



UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE PREGRADO

## **Comparación fisonómica-foliar entre hojas de herbario y de hojarasca de la vegetación del Río Caunahué, XIV región de Chile.**

Seminario de Título entregado a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial de los  
requisitos para optar al título de:

**BIÓLOGO CON MENCIÓN EN MEDIO AMBIENTE**

por

**KEVIN WALTER WANDERSLEBEN MATUS**

Director del Seminario de Título:  
**DR. LUIS FELIPE HINOJOSA**

Junio 2017 – Santiago, Chile

## Índice

Abstract	1
Resumen	2
1. Introducción	3
1.1 Hipótesis	10
1.2 Objetivo general	11
1.3 Objetivos específicos	11
2. Métodos	
2.1 Área de estudio	12
2.2 Muestreo y mediciones fisionómicas foliares	14
2.3 Análisis foliar digital	15
2.4 Análisis computacionales y estadísticos	16
3. Resultados	
3.1 Análisis UPGMA	19
3.2 Matriz de correlación para rasgos medidos en hojarasca y herbario	20
3.3 ACP para la comunidad vegetal de Río Caunahué	22
3.4 ACP usando las especies de hojarasca en herbario	25
3.5 ACP para una especie de hoja coriácea y otra no coriácea	28
3.6 ACP para <i>N. dombeyi</i> , en su forma de herbario, hojarasca y subfósil	33
3.7 Test de t	35
3.8 Análisis de señal filogenética	37
4. Discusión	38
5. Conclusiones	43
6. Referencias	45
ANEXOS	

## **Abstract**

Palaeoclimatic estimates using traits associated to leaves are based in the narrow modern relationship between foliar physiognomy and climate, which is called modern analogue. Some of these relations establish that big untoothed leaves are related to tropical climates (thus, warm and rainy), while small toothed leaves are associated to template climates. However, these modern relationships use leaves from representative species of wooded locations and without any harm on its sheets, while the set of leaves in a fossil depositional basin represents a subset of the original assembly that, furthermore, these same leaves have gone through a taphonomic process that may vary the physiognomy-climate relation. Previous studies have demonstrated that biases do generate important differences, but in cold climates biases diminish and climatic estimates would approach real values. With the objective of testing possible significant differences in the physiognomy between herbarium leaves and litterfall, and establish possible bias to develop modern analogues conferring more accurate results, we studied both groups present in Caunahué. Because of the cold weather of this locality, it is expected that there will be no differences in physiognomy between herborized leaves and litter leaves. To do so, we analyzed 21 characters from digital foliar analysis of herborized leaves and litter leaves present in the vegetation surrounding Río Caunahué, XIV region of Chile. Nevertheless, results show that in general there are differences between herbarium leaves and litterfall leaves, the latter being much more variable, thus it is not convenient to use this in modern analogues.

## Resumen

Las estimaciones paleoclimáticas que utilizan rasgos asociados a hojas se basan en la estrecha relación moderna entre fisionomía foliar y clima, lo cual se denomina análogo moderno. Algunas de estas relaciones establecen que hojas grandes y sin dientes están asociadas a climas tropicales (caluroso y lluvioso), mientras que hojas pequeñas y dentadas se relacionan con climas templados. Sin embargo, estas relaciones modernas usan hojas de especies representativas de localidades boscosas y sin daño en su lámina, mientras que el conjunto de hojas presentes en una cuenca de depositación fósil representa un subconjunto del ensamble original que, además, han pasado por un proceso tafonómico que puede variar la relación fisionomía-clima. Estudios previos han demostrado que los sesgos sí generan diferencias importantes, pero en climas fríos los sesgos disminuyen y estimaciones climáticas se acercan a valores reales. Con el objetivo de evaluar posibles diferencias significativas en la fisionomía foliar entre herbario y hojarasca, y establecer posibles sesgos que ayuden a desarrollar análogos modernos más precisos, se estudiaron ambos grupos presentes en la localidad de Caunahué. Debido al carácter frío del clima de esta zona se espera que no existan diferencias fisionómicas. Para esto se analizaron 21 rasgos del análisis foliar digital para hojas de herbario y hojarasca de la vegetación que rodea el Río Caunahué, XIV región de Chile. Sin embargo, los resultados indican que en general sí existen diferencias entre hojas de herbario y de hojarasca, siendo esta última mucho más variable, por ende, no es conveniente su utilización en análogos modernos.

## **1. Introducción**

Uno de los principales temas de investigación en paleoecología es la estimación de climas pasados a partir de hojas fósiles. Para lograr estudiar y relacionar la fisonomía foliar fósil con variables climáticas antiguas es necesario un “análogo moderno”, el cual corresponde al marco de referencia establecido por los caracteres de la vegetación (e.g. foliares) y patrones de diversidad actuales en una localidad particular, en relación a sus variables climáticas, como temperatura y precipitación (Sandoval, 2009). Esta relación es luego usada para estimar el paleoclima a partir del registro fósil. Para ello se han desarrollado diversas herramientas, como: Análisis de Margen Foliar (en adelante, AMF), que correlaciona el tipo de margen de las hojas de dicotiledóneas leñosas con la temperatura; Índice de Tamaño Foliar (en adelante, ITF), Análisis de Área Foliar (en adelante, AAF), que correlaciona tamaño de las láminas foliares de dicotiledóneas leñosas con precipitación; Programa Multivariado de Análisis Clima-Hoja (en adelante, PMACH), que correlaciona 31 caracteres fisonómicos a distintas variables climáticas; y finalmente el análisis digital de fisonomía foliar, que, a partir de imágenes digitales computarizadas, estudia diversos rasgos fisonómicos de las hojas para relacionarlos a sus variables ambientales (Sinnott y Bailey, 1915; Greenwood, 1992; Fletcher, Moss & Salisbury, 2014; Greenwood y col, 2004; Wolfe, 1993; Burnham & Tonkovich, 2011; Huff y col, 2003).

El supuesto que subyace a todas las técnicas anteriormente nombradas es que el ensamble fósil representa fielmente la fisonomía foliar de la vegetación original (Spicer, Herman & Kennedy 2005). Sin embargo, la presencia de hojas fragmentadas es típica en el registro fósil, llevando inevitablemente a estimaciones climáticas poco precisas (Royer y col 2005). En consecuencia, los efectos tafonómicos que sufren las

hojas en el proceso de fosilización potencialmente disminuyen la supuesta fidelidad fisonómica de la vegetación original pudiendo generar sesgos considerables. Por ejemplo, Spicer y colaboradores (2005) estudiaron la sensibilidad de la técnica PMACH a la pérdida o degradación de caracteres fisonómicos de las hojas por procesos tafonómicos, encontrando que no todos los caracteres son igualmente propensos a los sesgos tafonómicos, siendo los más vulnerables los localizados en los márgenes de las hojas como el ápice, lóbulos y base. En conclusión, la habilidad de PMACH, u otro modelo fisionómico-foliar y clima, de predecir precisamente las condiciones paleoclimáticas se ve perjudicada por la pérdida de información derivada de procesos tafonómicos, aunque depende de qué caracteres son afectados y cuál variable climática se está considerando.

Actualmente la mayoría de los estudios climáticos se han enfocado en establecer predicciones climáticas basándose en el estudio de hojas modernas del dosel (Dilcher y col 2009). Por ejemplo, los análisis climáticos a partir de fisonomía foliar de Webb (1959, 1968) y Wolfe (1971,1978, 1919); (ambos autores citados de Greenwood 1992) están basados sólo en dosel de los árboles y en muestreo directo para la conformación del análogo moderno. Específicamente en cuanto a la precipitación, Wilf y col. (1998) indican que la mayoría de sus paleoestimaciones cuantitativas se han basado en conjuntos de datos medidos a partir de muestras de vegetación viva, relacionada a estaciones climáticas cercanas. Por otro lado, Royer y col. (2005) indican que algunas variables del análisis digital de fisonomía foliar requieren hojas con los márgenes intactos, sin embargo, el registro fósil está dominado por especímenes incompletos, que conllevan inevitablemente a una baja precisión en estimaciones climáticas, usualmente subestimación de las temperaturas medias anuales (en adelante, TAM), (Fletcher y col. 2014).

Otros análisis como los modelos de regresión de AMF son también fuertemente afectados por los sesgos tafonómicos (Greenwood 1992; Uhl y col. 2007). Algunos de estos sesgos relacionados al proceso de fosilización son “el arrastre diferencial de hojas de sol y de sombra hacia el sitio de fosilización, sobrerrepresentación de especies ribereñas, erosión por diferencia de caudales, fragmentación foliar mediante: 1) destrucción de hojas de mayor tamaño y de las deciduas o más delgadas, 2) diferencias en la descomposición según especie (alterando la composición taxonómica de la asociación fósil de plantas)” (Sandoval 2009). En cuanto a la descomposición foliar, Steart y col. (2009) determinaron que la ubicación dentro del depósito fósil también afecta esta tasa de descomposición de las hojas, además de que las hojas enterradas en sedimentos anaeróbicos se descomponen en general más lentamente que hojas en condiciones aeróbicas, y que temperaturas más altas aceleran las tasas de descomposición.

Greenwood (1992) recalca que lo que se necesita urgentemente es contar con análisis detallados de fisonomía foliar de acumulaciones de hojas actuales (hojarasca actual) y compararlas a sus respectivas hojas vivas, con el fin de evaluar el grado de sesgo tafonómico en las escalas temporales de millones de años como el Cretácico Tardío y Cenozoico. De acuerdo a este autor, el tamaño (ITF) y margen foliar (AMF) para hojarasca de 2 tipos de bosques en Australia: bosque húmedo tropical (noreste de Queensland) y bosques lluviosos subtropicales y templados (New South Wales), resultaron menos representativas que las de dosel, debido a que eran más pequeñas (sesgando a menores valores de temperatura) y a que en ella había una baja cantidad de especies representadas (en relación al bosque), correlacionando en menor grado con TAM. Para remediar esto habría que intensificar el esfuerzo de muestreo de manera que la hojarasca tenga la misma cantidad de especies representadas que la

vegetación viva del bosque. Finalmente, se concluye que las medidas del tamaño foliar en hojarasca de bosques siempreverdes méxicos están fuertemente correlacionados a MAT (Greenwood 1992).

La fidelidad con la que cada hojarasca refleja su bosque original indica la confianza hallada en reconstrucciones paleoecológicas (Burnham, Wing & Parker 1992). En este sentido, Burnham, Wing y Parker (1992) hicieron estudios en bosques templados deciduos en las cercanías de Washington. Específicamente investigaron la hojarasca in situ porque es objeto de una modificación mínima que podría esperarse entre un bosque y ensamblajes de hoja fósil viviente, conteniendo mucha información acerca del bosque del que deriva. Así mismo, afirman que a pesar que la composición de la mayoría de depósitos fósiles es modificada antes de depositarse y preservarse, la hojarasca in situ es un buen análogo para algunos tipos de ensamblajes de hojas fósiles autóctonos. Sin embargo, este estudio se enfoca más en cuánta información del bosque se puede conocer a partir de su hojarasca, y nunca hacen mención a establecer estimaciones climáticas a partir de ello.

