim Change* 5:459–464.
- Lopez JG, Pypker T, Licata J, Burgess SSO, Asbjornsen H (2021) Maximum heat ratio: bi-directional method for fast and slow sap flow measurements. *Plant Soil* 469:503–523.
- Macek P, Macková J, de Bello F (2009) Morphological and ecophysiological traits shaping altitudinal distribution of three *Polylepis* treeline species in the dry tropical Andes. *Acta Oecologica* 35:778–785.
- Marengo JA, Ambrizzi T, Da Rocha RP, Alves LM, Cuadra SV, Valverde MC, Torres RR, Santos DC, Ferraz SET (2010) Future change of climate in South America in the late twenty-first century: intercomparison of scenarios from three regional climate models. *Clim Dyn* 35:1073–1097.
- Mathias JM, Thomas RB (2021) Global tree intrinsic water use efficiency is enhanced by increased atmospheric CO₂ and modulated by climate and plant functional types. *Proc Natl Acad Sci USA* 118:e2014286118.
- McCarroll D, Loader NJ (2004) Stable isotopes in tree rings. *Quaternary Science Reviews* 23:771–801.
- Medlyn BE, Duursma RA, Eamus D, Ellsworth DS, Prentice IC, Barton CVM, Crous KY, De Angelis P, Freeman M, Wingate L (2011) Reconciling the optimal and empirical approaches to modelling stomatal conductance. *Global Change Biology* 17:2134–2144.

- Moisen GG (2008) Classification and regression trees. In: Jorgensen SE, Fath BD (eds) Encyclopedia of Ecology. Elsevier, Oxford: U.K., pp 582–588.
- Montenegro-Díaz P, Alvear RC, Carrillo-Rojas G (2023) Overcast sky condition prevails on and influences the biometeorology of the tropical Andean Páramos. *J Mt Sci* 20:78–86.
- Moore GW, Orozco G, Aparecido LMT, Miller GR (2018) Upscaling transpiration in diverse forests: Insights from a tropical premontane site. *Ecohydrology* 11:e1920.
- Mora DE, Campozano L, Cisneros F, Wyseure G, Willems P (2014) Climate changes of hydrometeorological and hydrological extremes in the Paute basin, Ecuadorean Andes. *Hydrol Earth Syst Sci* 18:631–648.
- Mosquera GM, Franklin M, Jan F, Rolando C, Lutz B, David W, Patricio C (2021) A field, laboratory, and literature review evaluation of the water retention curve of volcanic ash soils: How well do standard laboratory methods reflect field conditions? *Hydrological Processes* 35:e14011.
- Mosquera GM, Hofstede R, Bremer LL, Asbjornsen H, Carabajo-Hidalgo A, Célleri R, Crespo P, Esquivel-Hernández G, Feyen J, Manosalvas R, Marín F, Mena-Vásquez P, Montenegro-Díaz P, Ochoa-Sánchez A, Pesántez J, Riveros-Iregui DA, Suárez E (2023) Frontiers in páramo water resources research: A multidisciplinary assessment. *Science of The Total Environment* 892:164373.
- Mosquera GM, Lazo PX, Célleri R, Wilcox BP, Crespo P (2015) Runoff from tropical alpine grasslands increases with areal extent of wetlands. *CATENA* 125:120–128.
- Motzer T, Munz N, Kupperts M, Schmitt D, Anhuf D (2005) Stomatal conductance, transpiration and sap flow of tropical montane rain forest trees in the southern Ecuadorian Andes. *Tree Physiology* 25:1283–1293.
- Moya J, Lara A (2011) Cronologías de ancho de anillos de queñoa (*Polylepis tarapacana*) para los últimos 500 años en el Altiplano de la región de Arica y Parinacota, Chile. *Bosque (Valdivia)* 32:165–173.
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Da Fonseca GAB, Kent J (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403:853–858.
- Nadal-Sala D, Hartig F, Gracia CA, Sabaté S (2019) Global warming likely to enhance black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) growth in a Mediterranean riparian forest. *Forest Ecology and Management* 449:117448.
