



POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

**CAMBIO CLIMÁTICO Y SU EFECTO EN LA ASIMILACIÓN DE
NITRÓGENO EN PLÁNTULAS DE ENCINOS (*QUERCUS* SPP.)**

Tesis que presenta

Cynthia Lilia Pérez Ruiz

Para obtener el grado de

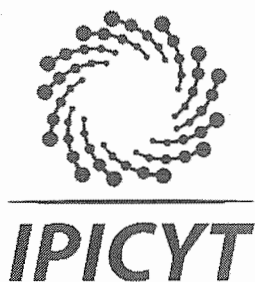
Doctora en Ciencias Ambientales

Co-directores de la Tesis

Dr. Ernesto Iván Badano

Dr. Pablo Delgado Sánchez

San Luis Potosí, México, Diciembre de 2018



Constancia de aprobación de la tesis

La tesis "**Cambio climático y su efecto en la asimilación de nitrógeno en plántulas de encinos (*Quercus spp.*)**" presentada para obtener el Grado de Doctora en Ciencias Ambientales fue elaborada por **Cynthia Lilia Pérez Ruiz** y aprobada el diecisiete de diciembre del dos mil dieciocho por los suscritos, designados por el Colegio de Profesores de la División de Ciencias Ambientales del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

Dr. Ernesto Iván Badano
Codirector de la tesis

Dr. Pablo Delgado Sánchez
Codirector de la tesis

Dr. Joel David Flores Rivas
Miembro del Comité Tutorial

Dr. David Douterlunghe Rotsaert
Miembro del Comité Tutorial

Dr. Jorge Alberto Flores Cano
Miembro del Comité Tutorial

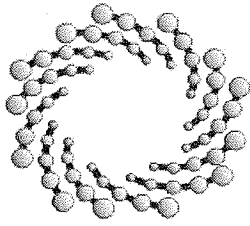


CRÉDITOS INSTITUCIONALES

Esta tesis fue elaborada en la División de Ciencias Ambientales del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., bajo la dirección del Dr. Ernesto Iván Badano y del Dr. Pablo Delgado Sánchez.

Durante la realización del trabajo, el autor recibió una beca académica del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Número de Registro 303706).

Esta investigación de tesis fue financiada por el proyecto “Dinámicas de reclutamiento de encinos (*Quercus* spp.) en escenarios de cambio climático” del Fondo Sectorial de Investigación para la Educación SEP-CONACYT clave CB-2013/221623, a cargo del Dr. Ernesto I. Badano.



IPICYT

Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

Acta de Examen de Grado

El Secretario Académico del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., certifica que en el Acta 014 del Libro Primero de Actas de Exámenes de Grado del Programa de Doctorado en Ciencias Ambientales está asentado lo siguiente:

En la ciudad de San Luis Potosí a los 17 días del mes de diciembre del año 2018, se reunió a las 10:20 horas en las instalaciones del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., el Jurado integrado por:

Dr. Joel David Flores Rivas	Presidente	IPICYT
Dr. David Douterlungne Rotsaert	Secretario	IPICYT
Dr. Ernesto Iván Badano _	Sinodal	IPICYT
Dr. Jorge Alberto Flores Cano	Sinodal externo	UASLP
Dr. Pablo Delgado Sánchez	Sinodal externo	UASLP

a fin de efectuar el examen, que para obtener el Grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS AMBIENTALES

sustentó la C.

Cynthia Lilia Pérez Ruiz

sobre la Tesis intitulada:

Cambio climático y su efecto en la asimilación de nitrógeno en plántulas de encinos (Quercus spp.)

que se desarrolló bajo la dirección de

Dr. Ernesto Iván Badano _
Dr. Pablo Delgado Sánchez (UASLP)

El Jurado, después de deliberar, determinó

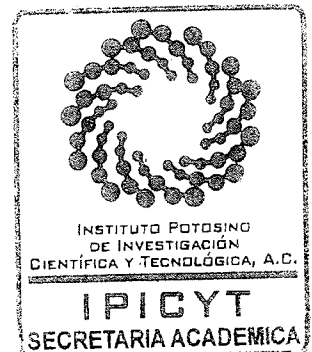
APROBARLA

Dándose por terminado el acto a las 11:45 horas, procediendo a la firma del Acta los integrantes del Jurado. Dando fe el Secretario Académico del Instituto.

A petición de la interesada y para los fines que a la misma convengan, se extiende el presente documento en la ciudad de San Luis Potosí, S.L.P., México, a los 17 días del mes de diciembre de 2018.


Dr. Horacio Flores Zúñiga
Secretario Académico


Mtra. Ivonne Lizette Cuevas Vélez
Jefa del Departamento del Posgrado



DEDICATORIA

A tí, mi Sabi, por darme una vida nueva.

A mis padres, por ser excepcionales y darme un ejemplo a seguir.

A mis hermanos, por hacerme fuerte en cada momento.

A tí, Iván, por acompañarme y hacerme crecer.

AGRADECIMIENTOS

¡A mi familia! Mamá y Papá, Eduardo y Estefanía, Carolina y Bernardo, Iván y Sabi. A ustedes les debo cada logro de mi vida. Siempre han creído en mí y me han motivado a seguir. Gracias a ustedes he llegado aquí.

A mis directores de tesis, Dr. Ernesto Iván Badano y Dr. Pablo Delgado Sánchez, por sacarme de mi zona de confort y prepararme, no sólo en el aspecto académico, para “el mundo real”. A los miembros de mi comité. Dr. Joel Flores Rivas, Dr. David Douterlungne Rotsaert y Dr. Jorge Flores Cano, por su tiempo, consejos y enseñanzas.

A mi equipo de trabajo, Nathalie, Erik y Francisco, porque hicieron de mí una mejor persona y me ayudaron en momentos difíciles. Cada uno de ustedes jugó un papel fundamental en esta etapa. También agradezco a Moni, Lupita, Ale, Lili y Adri. Su apoyo y amistad fueron determinantes para seguir. Sin ustedes, esto hubiese sido muy diferente.

Agradezco inmensamente a las personas que a lo largo de mi vida, con su ejemplo o con sus palabras, me han motivado a seguir adelante con la frente en alto.

Agradezco el apoyo técnico brindado por el M.C. Juan Pablo Rodas Ortiz, tanto para el montado de unidades experimentales en campo como para la puesta a punto de técnicas de laboratorio. También agradezco a la maestra Alejandra Colunga por su apoyo.

Agradecemos a la Ing. Ana Mayra Garza Peña, propietaria de la Unidad de Manejo Ambiental “La Laguna”, por todo el apoyo brindado durante las labores de campo. Su colaboración fue imprescindible para el desarrollo de esta tesis.

Agradecemos al personal de la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP) y a los integrantes del Ejido Cañada Grande por el apoyo logístico para la realización del estudio.

Se agradece el apoyo financiero aportado por el proyecto “Dinámicas de reclutamiento de encinos (*Quercus* spp.) en escenarios de cambio climático” (Fondo Sectorial de Investigación para la Educación SEP-CONACYT clave CB-2013/221623), cuyo responsable técnico es el Dr. Ernesto Iván Badano.

CONTENIDOS

Constancia de aprobación de tesis.....	ii
Créditos institucionales.....	iii
Acta de examen.....	iv
Dedicatoria.....	v
Agradecimientos.....	vi
Resumen.....	1
Palabras clave.....	1
Abstract.....	2
Keywords.....	2
Introducción general.....	3
Capítulo 1: Efectos del Cambio Climático en etapas tempranas del ciclo de vida de los encinos	8
1.1. Introducción.....	8
1.2. Materiales y métodos.....	11
1.2.1 Sitio de estudio.....	11
1.2.2 Diseño experimental.....	12
1.2.3. Condiciones climáticas y edáficas.....	15
1.2.4. Respuestas de las plántulas.....	17
1.2.5. Análisis estadísticos.....	19
1.3. Resultados.....	20
1.3.1. Condiciones climáticas y edáficas.....	20
1.3.2. Respuestas de las plántulas.....	23
1.4. Discusión.....	27
Capítulo 2: Efectos del Cambio Climático Sobre la Fijación y Disponibilidad de Nitrógeno en el Suelo y sus Consecuencias para Plántulas de Encinos.....	33
2.1. Introducción.....	33
2.2. Materiales y métodos.....	35
2.2.1. Sitio de estudio y especies de encino.....	35
2.2.2 Diseño experimental.....	37
2.2.3. Condiciones ambientales.....	39
2.2.4. Actividad de la nitrogenasa.....	40
2.2.5. Contenido de nitrógeno inorgánico en el suelo.....	42

2.2.6. Respuestas de las plántulas de encino.....	43
2.3. Resultados.....	47
2.3.1 Condiciones ambientales.....	47
2.3.4. Actividad de la nitrogenasa.....	50
2.3.3. Contenido de nitrógeno inorgánico del suelo	52
2.3.6. Respuestas de las plántulas de encino.....	53
1.4. Discusión.....	58
Discusión General.....	63
Bibliografía.....	65

RESUMEN

Los escenarios de cambio climático predicen que en los bosques estacionalmente secos de México aumentará la temperatura y se reducirá la precipitación. Esto amenaza a las etapas tempranas del ciclo de vida de los árboles que residen en estos ecosistemas, ya que el efecto combinado del calentamiento y la sequía pueden intensificar la mortandad de plántulas durante su primer año de vida. Estos cambios climáticos también pueden afectar los procesos bióticos responsables de incorporar nitrógeno al suelo, lo que alteraría la forma en que las plántulas adquieren y procesan este nutriente. En este contexto, realizamos dos experimentos de campo donde simulamos las condiciones de cambio climático predichas para mediados de siglo en bosques de encinos de la Sierra de Álvarez, San Luis Potosí, México. El primer experimento estuvo destinado a determinar los efectos del incremento de temperatura y la reducción de precipitación sobre la emergencia, la supervivencia, las respuestas funcionales y la asimilación de nitrógeno en plántulas de encinos durante la temporada de lluvias. En el segundo experimento evaluamos la manera en que el cambio climático puede afectar los procesos biológicos de fijación de nitrógeno y sus consecuencias para las plántulas de encino a lo largo de su primer año de vida. Los resultados de ambos experimentos sugieren que el cambio climático afectará de manera negativa la emergencia y el establecimiento de la mayoría de las especies de encino de estos ecosistemas, reduciendo también su crecimiento y desempeño general. Además, nuestros resultados indican que el cambio climático disminuirá las tasas de fijación biológica de nitrógeno, reduciendo su disponibilidad para las plántulas de encinos y, en consecuencia, la eficiencia de los procesos vegetales ligados a este nutriente.

Palabras clave: establecimiento, nitrógeno, precipitación, sequía, temperatura, plántulas, encinos.

ABSTRACT

Climate change scenarios predict that temperature will increase, while rainfall will decrease in seasonally dry forests of Mexico. This threatens the early stages of the life cycle of trees that inhabit these ecosystems because the combined effect of warming and drought can intensify seedling mortality during the period of the year in which their establishment occurs (rainy season). These climatic changes can also affect biotic processes responsible of incorporating nitrogen into the soil, which could alter how seedlings acquire and process this nutrient. In this context, we conducted two field experiments where we simulated climate change conditions predicted for the middle of this century in oak forests of Sierra de Álvarez, San Luis Potosí, Mexico. The first experiment was aimed to determine the effects of raising temperature and decreasing rainfall on the emergence, survival, functional responses and assimilation of nitrogen in oak seedlings during the rainy season. In the second experiment we evaluated the manner in which climate change can affect biological processes linked with nitrogen fixation and its consequences for oak seedlings throughout their first year of life. The results of both experiments suggest that climate change will negatively affect the emergence and establishment of most oak species from these ecosystems, also reducing their growth and overall performance. In addition, our results indicate that climate change will decrease the rates of biological nitrogen fixation, reducing its availability for oak seedlings and, consequently, the efficiency of plant processes linked to this nutrient.

Keywords: recruitment, drought, nitrogen, oaks, rainfall, seedlings, temperature.

INTRODUCCIÓN GENERAL

Los bosques son ecosistemas que influyen fuertemente en los ciclos biogeoquímicos del agua y el carbono, participando en la regulación climática del planeta. Además, brindan otros servicios ecosistémicos de gran importancia económica y cultural, como son el aprovisionamiento de materias primas, la prevención de inundaciones, el mantenimiento de la fertilidad de los suelos y su uso como sitios de esparcimiento y recreación, entre otros (Anderegg et al., 2012). Sin embargo, los incrementos de temperatura debidos al cambio climático, aunados a la creciente incidencia de sequías prolongadas, han resultado en el decaimiento de extensas superficies forestales en todo el mundo (Redmond et al., 2015). Esto se debe a que las condiciones climáticas predominantes han superado los umbrales de tolerancia tanto de árboles adultos (Breshears et al., 2005; Jentsch et al., 2007) como de juveniles y plántulas recién emergidas de diferentes especies arbóreas (Valladares, 2008). De esta manera, la persistencia de los bosques dependerá de la capacidad de establecimiento de reclutas bajo condiciones de mayor temperatura y menos precipitación (Suarez & Kitzberger, 2008). Sin embargo, es un reto identificar cuáles especies serán capaces de sobrevivir y cuáles serán más vulnerables, por lo que necesitamos conocer las respuestas de distintas especies de árboles ante condiciones de estrés térmico e hídrico (Freshman et al., 2015).

Para México, los últimos modelos de circulación general propuestos por el Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (IPCC) predicen que en los próximos 20-30 años habrá un incremento en la temperatura superficial promedio entre 1 y 3 °C, así como un descenso del 10-20% en la precipitación anual (Karmalkar et al., 2011; IPCC, 2014). A pesar de ello, los estudios que evalúan las respuestas de las plantas ante el cambio climático son muy generales (Villers-Ruiz & Trejo-Vázquez, 2010), habiéndose enfocado en modelar la distribución potencial de especies (Gómez-Mendoza & Arriaga, 2007; Trejo, 2011) o en analizar las respuestas

de especies de interés agrícola bajo condiciones de laboratorio o invernadero (Hede et al., 1999; Aguilar-Becerril & Peña-Valdivia, 2006; Reynolds et al., 2007; Cairns et al., 2013). Aunque estos estudios brindan información importante sobre las posibles respuestas de la vegetación ante los cambios de temperatura y precipitación, sus resultados difícilmente son extrapolables a condiciones naturales debido a la alta complejidad ambiental que presentan los ecosistemas (Mittler, 2006; Sinclair et al., 2010; Woodin et al., 2013). En este sentido, el desarrollo de experimentos en campo permite monitorear de manera directa las respuestas que las plantas tendrán ante el cambio climático en su ambiente original.

La sequía es una de las causas de mortandad más importantes de plántulas de árboles en la naturaleza (Moles & Westoby, 2007), mientras que las altas temperaturas intensifican los impactos negativos de la falta de agua (Adams et al., 2009; Carón et al., 2015). Por ello, se espera que el cambio climático intensifique la mortandad de árboles a nivel global (McDowell et al., 2008; Wang et al., 2012), pero aún hay un vacío sobre los mecanismos fisiológicos ligados a estos procesos (Camarero et al., 2015). Por ello, resulta prioritario generar información que permita entender cuáles aspectos de las plántulas se verán más afectados por este fenómeno, lo que permitiría realizar algunas predicciones respecto al reclutamiento de árboles a medida que se intensifique el cambio climático.

Las etapas tempranas del ciclo de vida de los árboles son quizás las más vulnerables ante variaciones ambientales (Larcher, 2003; Ramírez-Valiente et al., 2014). Los bajos umbrales de tolerancia ambiental en estas etapas de las plantas se deben a su escaso desarrollo ontogénico, ya que tanto tallos como raíces apenas comienzan a desarrollarse y la cantidad de recursos que pueden adquirir desde el medio es limitada (Padilla & Pugnaire, 2007). Por ello, las plántulas recién emergidas deben desarrollarse rápidamente durante los períodos climáticamente favorables, con objeto de establecerse exitosamente antes de que inicien las estaciones donde predomina el estrés

ambiental. Esto es muy común en nuestro país, donde la distribución de diversos ecosistemas forestales coincide con la distribución de climas estacionalmente secos que presentan una estación de lluvias muy marcada (hasta el 80% de las precipitaciones ocurre en un período de 3-4 meses) seguidos por un período de sequía prolongado (Rzedowski, 2006). Por estos motivos, para establecer qué ocurrirá con el establecimiento de las plántulas de especies arbóreas en escenarios de cambio climático, es necesario desglosar sus respuestas ante las diferentes condiciones ambientales que atraviesan, al menos, durante su primer año de vida (Fisichelli et al., 2014).

Las plantas sometidas a estrés desarrollan respuestas morfológicas, fisiológicas y bioquímicas que les permiten sobrevivir y adaptarse bajo estas condiciones (Grossnickle & MacDonald, 2018). En este sentido, se tiene información respecto a las respuestas de plantas ante ciertos factores de estrés (Chapin et al., 1987), como son las temperaturas extremas y el exceso o deficiencia de nutrientes minerales, luz o agua (Ashton & Larson, 1996; Aranda et al., 2005, García-Forner et al., 2016; Pinto et al., 2016). Sin embargo, es necesaria más información en torno a las respuestas de especies en ecosistemas naturales sometidas al efecto simultáneo de varios factores de estrés, como la sequía y el calor, ya que su combinación podría tener efectos sinérgicos negativos más fuertes que cualquier factor de estrés de manera individual (Xu & Zhou, 2006).

Bajo escenarios de cambio climático, también resulta fundamental conocer las dinámicas de nutrientes en ecosistemas forestales (Bielenberg & BassiriRad, 2005), así como la relación existente entre su disponibilidad y la fisiología de las plantas (Marañón et al., 2014). El macronutriente más importante para las plantas es el nitrógeno (Taiz & Zeiger, 2006) y su deficiencia afecta todos los aspectos del metabolismo vegetal (Kimmins, 2004; Canfield et al., 2010). Sin embargo, la incorporación de nitrógeno en ecosistemas forestales y su asimilación por las plantas depende de factores ambientales, incluyendo la temperatura y la disponibilidad de agua (George et al., 1988, Cleland & Harpole, 2010, Matías et al., 2011). Hasta ahora, los experimentos

que han manipulado temperatura o precipitación han brindado resultados controversiales al respecto (Shaw & Harte, 2001). Los incrementos de temperatura, en general, producen aumentos en la cantidad de nitrógeno en el suelo (Shaw & Harte, 2001; Sardans et al., 2008), pero bajo condiciones de sequía ocurre lo contrario (Moyano et al., 2013; Duan et al., 2015). Sin embargo, el efecto combinado de estos factores produce respuestas únicas que no pueden ser extrapoladas desde experimentos donde solo se manipula uno de ellos (Mittler, 2006). Así, dado que las futuras condiciones de cambio climático tienen el potencial de alterar la disponibilidad de nitrógeno en el suelo y los aspectos metabólicos que regulan su absorción por parte de las plantas, se debe analizar la magnitud y dirección de dichas alteraciones.

Entre los componentes más importantes de los bosques templados del hemisferio norte se encuentran los encinos o robles (género *Quercus*, familia Fagaceae). México constituye el mayor centro de diversificación de encinos en el planeta, con 161 especies de las 500 especies que se estiman en el mundo (Manos et al., 1999), de las cuales 109 son endémicas (Valencia, 2004). Asimismo, los bosques de encinos cubren aproximadamente 5.5% de la superficie total del país y tienen un gran valor ecológico, económico y cultural (Pérez-Olvera et al., 2000). A pesar de la importancia de encinos en el país, actualmente se encuentran bajo intensa presión debido al cambio climático (Bonan, 2008; Camarero et al., 2008), donde la combinación del aumento de temperatura y la disminución en la disponibilidad pueden reducir su regeneración y sobrevivencia (Gutiérrez, 2014). Por lo anterior, elegimos a los encinos como modelo para estudiar las respuestas de las especies forestales ante el cambio climático.

La finalidad de esta investigación es brindar información sobre los posibles impactos de condiciones más cálidas y secas en las etapas tempranas del ciclo de vida de los encinos. Para ello, realizamos dos experimentos en condiciones de campo en diferentes sitios. En ambos experimentos se monitoreó la emergencia, crecimiento y sobrevivencia de las plántulas. Asimismo,

monitoreamos algunas variables relacionadas con su actividad fotosintética y con el contenido de clorofila en sus hojas, como también el contenido de carbono y nitrógeno en hojas. También se determinó la cantidad de nitrógeno inorgánico disponible en el suelo y se estudió el metabolismo del suelo midiendo la actividad de la enzima nitrogenasa, responsable de la fijación de nitrógeno.

Como hipótesis propusimos que las condiciones de cambio climático afectarán negativamente el desarrollo de las plántulas de encinos. Para ello, simulamos estas condiciones en el campo mediante manipulaciones experimentales, comparando las respuestas de las plántulas desarrolladas bajo estas condiciones contra las de plántulas desarrolladas bajo el clima actual. Asimismo, suponíamos que el suelo se vería afectado por la simulación de cambio climático y, por ende, las plantas responderían a las variaciones generadas en el ambiente edáfico, principalmente en torno al contenido de agua y nitrógeno.

CAPÍTULO 1: EFECTOS DEL CAMBIO CLIMÁTICO EN ETAPAS TEMPRANAS DEL CICLO DE VIDA DE LOS ENCINOS

1.1. Introducción

La prevalencia de los ecosistemas forestales depende de la emergencia y el establecimiento de las plántulas de árboles, pero el cambio climático podría alterar estos procesos (Clark et al., 2016). En bosques templados de Norteamérica, la mayoría de los modelos de circulación general prevén que la temperatura del aire se incrementará 5 °C durante este siglo, mientras que las proyecciones para la precipitación sugieren una disminución anual de hasta un 20 % (IPCC, 2013). Debido a ello, estos ecosistemas se verán sometidos a condiciones más cálidas y secas, pero los experimentos de campo destinados a evaluar cómo podrían subsistir las plántulas de las especies arbóreas ante el efecto combinado de estos cambios aún son controversiales.

La disponibilidad de agua es un factor clave que regula la emergencia de plántulas en los bosques, por lo que el cambio climático podría perjudicar dicho proceso (Pérez-Ramos et al., 2013; Clark et al., 2016). Esto es particularmente crítico para especies de árboles cuyas semillas son recalcitrantes, dado que los aumentos de temperatura y la disminución de la precipitación pudieran incrementar la pérdida de agua en las semillas, produciendo la muerte del embrión (Zavala-Chávez, 2008; Joët et al., 2013). Por otro lado, aún si las plántulas logran emerger bajo estas condiciones, podrían exhibir una variedad de respuestas funcionales que, en última instancia, afectarían su desempeño bajo escenarios de cambio climático. El aumento de temperatura usualmente promueve la transpiración foliar, pero cuando las plantas también están sometidas a estrés hídrico, se induce el cierre estomático para evitar la pérdida excesiva de agua y esto disminuye las tasas de fijación de carbono porque disminuye el intercambio de gases (Chaves et al., 2002; Haldimann & Feller,

2004; Rodríguez-Domínguez et al., 2016). Adicionalmente, el cambio climático podría afectar los procesos fotosintéticos dependientes de la luz, pues el estrés térmico e hídrico reducen el flujo de electrones en la membrana tilacoidal de los cloroplastos y esto disminuye la conversión de energía lumínica en energía química (APT y NADPH), la cual es requerida para fijar carbono (Maxwell & Johson, 2000; Baker & Oxborough, 2004). Entonces, el efecto combinado de condiciones más cálidas y secas proyectadas para los ecosistemas forestales podría alterar el balance de agua y de carbono de las plántulas, e incluso reducir sus tasas de sobrevivencia.