Fletcher y colaboradores (2014) realizaron 3 análisis a partir de fisonomía foliar: 2 univariados (AMF y AAF) y el tercero multivariado (PMACH), para la flora de las localidades de conservación Lark Quarry, Queensland, Australia. Ellos determinaron que las hojas más pequeñas son las que en mayor proporción permanecen enteras, por lo que, en este sentido, en climas fríos (donde hay mayor abundancia de especies con hojas pequeñas) debería existir un menor sesgo tafonómico. Los resultados finales que obtuvieron indican que las estimaciones realizadas con las 3 herramientas antes nombradas concuerdan con otras estimaciones climáticas de otras disciplinas, como la fauna fósil encontrada y análisis con isótopos de oxígeno en sedimentos calcáreos.

Se han hecho experimentos en los que, a propósito, se han degradado los estados de ciertos caracteres (i.e. generando sesgos tafonómicos). Spicer y colaboradores (2011) hicieron esto utilizando PMACH para flora de la Isla Verde en Río Ganges en India (clima caluroso húmedo). El PMACH les resultó bastante resistente a la pérdida de información (resultados dentro del error esperado), a pesar de que subestimó los valores de temperatura. Los autores argumentan que esto es normal para climas tropicales en general, dado que el dosel y el sub-dosel sufren un alto enfriamiento evapotranspiracional. En cambio, para climas templados fríos las estimaciones se acercan, o incluso pueden sobrestimar, a los valores instrumentales de temperatura. La resistencia de PMACH a sesgos, sin embargo, no es compartida por otros métodos univariados como AMF, puesto que este último basado en hojas individuales de muestras de hojarasca se ha mostrado no robusto (Royer 2012), evidenciando la superioridad de utilizar métodos multivariados.

Sandoval (2009) analizó, utilizando un análisis de correspondencia canónica (ACC) cuán distintas eran las estimaciones obtenidas a partir de la medición de rasgos usados en PMACH para hojas de muestras herborizadas (dosel y sotobosque) vs hojas de hojarasca, ambas presentes en Río Caunahué, XIV región de Chile. Ella concluyó que “la muestra de hojarasca no entrega estimaciones significativamente diferentes de las obtenidas a través de las hojas del dosel herborizadas, por lo que se podría decir que representa la morfología foliar de la flora de la zona”. De esta manera, analizar una hoja fósil sería análogo a analizar una hoja fresca del pasado, que se supone otorga los resultados más precisos.

A partir de todo lo mencionado hasta ahora surgen las siguientes preguntas: ¿Cuán representativa es la variación de los rasgos asociados al análisis digital de fisonomía foliar entre hojarasca y herbario? Es decir, ¿será el análisis digital más

sensible a efectos tafonómicos de la hojarasca que el PMACH? Y en un aspecto más general, ¿podrían los procesos de fosilización generar sesgos tales que alteren significativamente las estimaciones que se puedan ejercer a partir de un análogo moderno de herbario?

El análisis fisonómico digital de hojas es una de las últimas herramientas elaboradas para estimar paleoclimas. Fue desarrollado por Peter Huff y colaboradores en 2003 y se basa en procesamiento digital de imágenes de hojas en computadoras. Sus ventajas radican en que utiliza variables continuas, mejorando su evaluación estadística y reproducibilidad, mientras que otros métodos de estimación paleoclimática, como AMF o PMACH, usan caracteres discretos, usualmente binarios. Además, posee más rasgos relacionados funcional y/o fisiológicamente al clima, como tamaño y número de dientes, área de lámina y grado de disección (Peppe y col. 2011). Otras ventajas de la fisonomía digital es que es multivariado (la mayoría de otros métodos, a excepción de PMACH, son univariados, aunque incluso PMACH ha sido cuestionado por su baja reproducibilidad, dado que ciertas evaluaciones en caracteres foliares resultan demasiado subjetivas) y, también, se puede usar en casi cualquier laboratorio, dado su bajo costo. Sin embargo, debido a su precisión y alto nivel de detalle es muy probable que esta herramienta detecte cualquier variación fisonómica, sobre todo respecto las que en el presente trabajo se evaluarán: los sesgos tafonómicos

El presente estudio busca corroborar los resultados de Sandoval (y de otros estudios como el de Burnham y col. 1992 y Burnham 1993, 1994; ambos mencionados en Dilcher et al 2009), pero analizando los 21 rasgos implicados en el análisis digital de fisonomía foliar. Estos 21 rasgos fueron establecidos por Royer y col. (2005) bajo los siguientes supuestos: están estrechamente relacionados al clima de manera funcional

y/o fisiológicamente; y que poseen plasticidad fenotípica, por lo que pueden responder rápidamente a cambios climáticos (Peppe y col. 2011).

Basado en lo anterior, se espera que los rasgos morfológicos de hojas de hojarasca y aquellas herborizadas no difieran significativamente entre sí (y por lo tanto ambas entreguen las mismas estimaciones paleoclimáticas). Por el contrario, si es que hay diferencias estas se deberían asemejar en cierto grado a los sesgos tafonómicos, e.g. que las hojas más grandes (mesófilas y notófilas) y delgadas estén menos representadas en la hojarasca (Sandoval 2009), o que exista una mayor descomposición en la hojarasca, etc. Si este fuera el caso, sería imprescindible tomar en cuenta los diversos sesgos tafonómicos inherentes al proceso de fosilización, por lo que un análogo moderno actual fundamentado en morfología de hojarasca en lugar de la vegetación viva (dosel y sotobosque) podría otorgar resultados más reales y precisos.

Además de la comparación comunitaria entre herbario y hojarasca, se ha decidido hacer otra pero restringida a sólo dos especies, una coriácea y otra no coriácea. Estas especies debieran además estar filogenéticamente cercanas. Esta nueva comparación se elabora con el fin de determinar si la calidad de coriácea (que implica mayor dureza foliar) genera diferencias fisonómicas entre herbario y hojarasca lo que implicaría una puerta novedosa de investigación en esta área.

Otra comparación fisonómica que se hizo fue entre herbario con subfósiles y hojarasca con subfósiles. Los datos de subfósiles se obtuvieron de la tesis de Francisco Salinas (2014) y corresponden a la especie *Nothofagus dombeyi*, por lo que en herbario y hojarasca se utilizó la misma especie para los análisis.

Finalmente se elaboró un análisis de inercia filogenética para determinar si los rasgos estudiados son definidos por variables ambientales o más bien genéticas.

## 1.1 Hipótesis:

1. Dado que la técnica para el análisis de fisonomía foliar llamado “Programa Multivariado de Análisis Clima-Hoja” (PMACH), en conjunto con otras herramientas, se ha demostrado resistente en general a los sesgos tafonómicos y que en climas fríos los sesgos son mínimos, se espera que las comparaciones fisonómicas, basadas en la nueva técnica de análisis digital, entre hojarasca y herbario no difieran significativamente entre sí.
2. Como las hojas coriáceas son más duras, se espera que la especie que posea este tipo de hojas tenga menos diferencias entre sus estados herbario y hojarasca, en comparación a una especie no coriácea.
3. Puesto que las hojas subfósiles han sufrido ciertos sesgos tafonómicos, se espera que su análisis digital fisonómico se asemeje más al grupo hojarasca que al herbario para la comunidad de Caunahué.

## **1.2 Objetivo general:**

Determinar los posibles sesgos tafonómicos asociados a caracteres de análisis digital foliar entre muestras de herbario y hojarasca en un bosque templado del sur de Chile.

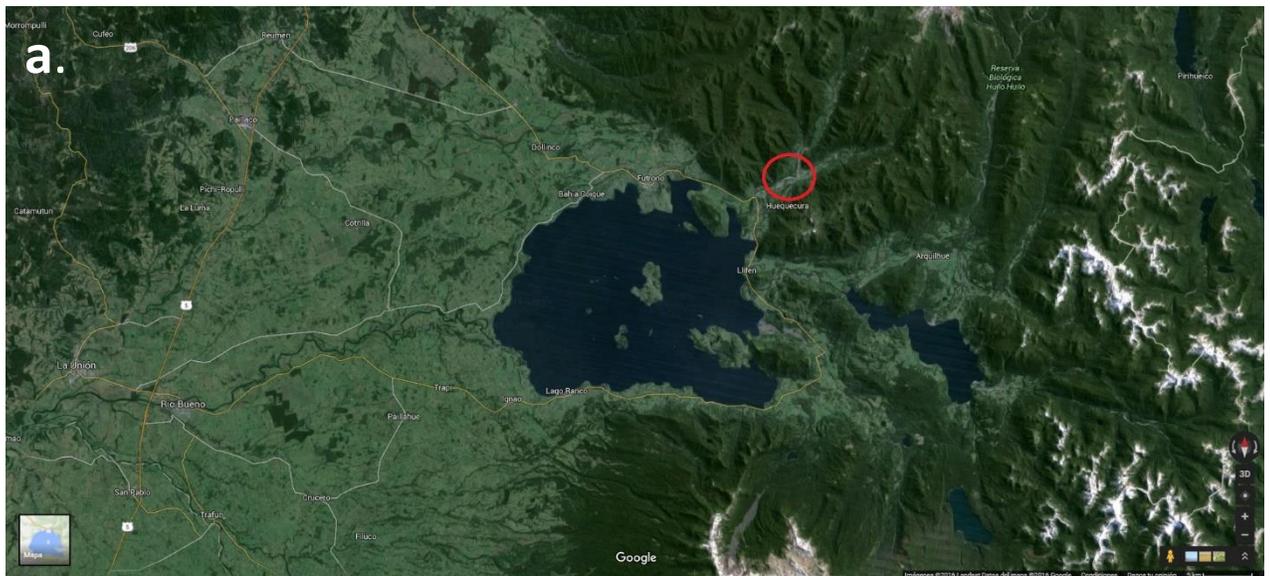
## **1.3 Objetivos específicos:**

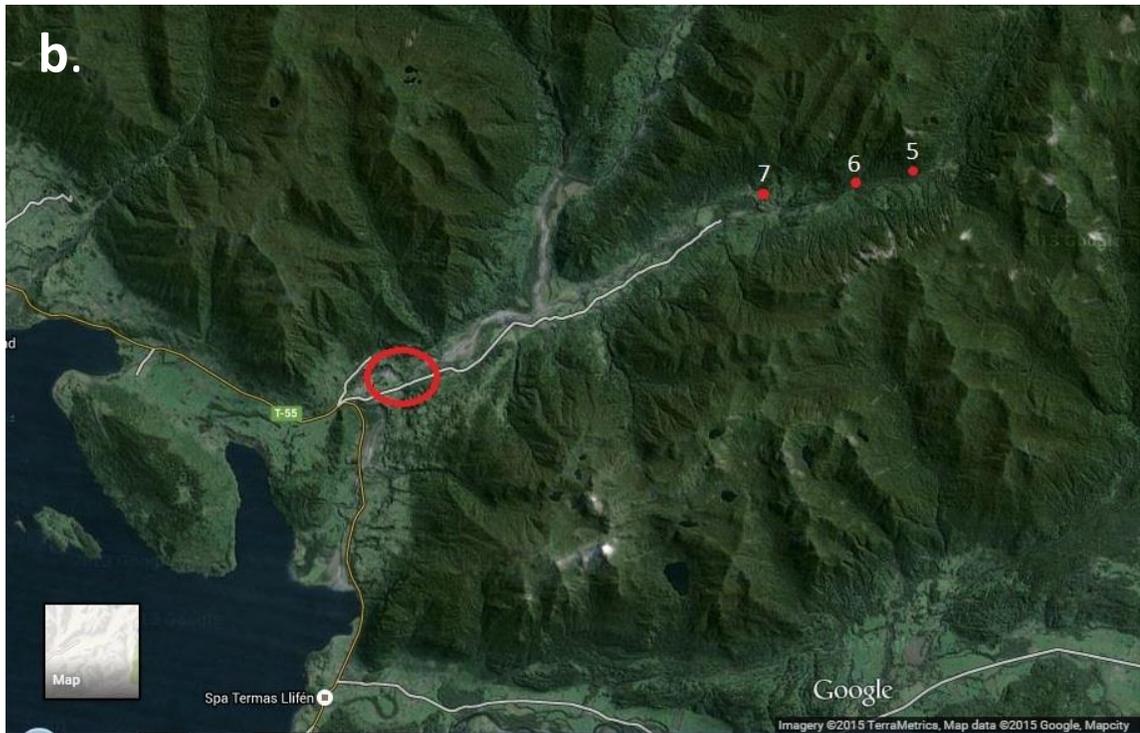
1. Comparar las características fisonómicas de hojas actuales herborizadas vs. hojas actuales de hojarasca para toda la comunidad florística de Río Caunahué, XIV región de Chile.
2. Comparar los grados de similitud en rasgos del análisis digital foliar entre hojas actuales herborizadas y hojas de hojarasca para una especie coriácea y otra no coriácea de la flora de Río Caunahué, a distintas altitudes del río..
3. Comparar los grados de similitud en rasgos del análisis digital foliar entre hojarasca y subfósiles, y entre hojas herborizadas y subfósiles para *N.dombeyi* en Río Caunahué.