- Nadal-Sala D, Sabaté S, Sánchez-Costa E, Poblador S, Sabater F, Gracia C (2017) Growth and water use performance of four co-occurring riparian tree species in a Mediterranean riparian forest. *Forest Ecology and Management* 396:132–142.

- Nie C, Huang Y, Zhang S, Yang Y, Zhou S, Lin C, Wang G (2021) Effects of soil water content on forest ecosystem water use efficiency through changes in transpiration/evapotranspiration ratio. *Agricultural and Forest Meteorology* 308–309:108605.
- Niinemets U, Cescatti A, Rodeghiero M, Tosens T (2005) Leaf internal diffusion conductance limits photosynthesis more strongly in older leaves of Mediterranean evergreen broad-leaved species. *Plant Cell Environ* 28:1552–1566.
- Novick KA, Ficklin DL, Grossiord C, Konings AG, Martínez-Vilalta J, Sadok W, Trugman AT, Williams AP, Wright AJ, Abatzoglou JT, Dannenberg MP, Gentine P, Guan K, Johnston MR, Lowman LEL, Moore DJP, McDowell NG (2024) The impacts of rising vapour pressure deficit in natural and managed ecosystems. *Plant Cell & Environment*:pce.14846.
- Ochoa-Sánchez A, Crespo P, Carrillo-Rojas G, Sucozhañay A, Célleri R (2019) Actual evapotranspiration in the high Andean grasslands: a comparison of measurement and estimation methods. *Front Earth Sci* 7:55.
- Ochoa-Sánchez A, Crespo P, Célleri R (2018) Quantification of rainfall interception in the high Andean tussock grasslands. *Ecohydrology* 11:e1946.
- O’Grady AP, Eamus D, Hutley LB (1999) Transpiration increases during the dry season: patterns of tree water use in eucalypt open-forests of northern Australia. *Tree Physiology* 19:591–597.
- O’Leary MH (1981) Carbon isotope fractionation in plants. *Phytochemistry* 20:553–567.
- Özçelik MS, Tomášková I, Surový P, Modlinger R (2022) Effect of forest edge cutting on transpiration rate in *Picea abies* (L.) H. Karst. *Forests* 13:1238.
- Padrón RS, Wilcox BP, Crespo P, Célleri R (2015) Rainfall in the Andean páramo: new insights from high-resolution monitoring in Southern Ecuador. *Journal of Hydrometeorology* 16:985–996.
- Pao Y-C, Stützel H, Chen T-W (2019) A mechanistic view of the reduction in photosynthetic protein abundance under diurnal light fluctuation. *Journal of Experimental Botany* 70:3705–3708.
- Peng Y, Bloomfield KJ, Cernusak LA, Domingues TF, Colin Prentice I (2021) Global climate and nutrient controls of photosynthetic capacity. *Commun Biol* 4:462.
- Peñuelas J, Canadell JG, Ogaya R (2011) Increased water-use efficiency during the 20th century did not translate into enhanced tree growth. *Global Ecol Biogeogr* 20:597–608.
- Pepin N, Bradley RS, Diaz HF, Baraer M, Caceres EB, Forsythe N, Fowler H, Greenwood G, Hashmi MZ, Liu XD, Miller JR, Ning L, Ohmura A, Palazzi E, Rangwala I,

- Schöner W, Severskiy I, Shahgedanova M, Wang MB, Williamson SN, Yang DQ (2015) Elevation-dependent warming in mountain regions of the world. *Nature Clim Change* 5:424–430.
- Pesántez J, Mosquera GM, Crespo P, Breuer L, Windhorst D (2018) Effect of land cover and hydro-meteorological controls on soil water DOC concentrations in a high-elevation tropical environment. *Hydrological Processes* 32:2624–2635.
- Pinos J (2020) Challenges and conservation implications of *Polylepis* woodlands in the Andean region: defining actions for sustainable management. *Hacquetia* 19:143–153.
- Poorter L, Bongers F (2006) LEAF TRAITS ARE GOOD PREDICTORS OF PLANT PERFORMANCE ACROSS 53 RAIN FOREST SPECIES. *Ecology* 87:1733–1743.