La disponibilidad de nitrógeno en el suelo es otro factor importante que podría alterarse debido al cambio climático. El nitrógeno es el nutriente mineral más importante para las plantas ya que regula su crecimiento (Poorter et al., 2012). Sin embargo, la disponibilidad de nitrógeno en los ecosistemas forestales depende principalmente de la actividad de bacterias edáficas, las cuales son extremadamente sensibles a cambios en la temperatura y la humedad del suelo (Brookshire et al., 2011). Por lo tanto, las variaciones en el clima podrían afectar la mineralización y fijación de nitrógeno (Brookshire et al., 2011; Chen et al., 2011). No obstante, los efectos reales del cambio climático en la disponibilidad de nitrógeno aún son controversiales. Por un lado, el calentamiento podría estimular la actividad metabólica de las bacterias y producir un incremento del nitrógeno en el suelo (Melillo et al., 2002; Brookshire et al., 2011; Butler et al., 2012). Por otro lado, se espera que la baja disponibilidad de humedad en el suelo debido a menor precipitación genere efectos opuestos (Borken & Matzner, 2009; Chen et al., 2011). Desde la perspectiva de las plántulas, la interacción de condiciones más cálidas y secas podría comprometer su habilidad de adquirir nitrógeno, independientemente de las concentraciones presentes en el suelo. Esto se debe a que los déficits hídricos disminuyen la movilidad del nitrógeno disponible en la matriz edáfica, reduciendo la capacidad de las plantas para capturar este recurso a través de las raíces (Rennenberg et al., 2009; He & Dijkstra, 2014). En consecuencia, es probable que la disponibilidad de nitrógeno y las tasas

de crecimiento de las plántulas de árboles en ecosistemas forestales decrezca conforme avanza el cambio climático.

El presente estudio evalúa cómo el cambio climático podría afectar la emergencia, la sobrevivencia y el desempeño de plántulas de encino recién emergidas en un bosque templado de México. Para ello, desarrollamos un experimento de campo donde manipulamos la temperatura y la precipitación durante el periodo del año en que naturalmente emergen las plántulas, pues en esta temporada las etapas tempranas de los encinos son extremadamente sensibles a variaciones en las condiciones ambientales (Zavala-Chávez & García-Moya, 1996; Badano et al., 2011, 2015). En estos ecosistemas, los encinos adultos producen bellotas (frutos tipo nuez, que contienen una sola semilla) en primavera y las liberan hacia finales del verano, lo cual coincide con la segunda mitad de la temporada de lluvias (Zavala-Chávez & García-Moya, 1996; González-Salvatierra et al., 2013; Badano et al., 2015). Dado que las semillas de encinos mexicanos son altamente recalcitrantes (los embriones mueren si el contenido de agua de la semilla baja a menos del 25-30%) y requieren altos niveles de hidratación para germinar (más de 80% de contenido de agua en la semilla), la emergencia de plántulas en campo ocurre poco después de que las semillas son liberadas de los árboles parentales (Zavala-Chávez & García-Moya, 1996; Zavala-Chávez, 2008). El desarrollo de las plántulas recién emergidas depende de las reservas nutricionales de los cotiledones, aunque son extremadamente susceptibles a la mortandad asociada a periodos de estrés térmico e hídrico (Badano et al., 2009; González-Salvatierra et al., 2013). Por ello, propusimos como hipótesis que las condiciones más cálidas y secas esperadas con el cambio climático, reducirán la emergencia y sobrevivencia de plántulas de encinos, afectando también su desempeño. Además, dado que el cambio climático podría reducir la disponibilidad de nitrógeno para las plántulas, se propuso que el contenido de nitrógeno de las plántulas sometidas a condiciones de cambio climático será menor que el de aquellas creciendo bajo las condiciones climáticas actuales.

1.2. Materiales y métodos

1.2.1. Sitio de estudio

Nuestro experimento se desarrolló en el Parque Nacional “El Potosí”, ubicado en la sección más occidental de la Sierra Madre Oriental, en Sierra de Álvarez, San Luis Potosí, México. El clima en la región es templado (temperatura media anual de 18 °C) y más del 80 % de la precipitación ocurre entre junio y noviembre (precipitación media anual de 500-600 mm), aunque pueden ocurrir eventos dispersos de precipitación hasta enero (Vargas-Márquez, 1997). Los suelos son someros, con una profundidad máxima de 10-15 cm, y la vegetación se compone de bosques de encinos semi-caducifolios (Zavala-Chávez & García-Sánchez, 1999). En estos ecosistemas, a pesar de la poca profundidad de los suelos, las raíces de los árboles penetran la roca madre mediante pequeñas fisuras, anclándose así al sustrato (Zavala-Chávez & García-Sánchez, 1999). Dado que la emergencia de plántulas de encino ocurre principalmente en la sección superior del perfil del suelo del sotobosque (Badano et al., 2015), ubicamos el sitio experimental debajo del dosel de un bosque bien conservado dominado por *Quercus crassifolia*, *Quercus eduardii* y *Quercus jonesii* (21° 55' 10'' N, 100° 19' 34'' W, 2123 m.s.n.m).

Para determinar la magnitud del cambio climático esperado en la zona de estudio, se usaron las bases de datos de Fernández-Eguiarte et al. (2012, 2014) para calcular la diferencia entre los valores actuales de temperatura del aire y precipitación y los que se esperan en el futuro. Estas bases de datos brindan los valores de ambas variables a una resolución espacial de 1-km² por pixel. Los valores actuales son promedios mensuales que integran datos desde 1902 hasta 2011 (Fernández-Eguiarte et al., 2012). Los valores futuros también son estimados para cada mes del año usando como base el modelo de cambio climático HadGEM2-ES y consideran los cuatro escenarios climáticos (RCP2.6, RCP4.5, RCP6.0 y RCP8.5) propuestos por el IPCC para mediados

de siglo (2021-2040) (Fernández-Eguiarte et al., 2012). El modelo HadGEM2-ES es comúnmente usado para hacer predicciones de cambio climático en México porque tiene desviaciones más pequeñas que otros modelos cuando se utiliza para realizar predicciones de las condiciones climáticas pasadas, lo cual reduce la incertidumbre sobre las predicciones referidas al clima futuro (Fernández-Eguiarte et al., 2014). Dado que nos enfocamos en las etapas tempranas del ciclo de vida de los encinos, las diferencias entre condiciones climáticas presentes y futuras se calcularon para el periodo del año en que ocurre la emergencia de las plántulas, comprendido entre los meses entre octubre y febrero. Nuestras estimaciones indicaron que, durante la temporada de establecimiento de los encinos, la temperatura del aire en el área de estudio tendrá un incremento de 1.3-1.7 °C, mientras que la precipitación disminuirá un 11-18 % (Tabla 1.1).

Tabla 1.1. Cambios a corto plazo (periodo 2021-2040) de temperatura del aire y precipitación predichos para la zona de estudio durante la temporada de reclutamiento de encinos (octubre-febrero). Las predicciones fueron hechas con el modelo HadGEM2-ES considerando los cuatro escenarios climáticos propuestos por el IPCC (RCP2.6, RCP4.5, RCP6.0 y RCP8.5).

Escenario climático	Temperatura del aire (cambio neto)	Precipitación (cambio porcentual)
RCP2.6	+ 1.7 °C	-18 %
RCP4.5	+ 1.2 °C	-14 %
RCP6.0	+ 1.3 °C	-11 %
RCP8.5	+ 1.3 °C	-16 %

1.2.2. Diseño experimental

El experimento se desarrolló entre el 17 de octubre de 2015 y el 27 de febrero de 2016. Para ello, en septiembre 2015 trazamos un cuadrante de 50 x 50 m en el área de estudio y aleatoriamente seleccionamos 20 sitios dentro de él, separados a una distancia de 5 m entre sí. En cada sitio, removimos la hojarasca y las rocas. La mitad de los sitios fue asignada aleatoriamente a parcelas

de simulación de cambio climático (parcelas SCC, de ahora en adelante), mientras que la otra mitad se usó como control y se mantuvo bajo las condiciones climáticas actuales. Para manipular la temperatura en las parcelas SCC usamos cámaras de techo abierto hexagonales de policarbonato (3 mm de grosor, longitud de transmisión de onda de 280-750 nm), las cuales siguieron el diseño propuesto por Marion et al. (1997). Las cámaras medían 0.5 m de alto, 1.5 m de ancho en su parte superior y 2.08 m de ancho en su base (Figura 1.1A). Estudios previos indican que este diseño incrementa la temperatura del aire entre 1 y 3 °C, en relación con el ambiente externo, sin afectar la transmisión de luz al interior de la cámara (Dabros & Fyles, 2010; Aragón-Gastélum et al., 2014). La precipitación dentro las parcelas SCC fue reducida con refugios de lluvia siguiendo el diseño de Yahdjian & Sala (2002). Estos refugios consistían en canaletas de policarbonato (1.5 mm de grueso, 10 cm de ancho, 3 m de largo), y fueron distribuidos de forma equidistante sobre marcos metálicos cubriendo el 15% de la superficie de las cámaras (Figura 1.1A). Antes del experimento, realizamos una serie de pruebas de intercepción de lluvia y comprobamos que estas estructuras reducían entre un 10 y 20 % la precipitación en las parcelas SCC, lo cual simulaba los valores predichos para la zona de estudio. Las unidades experimentales de control, por otro lado, fueron circuladas con malla de alambre para evitar el acceso de vertebrados granívoros y herbívoros, tales como ratones, ardillas y aves (Figura 1.1B).

Las plántulas de encino fueron desarrolladas en campo mediante la siembra directa de semillas en las unidades experimentales. Solamente incluimos dos especies de encino dominantes en la zona de estudio (*Q. crassifolia* y *Q. eduardii*) debido a que la tercera especie (*Q. jonesii*) no produjo semillas en 2015. La colecta de bellotas se realizó el 27 de septiembre de 2015 debajo de la copa de 10 árboles de cada especie. Dado que las semillas de los encinos pierden viabilidad rápidamente por desecación o infestación por insectos, las bellotas fueron llevadas al laboratorio y empleamos el método de flotación para separar aquellas que estaban viables (Gribko & Jones,

1995). Esto dio como resultado más de 600 semillas viables de cada especie, las cuales fueron almacenadas a 5 °C para evitar la pérdida de viabilidad debido a desecación.

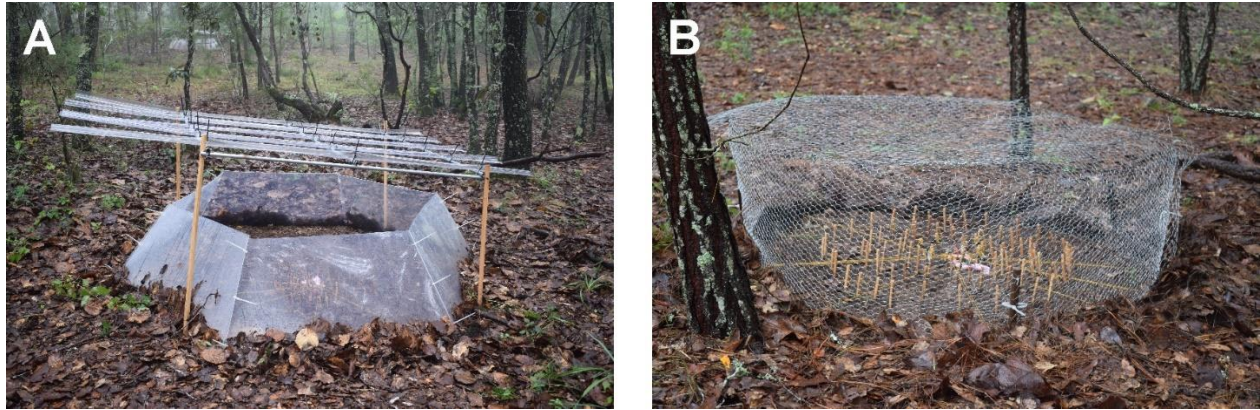


Figura 1.1. Diseño de las unidades experimentales. Las parcelas de simulación de cambio climático consisten en cámaras de techo abierto para incrementar la temperatura y refugios de lluvia para disminuir la precipitación (A), mientras que parcelas control solo son circuladas con malla de alambre para prevenir el acceso de depredadores de bellotas y plántulas (B).

Tras la colecta de bellotas, visitamos el sitio de estudio de manera semanal para establecer el momento en que inicia la emergencia de plántulas de encino en los bosques. Esto ocurrió el 14 de octubre de 2015, fecha en la cual seleccionamos aleatoriamente 200 bellotas viables de cada especie de encino, de las semillas que teníamos en refrigeración, y las sembramos en las parcelas experimentales el 17 de octubre de 2015. Para ello, asignamos aleatoriamente cinco controles y cinco parcelas SCC a cada especie de encino y sembramos 20 bellotas en su interior. Las bellotas se enterraron a una profundidad de 2 cm para imitar el comportamiento de los roedores almacenadores de semillas, que son sus principales dispersores en bosques de Norte América (Smallwood et al., 2001). La posición de cada bellota fue marcada con una pequeña estaca de madera y la emergencia de los brotes aéreos se monitoreó cada siete días hasta el 27 de febrero de 2016. En cada fecha de monitoreo, también registramos la sobrevivencia de cada plántula. Se

supuso que las plántulas habían muerto cuando sus tallos y brotes apicales estaban completamente secos (González-Salvatierra et al., 2013). También registramos las fechas de emergencia foliar en cada plántula porque, si el cambio climático cambia su fenología, la edad foliar debería usarse para controlar los efectos del tiempo en los análisis de los atributos funcionales foliares descritos en las secciones siguientes. Para evitar pseudo-replicación, la edad foliar (i.e., el número de días transcurridos desde la emergencia de la hoja) fue promediada entre todas las hojas de cada plántula.

1.2.3. Condiciones climáticas y edáficas

Para determinar la magnitud de los cambios microclimáticos inducidos con las cámaras de techo abierto y los refugios de lluvia, en comparación con el clima actual, seleccionamos aleatoriamente tres parcelas de cada tratamiento climático (control y SCC) e instalamos sensores automatizados que medían la temperatura y humedad relativa del aire, la temperatura del suelo y la precipitación. La temperatura y humedad relativa del aire fueron medidas con sensores fijados en estacas de madera a 20 cm de la superficie del suelo (HOBO U23-Pro-V2, Onset Computer Corporation, USA), mientras que la temperatura del suelo se midió con sensores enterrados a una profundidad de 5 cm (HOBO Pendant-UA-002, Onset Computer Corporation, USA). De esta manera, la temperatura fue medida tanto en el ambiente donde germinan las bellotas (bajo el suelo) como en el ambiente donde se desarrollan las plántulas (sobre el suelo). Todos estos sensores fueron programados para medir las variables climáticas respectivas cada hora durante todo el experimento. La precipitación se midió con pluviómetros automáticos programados para registrar esta variable en cada evento de lluvia (HOBO S-RGB-M002, Onset Computer Corporation, USA).

También medimos el contenido volumétrico de agua en el suelo durante todo el experimento. Para ello, seleccionamos al azar cinco unidades experimentales de cada tratamiento y, en cada una de ellas, realizamos seis mediciones con un reflectómetro de dominio de tiempo

(FieldScout TDR 300, Spectrum Technologies, USA). Estos valores fueron promediados por parcela en cada fecha de medición. Esta variable fue medida a 3.8 cm de profundidad, que es el ambiente donde se sembraron las bellotas, y a 12.0 cm de profundidad, que corresponde al ambiente donde las raíces de las plántulas emergidas toman agua y nutrientes. Estas mediciones se realizaron siempre en las mismas parcelas experimentales.

Para evaluar si la inducción de cambio climático altera el contenido de nitrógeno inorgánico disponible, medimos las concentraciones de nitrato (NO_3^-) y amonio (NH_4^+) en los controles y en las parcelas SCC. Nos enfocamos en NO_3^- y NH_4^+ porque son las formas minerales de nitrógeno que asimilan las plantas (Fitter, 1997). Las concentraciones de NO_3^- y NH_4^+ fueron medidas en las cinco unidades experimentales de cada tratamiento donde se medía el contenido volumétrico de agua. Sin embargo, dado que las mediciones de NO_3^- y NH_4^+ involucran la extracción de muestras de suelo, lo cual podía dañar las plántulas en desarrollo, estas mediciones solamente se realizaron al inicio (antes de la manipulación climática) y al final (después de la manipulación climática) del experimento. En ambas ocasiones, se tomaron cuatro núcleos de suelo (5 cm de profundidad, 2 cm de ancho) en cada unidad experimental y los mezclamos para obtener una muestra compuesta. Cada muestra fue tamizada (malla de 2 mm) y el contenido de NO_3^- fue determinado *in situ* con un medidor ion-selectivo portátil (LAQUATwin B-742, Horiba, Japón). El procedimiento se repitió tres veces para cada muestra de suelo y los valores de NO_3^- fueron promediados para cada parcela experimental. La fracción restante de cada muestra fue almacenada en bolsas herméticas y puesta en hielo para reducir la actividad metabólica de los microorganismos del suelo. Al llegar al laboratorio, las muestras fueron esparcidas en láminas de aluminio y secadas en una estufa a 40 °C hasta alcanzar peso constante (aproximadamente 48 horas). Una vez que las muestras estuvieron completamente secas, tomamos 5 g de suelo y el NH_4^+ fue extraído con una solución 2 M de cloruro de potasio (KCl). Los extractos fueron tratados con la solución Berthelot y leídos en un

espectrofotómetro UV-vis (Genesys 10S, Thermo Fisher Scientific). Este procedimiento se repitió tres veces para cada muestra de suelo y los valores de NH_4^+ fueron promediados para cada muestra.

1.2.4. Respuestas de las plántulas

Al final del experimento (27 de febrero de 2016), recuperamos las bellotas que no germinaron y las llevamos al laboratorio para determinar su viabilidad. Para ello, hicimos una pequeña incisión en su pericarpio y las incubamos en solución de cloruro de trifeniltetrazolio durante 24 horas en oscuridad. Si los embriones de las semillas están vivos, la sal incolora del tetrazolio reacciona con el hidrógeno liberado por enzimas deshidrogenazas activas y esto genera formazan, un pigmento rojo (Bewley et al., 2013). Dado que ninguna semilla recuperada estaba viable (i.e. los embriones no se tiñeron de rojo), asumimos que no ocurriría más germinación una vez concluido el experimento. En esta fecha, también medimos la longitud del brote aéreo de todas las plántulas sobrevivientes (i.e., desde el suelo hasta el brote apical) con un calibre digital. Estos datos fueron usados para estimar tasas relativas de crecimiento y estos valores se compararon entre tratamientos climáticos.

Posteriormente, evaluamos respuestas funcionales foliares en tres plántulas de cada unidad experimental para determinar si el cambio climático podría afectar su desempeño. Todas las plántulas elegidas tenían al menos tres hojas maduras sin síntomas de desecación o daños por insectos, las cuales fueron marcadas y enumeradas con pequeñas etiquetas de papel. En campo, usamos un fluorómetro portable (MINI-PAM II, Heinz Walz, Alemania) para medir la temperatura foliar y la densidad fotosintética de flujo de electrones (*PPFD*, por las siglas en inglés de Photosynthetic photon flux density) en cada hoja, a la vez que estimamos el rendimiento cuántico efectivo (ϕ_{PSII}) mediante la medición de la fluorescencia de la clorofila. Los valores de ϕ_{PSII} fueron calculados como $(F'm - Ft) / F'm$, donde *Ft* es la fluorescencia emitida por hojas bajo condiciones

de iluminación natural y $F'm$ es la fluorescencia máxima emitida por las hojas cuando un pulso de luz actínica ($\approx 2500 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, en nuestro caso) se sobrepone a los niveles de luz ambiental (Maxwell & Johnson, 2000). Estas mediciones fueron realizadas entre las 10:00 y 12:00 horas porque, después del medio día, los altos niveles de luz que predominan podrían enmascarar los efectos de otros factores ambientales sobre el rendimiento fotosintético cuántico de la plantas (Franco & Lüttge, 2002). Los valores de temperatura foliar, $PPFD$ y ϕ_{PSII} fueron promediados entre las hojas de la misma plántula para evitar pseudo-replicación.

Las hojas marcadas fueron posteriormente cosechadas, almacenadas en bolsas plásticas y puestas en hielo para reducir la pérdida de agua. Estas hojas fueron pesadas inmediatamente después de llegar al laboratorio (aproximadamente tres horas después de la cosecha) para determinar la biomasa fresca (BF). Después, secamos las hojas en una estufa a 60°C hasta que la biomasa seca (BS) permaneció constante (aproximadamente 24-36 horas). Los valores de BF y BS fueron determinados usando una balanza analítica con resolución de 0.1 mg (Cubis, Sartorius, Alemania) y usados para estimar el porcentaje de contenido de agua (PCA) de las hojas mediante la razón $(BF - BS) / BF$. Estos valores fueron promediados entre las hojas de cada plántula y usados como indicador de su estado hídrico al momento de la cosecha (Gond et al., 1999). Posteriormente, para evaluar si el cambio climático puede afectar el balance de carbono y nitrógeno de plántulas de encino recién emergidas, pulverizamos las hojas secas en un molino de bolas (MM200, Retsch, Alemania) y las procesamos para determinar sus contenidos relativos de carbono y nitrógeno usando un analizador elemental (ECS 4010, Costech, USA). Debido al pequeño tamaño de las hojas, mezclamos todas las hojas de cada plántula para alcanzar la cantidad mínima de biomasa necesaria (0.8 g) para estos análisis.

1.2.5. Análisis estadísticos

Usamos ANOVA de medidas repetidas para comparar todas las variables ambientales entre tratamientos climáticos. Para estos análisis, los valores de temperatura del aire y del suelo, así como los valores de humedad relativa del aire, fueron promediados para cada semana del experimento y para cada sensor ($n = 3$ por tratamiento climático, medidas repetidas = 19 semanas). Por otro lado, la precipitación registrada por cada pluviómetro fue acumulada para cada semana del experimento ($n = 3$ por tratamiento climático) pero, dado que los ANOVAs no admiten grupos con varianza cero (Zar, 2010), excluimos las semanas sin lluvia de los análisis (medidas repetidas = 11 semanas). Las comparaciones de contenido de agua del suelo a 3.8 y 12.0 cm de profundidad fueron realizadas con los valores medidos cada semana en las parcelas experimentales de cada tratamiento climático ($n = 5$ por tratamiento climático; medidas repetidas = 19 semanas), mientras que las concentraciones de NO_3^- y NH_4^+ en el suelo fueron comparadas entre las dos fechas en que esas variables fueron medidas ($n = 5$ por tratamiento climático; medidas repetidas = 2 fechas).