## 2. Métodos

### 2.1 Área de estudio

La localidad de Río Caunahué (40°S; 72°W) se ubica en la XIV región de Chile, en los alrededores de Futrono. Este río es uno de los tantos que alimentan al Lago Ranco, de origen glacial (DGA, 2004). El clima de esta zona es templado frío lluvioso con influencia mediterránea (Di Castri & Hajek 1976), con temperaturas medias anuales entre 6,5°C a 15,2°C y precipitaciones promedio anuales de 1800 mm (Sandoval 2009). La vegetación se constituye principalmente por *Eucryphia cordifolia*, *Laureliopsis philippiana*, *Weinmania trichosperma* y *Nothofagus dombeyi*, conformando un bosque de tipo Valdiviano (Sandoval, 2009).





**Figura 1.** Área de estudio con los sitios de muestreo. a. Imagen satelital del Lago Ranco con los sitios de muestreo aproximados en el círculo rojo; b. Imagen satelital de Río Caunahué con los sitios especificados: dentro del círculo se encuentran los primeros 3 sitios usados, mientras que cada punto rojo (7,6,5) representa uno, dando un total de 6 sitios (el sitio 1 no se usó por estar en el lecho del río).

## **2.2 Muestreo y mediciones fisonómicas foliares**

En abril del 2008 se muestrearon hojas de hojarasca y de vegetación viva para la comunidad de especies vegetales de la zona. Se trazaron transectas a distintas alturas: 126 (sitio 1), 145 (sitio 4), 146 (sitio 2), 250 (sitio 3), 350 (sitio 7), 424 (sitio 6) y 530 msnm (sitio 5); donde se recogió hojarasca, la que se guardó y mantuvo en bolsas de papel craft por 7 años. Estas transectas se establecieron para obtener muestras representativas de la localidad boscosa. Las hojas de la vegetación viva fueron obtenidas de estas mismas transectas y además de sus alrededores. Fueron herborizadas inmediatamente, permitiendo su preparación para las fotografías correspondientes, las cuales fueron tomadas con una cámara Nikon D5200. Las hojas de hojarasca estaban secas y arrugadas, por lo que se remojaron en agua para luego estirarlas, prensarlas y escanearlas (según Dilcher y col, 2009). Para medir los rasgos implicados en el análisis digital de fisonomía foliar de las hojas herborizadas, se utilizaron de 1 a 6 fotografías por especie y se usaron 47 especies, superando el valor mínimo de especies que es de 20 (Royer y col, 2005), dando un total de 218 mediciones para el grupo herborizado. Para medir los rasgos implicados en el análisis digital de fisonomía foliar de las hojas de hojarasca, se utilizó un rango más amplio de número de fotografías por especie (hasta 34) y usando sólo 17 especies, porque no se pudieron identificar más especies, evidenciando la dificultad de incorporar en la hojarasca todas las especies representativas de la zona. Esto generó un total de 250 mediciones para el grupo hojarasca. Para los escaneos de este grupo se usó el scanner EPSON GT-1500.

### **2.3 Análisis foliar digital**

Con el objetivo de medir la fisionomía foliar de la comunidad de Río Caunahué, se midieron los 21 rasgos foliares de acuerdo a la metodología propuesta por Huff y col, (2003) y Royer y col, (2005). La tabla 1 muestra los 21 rasgos con su abreviatura (detalles en Anexo I). Es necesario explicar aquí la diferencia entre los dientes primarios y secundarios (definidos en el protocolo presente en el apéndice I de Royer 2005): los dientes primarios son los que presentan senos con profunda y similar incisión y se asocian a venas de mayor tamaño, mientras que los dientes secundarios tienen senos con incisiones desiguales y no se asocian a venas o se asocian, pero a muy pequeñas. También se diferencia un lóbulo de un diente, según el mismo protocolo, lo cual se muestra en el Anexo III.

Las fotografías y escaneos digitales fueron procesados mediante el uso de Adobe Photoshop 6.0 (Adobe Systems Inc., San Jose, CA) para aislar las hojas del peciolo y su entorno general. Luego se utilizó el software Sigma Scan Pro 5.0 (SPSS Science, Chicago, IL) para realizar las mediciones. Las imágenes fueron calibradas usando un reajuste de 2 puntos nativo de este software. Todas estas imágenes (“crudas” y procesadas) están disponibles en los computadores del Laboratorio de Paleoecología de la Universidad de Chile, Facultad de Ciencias.

**Tabla 1.** Lista de los 21 rasgos foliares medidos y su abreviatura

Número	RASGO	ABREVIATURA
1	Área lámina	A
2	Área lámina interna (sin dientes)	A_int
3	Perímetro	P
4	Perímetro interno (sin dientes)	P_int
5	Relación P/P_int	P/P_int
6	Compacidad	Comp
7	Factor de forma	Fac_form
8	Largo eje mayor	Largo_ma
9	Largo eje menor	Largo_me
10	Diámetro de Feret	Feret
11	Relación Feret/Largo_ma	Rel_feret
12	Área de dientes	A_d
13	Área de dientes/Área lámina	A_d/A
14	Área de dientes/Perímetro interno	A_d/P_int
15	Área de dientes/Perímetro	A_d/P
16	Número dientes primarios	N_d_prim
17	Número dientes secundarios	N_d_sec
18	Número total de dientes	N_d_tot
19	Promedio área dientes (A_d/N_d_tot)	Prom_A_d
20	Número dientes/Perímetro	N_d/P
21	Número dientes/Perímetro interno	N_d/P_int

#### **2.4 Análisis computacionales y estadísticos:**

Los rasgos medidos fueron llevados a una hoja Excel desde donde se importó la información hacia el programa R para generar, en primera instancia, una matriz de correlación de Spearman entre los rasgos. Los rasgos sin o poca correlación se ingresaron al programa CANOCO 5 para análisis de componentes principales. Además, se generaron otros 2 ACP para 2 especies de hoja coriácea y no coriácea: *Nothofagus dombeyi* y *Nothofagus obliqua* (según Muñoz de floradechile.cl, y Hoffmann, 1982), respectivamente, en busca de diferencias significativas. Se usaron

también datos de hojas subfósiles de *Nothofagus dombeyi* de la tesis de Salinas, 2014 elaborada también en Caunahué para hacer una comparación con hojarasca y hojas de herbario.

#### **2.4.1 Análisis de componentes principales (ACP)**

Este análisis se realizó para determinar cuáles rasgos explican la varianza total del estudio y determinar si ambos grupos se separan o no en el gráfico resultante del análisis. Para este análisis se utilizó el software Canoco versión 5.04 for Windows (Ter Braak y col, 2012).

#### **2.4.2 Test de T para dos muestras con permutaciones**

Se realizaron test de T con 9999 permutaciones para determinar si existían diferencias significativas para cada uno de los 21 rasgos estudiados entre: (1) las muestras de hojarasca actual y las muestras de herbario de toda la comunidad, (2) las muestras de hojarasca actual y herbario para una especie coriácea y otra no coriácea, y (3) muestras de *N. dombeyi* de herbario, hojarasca y muestras de subfósiles, todas pertenecientes a la localidad de Caunahué. Los test se hicieron con permutaciones para ampliar el número de las muestras. Para esto empleó el software PAST versión 3.12 (Hammer y col, 2001).

#### **2.4.3 Análisis de conglomerados (clustering)**

Se hicieron análisis de conglomerados UPGMA basados en índice de similitud de Dice-Sorensen para los distintos sitios de estudio, tanto para las especies presentes en método de intercepto de puntos, como las de muestras de hojarasca. El objetivo de esto fue determinar si los sitios más similares entre sí en cuanto a su composición

específica usando intercepto de puntos, eran igual de similares al usar las especies en hojarasca. Para esto se usaron las matrices de presencia-ausencia de especies de la tesis de Isabel Sandoval, elaborada en el mismo laboratorio, las que fueron analizadas en el software Past 3.12 (Hammer y col, 2001). Se usó un bootstrap de 500, porque aumentar el bootstrap (a 10.000 por ejemplo) no cambiaba en nada los resultados.

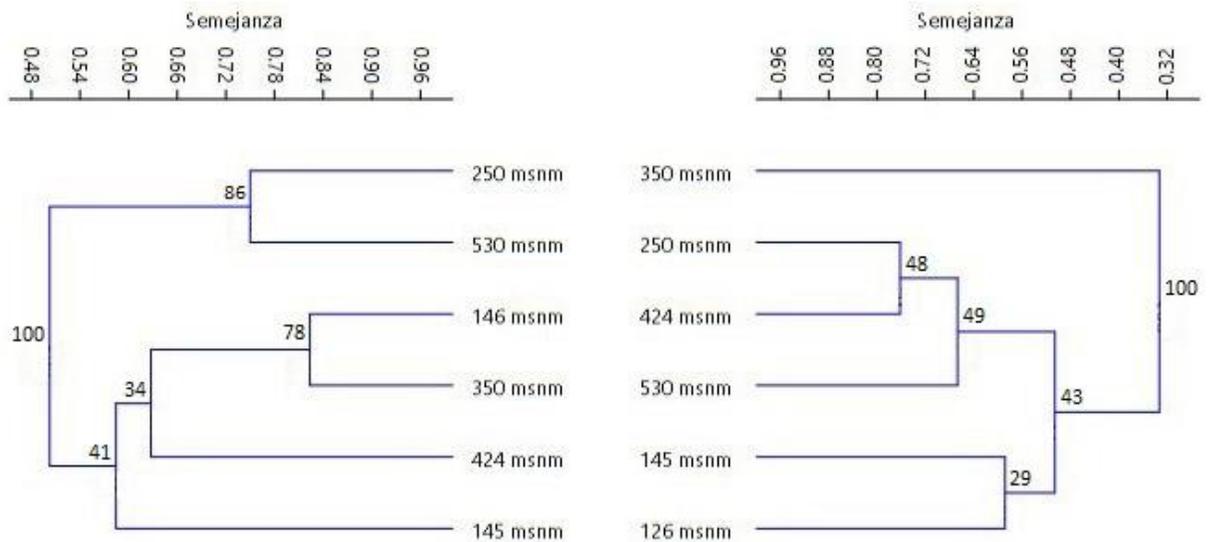
#### **2.4.4 Señal filogenética**

Para establecer si los rasgos estudiados tienen o no señal filogenética, es decir si son afectados por la historia del linaje, se construyó un árbol filogenético basado en el elaborado por Salinas, 2016 y usando el método de Maddison & Slatkin (1991) en el software Mesquite (Maddison & Maddison, 2009) donde se mapearon los rasgos en el árbol. Para ello se obtuvieron promedios de los valores de cada uno de los 21 rasgos para cada especie, los que se agregaron al programa. Con esto se desarrollaron histogramas de probabilidades con 1000 permutaciones para cada rasgo (modelo nulo), de la misma manera que hizo Salinas 2016, y se calcularon p-valores, definido como la proporción de transiciones evolutivas del modelo nulo que fueron menores o iguales al valor de transiciones observado. Si este último valor es menor a 0.05 de la distribución de valores de transiciones obtenidas por el azar, significa que el rasgo ha evolucionado menos veces de lo esperado por el azar y por tanto el rasgo evoluciona lo suficientemente lento para retener información filogenética, ergo, ha sido sujeto a una inercia histórica (Hinojosa y col 2011).