- Poorter H, Evans JR (1998) Photosynthetic nitrogen-use efficiency of species that differ inherently in specific leaf area. *Oecologia* 116:26–37.
- Poyatos R, Granda V, Flo V, Adams MA, Adorján B, Aguadé D, Aidar MPM, Allen S, Alvarado-Barrientos MS, Anderson-Teixeira KJ, Aparecido LM, Arain MA, Aranda I, Asbjornsen H, Baxter R, Beamesderfer E, Berry ZC, Berveiller D, Blakely B, Boggs J, Bohrer G, Bolstad PV, Bonal D, Bracho R, Brito P, Brodeur J, Casanoves F, Chave J, Chen H, Cisneros C, Clark K, Cremonese E, Dang H, David JS, David TS, Delpierre N, Desai AR, Do FC, Dohnal M, Domec J-C, Dzikiti S, Edgar C, Eichstaedt R, El-Madany TS, Elbers J, Eller CB, Euskirchen ES, Ewers B, Fonti P, Forner A, Forrester DI, Freitas HC, Galvagno M, Garcia-Tejera O, Ghimire CP, Gimeno TE, Grace J, Granier A, Griebel A, Guangyu Y, Gush MB, Hanson PJ, Hasselquist NJ, Heinrich I, Hernandez-Santana V, Herrmann V, Hölttä T, Holwerda F, Irvine J, Isarangkool Na Ayutthaya S, Jarvis PG, Jochheim H, Joly CA, Kaplick J, Kim HS, Klemmedtsson L, Kropp H, Lagergren F, Lane P, Lang P, Lapenas A, Lechuga V, Lee M, Leuschner C, Limousin J-M, Linares JC, Linderson M-L, Lindroth A, Llorens P, López-Bernal Á, Loranty MM, Lüttschwager D, Macinnis-Ng C, Maréchaux I, Martin TA, Matheny A, McDowell N, McMahon S, Meir P, Mészáros I, Migliavacca M, Mitchell P, Mölder M, Montagnani L, Moore GW, Nakada R, Niu F, Nolan RH, Norby R, Novick K, Oberhuber W, Obojes N, Oishi AC, Oliveira RS, Oren R, Ourcival J-M, Paljakka T, Perez-Priego O, Peri PL, Peters RL, Pfausch S, Pockman WT, Preisler Y, Rascher K, Robinson G, Rocha H, Rocheteau A, Röhl A, Rosado BHP, Rowland L, Rubtsov AV, Sabaté S, Salmon Y, Salomón RL, Sánchez-Costa E, Schäfer KVR, Schuldt B, Shashkin A, Stahl C, Stojanović M, Suárez JC, Sun G, Szatniewska J, Tatarinov F, Tesář M, Thomas FM, Tor-ngern P, Urban J, Valladares F, van der Tol C, van Meerveld I, Varlagin A, Voigt H, Warren J, Werner C, Werner W, Wieser G, Wingate L, Wullschlegel S, Yi K, Zweifel R, Steppe K, Mencuccini M, Martínez-Vilalta J (2021) Global transpiration data from sap flow measurements: the SAPFLUXNET database. *Earth Syst Sci Data* 13:2607–2649.
- Querejeta JJ, Prieto I, Armas C, Casanoves F, Diémé JS, Diouf M, Yossi H, Kaya B, Pugnaire FI, Rusch GM (2022) Higher leaf nitrogen content is linked to tighter stomatal

regulation of transpiration and more efficient water use across dryland trees. *New Phytologist* 235:1351–1364.

- Quichimbo P, Tenorio G, Borja P, Cárdenas I, Crespo P, Célleri R (2012) Efectos sobre las propiedades físicas y químicas de los suelos por el cambio de la cobertura vegetal y uso del suelo: páramo de Quimsacocha al sur del Ecuador. *Suelos Ecuatoriales* 42:138–153.
- R Core Team (2024) The R Project for Statistical Computing. <https://www.R-project.org>
- Rada F, Azócar A, Briceño B, González J, García-Núñez C (1996) Carbon and water balance in *Polylepis sericea*, a tropical treeline species. *Trees* 10:218–222.