La proporción de semillas germinadas y plántulas sobrevivientes fueron comparadas entre tratamientos climáticos y entre especies mediante un ANOVA de dos vías (2 tratamientos climáticos x 2 especies de encino = 4 tratamientos en total; $n = 5$ por tratamiento). La identidad de los encinos fue incluida en estos análisis porque la respuesta ante cambio climático puede variar entre especies. Los mismos análisis fueron usados para comparar la edad de las plántulas, sus tasas relativas de crecimiento y su edad foliar, como también los valores de temperatura foliar, *PPFD*, ϕ_{PSII} , *PCA* y los contenidos foliares de carbono y nitrógeno. Los valores de estas variables fueron promediados entre las plántulas de la misma unidad experimental para evitar pseudo-replicación.

1.3. Resultados

1.3.1. Condiciones climáticas y edáficas

La temperatura del aire fue más alta en las unidades experimentales SCC que en los controles durante todo el experimento, mientras que ocurrió lo opuesto con la precipitación (Tabla 1.2). La diferencia en temperatura del aire entre tratamientos incrementó conforme avanzó el experimento. Las parcelas SCC estuvieron aproximadamente 1.3 °C más cálidas que los controles hasta el 18 de diciembre de 2015, pero esta diferencia se incrementó hasta 1.5 °C después de esa fecha (Figura 1.2A). La precipitación fue 10-11% menor en las unidades SCC en las semanas donde las lluvias superaron los 10 mm, mientras las parcelas SCC recibieron 14-15 % menos lluvia en las semanas donde las precipitaciones fueron menores a ese valor (Figura 1.2B).

Tabla 1.2. Resultados de los ANOVA de medidas repetidas realizado para comparar las variables climáticas y edáficas entre controles y simulaciones de cambio climático. La tabla muestra los valores F obtenidos para cada factor (tratamientos climáticos y tiempo) y su interacción. Los efectos significativos de cada variable de respuesta están indicados con un asterisco (valor α crítico = 0.05).

Variable ambiental	Tratamiento climático	Tiempo (semanas)	Interacción
Temperatura del aire	$F_{(4,1)} = 853.759^*$	$F_{(18,72)} = 5178.385^*$	$F_{(18,72)} = 3.163^*$
Precipitación	$F_{(1,4)} = 339.846^*$	$F_{(8,32)} = 10846.486^*$	$F_{(8,32)} = 31.435^*$
Temperatura del suelo	$F_{(1,4)} = 5310.901^*$	$F_{(18,72)} = 1482.021^*$	$F_{(18,72)} = 0.229$
Humedad relativa del aire	$F_{(1,4)} = 1076.431^*$	$F_{(18,72)} = 14174.897^*$	$F_{(18,72)} = 109.919^*$
Contenido de agua en el suelo (3.8 cm)	$F_{(1,8)} = 180.184^*$	$F_{(18,144)} = 1722.143^*$	$F_{(18,144)} = 32.258^*$
Contenido de agua en el suelo (12.0 cm)	$F_{(1,8)} = 743.359^*$	$F_{(18,144)} = 1522.408^*$	$F_{(18,144)} = 35.600^*$
Concentración de nitrato del suelo	$F_{(1,8)} = 181.203^*$	$F_{(1,8)} = 562.389^*$	$F_{(1,8)} = 299.475^*$
Concentración de amonio del suelo	$F_{(1,8)} = 405.474^*$	$F_{(1,8)} = 1111.181^*$	$F_{(1,8)} = 577.643^*$

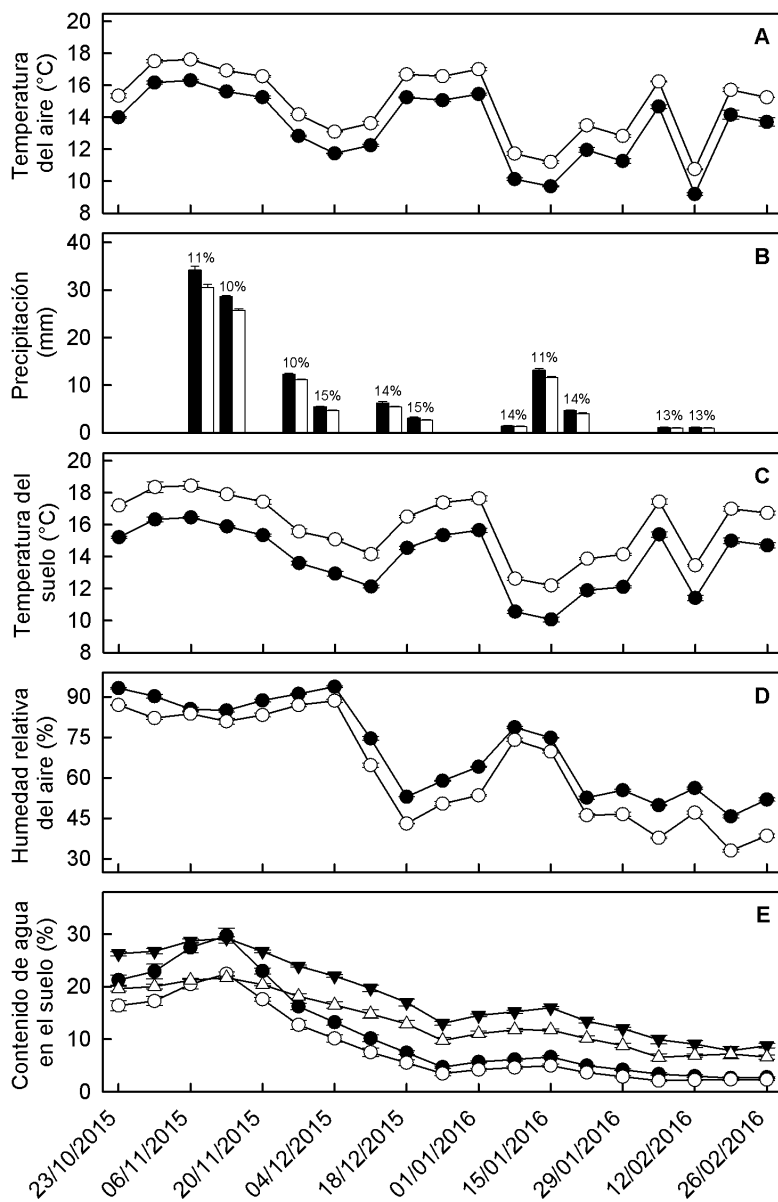


Figura 1.2. Valores promedio (\pm 95% IC) de la temperatura del aire (A), precipitación (B), temperatura del suelo (C), humedad relativa del aire (D) y contenido de agua del suelo (E) para cada semana del experimento en los controles (símbolos negros) y parcelas SCC (símbolos blancos). Los números sobre las barras de precipitación indican la diferencia porcentual entre tratamientos climáticos. El contenido de agua del suelo está reportado a 3.8 (círculos) y 12 cm de profundidad (triángulos).

La temperatura del suelo, la humedad relativa del aire y contenido de agua del suelo también difirieron entre tratamientos climáticos (Tabla 1.2). La temperatura del suelo dentro de las parcelas

SCC fue aproximadamente 2 °C más alta que en los controles y esta diferencia se mantuvo a lo largo del experimento (Figura 1.2C). La humedad relativa del aire fue siempre más baja en las parcelas SCC que en los controles, pero estas diferencias disminuyeron durante las semanas con lluvia (Figura 1.2D). Los contenidos de agua del suelo a ambas profundidades (3.8 cm y 12 cm) fueron más bajos en las parcelas SCC que en los controles y estas diferencias se incrementaron cuando las lluvias disminuyeron (enero-febrero; Figura 1.2E).

Las concentraciones de nitrógeno en el suelo difirieron entre tratamientos climáticos y fechas de muestreo (Tabla 1.2). Al principio del experimento (antes de la manipulación climática), no hubo diferencias en las concentraciones de NO_3^- (Figura 1.3A) ni de NH_4^+ (Figura 1.3B) entre las unidades experimentales asignadas a los diferentes tratamientos climáticos. Sin embargo, las concentraciones de ambos nutrientes minerales fueron más bajas en las parcelas SCC que en los controles al final del experimento (Figura 1.3).

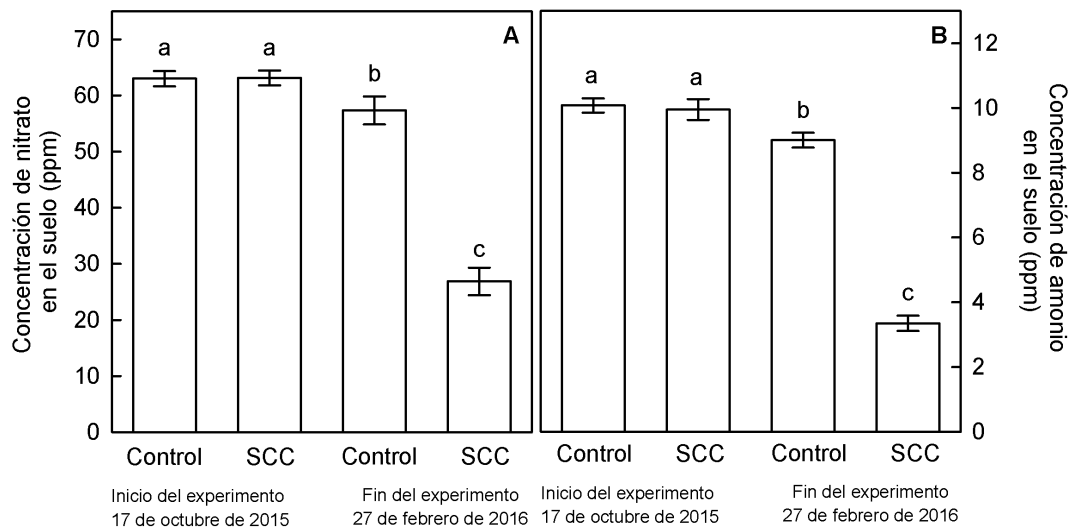


Figura 1.3. Concentraciones del suelo (promedio \pm 95% IC) de nitrato (A) y amonio (B) en controles y parcelas SCC al principio (17 de octubre de 2015) y final del experimento (27 de febrero de 2016). Diferentes letras sobre las barras indican diferencias significativas entre tratamientos (valor α crítico de las pruebas de Tukey = 0.05).

1.3.2. Respuestas de las plántulas

Las proporciones de plántulas emergidas y sobrevivientes difirieron entre tratamientos climáticos (emergencia: $F_{(1,16)} = 18.086$, $p = 0.006$; sobrevivencia: $F_{(1,16)} = 50.585$, $p < 0.001$) y entre especies de encino (emergencia: $F_{(1,16)} = 60.409$, $p < 0.001$; sobrevivencia: $F_{(1,16)} = 152.669$, $p < 0.001$). También se encontraron efectos significativos para la interacción entre estos dos factores (emergencia: $F_{(1,16)} = 7.763$, $p = 0.013$; sobrevivencia: $F_{(1,16)} = 108.411$, $p < 0.001$). La emergencia de plántulas de *Q. crassifolia* fue más baja en las parcelas SCC que en los controles, mientras que la emergencia de plántulas de *Q. eduardii* no difirió entre tratamientos climáticos (Figura 1.4A). Sin embargo, en ambos tratamientos, la proporción de plántulas emergidas fue mayor para *Q. eduardii* que para *Q. crassifolia* (Figura 1.4A). La proporción de plántulas sobrevivientes en los controles no difirió entre especies de encino, pero las plántulas de *Q. eduardii* tuvieron mayor sobrevivencia que las de *Q. crassifolia* en las parcelas SCC (Figura 1.4B).

La edad de las plántulas sobrevivientes no difirió entre tratamientos climáticos ni entre especies de encinos, promediando 102 días entre unidades experimentales. Sin embargo, las tasas relativas de crecimiento difirieron entre tratamientos climáticos ($F_{(1,16)} = 346.225$, $p < 0.001$) y especies de encino ($F_{(1,16)} = 9.181$, $p = 0.008$), sin encontrarse efectos para la interacción de estos dos factores ($F_{(1,16)} = 0.113$, $p = 0.741$). Estos análisis indicaron que las plántulas de *Q. crassifolia* y *Q. eduardii* tuvieron tasas de crecimiento más altas en los controles que en las unidades experimentales con simulación de cambio climático (Figura 1.4C).

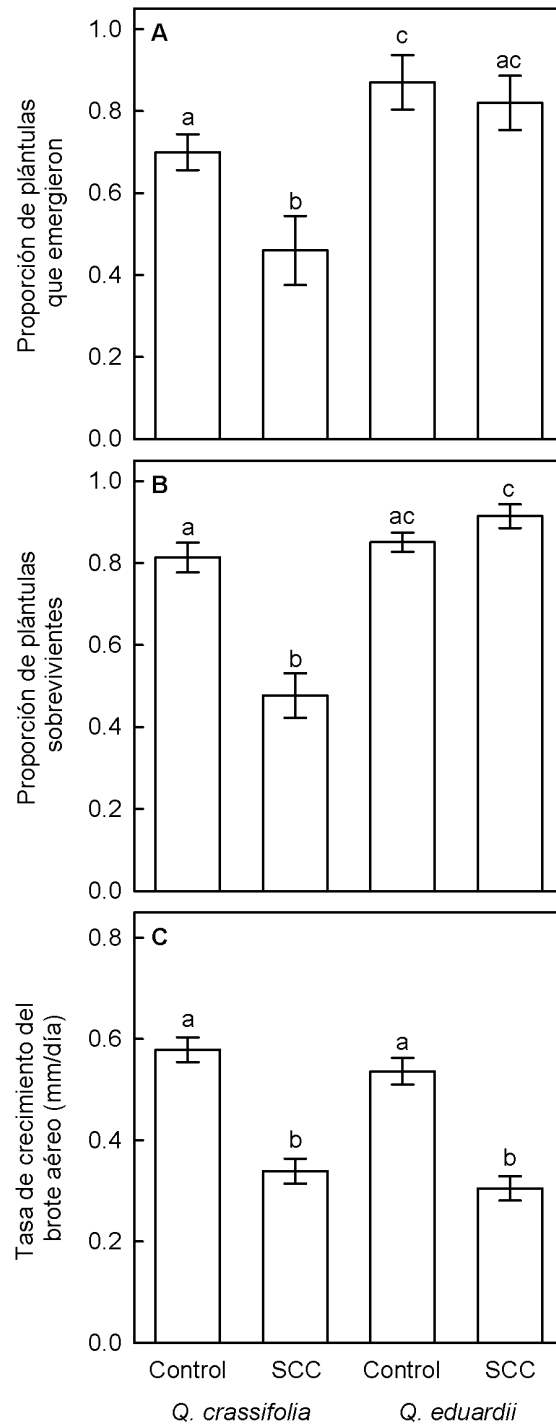


Figura 1.4. Proporción (promedio \pm 95% IC) de plántulas emergidas (A) y plántulas sobrevivientes (B) de *Q. crassifolia* y *Q. eduardii* en controles y parcelas SCC. La figura también muestra el promedio (\pm 95% IC) de las tasas de crecimiento de los tallos (C) en ambos tratamientos. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias significativas entre tratamientos (valor α crítico de las pruebas de Tukey = 0.05).

La edad de las hojas de las plántulas difirió entre tratamientos climáticos ($F_{(1,16)} = 38.267$, $p < 0.001$), especies de encino ($F_{(1,16)} = 8.152$, $p = 0.011$) y también se encontraron efectos significativos de la interacción entre estos factores ($F_{(1,16)} = 5.060$, $p = 0.039$). La emergencia de las hojas ocurrió más tarde en las plántulas de *Q. crassifolia* de las parcelas SCC que en plántulas de todos los demás tratamientos (Figura 1.5A). Por esta razón, la edad de las hojas fue incluida como variable concomitante en los análisis dirigidos a comparar el resto de los rasgos funcionales foliares entre tratamientos climáticos (se usaron ANCOVA en vez de ANOVA). Los valores de *PCA* no fueron afectados por la edad de las hojas, pero hubo diferencias significativas entre tratamientos climáticos y especies de encino (Tabla 1.3). Las hojas de ambas especies de encino tuvieron valores de *PCA* más bajos en las parcelas SCC que en los controles, y las diferencias fueron mayores para *Q. crassifolia* que para *Q. eduardii* (Figura 1.5B). Ni la edad foliar ni la identidad de las especies de encino afectaron la temperatura foliar (Tabla 3), pero ambas especies tuvieron temperaturas más altas en las unidades SCC que en los controles (Figura 1.5C).

Tabla 1.3. Resultados de los ANCOVA que comparan rasgos foliares y variables asociadas entre tratamientos climáticos y especies de encino, usando la edad foliar como variable concomitante. La tabla muestra los valores F obtenidos para cada factor y su interacción. Los efectos significativos de cada variable de respuesta están indicados con un asterisco (valor α crítico = 0.05).

Variable ambiental	Edad foliar	Tratamiento climático	Especie	Interacción
<i>PCA</i>	$F_{(1,15)} = 1.501$	$F_{(1,15)} = 60.208^*$	$F_{(1,15)} = 10.332^*$	$F_{(1,15)} = 2.299$
Temperatura foliar	$F_{(1,15)} = 0.285$	$F_{(1,15)} = 32.095^*$	$F_{(1,15)} = 1.331$	$F_{(1,15)} = 1.061$
ϕ_{PSII}	$F_{(1,15)} = 1.397$	$F_{(1,15)} = 115.490^*$	$F_{(1,15)} = 0.693$	$F_{(1,15)} = 60.504^*$
Nitrógeno foliar total	$F_{(1,15)} = 0.640$	$F_{(1,15)} = 142.040^*$	$F_{(1,15)} = 40.424^*$	$F_{(1,15)} = 48.803^*$
Carbono foliar total	$F_{(1,15)} = 0.034$	$F_{(1,15)} = 501.276^*$	$F_{(1,15)} = 60.225^*$	$F_{(1,15)} = 37.492^*$

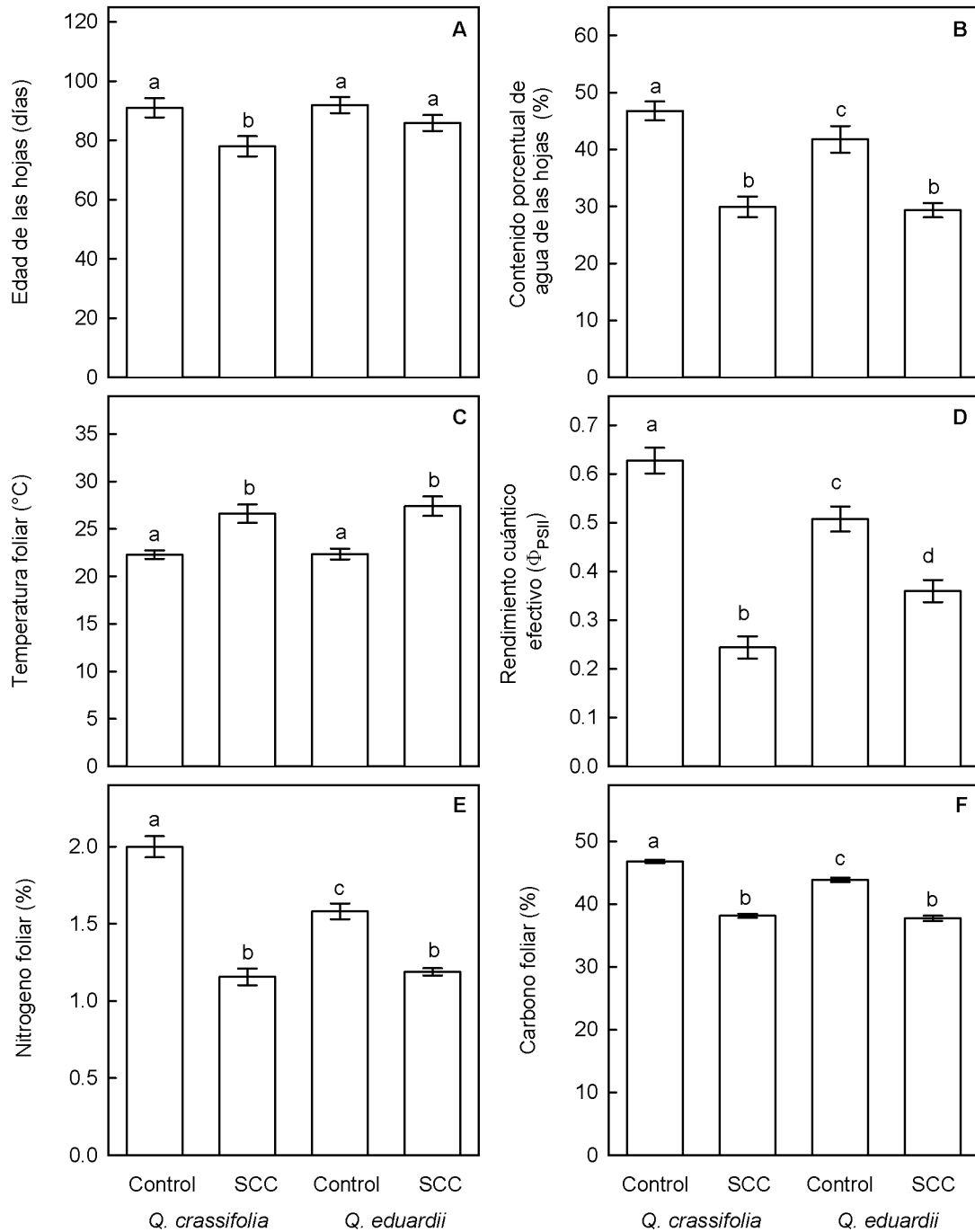


Figura 1.5. Rasgos funcionales foliares (promedio \pm 95% I.C) de plántulas de *Q. crassifolia* y *Q. eduardii* en controles y parcelas SCC, incluyendo la edad de hojas (A), contenido porcentual de agua de las hojas (B), temperatura foliar (C), rendimiento cuántico efectivo del fotosistema II (D), contenido foliar de nitrógeno (E) y contenido foliar de carbono (F). Diferentes letras sobre las barras indican diferencias significativas entre tratamientos (valor α crítico de las pruebas de Tukey = 0.05).

No se encontraron efectos de la edad foliar sobre los contenidos de nitrógeno y carbono de las hojas, pero los valores de estas variables difirieron entre tratamientos climáticos y especie de encino (Tabla 1.3). Ambas especies de encino tuvieron contenidos de nitrógeno (Figura 1.5E) y de carbono (Figura 1.5F) más altos en los controles que en las parcelas SCC y estas diferencias fueron mayores en las plántulas de *Q. crassifolia* que en las plántulas de *Q. eduardii*.

1.4. Discusión

Nuestro estudio indica que los aumentos en la temperatura y la sequía que se esperan en escenarios de cambio climático afectarán el desarrollo de plántulas de encino recién emergidas en el campo y, hasta donde sabemos, éste es el primer estudio experimental que se enfoca en este tema para especies arbóreas de bosques templados de Norteamérica. De hecho, dado que las cámaras de techo abierto y los refugios de lluvia simularon apropiadamente las condiciones de temperatura y precipitación esperadas en el corto plazo (2021-2040), nuestros resultados experimentales sugieren que los efectos negativos del cambio climático podrían ocurrir mucho antes de lo predicho por otros estudios, los cuales han usado modelos de distribución de especies y han propuesto que los efectos del cambio climático en estos bosques serán evidentes hasta después de mediados del siglo XXI (Gómez-Mendoza & Arriaga, 2007; Mclaughlin & Zavaleta, 2012).