### 3. Resultados

#### 3.1 Análisis de conglomerados UPGMA para herbario y hojarasca

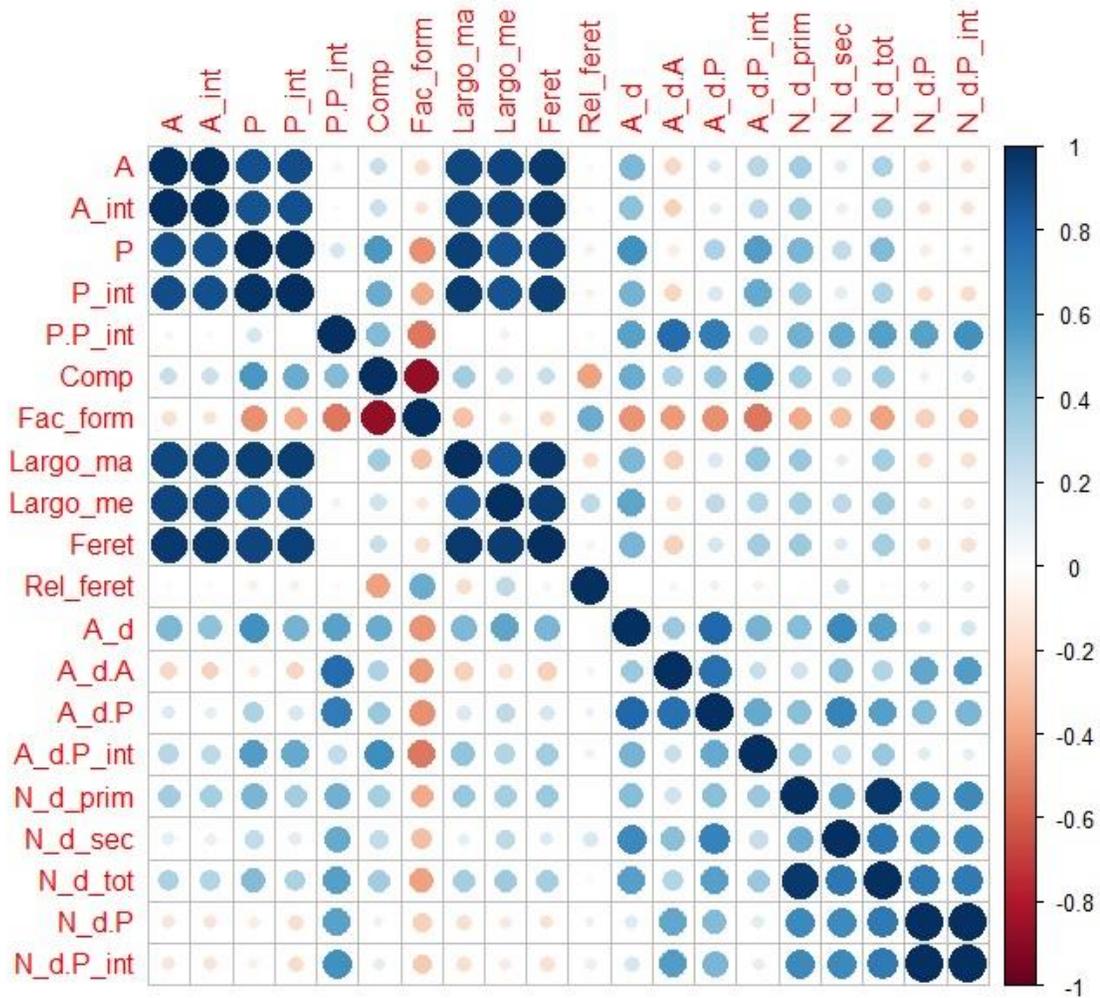
Para observar si sitios más cercanos tienen más especies vegetales en común se hicieron 2 UPGMA para hojarasca y para herbario. En la figura 2 se observan las altitudes de los distintos sitios utilizados, ordenados en el clúster según semejanza de especies entre ellos (la que se observa en la parte superior). El resultado indica que no existe un gradiente altitudinal en la composición de especies para ninguno de los dos grupos de estudio.



**Figura 2.** Análisis de conglomerados basado en índice de similitud de Dice-Sorensen para especies herborizadas (izquierda) y hojarasca (derecha) de los sitios estudiados, localizados en distintas altitudes en Río Caunahué.

### **3.2 Matriz de correlación para rasgos medidos en hojas de hojarasca y herbario**

Se elaboró una matriz de correlación de los 21 rasgos para eliminar del análisis a los rasgos que se correlacionaban entre sí en un 85% o más. La figura 3 muestra un diagrama explicativo de estas correlaciones. Se observa en la figura 3 que los rasgos asociados a áreas y perímetros se correlacionan mucho entre sí positivamente, al igual que los relacionados a números de dientes y negativamente correlacionados el factor de forma con compacidad. La tabla 2 muestra en detalle los 11 rasgos que menos se correlacionan según el criterio de correlación de Spearman con 85%.



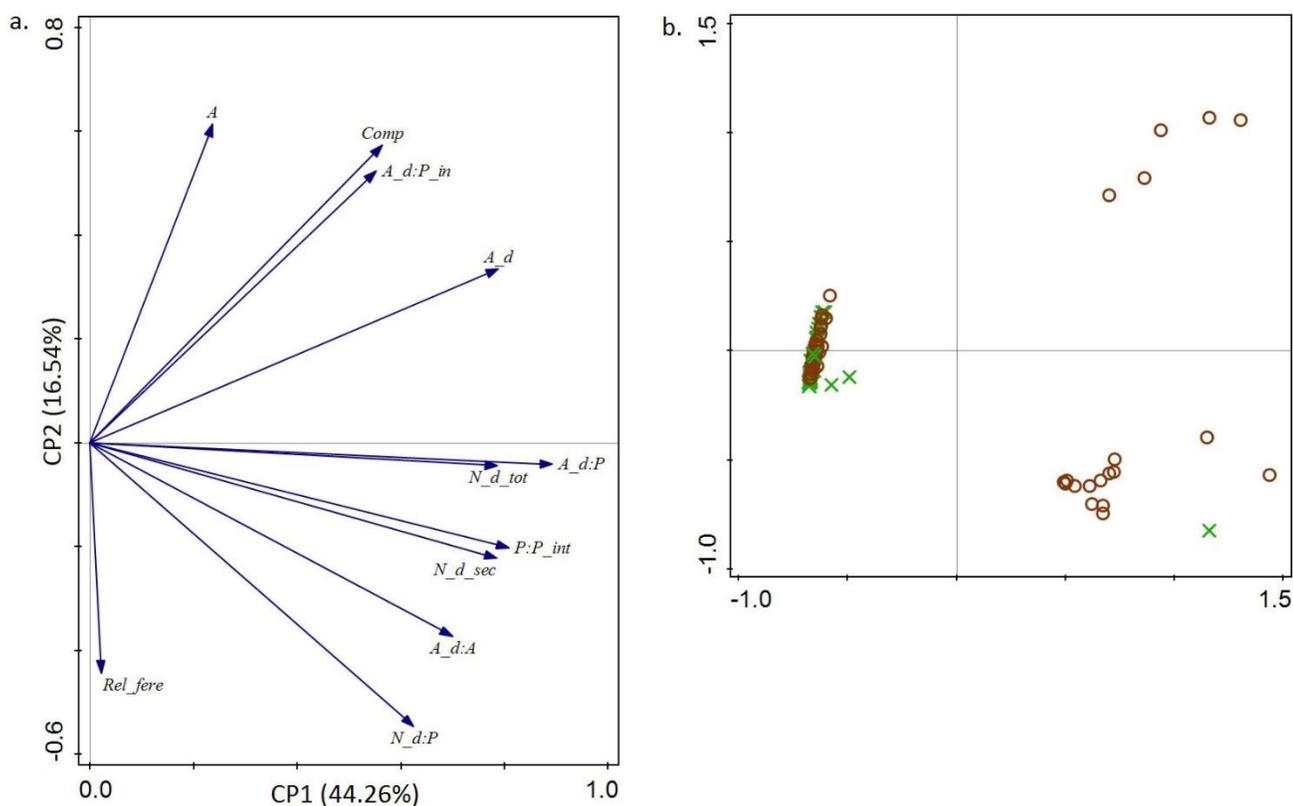
**Figura 3.** Diagrama de correlaciones para 20 rasgos usados (se excluyó el rasgo “promedio de área de dientes” puesto que para las especies sin dientes daban resultados indeterminados: cociente era dividido por cero). Azul indica correlación positiva, mientras que rojo indica correlación negativa.

**Tabla 2.** Rasgos del análisis digital foliar que menos se correlacionan entre sí

RASGOS AUTOCORRELACIONADOS (correlación de spearman > 85%)	
RASGO	RASGOS CON LOS QUE SE AUTOCORRELACIONA
A	A_int - P - P_int - Largo_ma - Largo_me - Feret
Comp	Fac_form
N_d_tot	N_d_prim
N_d/P	N_d/P_int
P/P_int	-
Rel_feret	-
A_d	-
A_d/A	-
A_d/P	-
A_d/P_int	-
N_d_sec	-

### 3.3 Análisis de componentes principales para toda la comunidad vegetal de Río Caunahué

Se elaboró un análisis de componentes principales usando estos 11 rasgos (primera columna, Tabla 2) para evitar redundancia de resultados. El componente principal 1 contiene el 44.3 % de la variación de los grupos, donde los rasgos que tienen una mayor correlación con este eje son: relación área dientes / perímetro, perímetro/perímetro interno, área de dientes, número de dientes (totales y secundarios) y relación área de dientes / área de lámina. El componente principal 2 contiene el 16.5% de la varianza, dando un total de 60.8% de la varianza explicada, donde los rasgos que mayor correlación tienen con este eje son las relaciones: área total, compacidad, número de dientes por unidad de perímetro (N\_d:P), área de dientes por unidad de perímetro interno (A\_d:P\_int) y Rel\_feret (Tabla 3).