- Rada F, García-Núñez C, Boero C, Gallardo M, Hilal M, González J, Prado F, Liberman Cruz M, Azócar A (2001) Low-temperature resistance in *Polylepis tarapacana*, a tree growing at the highest altitudes in the world. *Plant, Cell and Environment* 24:377–381.
- Raffelsbauer V, Spann S, Peña K, Pucha-Cofrep D, Steppe K, Bräuning A (2019) Tree Circumference Changes and Species-Specific Growth Recovery After Extreme Dry Events in a Montane Rainforest in Southern Ecuador. *Front Plant Sci* 10:342.
- Ramírez-Villegas J, Cuesta F, Devenish C, Peralvo M, Jarvis A, Arnillas CA (2014) Using species distributions models for designing conservation strategies of Tropical Andean biodiversity under climate change. *Journal for Nature Conservation* 22:391–404.
- Ramos C, Buitrago SP, Pulido KL, Vanegas LJ (2013) Variabilidad ambiental y respuestas fisiológicas de *Polylepis cuadrijuga* (Rosaceae) en un ambiente fragmentado en el Páramo de la Rusia (Colombia). *Rev Biol Trop* 61:351–361.
- Rehm EM, Feeley KJ (2015) The inability of tropical cloud forest species to invade grasslands above treeline during climate change: potential explanations and consequences. *Ecography* 38:1167–1175.
- Renison D, Morales L, Cuyckens GÉ, Sevillano CS, Cabrera Amaya DM (2018) Ecología y conservación de los bosques y arbustales de *Polylepis*: ¿qué sabemos y qué ignoramos? *Ecol Austral* 28:163–174.
- Rodriguez-Caton M, Andreu-Hayles L, Daux V, Vuille M, Varuolo-Clarke AM, Oelkers R, Christie DA, D'Arrigo R, Morales MS, Rao MP, Srur AM, Vimeux F, Villalba R (2022) Hydroclimate and ENSO variability recorded by oxygen isotopes from tree rings in the South American Altiplano. *Geophysical Research Letters* 49
- Romoleroux K, Pitman N (2004) *Polylepis reticulata*. The IUCN Red List of Threatened Species

- Rossi S, Deslauriers A, Anfodillo T, Morin H, Saracino A, Motta R, Borghetti M (2006) Conifers in cold environments synchronize maximum growth rate of tree-ring formation with day length. *New Phytologist* 170:301–310.
- Running SW, Gower ST (1991) FOREST-BGC, A general model of forest ecosystem processes for regional applications. II. Dynamic carbon allocation and nitrogen budgets. *Tree Physiology* 9:147–160.
- Sánchez-Costa E, Poyatos R, Sabaté S (2015) Contrasting growth and water use strategies in four co-occurring Mediterranean tree species revealed by concurrent measurements of sap flow and stem diameter variations. *Agricultural and Forest Meteorology* 207:24–37.
- Schlesinger WH, Jasechko S (2014) Transpiration in the global water cycle. *Agricultural and Forest Meteorology* 189–190:115–117.
- Segovia-Salcedo MC, Domic A, Boza T, Kessler M (2018) Situación taxonómica de las especies del género *Polylepis*. Implicancias para los estudios ecológicos, la conservación y la restauración de sus bosques. *Ecol Austral* 28:188–201.
- Simpson BB (1979) A Revision of the Genus *Polylepis* (Rosaceae: Sanguisorbeae). *Smithsonian Contributions to Botany*:1–62.
- Solarte ME, Solarte Erazo Y, Ramírez Cupacán E, Enríquez Paz C, Melgarejo LM, Lasso E, Flexas J, Gulias J (2022) Photosynthetic traits of páramo plants subjected to short-term warming in OTC chambers. *Plants* 11:3110.
- Sperlich D, Chang CT, Peñuelas J, Gracia C, Sabaté S (2014) Foliar photochemical processes and carbon metabolism under favourable and adverse winter conditions in a Mediterranean mixed forest, Catalonia (Spain). *Biogeosciences* 11:5657–5674.
- Suqui A, Céleri R, Crespo P, Carrillo-Rojas G (2021) Interacciones entre índice de área foliar, densidad del dosel y precipitación efectiva de un bosque de *Polylepis reticulata* ubicado en un ecosistema de páramo. *Igr* 34:63–79.