La inducción de temperaturas más altas y precipitaciones más bajas en campo también modificó otras variables ambientales que podrían impedir el desarrollo de las plántulas de encino, donde es importante notar que los cambios futuros en los valores de estas variables no han sido directamente predichos por los modelos de cambio climático. Por ejemplo, observamos un descenso general de la humedad relativa del aire dentro de las parcelas SCC, lo cual puede atribuirse a la relación directamente inversa que existe entre esta variable y la temperatura del aire (Hardwick-Jones et al., 2010). Además, las temperaturas de suelo más altas, resultantes del

calentamiento, podrían haber incrementado la evaporación de agua del suelo en las parcelas SCC (Parlange et al., 1998) y esto, aunado a los menores aportes de agua que recibieron estas parcelas debido a los refugios de lluvia, podrían ser responsables de los menores contenidos de humedad que registramos en las mismas. De esta manera, los cambios climáticos que podrían ocurrir durante las siguientes décadas en los bosques templados debido al incremento en la emisión de gases de efecto invernadero, podrían reducir las tasas de reclutamiento de encinos en estos ecosistemas. No obstante, nuestros resultados también indican que las dos especies incluidas en este estudio difieren de alguna manera en sus respuestas ante el cambio climático.

La emergencia y la sobrevivencia de plántulas de *Q. crassifolia* fueron más bajas en las parcelas SCC que en los controles, mientras que dichas diferencias no existieron para *Q. eduardii*. Esto sugiere que las etapas tempranas del ciclo de vida de *Q. crassifolia* podrían ser más sensibles al cambio climático que las de *Q. eduardii*. Debido a que las bellotas de la mayoría de las especies de encino pierden viabilidad rápidamente cuando disminuye su contenido de agua (Zavala-Chávez, 2008; Joët et al., 2013), las temperaturas del suelo más altas en las parcelas SCC pudieron haber acelerado la desecación y, consecuentemente, esto pudo haber reducido la emergencia de plántulas de *Q. crassifolia*. Además, dado que las semillas de encino requieren altos niveles de hidratación para estimular el desarrollo de sus embriones (Zavala-Chávez & García-Moya, 1996), los bajos valores de humedad en el suelo en las parcelas SCC pudieron haber evitado que las semillas de *Q. crassifolia* alcanzaran los niveles de agua requeridos para germinar. Esto, combinado con la mayor temperatura y la menor precipitación, podría ser responsable de la baja proporción de plántulas emergidas de esta especie de encino en las parcelas SCC.

La baja sobrevivencia de las plántulas recién emergidas de *Q. crassifolia* en las parcelas SCC también podría ser atribuida a la combinación de mayores temperaturas y sequía. Muchos autores han reportado que, bajo las condiciones climáticas actuales, las plántulas de encino se

marchitan rápidamente si enfrentan estrés hídrico o térmico durante el periodo de establecimiento, lo cual incrementa drásticamente su mortandad (Rey-Benayas et al., 2005; González-Salvatierra et al., 2013; Montes-Hernández & López-Barrera, 2013; Badano et al., 2011, 2015). En nuestra zona de estudio, los modelos de cambio climático predicen que estos dos factores de estrés se verán intensificados en el futuro cercano, y nuestros resultados indican que el aumento de la severidad ambiental reducirá la sobrevivencia de plántulas de *Q. crassifolia*. Por otro lado, ni la emergencia ni la sobrevivencia de las plántulas de *Q. eduardii* se redujo dentro de las parcelas SCC, comparadas con los controles, lo cual sugiere que esta especie de encino podría ser capaz de tolerar el cambio climático.

Las diferencias en emergencia y sobrevivencia entre las dos especies de estudio podrían atribuirse a distintas capacidades que poseen para reclutar en hábitats contrastantes. En los bosques templados de encino en México, *Q. crassifolia* está considerada una especie de sucesión tardía, cuyas plántulas se establecen en ambientes sombreados bajo el dosel del bosque. Así, aunque posee una elevada capacidad competitiva para adquirir recursos del suelo, en comparación con otras especies de árboles, sus plántulas no toleran altas temperaturas o escasez de agua (Castillo-Lora et al., 2008). En cambio, incluso cuando *Q. eduardii* está reportada como una especie conspicua en estos bosques, este árbol es considerado como especie pionera porque puede colonizar áreas abiertas previamente disturbadas, en las cuales la temperatura y la sequía son mucho mayores que bajo el dosel del bosque (Alfonso-Corrado et al., 2007). Por lo tanto, la falta de efectos del cambio climático en la emergencia y sobrevivencia de las plántulas de *Q. eduardii* podría deberse a las adaptaciones que posee para establecerse en ambientes estresantes para otras especies.

A pesar de la alta emergencia y sobrevivencia de las plántulas de *Q. eduardii* en las parcelas SCC, comparadas con las plántulas de *Q. crassifolia*, nuestros resultados sugieren que el cambio climático afectará negativamente el desarrollo de las etapas tempranas de ambas especies. El

crecimiento de brote aéreo de las plántulas fue prácticamente el doble en los controles que en las parcelas SCC. Esto contrasta con los resultados de experimentos que han manipulado la temperatura en bosques fríos y templados, los cuales han indicado que el calentamiento podría inducir el desarrollo acelerado del brote aéreo de plántulas de árboles (Danby & Hik, 2007; Xu et al., 2012; Piper et al., 2013). Sin embargo, experimentos realizados en ambientes áridos y semi-áridos han reportado que la ocurrencia de eventos de sequía durante la estación de reclutamiento podría reducir fuertemente las tasas de crecimiento de plántulas (Valladares & Sánchez-Gómez, 2006; Mclaughlin & Zavaleta, 2012). Así, las bajas tasas de crecimiento de las plántulas en las parcelas SCC podría deberse a este último factor, dado que las variables ambientales medidas en estas unidades experimentales sugieren que el efecto combinado de mayores temperaturas y menor precipitación generó fuertes déficits hídricos.

La manipulación climática dentro de las parcelas SCC también indujo otros efectos perjudiciales para las plántulas de encino, incluyendo disminución del contenido de agua en las hojas (*PCA*), menor acumulación de carbono foliar y menor rendimiento cuántico fotosintético (ϕ_{PSII}). Los bajos contenidos de agua en las hojas de las plántulas de las parcelas SCC podrían estar relacionados con las altas temperaturas foliares, la cual pudo haber incrementado la pérdida de agua mediante transpiración (Haldimann & Feller, 2004; Rodríguez-Domínguez et al., 2016). El bajo valor de humedad relativa del aire en las parcelas SCC también pudo haber reducido la capa de vapor límite que poseen las hojas, causando un incremento en la transpiración foliar (Martin et al., 1999; Will et al., 2013). Debido a que la deshidratación foliar induce el cierre estomático (Brodribb & Holbrook, 2003), los bajos valores de *PCA* podrían haber reducido el intercambio gaseoso, y esto podría explicar parcialmente por qué las plántulas de las parcelas SCC tuvieron contenidos más bajos de carbono que las de los controles. Los bajos valores de ϕ_{PSII} en estas plántulas también podrían estar relacionados con los bajos contenidos de carbono, pues el estrés

térmico y/o hídrico disminuye el ϕ_{PSII} (Xu & Zhou, 2006; González-Salvatierra et al., 2013; Aragón-Gastélum et al., 2014; Badano et al., 2015) y causa déficits energéticos para el proceso de fijación de carbono mediante el ciclo de Calvin (Baker & Oxborough, 2004; Xu & Zhou, 2006). Por lo tanto, nuestros resultados sugieren que el cambio climático también podría reducir la eficiencia fotosintética de las plántulas de encino.

Los bajos contenidos de NO_3^- y NH_4^+ en las parcelas con simulación de cambio climático coinciden con los resultados de otros experimentos conducidos en ecosistemas forestales, los cuales demostraron que el cambio climático podría producir déficits de nitrógeno para las plantas (Rennenberg et al., 2009; Chen et al., 2011; Roa-Fuentes et al., 2015). Los descensos en el nitrógeno del suelo bajo condiciones de cambio climático se han atribuido principalmente al déficit de agua, pues tiene efectos perjudiciales en la actividad metabólica de bacterias relacionadas con el ciclo del nitrógeno (principalmente fijadoras de nitrógeno y mineralizadoras) (Borken & Matzner, 2009; Chen et al., 2011). La menor disponibilidad de nitrógeno en el suelo podría explicar los bajos contenidos de nitrógeno foliar de las plántulas en las parcelas SCC. Sin embargo, es importante mencionar que los bajos niveles de humedad en estas parcelas pudieron haber reducido la movilidad de dicho nutriente en la matriz del suelo y, consecuentemente, disminuido la capacidad de captura de las raíces de las plántulas. Los efectos de la sequía en la actividad de los microorganismos del suelo y/o la movilidad del nitrógeno en la matriz del suelo podrían explicar las menores tasas de crecimiento de las plántulas en las parcelas SCC, ya que el nitrógeno es un nutriente clave que regula el desarrollo vegetal (Rennenberg et al., 2009; He & Dijkstra, 2014).

En general, nuestro estudio indica que las condiciones de cambio climático que ocurrirán en los bosques templados de Norteamérica tienen el potencial de disminuir el establecimiento de algunas especies de encino. Bajo el clima actual, las altas temperaturas y los eventos de sequía que ocurren durante la temporada de crecimiento de los encinos constituyen importantes barreras

ecológicas para su establecimiento en bosques templados (Zavala-Chávez & García-Moya, 1996; González Salvatierra et al., 2013; Montes-Hernández & López-Barrera, 2013; Badano et al., 2009, 2011, 2015) y nuestros resultados revelan que el aumento en la severidad de estos factores de estrés afectarán aún más el desarrollo de plántulas de encino recién emergidas.

CAPÍTULO 2: EFECTOS DEL CAMBIO CLIMÁTICO SOBRE LA FIJACIÓN Y DISPONIBILIDAD DE NITRÓGENO EN EL SUELO Y SUS CONSECUENCIAS PARA PLÁNTULAS DE ENCINOS

2.1. Introducción

Las dinámicas del nitrógeno en ecosistemas terrestres están principalmente reguladas por procesos biológicos que a su vez dependen del clima. Por ejemplo, la mayor entrada de nitrógeno de origen natural a los ecosistemas depende de la actividad de los microorganismos edáficos, mientras que su transferencia a las cadenas tróficas está limitada por la capacidad de las plantas para capturarlo del suelo, pero estos procesos bióticos están modulados por los regímenes locales de temperatura y disponibilidad de agua (Agehara & Warneke 2005; Sardans et al. 2008). Se ha pronosticado que la temperatura incrementará durante este siglo debido a la creciente acumulación de gases de efecto invernadero en la atmósfera y, con ello, se esperan alteraciones en los regímenes de precipitación (Flato et al. 2013). Esto ha llevado a proponer que el avance del cambio climático modificará los flujos de nitrógeno entre los compartimentos bióticos y abióticos de los ecosistemas (Rennenberg et al. 2009; Fowler et al. 2015). No obstante, a pesar de que es ampliamente reconocido que esto podría afectar el estado nutricional de los productores primarios, la magnitud y dirección (positiva o negativa) que dichos cambios tendrán en los flujos de nitrógeno aún es tema de discusión.

Después del agua, el nitrógeno suele ser el factor que más restringe la productividad vegetal en bosques sin intervención humana directa (Binkley & Hart 1989) y las bacterias edáficas son las principales responsables de incorporar este nutriente en el suelo (Granhall & Lindberg 1980; Cleveland et al. 2010). En suelos forestales, los organismos fijadores de nitrógeno capturan el nitrógeno atmosférico (N_2) y lo reducen a amonio (NH_4^+) mediante el complejo enzimático

nitrogenasa (Colnagui et al. 1997; Waters et al. 1998). Este amonio puede ser capturado por las plantas, pero también puede ser usado como sustrato por los organismos nitrificadores que lo oxidan a nitrato (NO_3^-) en la presencia de oxígeno (Canfield et al. 2010). Tanto el NH_4^+ como el NO_3^- pueden ser utilizados por las plantas, pero la nitrificación incrementa la probabilidad de pérdidas de nitrógeno de los ecosistemas porque el NO_3^- es susceptible a perderse por lixiviación (Canfield et al. 2010). En ambos casos, se libera óxido nitroso (N_2O) a la atmósfera, el cual es un gas de efecto invernadero (Canfield et al. 2010).

A pesar de la importancia que estos procesos tienen en el funcionamiento de los ecosistemas (Fowler 2013), existe gran incertidumbre sobre las dinámicas futuras bajo las condiciones predichas de calentamiento y sequía (Vitousek et al. 2013). En este sentido, los ecosistemas que actualmente tienen restricciones hídricas podrían sufrir los impactos severos del cambio climático, ya que el incremento de temperatura aumenta la desecación del suelo (Trenberth et al. 2014). Por lo tanto, en estos ecosistemas, se espera que la baja disponibilidad de agua tenga mayor influencia en las dinámicas de nitrógeno que los cambios de temperatura, lo cual podría derivar en concentraciones más bajas de dicho nutriente en el suelo (Agehara & Warncke, 2005). Sin embargo, los experimentos de campo donde se manipule simultáneamente la temperatura y la disponibilidad de agua podrían brindar una aproximación sobre los factores clave que determinan la disponibilidad de nitrógeno en el suelo.

El cambio climático podría también afectar el estado nutricional de las plantas, su desempeño y sobrevivencia (Greenwood et al. 2017; Shaver et al. 2000). Las plántulas son particularmente sensibles a la baja disponibilidad de nitrógeno, pues no poseen grandes reservas de nutrientes ni sistemas radiculares bien desarrollados para capturarlos desde el suelo (Kennedy et al. 2004; Padilla & Pugnaire 2007). En este sentido, además de enfrentar condiciones más cálidas y secas, también es posible que las plántulas enfrenten deficiencias nutricionales (Sardans &

Peñuelas 2005). Por lo anterior, bajo las condiciones climáticas predichas para el futuro, las plántulas podrían presentar una serie de respuestas que redunden en un menor crecimiento y actividad fotosintética, lo cual podría conllevar a su muerte si las condiciones ambientales superan sus umbrales de tolerancia (Alberte & Thornber 1977; Grossnickle & MacDonald 2018).

Por estas razones, analizamos las dinámicas de nitrógeno en el suelo bajo las condiciones de cambio climático predichas para bosques templados de México. Para ello, instalamos un experimento en campo y evaluamos la fijación de nitrógeno en el suelo bajo incrementos de temperatura y sequía. Determinamos las variables ambientales que controlan la actividad nitrogenasa y establecimos el impacto general de este proceso sobre la disponibilidad de nitrógeno inorgánico en el suelo. Adicionalmente, evaluamos si la manipulación climática y sus consecuencias sobre el nitrógeno del suelo podrían tener algún efecto en el desarrollo de las plántulas. Nuestras hipótesis eran: i) el cambio climático afectará la fijación de nitrógeno y esto se reflejará en cambios en la disponibilidad de nitrógeno inorgánico (NH_4^+ y NO_3^-) en el suelo; y ii) la simulación de cambio climático afectará el desempeño de las plántulas de manera directa, debido al incremento de temperatura y menor precipitación, e indirecta, mediante cambios en la disponibilidad de nitrógeno en el suelo.

2.2. Materiales y métodos

2.2.1. Sitio de estudio y especies de encino

El estudio se llevó a cabo en el área protegida privada “La Laguna” (21°58’36’’ N, 100°34’10’’ W, 2 200 m.s.n.m.), localizada en la Sierra de Álvarez, estado de San Luis Potosí, México. Los suelos son calcáreos y poco profundos, alcanzando una máxima profundidad de 10-15 cm a la roca madre. La temperatura media anual es de 18 °C y la precipitación anual varía entre 400 y 600 mm. Más del 80% de la precipitación ocurre entre julio y noviembre y, después, se presenta una marcada

estación seca que termina en junio (Medina-García et al. 2005). Los últimos modelos de circulación global del IPCC predicen que, para mediados de este siglo (2040-2060), la temperatura en la región se incrementará 1.5-2.0 °C en invierno y 2.0-2.7 °C en verano, mientras que la precipitación anual disminuirá entre 10-20 % (Flato et al. 2013). Estos valores climáticos fueron usados como referencia para simular las condiciones de cambio climático en el campo.

El experimento comenzó en la estación de lluvias del año 2016 y terminó en la estación de lluvias del 2017 (un año de datos). Se desarrolló bajo el dosel de un bosque maduro de encinos localizado en el área de estudio, el cual está co-dominado por encinos blancos (sección *Quercus*) y rojos (sección *Lobatae*). Los encinos blancos incluyen *Quercus ariifolia* y *Q. laeta*, y los encinos rojos incluyen *Q. castanea*, *Q. crassifolia*, *Q. eduardii* y *Q. mexicana*. Estas especies producen grandes cantidades de bellotas después de años de escasa o nula producción de semillas (reproducción *masting*). Debido a que la reproducción no siempre está sincronizada entre especies (Zavala-Chávez & García-Moya 1996), para el experimento solamente utilizamos encinos que produjeron semillas el año 2016 (*Q. ariifolia*, *Q. eduardii* and *Q. mexicana*). Las bellotas (semillas individuales, tipo nuez) se producen en primavera y se liberan de los árboles parentales en verano, a mitad de la estación de lluvias. Como las semillas de encinos son altamente recalcitrantes (Zavala-Chávez 2004), la emergencia de las plántulas en campo ocurre durante la segunda mitad de la estación de lluvias (Zavala-Chávez & García-Sánchez 1999).

Las bellotas usadas en el experimento fueron colectadas bajo el dosel de diez árboles de cada especie, en agosto del 2016. Colectamos 100 bellotas recién liberadas debajo de cada árbol y mezclamos en una misma muestra todas las semillas pertenecientes a la misma especie. Dado que las semillas podrían ser inviables debido a desecación o parasitismo por insectos (Ramos-Palacios et al. 2014), las semillas fueron llevadas al laboratorio y se sometieron a la prueba de flotabilidad. Para ello, removimos la cúpula de las semillas y pusimos las nueces en agua durante dos horas. Se

asumió que las semillas sumergidas eran viables, mientras que las bellotas que flotaron fueron desechadas (Gribko & Jones 1995). Con este procedimiento tuvimos más de 400 semillas viables de cada especie de encino, las cuales fueron almacenadas en cámaras de refrigeración (5 °C) para prevenir la germinación hasta que fuesen usadas en campo.

2.2.2. Diseño experimental

El 16 de septiembre de 2016, seleccionamos 20 sitios bajo el dosel del bosque distanciados al menos 10 m entre ellos. Removimos hojarasca y rocas en un radio de 3 m alrededor de cada sitio. Después, la mitad de los sitios fue aleatoriamente asignada a parcelas control, que permanecieron bajo las condiciones climáticas actuales, mientras la otra mitad fue asignada a parcelas de simulación de cambio climático (parcelas SCC), donde manipulamos la temperatura y la precipitación.

Las condiciones de calentamiento en las parcelas SCC fueron simuladas con cámaras hexagonales de techo abierto, construidas con acrílico transparente (3 mm de grosor, 280-750 nm de transmisión de longitud de onda). Para esto, seguimos el diseño propuesto por Marion (1997) y las cámaras medían 2.08 m de ancho en la base y 1.5 m de ancho en el borde superior (Figura 2.1A). Su funcionamiento radica en que las paredes de acrílico reducen la velocidad del viento dentro de las cámaras, lo cual incrementa la temperatura del aire de manera pasiva entre 1.5 y 3.6 °C, en comparación con el ambiente externo (Aragón-Gastélum et al. 2014; Pérez-Ruiz et al. 2018). Se considera que dichas estructuras son un método eficiente para inducir calentamiento en regiones remotas sin acceso a energía eléctrica, como en nuestro caso (Hollister & Webber 2000). Para reducir la precipitación en las parcelas SCC utilizamos refugios de lluvia (Yahdjian & Sala 2002). Este sistema consiste en canaletas de policarbonato transparente en forma de U (1.5 mm de grosor, 10 cm de ancho, 3 m de longitud) apoyadas en estructuras metálicas rectangulares (Figura 2.1A).

Como la cantidad de lluvia interceptada depende del número de canaletas, en julio de 2016 realizamos pruebas de campo para determinar cuántas canaletas eran requeridas para reducir la precipitación un 10-20%, como lo predicen los modelos de cambio climático. Asimismo, dado que las canaletas podrían disminuir aún más la circulación del viento dentro de las cámaras de techo abierto, incrementando la temperatura más allá de los valores deseados, usamos esas pruebas para evaluar cómo debía disponerse los refugios de lluvia sobre las cámaras para evitar estos efectos. Nuestros ensayos indicaron que cinco canaletas distribuidas equidistantemente (20 cm entre cada una) y ubicadas a una altura de 25 cm sobre las cámaras de techo abierto, eran suficientes para reducir la precipitación en un 10-18% sin interferir con el calentamiento (Figura 2.1A). Por otro lado, las parcelas control fueron cercadas con malla de alambre para prevenir el acceso de pequeños vertebrados que pudieran interferir con el experimento (Figura 2.1B).



Figura 2.1. Diseño de las unidades experimentales. Las parcelas de simulación de cambio climático consisten en cámaras de techo abierto para incrementar la temperatura y refugios de lluvia para disminuir la precipitación (A), mientras que parcelas control solo son cercadas con malla de alambre para prevenir el acceso de pequeños vertebrados.

2.2.3. Condiciones ambientales

Para evaluar diferencias en las condiciones ambientales entre parcelas control y SCC, utilizamos sensores automatizados para medir la intensidad de la luz, temperatura del aire, temperatura del suelo, humedad relativa del aire y precipitación en todas las unidades experimentales. Para ello, en el centro de cada parcela instalamos un sensor de intensidad de luz (HOBO Pendant-UA-002, Onset Computer Corporation, USA) y un sensor de temperatura del aire/humedad relativa HOBO U23-Pro-V2, Onset Computer Corporation, Bourne, USA), los cuales fueron fijados 20 cm sobre la superficie del suelo en estacas de madera. La temperatura del suelo fue medida con un sensor apropiado (HOBO Pendant-UA-002, Onset Computer Corporation, USA) enterrado a 5 cm de profundidad en cada parcela. Estos dispositivos fueron programados para registrar las variables ambientales cada hora. Con la finalidad de evaluar diferencias de precipitación entre parcelas control y SCC, utilizamos pluviómetros automatizados (HOBO S-RGB-M002, Onset Computer Corporation, USA) que fueron configurados para registrar la cantidad de agua en cada evento de precipitación. Además, empleamos un medidor de humedad de suelo (Field Scout TDR 300, Spectrum Technologies, USA) para monitorear el contenido volumétrico de agua en todas las unidades experimentales. Estas mediciones fueron tomadas cada dos semanas a una profundidad de 7.6 cm, ya que por las características del suelo no pudimos realizar mediciones más profundas. En cada fecha de monitoreo, seis mediciones de humedad relativa fueron tomadas en puntos aleatorios dentro de cada unidad experimental para disminuir la micro-variabilidad del contenido de agua y estos valores fueron automáticamente promediados por el instrumento.