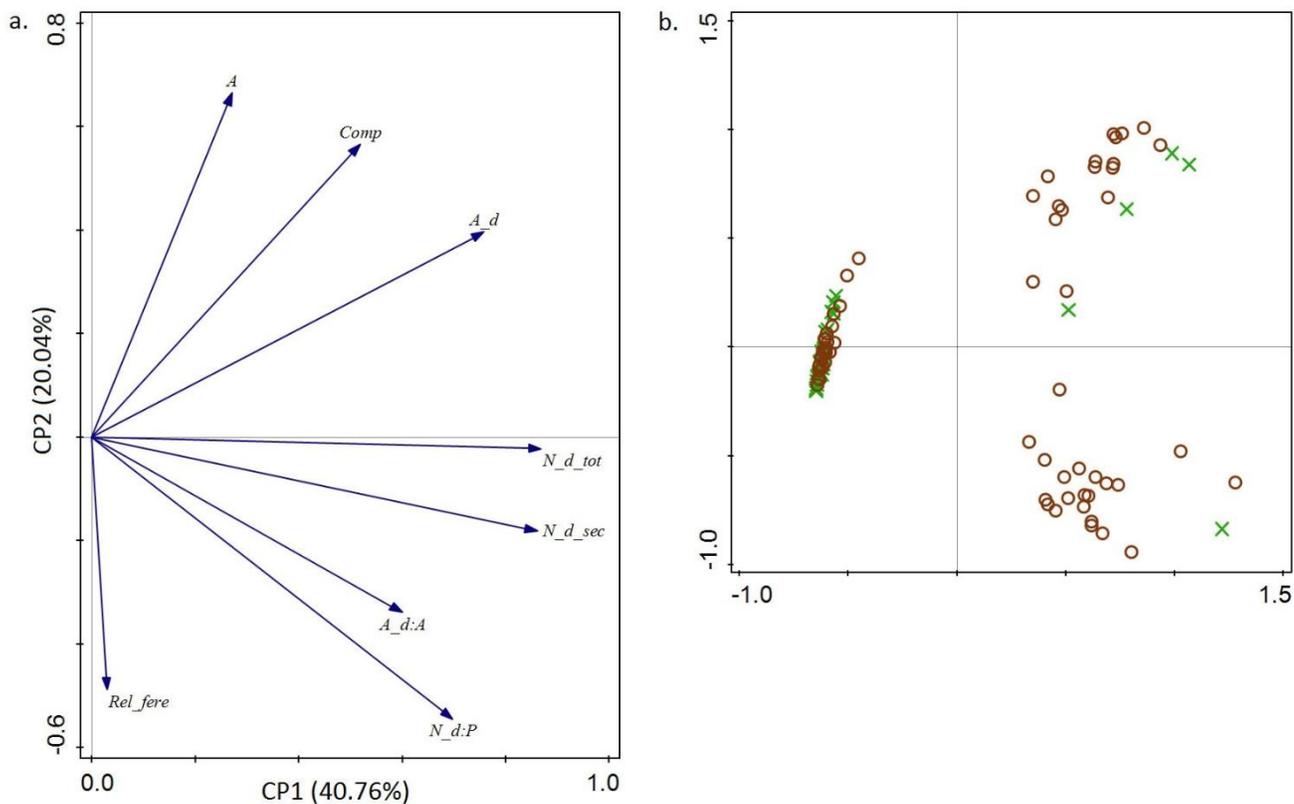


**Figura 4.** Análisis de componentes principales para ambos grupos de estudio usando 11 rasgos del análisis digital foliar. a. Vectores correspondientes a los 11 rasgos analizados. B. Ordenación de las muestras mediante el análisis de componentes principales de acuerdo a los 11 rasgos foliares. X Hojas de herbario; O Hojas de hojarasca.

**Tabla 3.** Rasgos con mayores valores de correlación para cada componente principal (CP)

CP1	Correlación	CP2	Correlación
A_d:P	0.89	Área	0.61
P:P_int	0.81	Compacidad	0.57
Área de dientes	0.8	N_d:P	-0.55
Número total de dientes	0.79	A_d:P_int	0.52
Número dientes sec.	0.78	Rel_feret	-0.44
A_d:A	0.7		

Se puede apreciar que existen 3 correlaciones fuertes a pesar de aplicar el criterio del 85%: Comp con A\_d:P\_int (61%), N\_d\_tot con A\_d:P (55%) y N\_d\_sec con P:P\_int (50%) (Figura 3, a.). Se excluyeron los segundos nombrados en cada caso para generar un nuevo análisis, mostrado en Figura 4.



**Figura 5.** Análisis de componentes principales para ambos grupos de estudio usando 8 rasgos del análisis digital foliar. a. Vectores correspondientes a los 8 rasgos analizados. B. Ordenación de las muestras mediante el análisis de componentes principales de acuerdo a los 8 rasgos foliares. X Hojas de herbario; O Hojas de hojarasca.

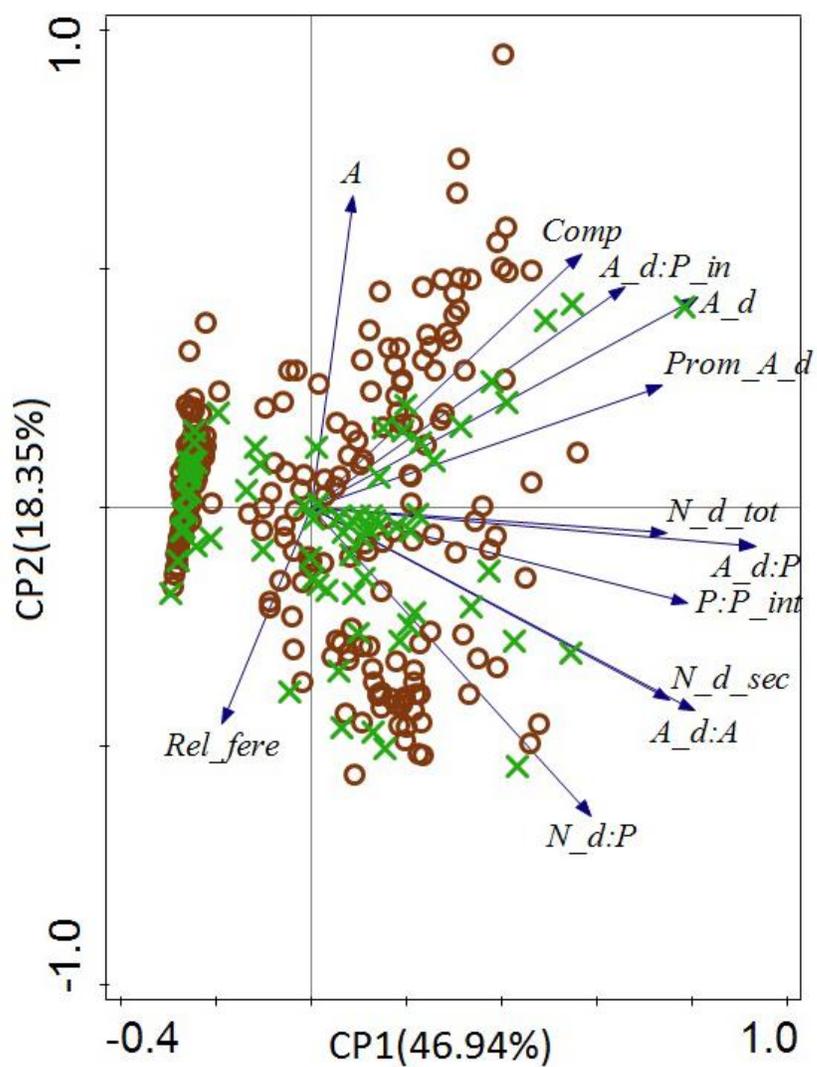
El análisis mostrado en figura 4 sólo utiliza 8 de los 21 rasgos, donde el componente principal 1 contiene el 40.7% de la varianza y el componente principal 2, el 20%, dando la misma varianza total explicada que el análisis anterior (Fig 3): 60.8%. En la Tabla 4 se muestran los rasgos que se correlacionan más a cada componente principal.

**Tabla 4.** Rasgos con mayores valores de correlación para cada componente principal (CP) de la figura 6

<b>CP1</b>	<b>Correlación</b>	<b>CP2</b>	<b>Correlación</b>
Número total de dientes	0.87	Área	0.67
Número dientes sec.	0.86	Compacidad	0.57
Área de dientes	0.76	Rel_feret	-0.49
N_d:P	0.7		
A_d:A	0.6		

### **3.4 Análisis de componentes principales usando las especies de hojarasca en herbario**

Se decidió hacer un segundo análisis, pero sin considerar las especies que estaban herborizadas y que no estaban presentes en muestras de hojarasca. Esto para disminuir el sesgo asociado a la fisonomía de especies diferenciales. Se eliminaron los rasgos que se autocorrelacionaban positiva o negativamente en un 85% al igual que en los otros análisis. La Figura 7 muestra el análisis correspondiente.



**Figura 6.** Análisis de componentes principales para hojarasca y herbario (este último con las mismas especies que el primero) usando los 12 rasgos que menos se autocorrelacionaban del análisis digital fisionómico. X Hojas de herbario; O Hojas de hojarasca.

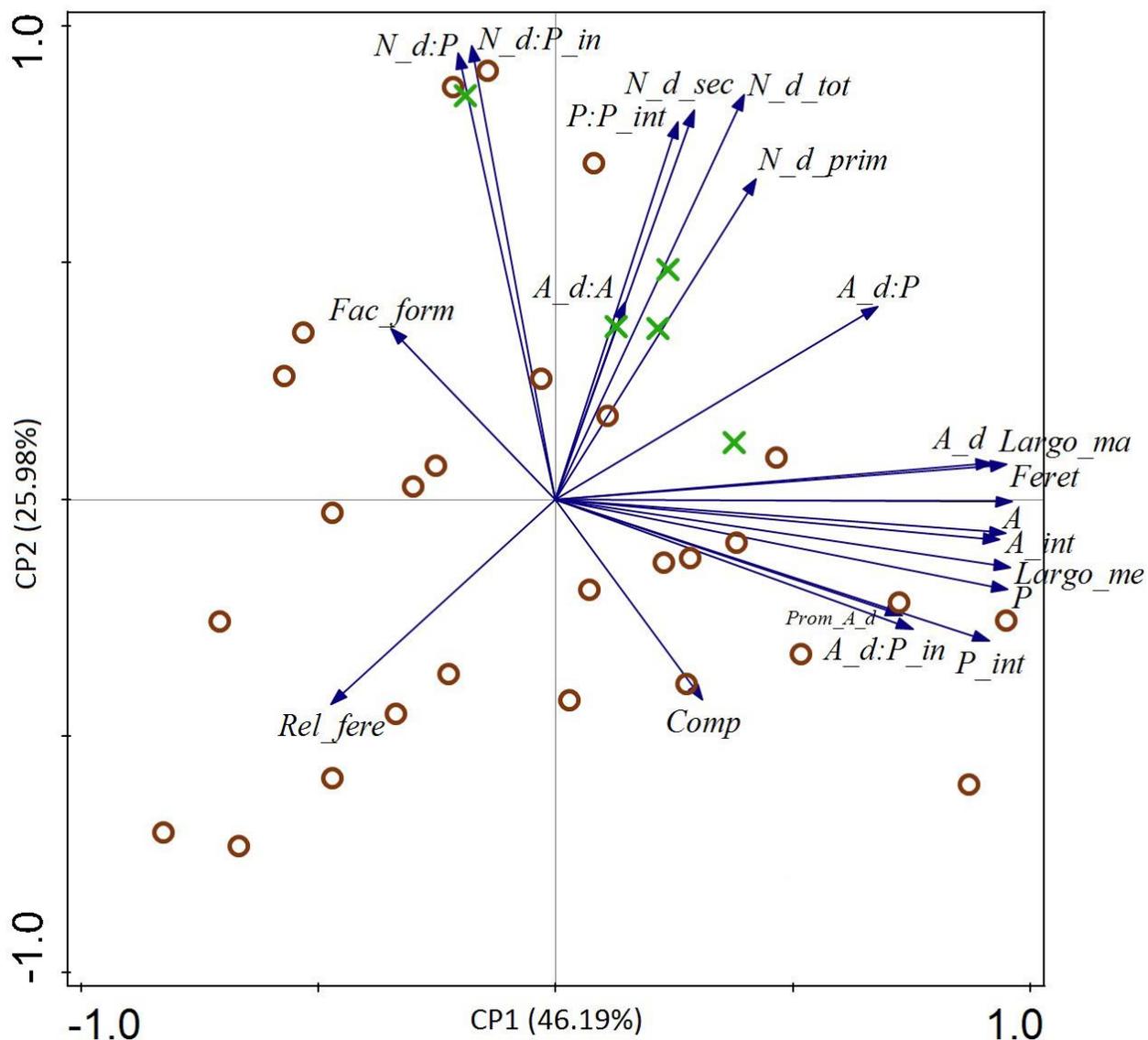
El componente principal 1 contiene el 46.94% de la variación de los grupos, donde los rasgos que tienen una mayor correlación con este eje son: relación área dientes / perímetro, área de dientes, relación área de dientes / área de lámina y razón perímetro / perímetro interno. El componente principal 2 contiene el 18.35% de la varianza, dando un total de 65.3% de la varianza explicada, donde los rasgos que mayor correlación tienen con este eje son las relaciones: área total, número de dientes por unidad de perímetro (N\_d:P) y compacidad (Tabla 5).