- Tang X, Li H, Desai AR, Nagy Z, Luo J, Kolb TE, Oliso A, Xu X, Yao L, Kutsch W, Pilegaard K, Köstner B, Ammann C (2014) How is water-use efficiency of terrestrial ecosystems distributed and changing on Earth? *Sci Rep* 4:7483.
- Taylor PJ, Nuberg IK, Hatton TJ (2001) Enhanced transpiration in response to wind effects at the edge of a blue gum (*Eucalyptus globulus*) plantation. *Tree Physiology* 21:403–408.
- Ter Braak CJF, Vrugt JA (2008) Differential Evolution Markov Chain with snooker updater and fewer chains. *Stat Comput* 18:435–446.
- Therneau T, Atkinson B (2019) rpart: Recursive Partitioning and Regression Trees. R package version 4.1-15. <https://CRAN.R-project.org/package=rpart>

- Toivonen J, Gonzales-Inca C, Bader M, Ruokolainen K, Kessler M (2017) Elevational shifts in the topographic position of *Polylepis* forest stands in the Andes of Southern Peru. *Forests* 9:7.
- Toivonen JM, Horna V, Kessler M, Ruokolainen K, Hertel D (2014) Interspecific variation in functional traits in relation to species climatic niche optima in Andean *Polylepis* (Rosaceae) tree species: evidence for climatic adaptations. *Functional Plant Biol* 41:301.
- Tranquillini W (1979) *Physiological Ecology of the Alpine Timberline*. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-67107-4_8
- Urrutia R, Vuille M (2009) Climate change projections for the tropical Andes using a regional climate model: temperature and precipitation simulations for the end of the 21st century. *J Geophys Res* 114:D02108.
- Vandegehuchte MW, Steppe K (2013) Sap-flux density measurement methods: Working principles and applicability. *Functional Plant Biology* 40:213–223.
- Vásconez PM, Hofstede R (2006) Los páramos ecuatorianos. *Botánica Económica de los Andes Centrales*:91–109.
- Vertessy RA, Benyon RG, O’Sullivan SK, Gribben PR (1995) Relationships between stem diameter, sapwood area, leaf area and transpiration in a young mountain ash forest. *Tree Physiology* 15:559–567.
- Wang W, Liu X, An W, Xu G, Zeng X (2012) Increased intrinsic water-use efficiency during a period with persistent decreased tree radial growth in northwestern China: Causes and implications. *Forest Ecology and Management* 275:14–22.
- Westerband AC, Wright IJ, Maire V, Paillassa J, Prentice IC, Atkin OK, Bloomfield KJ, Cernusak LA, Dong N, Gleason SM, Guilherme Pereira C, Lambers H, Leishman MR, Malhi Y, Nolan RH (2023) Coordination of photosynthetic traits across soil and climate gradients. *Global Change Biology* 29:856–873.
- Yepes A, Buckeridge MS (2011) Respuestas de las plantas ante los factores ambientales del cambio climático global (revisión). *Colombia Forestal* 14:213–232.
- Zhang S, Liu G, Cui Q, Huang Z, Ye X, Cornelissen JHC (2021) New field wind manipulation methodology reveals adaptive responses of steppe plants to increased and reduced wind speed. *Plant Methods* 17:5.
- Zimmerman OR, Pearce DW, Woodman SG, Rood SB, Flanagan LB (2023) Increasing contribution of alluvial groundwater to riparian cottonwood forest water use through warm and dry summers. *Agricultural and Forest Meteorology* 329:109292.

- Zweifel R, Steppe K, Sterck FJ (2007) Stomatal regulation by microclimate and tree water relations: Interpreting ecophysiological field data with a hydraulic plant model. *Journal of Experimental Botany* 58:2113–2131.
- Zweifel R, Sterck F, Braun S, Buchmann N, Eugster W, Gessler A, Häni M, Peters RL, Walther L, Wilhelm M, Ziemińska K, Etzold S (2021) Why trees grow at night. *New Phytologist* 231:2174–2185.