Para evaluar si existían diferencias en las condiciones ambientales previas entre los sitios donde instalaron las unidades experimentales pertenecientes a cada tratamiento climático, comenzamos las primeras mediciones el 17 de septiembre de 2016 (14 días antes de aplicar los tratamientos climáticos). Los controles y las parcelas SCC fueron instaladas en campo el 30 de

septiembre del 2016 y, después de esta fecha, las mediciones ambientales continuaron hasta el 15 de septiembre de 2017 (364 días de monitoreo). Nuestra expectativa era no registrar diferencias en los valores iniciales de las variables ambientales, mientras que deseábamos detectar diferencias una vez que los tratamientos climáticos fuesen aplicados. Usamos ANOVAs de medidas repetidas de una vía para comparar las condiciones ambientales entre tratamientos climáticos a lo largo del tiempo. Para estos análisis, la intensidad de luz (medida únicamente durante el periodo diurno; 08:00-19:00 h), temperatura del aire, temperatura del suelo y humedad relativa del aire registradas con cada sensor fueron promediadas cada dos semanas durante el experimento (medidas repetidas = 26 fechas). Para la lluvia, analizamos la precipitación registrada por cada pluviómetro cada dos semanas. Sin embargo, dado que en algunos de esos periodos de dos semanas no se registró lluvia, y debido que los ANOVAs no admiten grupos con varianza cero (Zar 2010), excluimos estos registros de los análisis (medidas repetidas = 24 fechas, sólo en este caso). El contenido volumétrico de agua en el suelo fue comparado entre tratamientos climáticos usando los valores medidos en las unidades experimentales cada dos semanas (medidas repetidas = 26 fechas).

2.2.4. Actividad de la nitrogenasa

Para evaluar si la simulación de cambio climático había alterado el desempeño de las bacterias fijadoras de nitrógeno del suelo, medimos la actividad de la nitrogenasa en las parcelas control y las SCC. Estas mediciones iniciaron el 30 de septiembre de 2016, antes de instalar las unidades experimentales en sus sitios. Después de esa fecha, la actividad de la nitrogenasa fue evaluada en ambos tratamientos cada 70 días hasta el fin del experimento (seis fechas en total). En cada fecha de monitoreo, tomamos muestras de suelo con un nucleador manual (2 cm de ancho x 5 cm de profundidad) en sitios aleatorios dentro de cada unidad experimental y los transferimos cuidadosamente a frascos de vidrio estériles con capacidad de 120 mL, los cuales fueron llenados

hasta $\frac{1}{2}$ de su volumen. Los frascos de vidrio fueron sellados herméticamente con tapas de goma y los pusimos en hielo para reducir la actividad metabólica de los microorganismos edáficos mientras trasladábamos las muestras al laboratorio (aproximadamente 6 h después de coleccionar el suelo). Para medir la actividad de la nitrogenasa, usamos el método de reducción de acetileno. Este método se basa en que la nitrogenasa es capaz de reducir el acetileno (C_2H_2) a etileno (C_2H_4), que es una reacción análoga a la reducción de nitrógeno atmosférico a amoníaco (Hardy et al. 1968). Para esto extrajimos 6 mL de aire de cada frasco e inyectamos el mismo volumen de C_2H_2 para crear una atmósfera enriquecida de acetileno en el espacio libre del frasco. Los frascos fueron incubados a 25 °C utilizando un ciclo de iluminación de 12:12 h luz/oscuridad (Houlton et al. 2008). El contenido de humedad no fue manipulado porque buscábamos mantener las condiciones de campo.

Se midió la producción de C_2H_4 tomando muestras de gas de 500 μ L del espacio libre de cada frasco e inyectándolo en el cromatógrafo de gases (6890N Network Gas Chromatograph, Agilent Technologies, USA). Después de tomar estas muestras, se reinyectaron 450 μ L de aire y 50 μ L de C_2H_2 en cada frasco para mantener las condiciones iniciales (Hendrickson 1990). Estas mediciones fueron realizadas después de 3, 12 y 24 h de incubación, pero durante este tiempo las concentraciones de C_2H_4 estaban por debajo de los límites de detección del equipo. Por esta razón, la actividad de la nitrogenasa se midió cada cinco días hasta que se obtuvieron lecturas confiables de C_2H_4 , lo cual ocurrió después de 30 días de incubación. Posteriormente, el suelo fue extraído de los frascos, se secó y se volvió a pesar y, en este momento, la actividad de la nitrogenasa se calculó como nano-moles de C_2H_4 producidos por gramo de suelo seco por día (Lopez-Lozano et al., 2016).

La actividad de la nitrogenasa fue comparada entre tratamientos climáticos y a lo largo del tiempo mediante ANOVAs de medidas repetidas de una vía (medidas repetidas = 6 fechas). Posteriormente, se realizaron regresiones lineales múltiples con variables categóricas para determinar si existía relación entre la actividad de la nitrogenasa y las variables ambientales

medidas en las parcelas experimentales durante las fechas de muestreo. En estos análisis, la actividad de la nitrogenasa medida después de la aplicación de los tratamientos fue promediada independientemente para las unidades control y SCC, y estos valores fueron usados como variables de respuesta continuas. Los valores correspondientes de intensidad de luz, temperatura del aire, temperatura del suelo, precipitación, humedad relativa del aire y humedad del suelo medidas en las fechas respectivas, también fueron promediados para las parcelas control y SCC, y se usaron como variables predictivas continuas. Finalmente, los tratamientos climáticos (control y SCC) fueron incluidos en los análisis de regresión como una variable predictiva categórica con dos niveles. Como resultado de estos análisis se obtuvieron dos curvas de regresión que describen la relación entre variables continuas para cada nivel de la variable categórica (Kutner et al. 2005).

2.2.5. Contenido de nitrógeno inorgánico en el suelo

Para evaluar si la simulación de cambio climático alteró el contenido de nitrógeno inorgánico en el suelo, medimos las concentraciones de nitrato (NO_3^-) y amonio (NH_4^+) en las mismas fechas en que evaluamos la actividad de la nitrogenasa. En cada fecha de monitoreo, tomamos seis núcleos de suelo (2 cm de ancho x 5 cm de profundidad) en sitios aleatorios dentro de cada unidad experimental y los mezclamos en una única muestra compuesta. Las muestras de suelo fueron tamizadas (malla de 2mm), almacenadas en bolsas plásticas herméticas y puestas en hielo para trasladarlas al laboratorio. Una vez en el laboratorio, esparcimos las muestras de suelo en láminas de aluminio y las secamos en una estufa hasta que su peso se mantuvo constante (40 °C, durante 20 h).

Para determinar la concentración de NO_3^- , depositamos 10 g de cada muestra de suelo en un frasco de extracción con 50 mL de agua desionizada. Las botellas fueron agitadas manualmente por dos minutos, se filtraron los extractos y se determinaron las concentraciones de NO_3^- con un

electrodo ion-selectivo (LAQUATwin B-742, Horiba, Japan). En el caso del NH_4^+ , depositamos 5 g de suelo de cada muestra en un tubo Falcon TM con 25 mL de solución de cloruro de potasio 2 M. Los extractos fueron filtrados y tratados con la solución Berthelot para luego leerse en un espectrofotómetro UV-visible (Genesys 10S, Thermo Fisher Scientific, USA). Las concentraciones de NO_3^- y NH_4^+ fueron comparadas entre tratamientos climáticos y a lo largo del tiempo con ANOVAs de medidas repetidas de una vía (medidas repetidas = 6 fechas) y empleamos regresiones lineales múltiples con variables categóricas para determinar si las concentraciones de NO_3^- y NH_4^+ estaban relacionadas con los respectivos valores de nitrogenasa medidos en las parcelas control y SCC. Estos análisis de regresión fueron realizados de la misma manera que se explicó en la sección previa.

2.2.6. Respuestas de las plántulas de encino

Para evaluar los efectos del cambio climático en el desarrollo de las plántulas de encino, el 30 de septiembre de 2016 seleccionamos aleatoriamente 200 semillas viables de cada especie de encino (*Q. ariifolia*, *Q. eduardii* y *Q. mexicana*) y las llevamos al campo. Sembramos 10 semillas de cada especie de encino en posiciones aleatorias dentro de las parcelas control y SCC. Las bellotas fueron sembradas a una profundidad de 2 cm para simular el comportamiento de los roedores, los cuales son los principales dispersores de semillas en el área de estudio (Barragan et al. 2018). Las posiciones de siembra fueron marcadas con pequeñas estacas de madera que indicaban el nombre de la especie. Después de ello, registramos la emergencia de los brotes aéreos semanalmente hasta el 15 de septiembre de 2017 (350 días de monitoreo). En cada fecha de monitoreo, también registramos si las plántulas emergidas permanecían vivas o habían muerto. Asumimos que las plántulas habían muerto si los tallos y los meristemas apicales estaban completamente marchitos.

Al final del experimento recuperamos las bellotas que no germinaron en cada unidad experimental y las llevamos al laboratorio para evaluar su viabilidad, para lo cual usamos la prueba de tetrazolium. Para ello, hicimos una pequeña incisión en el pericarpio de la semilla y las incubamos en una solución al 1% de 2,3,5- cloruro de trifeniltetrazolio (24 h en la oscuridad). En esta prueba, la sal incolora de tetrazolium reacciona con el hidrógeno liberado por las enzimas deshidrogenasas activas, lo cual solamente es posible si los embriones están vivos, produciendo un color rojo formazán (Bewley et al. 2013). Ningún embrión se tiñó de rojo, por lo que asumimos que ninguna semilla hubiese germinado una vez que el experimento terminó.

Después de corroborar que ninguna bellota era viable, para cada especie de encino (*Q. ariifolia*, *Q. eduardii* y *Q. mexicana*) calculamos el porcentaje final de plántulas emergidas en las unidades control y SCC como la relación entre el número de plántulas emergidas durante el experimento y el número de bellotas sembradas. Dado que varias plantas murieron durante el experimento, calculamos el porcentaje final de plántulas sobrevivientes como la relación que existe entre el número de individuos vivos al final del experimento y el número de plántulas emergidas. En esta fecha también medimos la longitud del tallo de todas las plántulas sobrevivientes (desde la superficie del suelo hasta el meristemo apical) con un vernier digital. Como teníamos la información precisa respecto a la fecha en que cada plántula emergió (lo cual se monitoreó cada semana), estos datos fueron usados para estimar las tasas netas de crecimiento (*TNC*) como la relación entre la longitud del tallo y el número de días transcurridos desde la emergencia del tallo. Para evitar pseudorreplicación, los valores de *TNC* de cada especie de encino fueron promediados entre las plántulas pertenecientes a la misma unidad experimental. Todas estas variables fueron comparadas entre tratamientos climáticos y entre especies de encino con ANOVAs factoriales de dos vías.

Regresamos al campo el 16 de septiembre de 2017 (un día después de terminar el monitoreo de emergencia y sobrevivencia de plántulas) y seleccionamos una plántula viva de cada especie, en cada unidad experimental para evaluar varias respuestas funcionales que las plantas pueden presentar al enfrentar cambios en la temperatura, la humedad del suelo y la disponibilidad de nitrógeno. Para esto, todas las hojas de las plántulas seleccionadas fueron marcadas y enumeradas con pequeñas etiquetas de papel, posteriormente medimos la temperatura y fluorescencia de la clorofila con un fluorómetro portátil fluorometer (MINI-PAM II, Heinz Walz, Germany). Las mediciones se realizaron cada 6 h, comenzando antes del amanecer (04:00 h) y terminando antes de la puesta de sol (16:00 h). La fluorescencia de la clorofila medida antes del amanecer fue usada para estimar el rendimiento cuántico máximo del fotosistema II, pues esto requiere el uso de hojas adaptadas a la oscuridad (Maxwell & Johnson 2000). Esta variable se calculó como la relación entre la fluorescencia variable (F_V) y la máxima fluorescencia (F_M) como: $F_V/F_M = (F_M - F_0)/F_M$, donde F_0 es la fluorescencia mínima de las hojas adaptadas a la oscuridad cuando sea aplican pulsos de luz de baja intensidad ($\approx 50 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y F_M es la fluorescencia máxima cuando se aplican pulsos saturantes de luz ($\approx 2500 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$). La fluorescencia de la clorofila medida a las 10:00 h y 16:00 h fue usada para determinar el rendimiento cuántico efectivo del fotosistema II en hojas expuestas a la luz (Φ_{PSII}). Esta variable se calculó como: $\Phi_{PSII} = (F'_M - F)/F'_M$, donde F es la fluorescencia de la clorofila bajo iluminación ambiental y F'_M es la fluorescencia máxima cuando se aplica un pulso de luz saturante sobre las condiciones ambientales de iluminación (Maxwell & Johnson 2000). Los valores de F_V/F_M y Φ_{PSII} usualmente disminuyen en plantas sometidas a estrés térmico, estrés hídrico o déficits nutricionales (Adams & Demmig-Adams 2004). La temperatura foliar y los rendimientos cuánticos fueron promediados entre las hojas de la misma plántula para evitar pseudorreplicación,

y usamos ANOVAs de medidas repetidas de dos vías para comparar estos valores entre tratamientos climáticos y entre especies de encinos en los diferentes horarios de medición (04:00, 10:00 y 16:00 h).

Como también estábamos interesados en determinar si los efectos del cambio climático en el nitrógeno del suelo podrían transferirse a las plántulas, medimos el contenido de clorofila (*CCI*) de las hojas. Nos enfocamos en esta variable porque las plantas suelen asignar grandes fracciones de nitrógeno a la síntesis de moléculas de clorofila (Richardson et al. 2002), donde cambios en *CCI* podrían afectar su desempeño fotosintético. Estas mediciones se realizaron inmediatamente después de finalizar las mediciones de la fluorescencia de la clorofila y, para ello, empleamos un reflectómetro portátil (SPAD 502, Konica Minolta, Japón). Este instrumento mide *CCI* en unidades relativas (unidades SPAD), las cuales convertimos en *CCI* neto (incluyendo clorofila *a* y *b*, expresado en mg cm^{-2}) con la ecuación de Coste et al. (2010), la cual indica que: $CCI = (117.10 * SPAD)/(148.84 - SPAD)$. Los valores de *CCI* fueron promediados entre las hojas de la misma plántula y comparados entre tratamientos climáticos y especies de encino con ANOVAs factoriales de dos vías.

El 17 de septiembre de 2017 cosechamos las plántulas seleccionadas (hojas, tallos y raíces) para estimar su contenido de agua, contenido de nitrógeno y sus relaciones raíz:tallo. Para esto, en campo removimos cuidadosamente el sustrato alrededor de las plántulas para recuperar los sistemas radiculares completos. Cosechamos las plántulas y las lavamos con agua para remover materiales gruesos y tierra y, posteriormente, las secamos cuidadosamente con toallas de papel. La biomasa fresca de las plántulas (*BF*) fue determinada con una balanza analítica (Cubis, Sartorius, Alemania). Las plántulas fueron depositadas en prensas botánicas y las llevamos al laboratorio, donde las secamos en estufas (60 °C, 72 h) y las pesamos nuevamente para obtener su biomasa seca (*BS*). Con estos datos, calculamos el porcentaje de contenido de agua (*PCA*) de cada plántula como:

$PCA = (BF - BS)/BF$. Estos valores fueron usados como indicadores del estado hídrico de las plántulas en los diferentes tratamientos climáticos. Después, pesamos individualmente el tallo y los órganos aéreos de cada plántula (tallo y hojas) para calcular la relación raíz:tallo. Los órganos vegetales fueron posteriormente pulverizados en un molino de bolas (MM200, Retsch, Alemania) para determinar el contenido porcentual de nitrógeno de cada plántula con un analizador elemental (ECS 4010, Costech, USA). Usamos ANOVAs factoriales de dos vías para comparar el contenido porcentual de agua, el contenido porcentual de nitrógeno y la relación raíz:tallo entre los tratamientos climáticos y entre las especies de encino.

2.3. Resultados

2.3.1 Condiciones ambientales

La intensidad de la luz varió a lo largo de las fechas de monitoreo ($F_{(25,450)} = 10258.0240$, $p < 0.001$), pero no encontramos diferencias entre parcelas control y SCC en ningún momento del experimento ($F_{(1,18)} = 0.929$, $p = 0.348$). La densidad de flujo de fotones fue, en promedio, $209.1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (± 24.8 , 95% I.C.) en los controles y $206.2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (± 24.9 , 95% I.C.) en las parcelas SCC. Esto indica que ni las cámaras de techo abierto ni los reductores de lluvia interfirieron con el ambiente lumínico dentro de las unidades SCC. El 30 de septiembre de 2016, después de 14 días de mediciones en los sitios seleccionados para el experimento, los valores de temperatura del aire y suelo, precipitación, humedad relativa del aire y contenido de humedad del suelo fueron similares entre los sitios experimentales (Fig. 1), lo cual demuestra que había condiciones ambientales altamente homogéneas entre ellos antes de aplicar los tratamientos climáticos. Sin embargo, una vez que se montaron las unidades experimentales, los valores de todas estas variables difirieron entre tratamientos y a lo largo del tiempo ($p < 0.05$ en todos los ANOVAs de medidas repetidas).

Durante el experimento, la temperatura promedio del aire en las parcelas SCC fue 1.9 °C más alta que en los controles. Sin embargo, esta diferencia fue entre 1.5 y 1.7 °C durante los meses de invierno, mientras que varió entre 1.9 y 2.2 °C durante el resto del año (Figura 2.2A). Esto prueba que las cámaras de techo abierto simulaban exitosamente las condiciones de calentamiento del aire que se esperan para mediados de siglo, así como su variabilidad estacional. La temperatura del suelo, por otro lado, siempre fue 2.2-2.4 °C más alta en las parcelas SCC que en los controles (Figura 2.2B), lo cual indica que el efecto de calentamiento inducido por las cámaras de techo abierto fue transferido al suelo.

La precipitación promedio en las parcelas SCC fue 13% más baja que en los controles, lo cual coincide con los niveles predichos por los modelos de cambio climático. No obstante, las parcelas SCC recibieron entre 17-19% menos precipitación que los controles en los periodos de dos semanas en los que la precipitación acumulada era inferior a los 20 mm, mientras que las diferencias en lluvia fueron menores al 14% cuando la precipitación acumulada sobrepasaba los 20 mm (Figura 2.2C). La humedad relativa del aire y la humedad del suelo también fueron menores en las parcelas SCC que en los controles. Las diferencias en la humedad relativa del aire (Figura 2.2D) fueron mayores durante la estación seca (5-6% más alta en los controles) que durante la temporada de lluvias (2-4% más alta en los controles). Por el contrario, hubo mayores diferencias en la humedad del suelo (Figura 2.2E) durante los periodos de lluvia (8-15% más alta en los controles) que durante la estación seca (1-3% más alta en los controles).

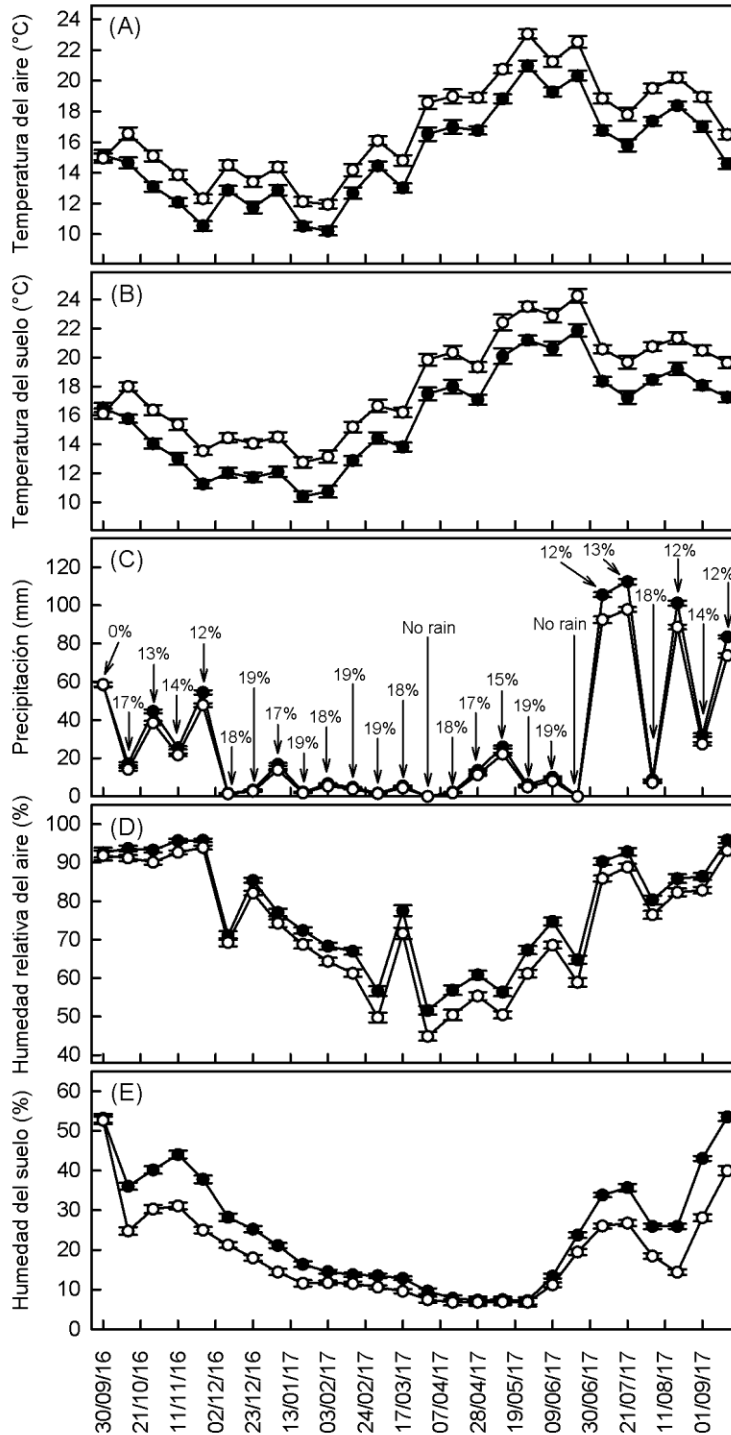


Figura 2.2. Temperatura del aire (A), temperatura del suelo (B), precipitación (C), humedad relativa del aire (D) y contenido de humedad en el suelo (E) en los controles (símbolos negros) y en las parcelas con simulación de cambio climático (símbolos blancos). Los valores para cada fecha son los promedios (\pm 95% I.C.) que abarcan los 14 días de registros en las unidades experimentales. En el panel de precipitación (C), se indican con flechas las diferencias porcentuales entre los tratamientos climáticos para cada fecha.

2.3.2. Actividad de la nitrogenasa

Antes de que los tratamientos fueran aplicados, no encontramos diferencias en la actividad de nitrogenasa entre sitios asignados a los controles y parcelas SCC (Figura 2.3A). Después de iniciar el experimento (30 de septiembre de 2016), la actividad de nitrogenasa fue mayor en los controles que en las parcelas SCC ($F_{(1,18)} = 271.112$, $p < 0.001$). Estas diferencias variaron entre las fechas de muestreo ($F_{(5,90)} = 441.713$, $p < 0.001$) y también encontramos efectos significativos de la interacción entre tratamientos climáticos y fechas ($F_{(5,90)} = 29.539$, $p < 0.001$). La actividad nitrogenasa fue mayor durante los periodos de lluvias que durante los periodos de sequía en ambos tratamientos. Durante la temporada de lluvias, la actividad de la nitrogenasa siempre fue mayor en los controles que en las parcelas SCC, mientras que no hubo diferencias entre tratamientos climáticos durante la estación seca (Figura 2.3A).