**Tabla 5.** Rasgos con mayores valores de correlación para cada componente principal (CP) de la figura 6

CP1	Correlación	CP2	Correlación
A_d:P	0.93	Área	0.65
Área de dientes	0.81	N_d:P	-0.64
A_d:A	0.81	Compacidad	0.53
P:P_int	0.79		
Número dientes sec.	0.755		

### **3.5 Análisis de componentes principales para una especie de hoja coriácea y otra no coriácea**

Se decidió hacer una comparación entre 2 especies, una de hoja coriácea y otra no coriácea con el fin de evaluar si esta característica desempeña un papel importante en la degradación de los rasgos medidos entre hojarasca y herbario para cada una de ellas. Para esta elección de especies se tuvo especial cuidado en que ambas tuvieran dientes para incorporar al análisis los rasgos relacionados a ellos. Finalmente se eligió a *Nothofagus obliqua* como la no coriácea y a *Nothofagus dombeyi* como especie de hoja coriácea (Hoffmann, 1982). Coincidentemente *N. obliqua* fue de las especies más degradadas en hojarasca, y *N. dombeyi* fue de las menos destruidas en el mismo grupo. El total de mediciones para *Nothofagus obliqua* fue de 32, y para *Nothofagus dombeyi* fue de 39. Se hicieron matrices de correlación para ambas especies (al igual que en 3.2) con el mismo criterio del 85%, sin embargo, la varianza explicada en los ACP excluyendo los rasgos autocorrelacionados disminuía en al menos un 10%, por lo que finalmente se decidió mantener todos los 21 rasgos. Se procedió entonces a elaborar 2 ACP con los 21 rasgos para comparar diferencias significativas. Las figuras 5 y 6 muestran los resultados para *N. obliqua* y *N. dombeyi* respectivamente.



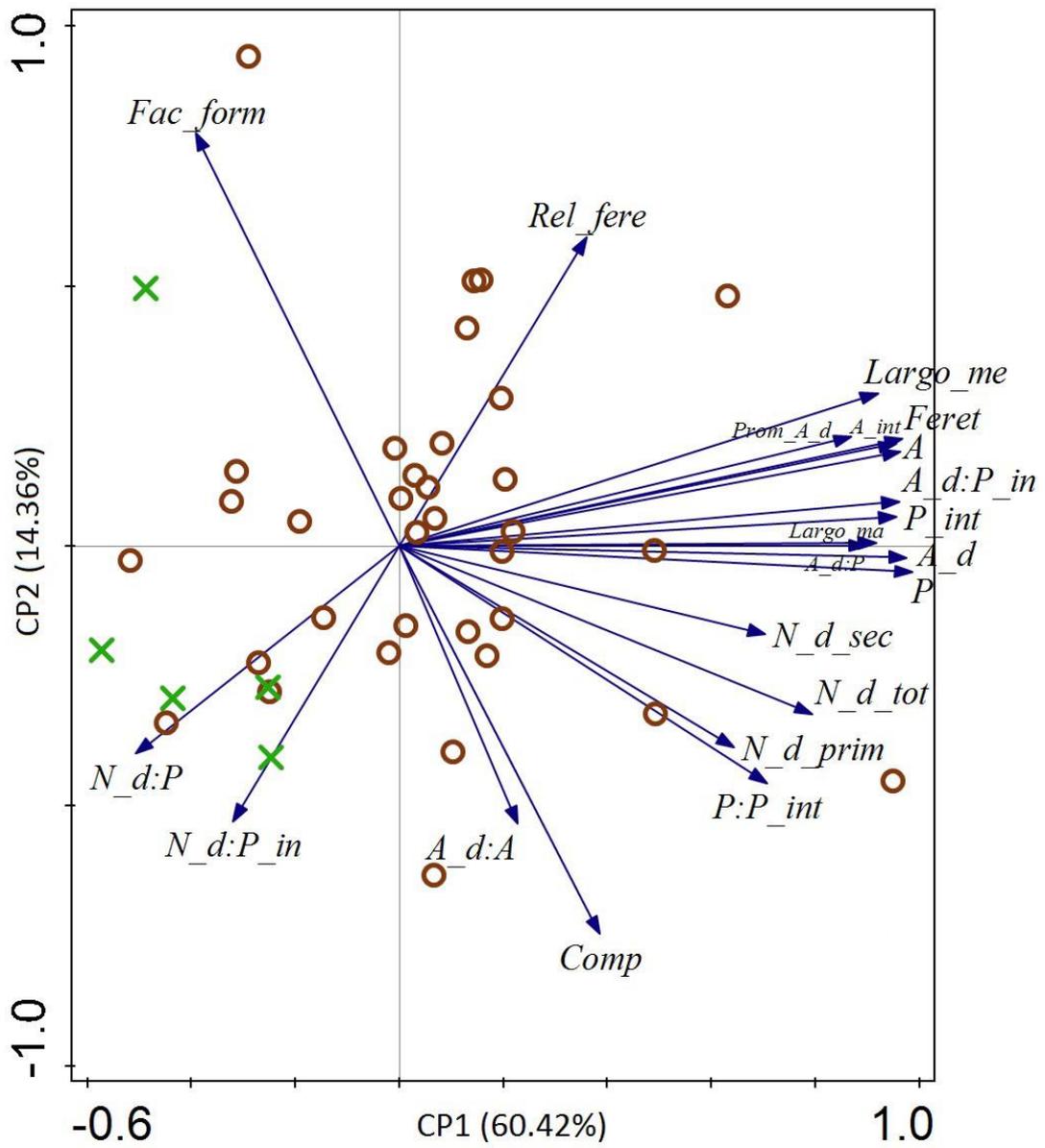
**Figura 7.** Análisis de componentes principales para *N. obliqua*, tanto para su hojarasca como muestras herborizadas, usando los 21 rasgos del análisis digital foliar. X Hojas de herbario; O Hojas de hojarasca.

El componente principal 1 contiene el 46.19% de la variación de los grupos, donde los rasgos que tienen una mayor correlación con este eje son: Feret, largo eje menor, perímetro, largo eje mayor, área total, área interna, área de dientes y perímetro

interno. El componente principal 2 contiene el 25.98% de la varianza, dando un total de 72.17% de la varianza explicada, donde los rasgos que mayor correlación tienen con este eje son las relaciones: número de dientes por unidad de perímetro interno (N\_d:P\_int), número de dientes por unidad de perímetro (N\_d:P), número total de dientes y número de dientes secundarios (Tabla 5).

**Tabla 6.** Rasgos con mayores valores de correlación para cada componente principal (CP) de la figura 7

<b>CP1</b>	<b>Correlación</b>	<b>CP2</b>	<b>Correlación</b>
Feret	0.96	N_d:P_int	0.96
Largo eje menor	0.96	N_d:P	0.94
Perímetro	0.95	Número total dientes	0.82
Largo eje mayor	0.95	Número dientes secundarios	
Área total	0.95		
Área interna	0.94		
Área de dientes	0.92		
Perímetro interno	0.91		



**Figura 8.** Análisis de componentes principales para *N. dombeyi*, tanto para su hojarasca como muestras herborizadas, usando los 21 rasgos del análisis digital foliar. X Hojas de herbario; O Hojas de hojarasca.

El componente principal 1 contiene el 60.42% de la variación de los grupos, donde los rasgos que tienen una mayor correlación con este eje son: perímetro, área de dientes, Feret, área total, área de dientes por unidad de perímetro interno (A\_d:P\_int), área interna y perímetro interno. El componente principal 2 contiene el 14.36% de la varianza, dando un total de 74.78% de la varianza explicada, donde los rasgos que mayor correlación tienen con este eje son las relaciones: factor de forma, compacidad y relación de feret (Tabla 5).

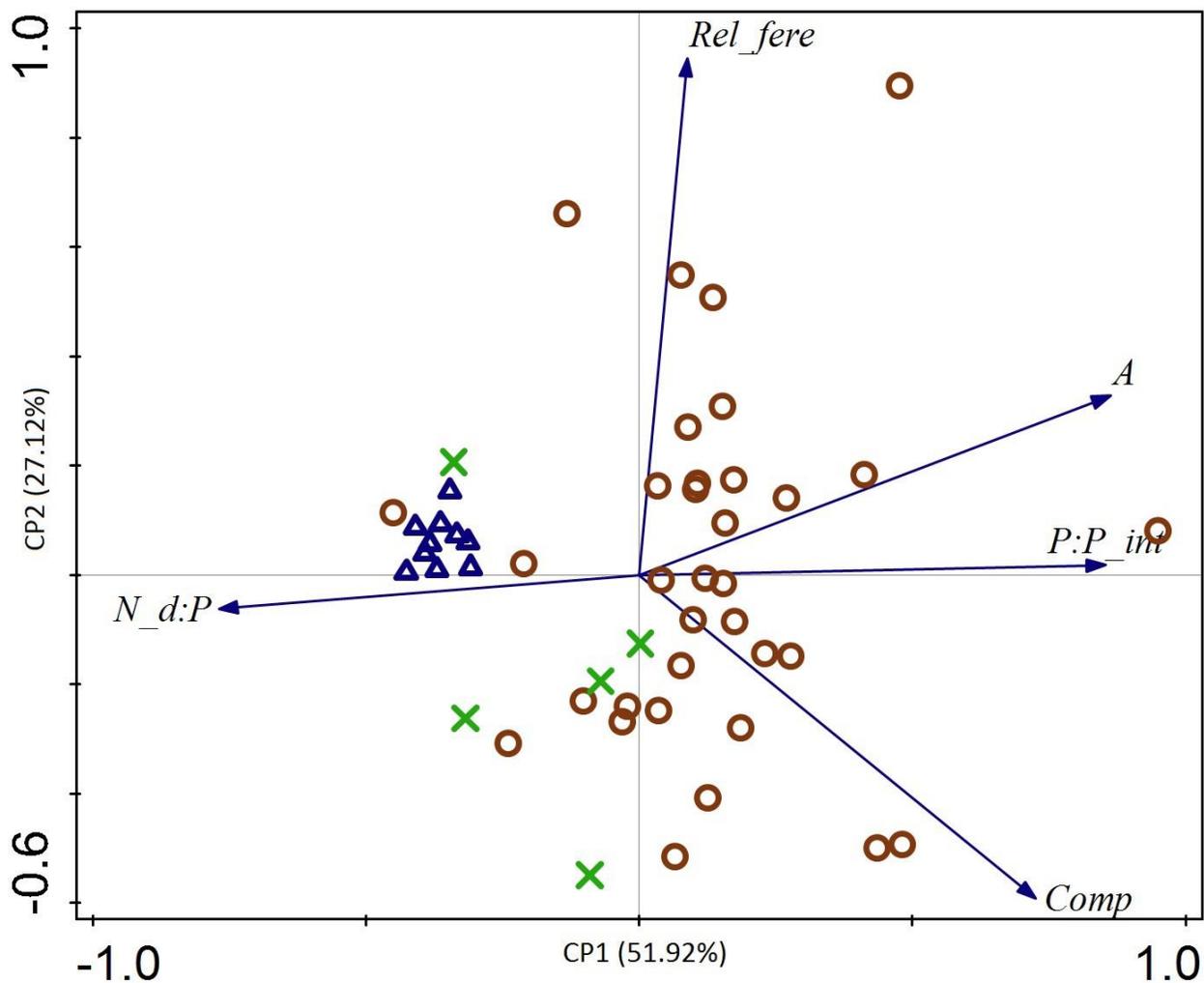
**Tabla 7.** Rasgos con mayores valores de correlación para cada componente principal (CP) de la figura 8

CP1	Correlación	CP2	Correlación
Perímetro	0.99	Factor de forma	0.79
Área de dientes	0.98	Compacidad	-0.75
Feret	0.97	Rel_feret	0.59
Área total	0.96		
A_d:P_int	0.96		
Área interna	0.96		
Perímetro interno	0.95		

Cabe destacar que hay pocas hojas de herbario (5) en cada uno de los análisis mostrados en las figuras 7 y 8 porque hay que recordar que de cada especie herborizada se fotografiaron de 1 a 6 muestras según el protocolo seguido, mientras que en hojarasca llegaban hasta 34.

### **3.6 Análisis de componentes principales para *N. dombeyi*, en su forma de herbario, hojarasca y subfósil**

Se decidió hacer un ACP para una misma especie en 3 estadios distintos: desde vegetación viva herborizada (sin daño), desde hojarasca (daño regular) y desde el yacimiento fósil en Caunahué (supuestamente mayor grado de daño). La especie que cumplía con el requisito de tener datos en esos 3 estadios fue *Nothofagus dombeyi*, ya que los datos de hojarasca y herbario se obtuvieron de este mismo trabajo, mientras que la información del grupo subfósil se extrajo de la tesis de Francisco Salinas, 2014. Como en los casos anteriores, se evaluó eliminar los rasgos autocorrelacionados en un 85% pero sucedió lo mismo que en 3.4: la varianza disminuía alrededor de un 10%. Sin embargo, al bajar el criterio a un 80% (eliminando específicamente los rasgos “número de dientes primarios”, “número de dientes totales” y “área de dientes/área total”) la varianza explicada se logró mantener e incluso subir levemente (79%). Los rasgos finalmente utilizados en el ACP fueron 5: Área total, perímetro total/perímetro interno, compacidad, relación de Feret y número total de dientes/perímetro. La figura 7 muestra el resultado, donde el componente principal 1 representa el 51.9% de la varianza, mientras que el secundario un 27.1% de la misma, dando un total de 79% de varianza explicada.



**Figura 9.** Análisis de componentes principales para *N. dombeyi*, tanto para su hojarasca como muestras herborizadas y subfósiles, usando 5 rasgos del análisis digital foliar. X Hojas de herbario; O Hojas de hojarasca; Δ Hojas subfósiles

El componente principal 1 contiene el 51.92% de la variación de los grupos, donde los rasgos que tienen una mayor correlación con este eje son: área total, perímetro por unidad de perímetro interno (P:P\_int), número de dientes por unidad de perímetro (N\_d:P) y compacidad. El componente principal 2 contiene el 27.12% de la

varianza, dando un total de 79% de la varianza explicada, donde los rasgos que mayor correlación tienen con este eje son las relaciones: relación de feret y compacidad (Tabla 8).

**Tabla 8.** Rasgos con mayores valores de correlación para cada componente principal (CP) de la figura 9

CP1	Correlación	CP2	Correlación
Área total	0.86	Rel_feret	0.94
P:P_int	0.85	Compacidad	-0.59
N_d:P	-0.77		
Compacidad	0.72		

### 3.7 Test de T

Un primer test, usando todos los datos de la comunidad, indicó que los rasgos asociados a la lámina y al grado de disección foliar (ver anexo I) son significativamente distintos entre ambos grupos de estudio, siendo las hojas de herbario más pequeñas y redondas, mientras que los rasgos asociados a los dientes no lo fueron. Sin embargo, un segundo test, usando sólo especies de hojarasca en el grupo herbario, mostró que 7 de los 21 rasgos analizados resultaron distintos entre ambos grupos: P / P interno, relación de Feret, área de dientes, área de dientes / perímetro interno, número de dientes primarios, número de dientes totales y promedio de área de dientes, indicando en general que la hojarasca tiene menor número y área de dientes. Como se puede ver, estos rasgos están estrechamente relacionados a características de los dientes (anexo I) evidenciando la degradación que sufren los bordes de las hojas en el suelo. Las diferencias encontradas en el primer test (asociadas a lámina y disección) se

pueden deber a la mayor cantidad y diversidad de especies en el grupo herbario. Esto se concluye al observar el segundo test, puesto que al “recortar” el grupo herbario (dejando las especies que comparte con hojarasca), las diferencias se enfocan en rasgos asociados a dientes.

El test de T elaborado en especie no coriácea (*N. obliqua*) no indicó diferencias significativas para ningún rasgo, salvo para los rasgos mostrados en tabla 9, de los cuales “factor de forma” y “número de dientes secundarios” son parcialmente significativos.

**Tabla 9.** Promedios, t-test y sus valores p respectivos para los rasgos factor de forma, número de dientes secundarios y razón área de dientes/perímetro interno, para *Nothofagus obliqua*.

	Hojarasca	Herbario			
	Promedio		t-test	P valor	Permutación Monte Carlo (P valor)
Factor de forma	0,35	0,44	-2,11	0,044	0,047
N_d_sec	13,7	21,4	-2,1	0,044	0,048
A_d:P_int	0,51	0,08	3,16	0,004	0,0041

Por otro lado, el test aplicado a la especie coriácea (*N. dombeyi*) sí mostró diferencias para muchos rasgos, teniendo en general la hojarasca mayores valores de áreas (tanto de lámina como de dientes) y perímetros; mientras que el grado de disección fue el mismo y el número de dientes por unidad de área fue mayor para herbario. Estos resultados se podrían explicar por el bajo número de muestras analizadas para el grupo herbario (n=5) vs el de grupo hojarasca (n=34).

En cuanto a la comparación de muestras de hojarasca y herbario con subfósiles de *N. dombeyi*, se obtuvo que las muestras de herbario fueron más similares a las

subfósiles que las de hojarasca: hojarasca/subfósiles sólo tuvieron el número de dientes primarios ( $p=0.1$ ) y relación de Feret ( $p=0.5$ ) iguales, mientras que herbario/subfósiles tuvieron iguales el largo menor ( $p=0,05$ ) y 7 otros rasgos asociados a los dientes distintos.

### **3.8 Análisis de señal filogenética**

Esto se realizó para determinar si los rasgos que tienen una relación con variables ambientales, tienen también inercia filogenética.

El resultado indicó que casi todos los rasgos no presentan inercia filogenética ( $p>0.05$ ), excepto 3 de ellos: promedio de área de dientes ( $p=0.03$ ), número de dientes por unidad de perímetro ( $p=0.02$ ) y número de dientes por unidad de perímetro interno ( $p=0.02$ ).

#### **4. Discusión**

Los UPGMA (figura 2) generados indican que no hay similitud entre sitios cercanos en cuanto a composición de especies para lo herborizado y hojarasca, es decir, no existe un gradiente altitudinal de especies. Aunque podría existir un leve agrupamiento para los sitios en el UPGMA de hojarasca, no hay que olvidar que este grupo constituye un subconjunto del grupo herborizado, por lo que sería lógico que esto suceda.

Para ningún ACP elaborado se detectó una separación importante al comparar alguno de los 21 rasgos medidos en hojarasca vs hojas herborizadas, por lo que no existen, para esta comunidad, diferencias al momento de estudiar un grupo u otro en el análisis digital foliar. Se puede presumir que las proyecciones climáticas elaboradas a partir de los rasgos estudiados tampoco debieran diferir si se hacen a partir de hojas de herbario o de hojarasca. Cabe destacar, sin embargo, que en general las nubes de datos de herbario (X en figuras 4,5,6,7,8) se muestran más compactadas en los gráficos que las nubes de datos de hojarasca (O en figuras 4,5,6,7,8), es decir, existe mucha más variabilidad en las formas de hojarasca, lo cual es lógico porque el daño que ella sufre una vez que cae a suelo es azaroso, generando muchas formas distintas. Los subfósiles (Δ en figura 8), por el contrario, se muestran más compactados, y en zonas cercanas a las muestras herborizadas. En este sentido, sería más conveniente la elaboración de un análogo moderno a partir de hojas herborizadas, como se ha hecho anteriormente.

Se obtuvieron resultados similares a Greenwood (1992), en cuanto a que las hojas de hojarasca fueron menos representativas que las de herbario, en cuanto a su gran variabilidad en tamaño, y a que en ella había una baja cantidad de especies

representadas (en relación al bosque). Esto último se analiza en mayor profundidad a continuación.

Los test de T aplicados para toda la comunidad indicaron que los rasgos asociados a la lámina y disección foliar son los únicos distintos entre herbario y hojarasca, mientras que los relacionados a los dientes no son distintos. Sin embargo al hacer los mismos test pero no considerando del grupo herbario las especies que no compartía con la hojarasca se obtuvieron resultados completamente opuestos: los rasgos asociados a lámina y disección foliar no fueron en general distintos (sólo lo fueron "Perímetro/Perímetro interno" y relación de Feret, respectivamente), mientras que los asociados a dientes sí fueron la mayoría distintos (área de dientes, "área dientes/perímetro", "área dientes/perímetro interno", número de dientes primarios y totales y promedio de área de dientes). Esto significa que la diversidad específica entre ambos grupos es de suma importancia para los resultados finales que se puedan obtener. La diversidad del grupo base para elaborar estimaciones climáticas es un factor fundamental para lograr resultados satisfactorios. La idea de que los rasgos relacionados a los dientes hayan sido los más alterados en hojarasca se refuerza con estudios previos, como el elaborado por Spicer y col (2005), que utilizando PMACH concluyeron que los rasgos más susceptibles a sesgos son los relacionados al margen foliar, y que al parecer son también los más susceptibles al usar fisonomía digital. Este trabajo también apoya lo que Royer y col. (2005) planteaban acerca de que algunas variables del análisis digital de fisonomía foliar requieren hojas con los márgenes intactos. La pérdida del margen foliar tiene gran importancia puesto que el poder discriminatorio de ciertos rasgos (como factor de forma) decrece bruscamente si el borde es alterado (Huff y col 2003).