La actividad de la nitrogenasa estuvo positivamente relacionada con la humedad relativa del aire ($F_{(3,6)} = 9.752$, $p = 0.010$, $R^2 = 0.830$) y con la humedad del suelo ($F_{(3,6)} = 39.627$, $p < 0.001$, $R^2 = 0.952$). Sin embargo, la actividad de la nitrogenasa incrementó más rápido (i.e., las pendientes de las regresiones fueron mayores) en los controles que en las parcelas SCC conforme incrementaban los valores de humedad relativa del aire (Figura 2.3B) y contenido de humedad del suelo (Figura 2.3C). Ninguna otra variable ambiental estuvo relacionada con la actividad de la nitrogenasa ($p > 0.05$ en todos los ajustes de bondad de los ANOVAs; datos no mostrados).

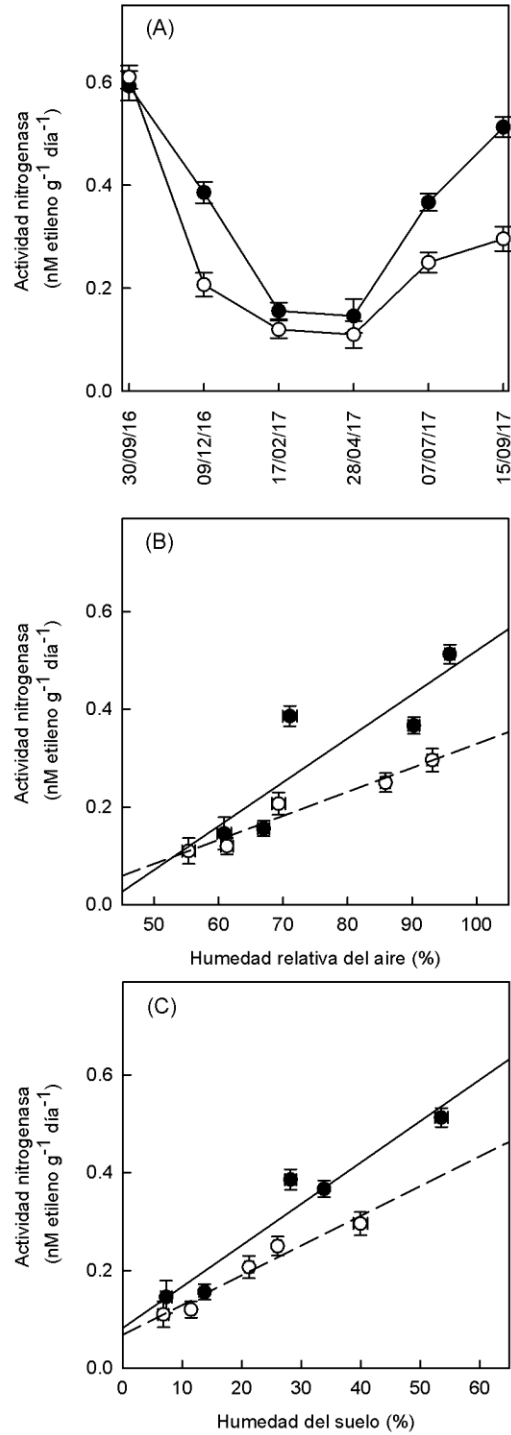


Figura 2.3. Actividad de la nitrogenasa (\pm 95% I.C.) en los controles (símbolos negros) y en las parcelas con simulación de cambio climático (símbolos blancos) en las diferentes fechas de muestreo (A). También se muestra la relación que existe entre la actividad de la nitrogenasa y la humedad relativa del aire (B), así como la relación entre la actividad de la nitrogenasa y la humedad relativa del suelo (C) en los controles (símbolos negros con línea continua) y en las parcelas con simulación de cambio climático (símbolos blancos con línea discontinua).

2.3.3. Contenido de nitrógeno inorgánico del suelo

No hubo diferencias en las concentraciones de NO_3^- (Fig. 4A) y NH_4^+ (Fig. 4B) entre sitios experimentales antes de que se aplicaran los tratamientos climáticos (30 de septiembre de 2016), pero las concentraciones de ambas formas minerales de nitrógeno difirieron entre los tratamientos una vez que empezó el experimento (NO_3^- : $F_{(1,18)} = 112.030$, $p < 0.001$; NH_4^+ : $F_{(1,18)} = 84.476$, $p < 0.001$). Los valores de NO_3^- y NH_4^+ también variaron entre las fechas de muestreo (NO_3^- : $F_{(5,90)} = 97.678$, $p < 0.001$; NH_4^+ : $F_{(5,90)} = 257.551$, $p < 0.001$) y encontramos interacciones significativas entre tratamientos climáticos y fechas (NO_3^- : $F_{(5,90)} = 11.031$, $p < 0.001$; NH_4^+ : $F_{(5,90)} = 27.407$, $p < 0.001$). Las concentraciones de NO_3^- (Figura 2.4A) y NH_4^+ (Figura 2.4B) fueron mayores en las muestras de suelo tomadas en los controles que en las parcelas SCC durante la mayoría de las fechas de muestreo. Para ambas formas de nitrógeno, la única fecha en que no se encontraron diferencias entre tratamientos fue el 28 de abril de 2017, que coincidió con el periodo más seco del experimento (Figura 2.4A, 2.4B).

Las concentraciones de NO_3^- y NH_4^+ estuvieron relacionadas positivamente con la actividad de la nitrogenasa durante las fechas de muestreo de suelo (NO_3^- : $F_{(3,6)} = 13.776$, $p = 0.004$, $R^2 = 0.873$; NH_4^+ : $F_{(3,6)} = 11.077$, $p = 0.007$, $R^2 = 0.847$). Los análisis de regresión indicaron que, a pesar de que las concentraciones de NO_3^- siempre fueron más bajas en las parcelas SCC que en los controles, en ambos tratamientos incrementó de manera similar a la actividad de la nitrogenasa (Figura 2.C). De manera opuesta, conforme aumentaban los valores de la actividad de la nitrogenasa, las concentraciones de NH_4^+ incrementaron más rápido en los controles que en las unidades SCC (Figura 2.4D).

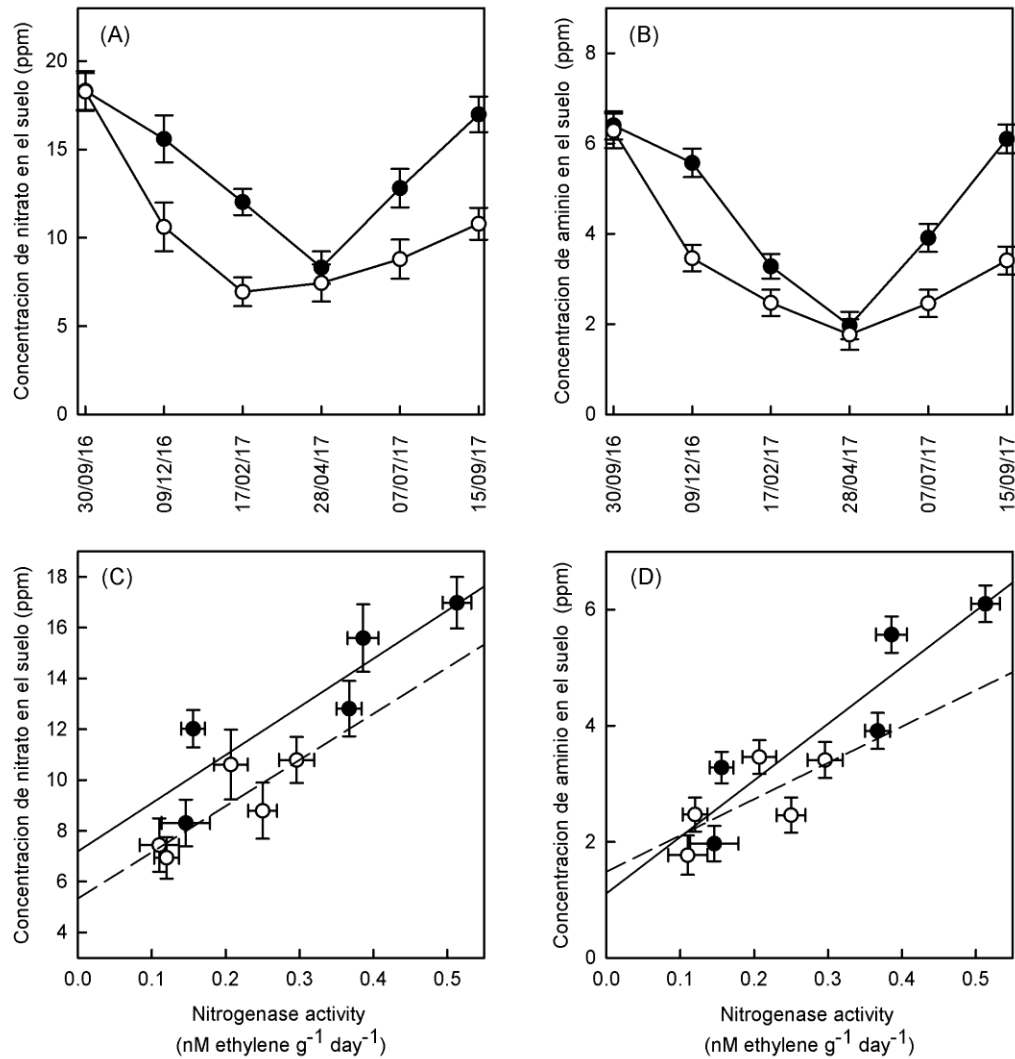


Figura 2.4. Concentración de nitrato (A) y amonio (B) en el suelo de los controles (símbolos negros) y de las parcelas con simulación de cambio climático (símbolos blancos) en las diferentes fechas de muestreo (los valores son promedios \pm 95% I.C.). La figura también muestra la relación entre la concentración de nitrato y la actividad de la nitrogenasa (C) y la relación entre las concentraciones de amonio y la actividad de la nitrogenasa (D) en los controles (símbolos negros) y en las parcelas con simulación de cambio climático (símbolos blancos).

2.3.4. Respuestas de las plántulas de encino

La emergencia de las plántulas difirió entre tratamientos climáticos ($F_{(1,54)} = 52.577$, $p < 0.001$) y entre especies de encino ($F_{(2,54)} = 35.036$, $p < 0.001$), y además encontramos efectos interactivos entre estos factores ($F_{(2,54)} = 25.314$, $p < 0.001$). La emergencia de plántulas fue mayor en *Q.*

ariifolia que en *Q. eduardii*, pero no hubo diferencias entre tratamientos climáticos para ninguna de estas especies (Figura 2.5A). La emergencia de las plántulas de *Q. mexicana* en los controles fue similar a la de *Q. ariifolia*, pero *Q. mexicana* en las parcelas SCC mostró los valores más bajos de emergencia que las otras dos especies en cualquiera de los tratamientos climáticos (Figura 2.5A). La sobrevivencia de las plántulas también difirió entre tratamientos climáticos ($F_{(1,54)} = 163.247$, $p < 0.001$) y especies de encino ($F_{(1,54)} = 4.081$, $p = 0.022$), y también se vio afectada por el efecto combinado de ambos factores ($F_{(1,54)} = 14.424$, $p < 0.001$). Todas las especies de encino mostraron menor sobrevivencia en las parcelas SCC que en los controles, pero en las parcelas SCC las plántulas de *Q. eduardii* tuvieron la menor sobrevivencia (Figura 2.5B). Las tasas netas de crecimiento de las plántulas fueron más altas en los controles que en las parcelas SCC para las tres especies y, en ambos tratamientos, *Q. ariifolia* y *Q. mexicana* mostraron valores más altos que *Q. eduardii* (Figura 2.5C).

No encontramos diferencias de temperatura foliar entre las plántulas de las tres especies ($F_{(2,54)} = 0.098$, $p = 0.907$), pero los valores fueron más altos en las parcelas SCC que en los controles ($F_{(1,54)} = 1114.196$, $p = 0.009$) y aumentaron progresivamente desde las mediciones realizadas a las 04:00 h hasta aquellas de las 16:00 h ($F_{(2,108)} = 5.205$, $p = 0.009$). En promedio, las temperaturas de las hojas de las parcelas SCC fueron 2.5 °C más altas que aquellas de los controles a las 04:00 h, 3.3 °C más altas a las 10:00 h y 7.3 °C más altas a las 16:00 h (Figura 2.6A). El rendimiento cuántico del fotosistema II, por otro lado, difirió entre tratamientos climáticos ($F_{(1,54)} = 141.454$, $p < 0.001$) y entre las especies de encino ($F_{(2,54)} = 31.115$, $p < 0.001$), disminuyendo desde las 04:00 h hasta las 16:00 h ($F_{(2,108)} = 172.836$, $p < 0.001$). No detectamos diferencias de rendimiento cuántico al amanecer (04:00 h), ni entre tratamientos climáticos ni entre especies de encino (Figura 2.6B). Por otro lado, *Q. eduardii* y *Q. mexicana* mostraron valores más

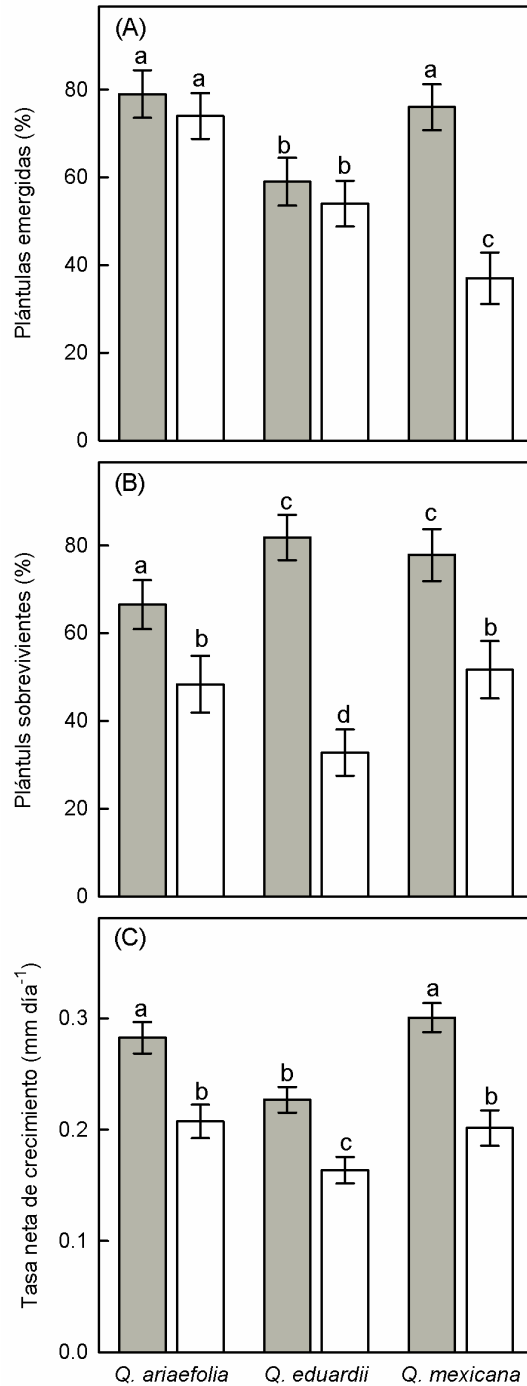


Figura 2.5. Porcentaje (promedios \pm 95% I.C.) de plántulas emergidas (A) y plántulas sobrevivientes (B) de las diferentes especies de encino incluidas (*Q. ariaefolia*, *Q. eduardii* y *Q. mexicana*) en los controles (barras grises) y en las parcelas con simulación de cambio climático (barras blancas). La figura también muestra las tasas netas de crecimiento (promedios \pm 95% I.C.) de las plántulas en cada tratamiento climático. Las letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas entre las combinaciones de los tratamientos climáticos y las especies de encinos (valor α crítico de la prueba de Tukey = 0.05).

bajos en las parcelas SCC que en los controles a las 10:00 h y a las 16:00 h, mientras que dichas diferencias no fueron detectadas para *Q. ariifolia* en ambos momentos (Figura 2.6B).

El contenido de clorofila de las hojas difirió entre tratamientos climáticos ($F_{(1,54)} = 56.287$, $p < 0.001$), especies ($F_{(2,54)} = 188.207$, $p < 0.001$) y también se vio afectado por la interacción entre esos factores ($F_{(2,54)} = 18.065$, $p < 0.001$). Tanto en controles como unidades SCC, el contenido de clorofila de *Q. ariifolia* fue el mayor y, para este encino, no hubo diferencias entre tratamientos climáticos (Figura 2.6C). En *Q. eduardii* y *Q. mexicana*, el contenido de clorofila fue mayor en los controles que en las parcelas SCC (Figura 2.6C). Los contenidos de agua y nitrógeno de las plántulas también difirieron entre tratamientos climáticos (contenido de agua: $F_{(1,54)} = 117.664$, $p < 0.001$; contenido de nitrógeno: $F_{(1,54)} = 162.306$, $p < 0.001$), y estas dos variables de respuesta estuvieron afectadas por la interacción de los factores predictivos (contenido de agua: $F_{(2,54)} = 4.219$, $p = 0.019$; contenido de nitrógeno: $F_{(2,54)} = 15.099$, $p < 0.001$). Las plántulas de las tres especies de encino tuvieron valores similares de contenido de agua en los controles del experimento, y estos valores fueron más altos que los registrados para las plántulas de las parcelas SCC (Figura 2.6D). Todas las especies de encino mostraron valores más altos de nitrógeno en las unidades experimentales control que en las SCC pero, en ambos tratamientos climáticos, *Q. ariifolia* tuvo los valores más altos de contenido de nitrógeno (Figura 2.6E). La relación raíz:tallo de las plántulas difirió entre tratamientos climáticos ($F_{(1,54)} = 3079.899$, $p < 0.001$) y entre especies de encinos ($F_{(2,54)} = 245.015$, $p < 0.001$), y estuvo afectada por la interacción de estos factores ($F_{(2,54)} = 52.431$, $p < 0.001$). Las tres especies de encino tuvieron relaciones raíz:tallo mayores en las parcelas SCC que en los controles, pero *Q. ariifolia* presentó las diferencias más grandes entre tratamientos climáticos (Figura 2.6F).

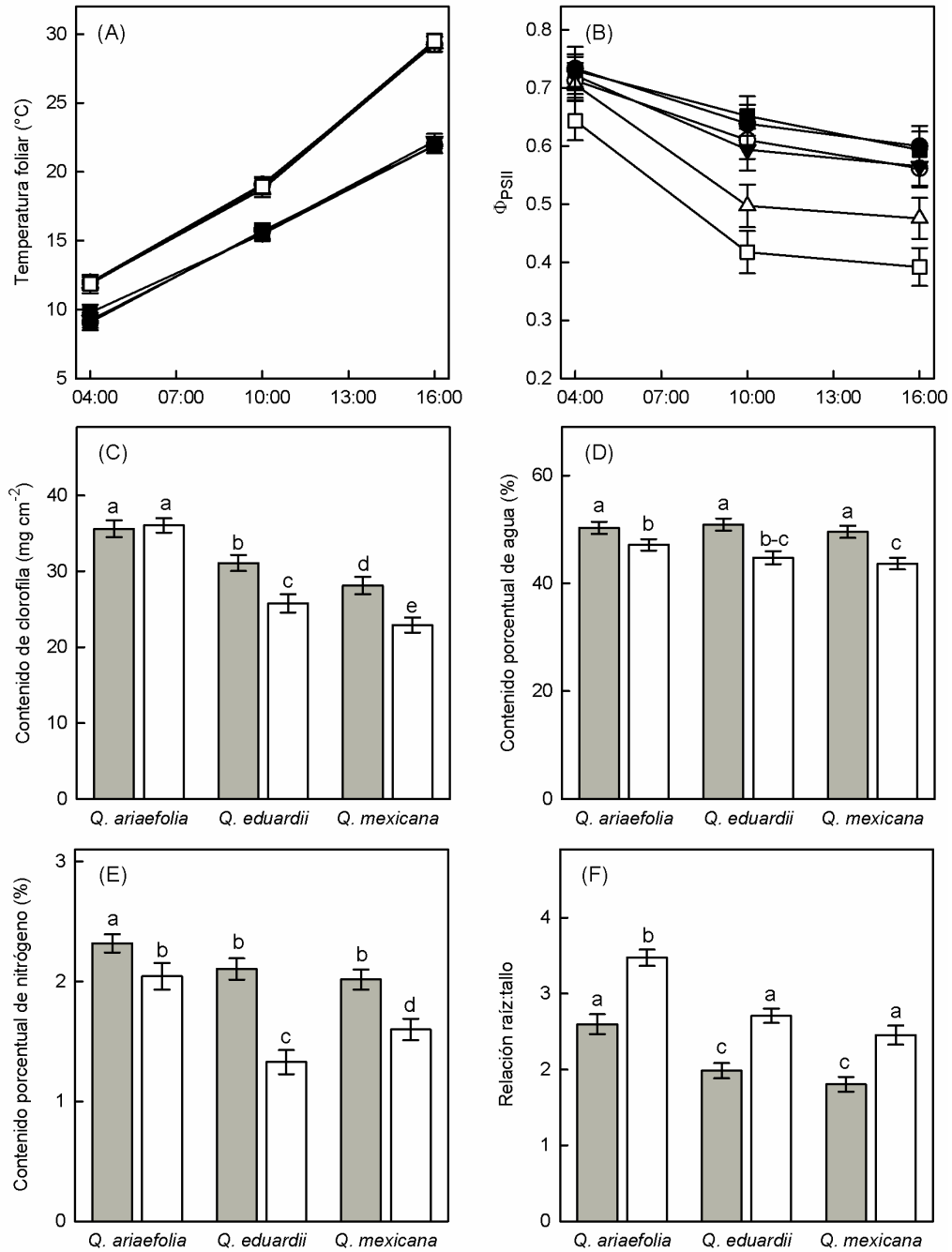


Figura 2.6. Valores promedio (\pm 95% I.C.) de temperatura foliar (A) y rendimiento cuántico efectivo del fotosistema II (B) medidos en las plántulas de las diferentes especies de encino (*Q. ariaefolia* = círculos; *Q. eduardii* = triángulos; *Q. mexicana* = cuadrados) en las diferentes fechas de muestreo en los controles (barras grises) y en las parcelas de simulación de cambio climático (barras blancas). Las letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas entre las combinaciones de tratamientos climáticos y especies de encinos (valor α crítico de la prueba de Tukey = 0.05).

2.4. Discusión

Se espera que las condiciones climáticas futuras alteraren el funcionamiento de múltiples ecosistemas boscosos debido a la alteración de ciclos biogeoquímicos clave, como el ciclo del nitrógeno. Sin embargo, las respuestas de los ecosistemas podrían variar entre diferentes tipos de bosques. En nuestro caso, los resultados sugieren que en bosques templados estacionalmente secos, es probable que las condiciones climáticas futuras provocarían un efecto de cascada en el funcionamiento del ecosistema debido a su influencia en las dinámicas de nutrientes y en el desarrollo de las plántulas. Los aumentos de temperatura, así como la disminución de precipitación, produjeron un efecto negativo en la fijación de nitrógeno, lo cual resultó en menor disponibilidad de nitrógeno inorgánico en el suelo. Adicionalmente, las condiciones climáticas y los cambios en el suelo afectaron el desarrollo de las plántulas de las tres especies de encino estudiadas, aunque cada especie exhibió variaciones en sus respuestas.

La fijación de nitrógeno depende de la disponibilidad de agua y temperatura debido a que es un proceso principalmente biológico (Son 2001). Contrario a lo que esperábamos, no encontramos relación entre la actividad de la nitrogenasa y la temperatura. Se han encontrado resultados similares en procesos microbianos relacionados con el ciclo del nitrógeno (Auyeung et al. 2013; Kuster et al. 2012; Peterjohn et al. 1994), lo cual se ha relacionado con los relativamente bajos incrementos de temperatura logrados por los experimentos (1.5-2.2 °C). Sin embargo, dado que los incrementos de temperatura promueven que el suelo se seque e incrementa el déficit de presión de vapor (Trenberth et al. 2014; Williams et al. 2013), no deberían descartarse los efectos del calentamiento en este ecosistema, pues el contenido de humedad en el suelo, así como la humedad relativa del aire, fueron las principales variables que controlaron la actividad de la nitrogenasa. Por otro lado, algunos autores han sugerido que los organismos del suelo sometidos a

condiciones más cálidas y secas podrían aclimatarse y de esta forma disminuir las respuestas propuestas por estudios con corta duración (Luo et al. 2001). Nosotros no evaluamos este aspecto, sin embargo, al menos durante la duración de nuestro estudio, la actividad de la nitrogenasa siempre fue menor en las parcelas SCC comparadas con los controles, lo cual sugiere que los microorganismos no lograron aclimatarse.

Las alteraciones antropogénicas del ciclo del nitrógeno han afectado el proceso de fijación de nitrógeno en muchos ecosistemas debido a la adición de nitrógeno, como en el caso de algunos bosques europeos (Vitousek et al. 2013). Debido a que la fijación de nitrógeno es un proceso altamente demandante de energía, una vez que existe nitrógeno disponible en el ecosistema, los fijadores de nitrógeno optan por usar estos recursos en vez de fijar nitrógeno atmosférico (Norman & Friesen 2017). Sin embargo, nuestros resultados sugieren que la fijación de nitrógeno aún juega un papel importante en la disponibilidad de nitrógeno en este ecosistema, lo cual se observa en la relación que existe entre la actividad de la nitrogenasa y las concentraciones de amonio y nitrato. Por otro lado, las concentraciones de amonio siempre fueron más bajas que las concentraciones de nitrato, lo cual sugiere que la actividad nitrificadora estaba principalmente limitada por la disponibilidad de sustrato, más que por las condiciones ambientales. Este resultado contrasta con estudios previos donde el proceso de nitrificación ha sido reportado como muy sensible a condiciones de sequía, especialmente cuando coincidían con temperaturas más altas (Rennenberg et al. 2009).

Las especies del género *Quercus* han sido reportadas como tolerantes al estrés ambiental (Arend et al. 2011; Aranda et al. 2014; Esperón-Rodríguez & Barradas 2015), sin embargo, su tolerancia podría depender de la especie, así como de su edad (Pérez-Ramos et al. 2013; Villar-Salvador et al. 2004). En nuestro caso, el tratamiento de simulación de cambio climático redujo la

emergencia de las plántulas únicamente en *Q. mexicana*, aunque la sobrevivencia fue reducida para las tres especies. Los encinos blancos generalmente poseen semillas más grandes que los encinos rojos (Bonfil 1998), así como mayor contenido de humedad (40 % de humedad vs 50 %, respectivamente; Bonner 1974; Bonner 1976). Esta característica pudo haber proporcionado ventajas, en términos de emergencia, a *Q. ariifolia* (biomasa promedio de semilla 2081.82 + 94.08 mg), no obstante, entre los encinos rojos estas diferencias no pueden ser explicadas por el tamaño de semilla, pues las semillas de *Q. mexicana* (biomasa promedio de semilla 981.02 + 157.91 mg) son más grandes que las de *Q. eduardii* (biomasa promedio de semilla 684.93 + 164.79 mg), pero presentó menor emergencia. En este sentido, los aspectos ecológicos son determinantes, pues *Q. eduardii* es una especie pionera capaz de colonizar áreas abiertas donde las condiciones ambientales son usualmente más cálidas y secas que bajo el dosel del bosque (Douterlungne et al. 2018). Por otro lado, en términos del número de plántulas sobrevivientes respecto al número de plántulas emergidas, *Q. mexicana* fue tan competitiva como *Q. ariifolia*, lo cual también se vio expresado en las tasas netas de crecimiento. Sin embargo, en términos de plántulas sobrevivientes en relación al total de las semillas sembradas, *Q. ariifolia* tuvo el porcentaje más alto de plántulas sobrevivientes, seguida de *Q. mexicana* and *Q. eduardii*. Estos últimos resultados coinciden con los modelados por Gómez-Mendoza & Arriaga (2007), pues ellos encontraron un decremento más fuerte, en términos de ocupación de territorio, para *Q. eduardii*, seguido por *Q. mexicana* y *Q. ariifolia* (*Q. ariifolia* = *Q. rugosa* Née, An. Ci. Nat. 3:275. 1801; Valencia 2004).

En términos de respuestas morfológicas y fisiológicas, cada especie se comportó diferente cuando se vieron sometidas al tratamiento de simulación de cambio climático. Por ejemplo, las tres especies mostraron disminución en el rendimiento cuántico efectivo del fotosistema II (Φ_{PSII}). Esta respuesta podría relacionarse directamente con las altas temperaturas y la menor disponibilidad de

agua. Por un lado, las condiciones más cálidas promueven la transpiración, lo cual, combinado con menor disponibilidad de agua, podría haber desencadenado los menores contenidos foliares de agua observados en las plántulas en las parcelas SCC. El cierre estomático es una respuesta general para evitar la pérdida de agua y, a pesar de que no evaluamos este aspecto, podría estar relacionado con los bajos valores de Φ_{PSII} que también se observaron. Por otro lado, las altas temperaturas asociadas con condiciones más bajas han sido asociadas con alteraciones en el contenido de nitrógeno y clorofila y, por lo tanto, con actividad fotosintética (Baquedano & Castillo, 2007; Gallé et al. 2007; Salifu et al., 2008). No obstante, en nuestro caso, la reducción en los valores de nitrógeno que se observaron en las tres especies de encino de las parcelas SCC no coincide con las disminuciones en los contenidos de clorofila. En este caso, nuestros resultados sugieren que la reducción en el contenido de clorofila observados en *Q. eduardii* and *Q. mexicana* podría tener como finalidad incrementar la capacidad fotoprotectora y antioxidante de las hojas (Munné-Bosch & Alegre 2000; Niinemets & Keenan 2014). Esta explicación parece más probable debido a que tanto *Q. eduardii* como *Q. mexicana* tuvieron valores más bajos de Φ_{PSII} y contenido de clorofila en las parcelas SCC, mientras que no se observaron dichas diferencias para *Q. ariifolia*.

La disponibilidad de nutrientes en el suelo determina la captura de nutrientes en las plantas, sin embargo, cuando el contenido de agua en el suelo es baja, la movilidad de los nutrientes minerales disminuye, lo cual repercute en la captura por las plantas. Nosotros observamos disminuciones en las concentraciones de nitrógeno inorgánico en el suelo, y esto podría explicar las reducciones en el contenido de nitrógeno observado en las tres especies de *Quercus* de las parcelas SCC. Como respuesta a estas variaciones en la disponibilidad de nutrientes, así como debido a la menor disponibilidad de agua en el suelo, las plántulas de las tres especies en las unidades SCC incrementaron la asignación de biomasa a las raíces, lo cual pudo haberles permitido capturar más agua y nitrógeno (Bloom et al. 1985; Brunner et al. 2015).

Finalmente, observamos que el primer año constituye un filtro importante para el establecimiento de plántulas, pues incluso bajo las condiciones ambientales actuales, las plántulas de las tres especies que usamos apenas sobrepasaron el 50% de sobrevivencia (considerando el total de semillas sembradas). Por ello, las futuras condiciones ambientales que se esperan para la región podrían afectar la sobrevivencia de las plántulas mediante efectos tanto directos como indirectos en su desempeño, tal como lo observamos en la baja sobrevivencia de *Q. eduardii* y *Q. mexicana*, las cuales tuvieron menos del 20% de plántulas sobrevivientes en las parcelas SCC. Nuestros resultados sugieren que bajo las condiciones de cambio climático, podrían esperarse importantes limitaciones para la regeneración de encinos.

DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES

Nuestros experimentos corroboran la hipótesis de que el cambio climático afectará negativamente el desarrollo de las plántulas de encinos. Sin embargo, cabe indicar que las especies pueden responder de manera particular e independiente de las demás especies. Por otro lado, el cambio climático también puede llegar a impactar las dinámicas metabólicas del suelo, ya que los incrementos de temperatura, aunados a la menor precipitación, alteraron procesos microbianos relacionados con la disponibilidad de nitrógeno. Asimismo, se observó que las variaciones producidas en el contenido de nitrógeno del suelo detonaron respuestas por parte de las plántulas.

Debido a la menor disponibilidad de nitrógeno inorgánico en el suelo de las parcelas SCC, así como a la disminución en la actividad de organismos fijadores de nitrógeno y el menor contenido de nitrógeno en las plántulas, nuestros resultados sugieren que el cambio climático podría afectar las dinámicas de nitrógeno en los ecosistemas estacionalmente secos de México. Esto, a su vez, podría repercutir en el ciclo del carbono dada la relación que existe entre el contenido de nitrógeno en las plantas y su capacidad para secuestrar o liberar carbono (Sardans et al., 2008). En este sentido, nosotros observamos que las plántulas de varias especies tuvieron afectaciones en la actividad fotosintética (observada en los valores de Φ_{PSII}). Sin embargo, deberían incrementarse los estudios donde la evaluación de la fluorescencia de la clorofila se complemente con la evaluación del intercambio gaseoso en las plántulas (Maxwell & Johnson, 2000).

Las diferentes especies tuvieron diferentes comportamientos bajo la simulación de cambio climático. Sin embargo, nuestro estudio permitió identificar aspectos peculiares en cada especie. En el caso de *Q. ariifolia*, nuestros resultados sugieren que podría emerger y desarrollarse en futuras condiciones de cambio climático porque, aunque su sobrevivencia disminuyó en las parcelas SCC, las plántulas sobrevivientes mostraron buen desempeño general. Como caso opuesto

tuvimos a *Q. crassifolia* y *Q. mexicana*, donde ambas especies mostraron una fuerte reducción en términos de emergencia, sobrevivencia y crecimiento, así como en otras variables de respuesta. Por otro lado, *Q. eduardii* exhibió respuestas contradictorias en ambos estudios. En el primer estudio mostró gran capacidad adaptativa a condiciones de cambio climático, pero en el segundo estudio observamos patrones opuestos. Dichas variaciones podrían explicarse por la duración de los experimentos, ya que durante el primer experimento las plántulas no se vieron sometidas a las altas temperaturas, aunadas a mayor estrés hídrico, alcanzadas en el verano. De esta manera, nuestro estudio brinda información clave sobre las respuestas de las plántulas durante su primer año de vida, lo cual es crucial para el mantenimiento de los bosques (Tyree et al., 2003). No obstante, se recomienda extender la duración de los estudios para alcanzar un panorama más amplio del ciclo de vida de las especies.

Las respuestas individuales de cada especie conllevan el reordenamiento de especies en las comunidades (Smith et al., 2009), por lo que es importante conocer las variaciones que muestran diferentes especies de un mismo género. Con base en los resultados observados en las plántulas, podríamos sugerir que *Q. ariifolia* podría usarse en programas de restauración o recuperación del bosque estudiado. En el caso de los encinos rojos (*Q. crassifolia*, *Q. eduardii* y *Q. mexicana*), se recomiendan acciones de conservación encaminadas a facilitar la emergencia y sobrevivencia durante sus primeras etapas de vida, ya que la abundancia de estas especies podría verse reducida en el futuro. Finalmente, es recomendable incrementar los estudios de campo donde se estudie la respuesta de especies clave para el funcionamiento de los ecosistemas en futuros escenarios de cambio climático, pues ello brindará información para determinar futuros cambios en los ecosistemas (Larsen et al., 2011) y para desarrollar planes de manejo que reduzcan la vulnerabilidad de los ecosistemas forestales.

BIBLIOGRAFÍA

- Adams, H. D., Guardiola-Claramonte, M., Barron-Gafford, G. a, Villegas, J. C., Breshears, D. D., Zou, C. B., & Huxman, T. E. (2009). Temperature sensitivity of drought-induced tree mortality portends increased regional die-off under global-change-type drought. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(17), 7063–7066.
- Agehara, S., & Warncke, D. D. (2005). Soil moisture and temperature effects on nitrogen release from organic nitrogen sources. *Soil Science Society of America Journal*, 69(6), 1844.
- Aguilar Becerril, G., & Peña Valdivia, C. B. (2006). Alteraciones fisiológicas provocadas por sequía en Nopal (*Opuntia ficus-indica*). *Rev. Fitotec. Mex.*, 29(3), 231–237.
- Alberte, R. S., & Thornber, J. P. (1977). Water stress effects on the content and organization of chlorophyll in mesophyll and bundle sheath chloroplasts of maize. *Plant Physiology*, 59(3), 351–3.
- Alfonso-Corrado, C., Clark-Tapia, R., & Mendoza, A. (2007). Demography and management of two clonal oaks: *Quercus eduardii* and *Q. potosina* (Fagaceae) in central México. *Forest Ecology and Management*, 251(3), 129–141.
- Anderegg, W. R. L., Kane, J. M., & Anderegg, L. D. L. (2012). Consequences of widespread tree mortality triggered by drought and temperature stress. *Nature Climate Change*, 3, 30-36.
- Aragón-Gastélum, J. L., Flores, J., Yáñez-Espinosa, L., Badano, E., Ramírez-Tobías, H. M., Rodas-Ortíz, J. P., & González-Salvatierra, C. (2014). Induced climate change impairs photosynthetic performance in *Echinocactus platyacanthus*, an especially protected Mexican cactus species. *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 209(9), 499–503.
- Aranda, I., Castro, L., Pardos, M., Gil, L., & Pardos, J. A. (2005). Effects of the interaction between drought and shade on water relations, gas exchange and morphological traits in cork oak (*Quercus suber* L.) seedlings. *Forest Ecology and Management*, 210(1–3), 117–129.
- Aranda, I., Ramírez-Valiente, J. A., & Rodríguez-Calcerrada, J. (2014). Características funcionales que influyen en la respuesta a la sequía de las especies del género *Quercus*: variación inter- e intra-específica. *Ecosistemas*, 23(2), 27–36.
- Arend, M., Kuster, T., Günthardt-Goerg, M. S., & Dobbertin, M. (2011). Provenance-specific growth responses to drought and air warming in three European oak species (*Quercus robur*, *Q. petraea* and *Q. pubescens*). *Tree Physiology*, 31(3), 287–297.
- Ashton, M. S., & Larson, B. C. (1996). Germination and seedling growth of *Quercus* (section *Erythrobalanus*) across openings in a mixed-deciduous forest of southern New England, USA. *Forest Ecology and Management*, 80(1), 81–94.
- Auyeung, D. S. N., Suseela, V., & Dukes, J. S. (2013). Warming and drought reduce temperature sensitivity of nitrogen transformations. *Global Change Biology*, 19(2), 662–676.
- Badano, E. I. (2011). Conservation and restoration of Mexican forests in the global change scenario: a shared responsibility with multiple benefits. *Madera Y Bosques*, 17(2), 7–18.
- Badano, E. I., Pérez, D., & Vergara, C. H. (2009). Love of nurse plants is not enough for restoring oak forests in a

- seasonally dry tropical environment. *Restoration Ecology*, 17(5), 571–576.
- Badano, E. I., Samour-Nieva, O. R., Flores, J., & Douterlungne, D. (2015). Microclimate and seeding predation as drivers of tree recruitment in human-disturbed oak forests. *Forest Ecology and Management*, 356, 93–100.
- Baker, N.R., Oxborough, K. (2004). Chlorophyll fluorescence as a probe of photosynthetic productivity. In: Papageorgiou, G., Govindjee (Eds.), *Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis*, pp. 65-82. Springer, Dordrecht.
- Baquedano, F. J., & Castillo, F. J. (2007). Drought tolerance in the Mediterranean species *Quercus coccifera*, *Quercus ilex*, *Pinus halepensis*, and *Juniperus phoenicea*. *Photosynthetica*, 45(2), 229–238.
- Barragán, F., Badano, E. I., Douterlungne, D., & Flores, J. (2018). Richness and abundance of granivorous vertebrates determine acorn removal patterns in a human modified oak forest. *IForest*, 11(2), 329–337.
- Bewley, J.D., Bradford, K.J., Hilhorst, H.W.M., Nonogaki, H. (2013). *Seeds: physiology of development, germination and dormancy*, 3th ed. Springer, New York.
- Bielenberg DG, Bassirrad H (2005) Nutrient acquisition of terrestrial plants in a changing climate. In: H Bassirrad (Ed.) *Nutrient acquisition by plants: an ecological perspective*, pp. 311–330. Springer, Berlin.
- Benayas, J. M. R., Navarro, J., Espigares, T., Nicolau, J. M., & Zavala, M. A. (2005). Effects of artificial shading and weed mowing in reforestation of Mediterranean abandoned cropland with contrasting *Quercus* species. *Forest Ecology and Management*, 212(1–3), 302–314.
- Binkley, D., & Hart, S. C. (1989). The components of nitrogen availability assessment in forest soils. In B. A. Stewart (Ed.), *Advances in Soil Science*, pp. 57–112. Springer, New York.
- Bloom, A. J., Chapin, F. S. I., & Mooney, H. A. (1985). Resource limitation in plants - an economic analogy. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 16, 363–392.
- Bonan, G. B. (2008). Forests and climate change: forcings, feedbacks, and the climate benefits of forests. *Science*, 320(5882), 1444–1449.
- Bonfil, C. (1998). The effects of seed size, cotyledon reserves, and herbivory on seedling survival and growth in *Quercus rugosa* and *Q. Laurina* (Fagaceae). *American Journal of Botany*, 85(1), 79–87.
- Bonner, F. (1974). Maturation of acorns of cherrybark, water, and willow oaks. *Forest Science*, 20(3), 238–242.
- Bonner, F. (1976). Maturation of Shumard and white oak acorns. *Forest Science*, 22, 149-154.
- Borken, W., & Matzner, E. (2009). Reappraisal of drying and wetting effects on C and N mineralization and fluxes in soils. *Global Change Biology*, 15(4), 808–824.
- Breshears, D. D., Cobb, N. S., Rich, P. M., Price, K. P., Allen, C. D., Balice, R. G., & Meyer, C. W. (2005). Regional vegetation die-off in response to global-change-type drought. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 102(42), 15144–15148.
- Britto, D. T., & Kronzucker, H. J. (2013). Ecological significance and complexity of N-source preference in plants. *Annals of Botany*, 112(6), 957–963.
- Brodribb, T. J., Holbrook, N. M., Edwards, E. J., & Gutiérrez, M. V. (2003). Relations between stomatal closure, leaf turgor and xylem vulnerability in eight tropical dry forest trees. *Plant, Cell and Environment*, 26(3), 443–450.
- Brunner, I., Herzog, C., Dawes, M. A., Arend, M., & Sperisen, C. (2015). How tree roots respond to drought. *Frontiers in Plant Science*, 6(7), 1–16.

- Butler, S. M., Melillo, J. M., Johnson, J. E., Mohan, J., Steudler, P. A., Lux, H., & Bowles, F. (2012). Soil warming alters nitrogen cycling in a New England forest: Implications for ecosystem function and structure. *Oecologia*, 168(3), 819–828.
- Cairns, J. E., Crossa, J., Zaidi, P. H., Grudloyma, P., Sanchez, C., Luis Araus, J., & Atlin, G. N. (2013). Identification of drought, heat, and combined drought and heat tolerant donors in maize. *Crop Science*, 53(4), 1335–1346.
- Camarero, J. J., Gazol, A., Sangüesa-Barreda, G., Oliva, J., & Vicente-Serrano, S. M. (2015). To die or not to die: early warnings of tree dieback in response to a severe drought. *Journal of Ecology*, 103(1), 44–57.
- Canfield, D. E., Glazer, A. N., & Falkowski, P. G. (2010). The evolution and future of Earth's nitrogen cycle. *Science*, 330, 192–196.
- Carón, M. M., De Frenne, P., Brunet, J., Chabrierie, O., Cousins, S. A. O., De Backer, L., & Verheyen, K. (2015). Interacting effects of warming and drought on regeneration and early growth of *Acer pseudoplatanus* and *A. platanoides*. *Plant Biology*, 17(1), 52–62.
- Castillo Lara, P., Flores Cano, A., Aguirre Rivera, J. R., & Yeaton H, R. I. (2008). Dinámica sucesional del encinar de la sierra de Álvarez, San Luis Potosí. *Madera y Bosques*, 14(1), 21–35.
- Chapin III, F. S., Bloom, A. J., Field, C. B., & Waring, R. H. (1987). Plant responses to multiple environmental factors. *BioScience*, 37(1), 49–57.
- Chaves, M. M., Pereira, J. S., Maroco, J., Rodrigues, M. L., Ricardo, C. P. P., Osório, M. L., & Pinheiro, C. (2002). How plants cope with water stress in the field: photosynthesis and growth. *Annals of Botany*, 89, 907-916.
- Chen, Y. Te, Borke, W., Stange, C. F., & Matzner, E. (2011). Effects of decreasing water potential on gross ammonification and nitrification in an acid coniferous forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(2), 333–338.
- Clark, J. S., Iverson, L., Woodall, C. W., Allen, C. D., Bell, D. M., Bragg, D. C., & Zimmermann, N. E. (2016). The impacts of increasing drought on forest dynamics, structure, and biodiversity in the United States. *Global Change Biology*, 22(7), 2329–2352.
- Cleland, E. E., & Harpole, W. S. (2010). Nitrogen enrichment and plant communities. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1195(1), 46–61.
- Cleveland, C. C., Houlton, B. Z., Neill, C., Reed, S. C., Townsend, A. R., & Wang, Y. (2010). Using indirect methods to constrain symbiotic nitrogen fixation rates: A case study from an Amazonian rain forest. *Biogeochemistry*, 99(1), 1–13.
- Colnaghi, R., Green, A., He, L., Rudnick, P., & Kennedy, C. (1997). Strategies for increased ammonium production in free-living or plant associated nitrogen fixing bacteria. *Plant Soil*, 194, 145–154.
- Dabros, A., Fyles, J. W., & Strachan, I. B. (2010). Effects of open-top chambers on physical properties of air and soil at post-disturbance sites in northwestern Quebec. *Plant and Soil*, 333(1), 203–218.
- Danby, R. K., & Hik, D. S. (2007). Responses of white spruce (*Picea glauca*) to experimental warming at a subarctic alpine treeline. *Global Change Biology*, 13(2), 437–451.
- Demmig-Adams, B., & Adams III, W. W. (2006). Photoprotection in an ecological context: the remarkable complexity of thermal energy dissipation. *New Phytologist*, 172(1), 11–21.
- Douterlungne, D., Cortés Martínez, G. M., Badano, E. I., Flores Cano, J. A., & Flores Rivas, J. D. (2018). Restoring

- oak forests on bare ground using topsoil translocation. *Ecological Engineering*, 120(May), 76–84.
- Esperón-Rodríguez, M., & Barradas, V. L. (2015). Ecophysiological vulnerability to climate change: water stress responses in four tree species from the central mountain region of Veracruz, Mexico. *Regional Environmental Change*, 15, 93–108.
- Fisichelli, N., Wright, A., Rice, K., Mau, A., Buschena, C., & Reich, P. B. (2014). First-year seedlings and climate change: Species-specific responses of 15 North American tree species. *Oikos*, 123(11), 1331–1340.
- Flato, G., Marotzke, J., Abiodun B., Braconnot P., Chou S.C, Collins, W., & Cox, P. (2013). Evaluation of Climate Models. In: Stoker et al., (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.
- Fowler, D., Coyle, M., Skiba, U., Sutton, M. A., Cape, J. N., Reis, S., & Voss, M. (2013). The global nitrogen cycle in the twenty first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 368(1621), 1–13.
- Fowler, D., Steadman, C. E., Stevenson, D., Coyle, M., Rees, R. M., Skiba, U. M., Sutton, M.A., Cape, J.N., Dore, A.J., Vieno, M., Simpson, D., Zaehle, S, Stocker, B.D., Rinaldi, M., Facchini, M.C., Flechard, C.R., Nemitz, E., Twigg, M., Erisman, J.W., Butterbach-Bahl, K., & Galloway, N.J. (2015). Effects of global change during the 21st century on the nitrogen cycle. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 15(24), 13849–13893.
- Gallé, A., Haldimann, P., & Feller, U. (2007). Photosynthetic performance and water relations in young pubescent oak (*Quercus pubescens*) trees during drought stress and recovery. *The New Phytologist*, 174, 799–810.
- García-Fórner, N., Sala, A., Biel, C., Save, R., & Martínez-Vilalta, J. (2016). Individual traits as determinants of time to death under extreme drought in *Pinus sylvestris* L. *Tree Physiology*, 36(10), 1196–1209.
- Gómez-Mendoza, L., & Arriaga, L. (2007). Modeling the effect of climate change on the distribution of oak and pine species of Mexico. *Conservation Biology*, 21(6), 1545–1555.
- Gond, V., De Pury, D. G. G., Veroustraete, F., & Ceulemans, R. (1999). Seasonal variations in leaf area index, leaf chlorophyll, and water content: scaling-up to estimate fAPAR and carbon balance in a multilayer, multispecies temperate forest. *Tree Physiology*, 19(10), 673–679.
- Gonzalez-Salvatierra, C., Badano, E. I., Flores, J., & Rodas, J. P. (2013). Germinación, infestación y viabilidad en bellotas de *Quercus polymorpha* (Schltdl. & Cham.) tras un año de almacenamiento. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales Y Del Ambiente*, 19, 351–362.
- Granhall, U., & Lindberg, T. (1980). Structure and function of Northern coniferous forests: an ecosystem study. *Ecological Bulletin*, 32, 333–340.
- Greenwood, S., Ruiz-Benito, P., Martínez-Vilalta, J., Lloret, F., Kitzberger, T., Allen, C. D., Fensham, R., Laughlin, D.C., Kattge, J., Bönsch, G., Kraft, N.J.B., & Jump, A.S. (2017). Tree mortality across biomes is promoted by drought intensity, lower wood density and higher specific leaf area. *Ecology Letters*, 20(4), 539–553.
- Gribko, L. S., & Jones, W. E. (1995). Test of the float method of assessing Northern red oak acorn condition. *Tree Planters' Notes*, 46(4), 143–147.
- Grossnickle, S. C., & MacDonald, J. E. (2018). Why seedlings survive: influence of plant attributes. *New Forests*, 49, 1–34.
- Gutiérrez, E., & Trejo, I. (2014). Efecto del cambio climático en la distribución potencial de cinco especies arbóreas

- de bosque templado en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85, 179–188.
- 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 and Environment*, 27(9), 1169–1183.
- Hardwick Jones, R., Westra, S., & Sharma, A. (2010). Observed relationships between extreme sub-daily precipitation, surface temperature, and relative humidity. *Geophysical Research Letters*, 37(22), 1–5.
- He, M., & Dijkstra, F. A. (2014). Drought effect on plant nitrogen and phosphorus: a meta-analysis. *New Phytologist*, 204, 924–931.
- Hede, A. R., Skovmand, B., Reynolds, M. P., Crossa, J., Vilhelmsen, A. L., & Stølen, O. (1999). Evaluating genetic diversity for heat tolerance traits in Mexican wheat landraces. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 46(1), 37–45.
- Hendrickson, O. Q. (1990). Asymbiotic nitrogen fixation and soil metabolism in three Ontario forests. *Soil Biology and Biochemistry*, 22(7), 967–971.
- Hollister, R. D., & Webber, P. J. (2000). Biotic validation of small open-top chambers in a tundra ecosystem. *Global Change Biology*, 6(7), 835–842.
- Houlton, B. Z., Wang, Y.-P., Vitousek, P. M., & Field, C. B. (2008). A unifying framework for dinitrogen fixation in the terrestrial biosphere. *Nature*, 454(7202), 327–330.
- Jack Brookshire, E. N., Gerber, S., Webster, J. R., Vose, J. M., & Swank, W. T. (2011). Direct effects of temperature on forest nitrogen cycling revealed through analysis of long-term watershed records. *Global Change Biology*, 17(1), 297–308.
- Joët, T., Ourcival, J. M., & Dussert, S. (2013). Ecological significance of seed desiccation sensitivity in *Quercus ilex*. *Annals of Botany*, 111(4), 693–701.
- Karmalkar, A. V., Bradley, R. S., & Diaz, H. F. (2011). Climate change in Central America and Mexico: regional climate model validation and climate change projections. *Climate Dynamics*, 37(3), 605–629.
- Kennedy, P. G., Hausmann, N. J., Wenk, E. H., & Dawson, T. E. (2004). The importance of seed reserves for seedling performance: an integrated approach using morphological, physiological, and stable isotope techniques. *Ecophysiology*, 141, 547–554.
- Kimmins, J.P. (2004). *Forest Ecology. A foundation for sustainable forest management and environmental ethics in forestry*. Prentice Hall, New Jersey.
- Kuster, T. M., Schleppei, P., Hu, B., Schulin, R., & Günthardt-Goerg, M. S. (2013). Nitrogen dynamics in oak model ecosystems subjected to air warming and drought on two different soils. *Plant Biology*, 15(1), 220–229.
- Kutner MH, Nachtsheim CJ, Neter J, Li W (2005). *Applied linear statistical model*. McGraw-Hill/Irwin, New York.
- Larcher, W. (2003). *Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups*, 4th edn. Springer, New York
- Larsen, K. S., Andresen, L. C., Beier, C., Jonasson, S., Albert, K. R., Ambus, P., Arndal, M.F., Carter, M.S., Christensen S., Holmstrup. M., Ibrom, A., Kongstad, J., van der Linden, L., Maraldo, K., Michelsen, A., Mikkelsen, T.N., Pilegaard, K., Priemé, A., Ro-Poulsen, H., Schmidt, I.K., Selsted, M.B., & Stevnbak, K. (2011).

- Reduced N cycling in response to elevated CO₂, warming, and drought in a Danish heathland: synthesizing results of the CLIMAITE project after two years of treatments. *Global Change Biology*, 17(5), 1884–1899.
- Lopez-Lozano, N. E., Carcaño-Montiel, M. G., & Bashan, Y. (2016). Using native trees and cacti to improve soil potential nitrogen fixation during long-term restoration of arid lands. *Plant and Soil*, 1–13.
- Luo, Y., Wan, S., Hui, D., & Wallace, L. L. (2001). Acclimatization of soil respiration to warming in a tall grass prairie. *Nature*, 413(6856), 622–625.
- Manos P.S., Doyle J.J., y Nixon K.C. 1999. Phylogeny, biogeography, and processes of molecular differentiation in *Quercus* subgenus *Quercus* (Fagaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 12: 333-349.
- Marañón, T., Padilla Díaz, C., Pérez Ramos, I., & Villar, R. (2014). Tendencias en la investigación sobre ecología y gestión de las especies de *Quercus*. *Ecosistemas*, 23(2), 124–129.
- Marion, G. M., Henry, G. H. R., Freckman, D. W., Johnstone, J., Jones, G., Jones, M. H., ... Virginia, R. A. (1997). Open-top designs for manipulating field temperature in high-latitude ecosystems. *Global Change Biology*, 3(S1), 20–32.
- Martin, T. A., Hinckley, T. M., Meinzer, F. C., & Sprugel, D. G. (1999). Boundary layer conductance, leaf temperature and transpiration of *Abies amabilis* branches. *Tree Physiology*, 19(7), 435–443.
- Matías, L., Castro, J., & Zamora, R. (2011). Soil-nutrient availability under a global-change scenario in a Mediterranean mountain ecosystem. *Global Change Biology*, 17(4), 1646–1657.
- Maxwell, K., & Johnson, G. N. (2000). Chlorophyll fluorescence--a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51(345), 659–668.
- Mcdowell, N., Pockman, W. T., Allen, C. D., Breshears, D. D., Cobb, N., Kolb, T., Plaut, J., Sperry, J., West, A., Williams, D.G., & Yezpez, E.A. (2008). Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought? *New Phytologist*, 178(4), 719–739.
- Mclaughlin, B. C., & Zavaleta, E. S. (2012). Predicting species responses to climate change: Demography and climate microrefugia in California valley oak (*Quercus lobata*). *Global Change Biology*, 18(7), 2301–2312.
- Medina-García, G., Díaz-Padilla, G., Loredó-Ostí, C., Serrano-Altamirano, V., & Cano-García, M.A. (2005). Estadísticas climatológicas básicas del estado de San Luis Potosí (1961-2001). Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, Ciudad de México.
- Melillo, J. M., Steudler, P. A., Aber, J. D., Newkirk, K., Lux, H., Bowles, F. P., Catricala, C., A. Magill, A., T. Ahrens, T., & Morrisseau, S. (2002). Soil warming and carbon-cycle feedbacks to the climate system. *Science*, 298(5601), 2173–2176.
- Mittler, R. (2006). Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in Plant Science*, 11(1), 15–19.
- Moles, A. T., & Westoby, M. (2004). What do seedlings die from and what are the implications for evolution of seed size? *Oikos*, 106(1), 193–199.
- Montes-Hernández, B., & López-Barrera, F. (2013). Seedling establishment of *Quercus insignis*: a critically endangered oak tree species in southern Mexico. *Forest Ecology and Management*, 310, 927–934.
- Moyano, F. E., Manzoni, S., & Chenu, C. (2013). Responses of soil heterotrophic respiration to moisture availability: an exploration of processes and models. *Soil Biology and Biochemistry*, 59, 72–85.

- Munné-Bosch, S., & Alegre, L. (2000). Changes in carotenoids, tocopherols and diterpenes during drought and recovery, and the biological significance of chlorophyll loss in *Rosmarinus officinalis* plants. *Planta*, 210(6), 925–931.
- Niinemets, Ü., & Keenan, T. (2014). Photosynthetic responses to stress in Mediterranean evergreens: mechanisms and models. *Environmental and Experimental Botany*, 103, 24–41.
- Norman, J. S., & Friesen, M. L. (2017). Complex N acquisition by soil diazotrophs: how the ability to release exoenzymes affects N fixation by terrestrial free-living diazotrophs. *ISME Journal*, 11(2), 315–326.
- Padilla, F. M., & Pugnaire, F. I. (2007). Rooting depth and soil moisture control Mediterranean woody seedling survival during drought. *Functional Ecology*, 21(3), 489–495.
- Parlange, M. B., Cahill, A. T., Nielsen, D. R., Hopmans, J. W., & Wendroth, O. (1998). Review of heat and water movement in field soils. *Soil and Tillage Research*, 47(1–2), 5–10.
- Pérez-Ramos, I. M., Rodríguez-Calcerrada, J., Ourcival, J. M., & Rambal, S. (2013). *Quercus ilex* recruitment in a drier world: a multi-stage demographic approach. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 15(2), 106–117.
- Pérez-Ruiz, C. L., Badano, E. I., Rodas-Ortiz, J. P., Delgado-Sánchez, P., Flores, J., Douterlungne, D., & Flores-Cano, J. A. (2018). Climate change in forest ecosystems: a field experiment addressing the effects of raising temperature and reduced rainfall on early life cycle stages of oaks. *Acta Oecologica*, 92, 35–43.
- Peterjohn, W. T., Melillo, J. M., Steudler, P. A., Newkirk, K. M., Bowles, F. P., & Aber, J. D. (1994). Responses of trace gas fluxes and N availability to experimentally elevated soil temperatures. *Ecological Applications*, 4(3), 617–625.
- Pinto, J. R., Marshall, J. D., Dumroese, R. K., Davis, A. S., & Cobos, D. R. (2016). Seedling establishment and physiological responses to temporal and spatial soil moisture changes. *New Forests*, 47(2), 223–241.
- Piper, F. I., Fajardo, A., & Cavieres, L. A. (2013). Simulated warming does not impair seedling survival and growth of *Nothofagus pumilio* in the southern Andes. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 15(2), 97–105.
- Poorter, H., Niklas, K. J., Reich, P. B., Oleksyn, J., Poot, P., & Mommer, L. (2012). Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control. *New Phytologist*, 193, 30–50.
- Ramírez-Valiente, J. A., Valladares, F., Gil, L., & Aranda, I. (2009). Population differences in juvenile survival under increasing drought are mediated by seed size in cork oak (*Quercus suber* L.). *Forest Ecology and Management*, 257(8), 1676–1683.
- Ramos-Palacios, C. R., Badano, E. I., Flores, J., Flores-Cano, J. A., & Flores-Flores, J. L. (2014). Distribution patterns of acorns after primary dispersion in a fragmented oak forest and their consequences on predators and dispersers. *European Journal of Forest Research*, 133(3), 391–404.
- Redmond, M. D., Cobb, N. S., Clifford, M. J., & Barger, N. N. (2015). Woodland recovery following drought-induced tree mortality across an environmental stress gradient. *Global Change Biology*, 21(10), 3685–3695.
- Rennenberg, H., Dannenmann, M., Gessler, A., Kreuzwieser, J., Simon, J., & Papen, H. (2009). Nitrogen balance in forest soils: nutritional limitation of plants under climate change stresses. *Plant Biology*, 11(1), 4–23.

- Reynolds, M. P., Saint Pierre, C., Saad, A. S. I., Vargas, M., & Condon, A. G. (2007). Evaluating potential genetic gains in wheat associated with stress-adaptive trait expression in elite genetic resources under drought and heat stress. *Crop Science*, 47(3), 172-189.
- Roa-Fuentes, L. L., Templer, P. H., & Campo, J. (2015). Effects of precipitation regime and soil nitrogen on leaf traits in seasonally dry tropical forests of the Yucatan Peninsula, Mexico. *Oecologia*, 179(2), 585–597.
- Rodriguez-Dominguez, C. M., Buckley, T. N., Egea, G., de Cires, A., Hernandez-Santana, V., Martorell, S., & Diaz-Espejo, A. (2016). Most stomatal closure in woody species under moderate drought can be explained by stomatal responses to leaf turgor. *Plant Cell and Environment*, 39(9), 2014–2026.
- Rzedowski J (2006). *Vegetación de México*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Ciudad de México.
- Salifu, K. F., Apostol, K. G., Jacobs, D. F., & Islam, M. A. (2008). Growth, physiology, and nutrient retranslocation in nitrogen-15 fertilized *Quercus rubra* seedlings. *Annals of Forest Science*, 65, 101.
- Sardans, J., & Peñuelas, J. (2005). Disponibilidad y uso del fósforo en los ecosistemas terrestres mediterráneos: la inspiración de Margalef. *Ecosistemas*, 14(1), 29–39.
- Sardans, J., Peñuelas, J., Estiarte, M., & Prieto, P. (2008). Warming and drought alter C and N concentration, allocation and accumulation in a Mediterranean shrubland. *Global Change Biology*, 14(10), 2304–2316.
- Shaver, G. R., Canadell, J. G., Chapin, F. S., Gurevitch, J., Harte, J., Henry, G., Ineson, P., Jonasson, S., Melillo, J., Pitelka, L., & Rustad, L. (2000). Global warming and terrestrial ecosystems: a conceptual framework for analysis. *BioScience*, 50(10), 871–882.
- Shaw, M. R., & Harte, J. (2001). Response of nitrogen cycling to simulated climate change: differential responses along a subalpine ecotone. *Global Change Biology*, 7, 193–210.
- Sinclair, S. J., White, M. D., & Newell, G. R. (2010). How useful are species distribution models for managing biodiversity under future climates? *Ecology and Society*, 15(1), 8.
- Smallwood, P. D., Steele, M. a., & Faeth, S. H. (2001). The ultimate basis of the caching preferences of rodents, and the oak-dispersal syndrome: tannins, insects, and seed germination. *American Zoologist*, 41, 840–851.
- Smith, W. K., Germino, M. J., Johnson, D. M., & Reinhardt, K. (2009). The altitude of alpine treeline: a bellwether of climate change effects. *Bot. Rev.*, 75, 163–190.
- Son, Y. (2001). Non-symbiotic nitrogen fixation in forest ecosystems. *Ecological Research*, 16(2), 183–196.
- Suarez, M.L. & Kitzberger, T. (2008). Recruitment patterns following a severe drought: long-term compositional shifts in Patagonian forests. *Canadian Journal of Forest Research*, 38, 3002-3010.
- Taiz L., & Zeiger E. (2002). *Plant physiology*, 3rd edition. Sinauer, Massachusetts.
- Trejo, I., Martínez-Meyer, E., Calixto-Pérez, E., Sánchez-Colón, S., Vázquez De La Torre, R., & Villers-Ruiz, L. (2011). Analysis of the effects of climate change on plant communities and mammals in México. *Atmosfera*, 24(1), 1–14.
- Trenberth, K. E., Dai, A., Van Der Schrier, G., Jones, P. D., Barichivich, J., Briffa, K. R., & Sheffield, J. (2014). Global warming and changes in drought. *Nature Climate Change*, 4(1), 17–22.
- Tyree, M. T., Engelbrecht, B. M. J., Vargas, G., & Kursar, T. A. (2003). Desiccation tolerance of five tropical seedlings in Panama: relationship to a field assessment of drought performance. *Plant Physiology*, 132(3), 1437–1439.

- Valencia A., S. (2004). Diversidad del género *Quercus* (Fagaceae) en México. *Boletín de La Sociedad Botánica de México*, 75, 33–53.
- Valladares, F., & Sánchez-Gómez, D. (2006). Ecophysiological traits associated with drought in Mediterranean tree seedlings: Individual responses versus interspecific trends in eleven species. *Plant Biology*, 8(5), 688–697.
- Valladares F. (2008). A mechanistic view of the capacity of forests to cope with climate change. In: F. Bravo, V.L. May, R. Jandl, K. von Gadow (eds). *Managing forest ecosystems; the challenge of climate change*, pp. 15-40. Springer-Verlag, Berlin.
- Vargas-Márquez, F. (1997) *Parques nacionales de México*. Instituto Nacional de Ecología, Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca, Ciudad de México.
- Villar-Salvador, P., Planelles, R., Enríquez, E., & Peñuelas Rubira, J. (2004). Nursery cultivation regimes, plant functional attributes, and field performance relationships in the Mediterranean oak *Quercus ilex* L. *Forest Ecology and Management*, 196(2–3), 257–266.
- Villers-Ruiz, L., & Trejo-Vázquez, I. (2000). El cambio climático y la vegetación en México. México: una visión hacia el siglo XXI. *El cambio climático en México*. Instituto Nacional de Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México, US Country Studies Program, 57-66.
- Vitousek, P. M., Menge, D. N., Reed, S. C., & Cleveland, C. C. (2013). Biological nitrogen fixation: rates, patterns and ecological controls in terrestrial ecosystems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 368(1621), 20130119.
- Wang, K., & Dickinson, R. E. (2012). A review of global terrestrial evapotranspiration: observation, modelling, climatology, and climatic variability. *Review of Geophysics*, 50(2011), 1–54.
- Waters, J. K., Hughes, B. L., Purcell, L. C., Gerhardt, K. O., Mawhinney, T. P., & Emerich, D. W. (1998). Alanine, not ammonia, is excreted from N₂-fixing soybean nodule bacteroids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(20), 12038–12042.
- Will, R. E., Wilson, S. M., Zou, C. B., & Hennessey, T. C. (2013). Increased vapor pressure deficit due to higher temperature leads to greater transpiration and faster mortality during drought for tree seedlings common to the forest-grassland ecotone. *New Phytologist*, 200(2), 366–74.
- Williams, A. P., Allen, C. D., Macalady, A. K., Griffin, D., Woodhouse, C. A., Meko, D. M., ... Mcdowell, N. G. (2013). Temperature as a potent driver of regional forest drought stress and tree mortality. *Nature Climate Change*, 3(3), 292–297.
- Woodin, S. A., Hilbish, T. J., Helmuth, B., Jones, S. J., & Wethey, D. S. (2013). Climate change, species distribution models, and physiological performance metrics: Predicting when biogeographic models are likely to fail. *Ecology and Evolution*, 3(10), 3334–3346.
- Xu, G., Fan, X., & Miller, A. J. (2012). Plant nitrogen assimilation and use efficiency. *Annual Review of Plant Biology*, 63(1), 153–182.
- Xu, Z. Z., & Zhou, G. S. (2006). Combined effects of water stress and high temperature on photosynthesis, nitrogen metabolism and lipid peroxidation of a perennial grass *Leymus chinensis*. *Planta*, 224(5), 1080–1090.
- Yahdjian, L., & Sala, O. E. (2002). A rainout shelter design for intercepting different amounts of rainfall. *Oecologia*, 133(2), 95–101.

- Zar, J.H. (2010). *Biostatistical Analysis*, fifth ed. Prentice Hall, New Jersey.
- Zavala-Chávez, F., García-Moya, E. (1996). Frutos y semillas de encinos. Universidad Autónoma de Chapingo, Texcoco.
- Zavala-Chávez, F. (2004). Desecación de bellotas y su relación con la viabilidad y germinación. *Ciencia Ergo Sum*, 11(2), 177–185.
- Zavala-Chávez, F., & García-Sánchez, F. (1999). Aspectos fisionómicos de los encinares de la Sierra de Álvarez, San Luis Potosí, México. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales Y Del Ambiente*, 5(1), 27–35.
- Zavala. (2008). Efecto del almacenamiento sobre la viabilidad y la germinación de bellotas de *Quercus rugosa* y *Quercus glabrescens*. *Revista Ciencia Forestal En México*, 33(103), 15–25.