El test de T utilizado para comparar la especie coriácea con la no coriácea arrojó un resultado contraintuitivo, puesto que la especie coriácea (*N. dombeyi*) tuvo mayor diferencia entre hojarasca y herbario que la especie no coriácea (*N. obliqua*). Cabe mencionar que la mayoría de las muestras de *N. obliqua* provenían de los sitios 2 y 6, mientras que las de *N. dombeyi*, del sitio 5. Habría que corroborar la posible existencia de diferencias considerables en las condiciones de cada uno de estos sitios, las que podrían ser microclimáticas, entendiéndose por microclima al clima cercano a la superficie (suelo), donde plantas y animales viven. En este lugar los factores climáticos como temperatura, humedad, viento y energía, y la tasa de sus cambios en tiempo y elevación sufren variaciones muy rápidas y peculiares, lo que las diferencia en gran manera de lo que ocurre unos metros más arriba en altitud (Rosenberg y col 1983). Por otro lado, futuros estudios deberían estudiar específicamente las tasas de descomposición foliar de estas 2 especies, porque, según estos resultados, *N. dombeyi* podría tener una mayor tasa que *N. obliqua*. Otra diferencia posible entre los sitios podrían ser la cercanía a asentamientos humanos, el posible carácter de corredor ecológico del sitio, posible presencia de pastoreo, etc. Todo esto podría estar afectando las tasas de descomposición biológica o degradación mecánica, por ejemplo.

Existe una mayor similitud entre hojas de herbario con subfósiles que hojas de hojarasca con subfósiles. Esto se podría explicar por lo dicho anteriormente: la existencia de una selección de hojas en el momento del depósito de restos orgánicos vegetales en el fondo del lago. Esto además está respaldado por lo que Greenwood (1992) indica: existiría una correspondencia cercana entre hojas del dosel del bosque en pie (es decir, hojas herborizadas) con hojas depositadas en el fondo de ríos o lagos. Las muestras de hojas en agua pueden ser enriquecidas con hojas de dosel en

comparación a una muestra equivalente de hojarasca de suelo, porque debido al transporte que sufren exhiben mucha mezcla de especies, disminuyendo la presencia de especies dominantes, lo contrario a lo que sucede en hojarasca, donde es típico que una o dos especies dominen las muestras. Sin embargo, cuando existe transporte fluvial, las hojas finalmente depositadas son de menor tamaño. En este mismo trabajo, Greenwood menciona la hipótesis de que las especies presentes al fondo de ríos y lagos son las mismas que dominan el dosel, mientras que en hojarasca hay de todo, incluyendo sotobosque.

En cuanto al análisis de señal filogenética, los rasgos aquí estudiados dieron en su mayoría una ausencia de señal filogenética, excepto para los 3 siguientes rasgos asociados a dientes: promedio de área de dientes, número de dientes por unidad de perímetro y número de dientes por unidad de perímetro interno. Este resultado indica que estos rasgos son sensibles a la composición florística del área estudiada y por tanto menos sensibles a las variaciones climáticas. Salinas (2016) quiso determinar las relaciones de los rasgos foliares y variables climáticas en 10 localidades ubicadas en un gradiente latitudinal en Chile, tanto a nivel intercomunitario como intracomunitario, además de establecer si existe o no un componente histórico (o señal filogenética) asociado. Cabe destacar que una de estas localidades fue precisamente Caunahué. Salinas descubrió que la mayoría de los rasgos fisonómicos presentaban inercia filogenética, excepto la relación de Feret. Este trabajo se realizó a lo largo de un amplio gradiente latitudinal en diversas localidades de Chile, desde los 32° (V Región) a los 54° (XII Región). Esto supone una gran variedad de formas foliares, pero a su vez un importante gradiente de distintos tipos de vegetación, desde bosques esclerófilos a norpatagónicos, con distintos orígenes biogeográficos y disímiles composiciones florísticas lo que influiría en los análisis de señal filogenética. Por otra parte, Hinojosa y

col (2006), utilizando los 31 rasgos de PMACH en bosques costeros de Chile, concluyeron que los ensamblajes modernos existían bajo condiciones ambientales que no encajaban con su fisonomía foliar, indicando la presencia de una fuerte señal filogenética o inercia evolutiva. Hinojosa (2011) recalca que especialmente los márgenes foliares retendrían información filogenética (presencia de señal filogenética), lo que en parte comparte este estudio, pero no para todos los rasgos relacionados al margen (dientes).

Además de la señal filogenética existen otros factores que podrían influir en la fisonomía foliar de las plantas, como por ejemplo dormancia de las hojas, presencia de hojas de sol y/o de sombra (dependiente de muestreo) (Royer y col 2009), tasas de crecimiento o condición edáfica del sitio de estudio (Su y col 2013). Respecto a este último, existe un fenómeno llamado “efecto agua dulce-margen foliar” (Peppe y col 2011), que dice que en hábitats de agua dulce hay mayor porcentaje de especies dentadas. Sin embargo, este sesgo es mínimo en análisis digitales por lo que en el presente estudio no debiera estar presente. De todas maneras, resultaría interesante que estudios futuros complementen sus resultados con análisis acabados de los suelos de los sitios de estudio. Otro efecto importante señalado por Peppe y col (2011) es el “efecto siempreverde”, el cual dice que especies perennes son menos susceptibles a ser dentadas. Este es más propenso a existir en este trabajo porque afecta muchas variables de fisonomía digital y está presente hasta los 16°C de temperatura media anual (la de Caunahué llega hasta los 15,2°C). A esto se suma el hecho de que, en sitios fríos, existe una mayor variabilidad en estados de caracteres foliares relacionados a dientes (Royer & Wilf 2006). Estudios posteriores debieran tener esto en cuenta y tratar de minimizar lo más posible dicho efecto.

## **5. Conclusiones**

En general sí hay diferencias entre el set de muestras de hojarasca y el de herbario, siendo la hojarasca mucho más variable en sus medidas fisionómicas. De esta manera, se rechaza la hipótesis planteada en este trabajo. Al comparar con subfósiles se evidenció que las mediciones fisionómicas de muestras herborizadas eran más cercanas que las de hojarasca, sugiriendo entonces que un análogo moderno basado en material de herbario es suficiente para dar cuenta la variabilidad fisionómica en el registro fósil, y por ende para la estimación paleoclimática.

Los 21 caracteres foliares aquí analizados se podrían complementar con variables económicas foliares, como esperanza de vida, razón masa foliar / área y contenido de nitrógeno, los dos últimos correlacionados a variables de los dientes (Royer y col 2005): en general, desarrollo de dientes largos es sólo posible si expansión foliar es rápida y este rápido crecimiento se correlaciona a altos niveles de nitrógeno y baja masa foliar / área.

Según Fletcher y col (2014), en climas fríos existen menores sesgos tafonómicos, lo que se refuerza en esta tesis. En este sentido sería interesante hacer este mismo trabajo, pero para localidades más cálidas y determinar si existen ahí mayores diferencias entre los grupos de estudio.

Al igual que la recomendación de Greenwood (1992), es necesario intensificar el esfuerzo de muestreo para la hojarasca, de manera que las especies presentes en ella sean similares, en cuanto a cantidad e identidad, a las de herbario. Así mismo, es menester hacer seguimientos de las muestras en el tiempo, para evitar confusiones y/o resultados errados. Esto es transversal a toda la ciencia.

La ausencia de señal filogenética indica que los rasgos varían acorde a la composición florística de la localidad y no por variaciones climáticas. La diferencia de los resultados con Salinas (2016) se basa en el gran gradiente que él usó: de 32° a 54° latitud Sur. Este gradiente incluía un recambio importante de especies a lo largo del gradiente latitudinal por lo que la señal filogenética se magnifica. Por otro lado, se ha evidenciado que la condición edáfica en particular podría influir en la fisionomía foliar de la flora de una localidad (Greenwood, 1992), por lo que sería interesante que estudios posteriores indaguen en este tema, sobretodo en Caunahué.

Los resultados refuerzan la idea de que la utilización de hojas herborizadas es precisa y suficiente para estudios paleoclimáticos y de cambio climático, como se ha hecho hasta ahora. Ahora más que nunca es urgente la elaboración de todo tipo de estudios respecto al cambio climático, y es deseable que sean de diversas áreas científicas, aparte de la paleoecología. El presente estudio es un granito más de arena para esta gran odisea.

## **6. Referencias**

- Burnham, R. J., Wing, S. L., & Parker, G. G. (1992). The reflection of deciduous forest communities in leaf litter: implications for autochthonous litter assemblages from the fossil record. *Paleobiology*, 30-49.
- Burnham, R.B. & Tonkovich, G.S. (2011). Climate, leaves, and the legacy of two giants. *New Phytologist* (2011) 190: 514–517
- Di Castri, F. & Hajek, E.R. (1976). Bioclimatología de Chile. Vicerrectoría Académica, Universidad Católica de Chile, Santiago. 129 pp
- Dilcher, D. L., Kowalski, E. A., Wiemann, M. C., Hinojosa, L. F., & Lott, T. A. 2009. A climatic and taxonomic comparison between leaf litter and standing vegetation from a Florida swamp woodland. *American Journal of Botany*, **96**: 1108-1115.
- Dirección General de Aguas- DGA (2004). Diagnóstico y clasificación de los cursos y cuerpos de agua según objetivos de calidad, cuenca del Río Bueno. Ministerio de Obras Públicas, Gobierno de Chile. 141 pp.
- Fletcher, T. L., Moss, P. T., & Salisbury, S. W. 2014. Foliar physiognomic climate estimates for the Late Cretaceous (Cenomanian–Turonian) Lark Quarry fossil flora, central-western Queensland, Australia. *Australian Journal of Botany*, **61(8)**, 575-582.
- Greenwood, D. R. (1992). Taphonomic constraints on foliar physiognomie interpretations of Late Cretaceous and tertiary palaeoclimates. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 71(1), 149-190.
- Greenwood D.R., Wilf P., Wing S.L. & Christophel D.C. (2004). Paleotemperature estimation using leaf-margin analysis: Is Australia different? *Palaaios*, 19, 129-142.
- Hammer, Ø., Harper, D. A. T., & Ryan, P. D. 2001. Past: Paleontological Statistics Software Package for education and data analysis. *Palaeontología Electrónica* 4(1):9 pp.
- Hinojosa, L. F., Armesto, J. J., & Villagrán, C. 2006. Are Chilean coastal forests pre-Pleistocene relicts? Evidence from foliar physiognomy, palaeoclimate, and phytogeography. *Journal of Biogeography*, **33**: 331-341.
- Hinojosa, L. F., Pérez, F., Gaxiola, A., & Sandoval, I. 2011. Historical and phylogenetic constraints on the incidence of entire leaf margins: insights from a new South American model. *Global Ecology and Biogeography*, **20**: 380-390.

Hoffmann, A. 1982. Flora silvestre de Chile, Zona Araucana. Edición 4. Fundación Claudio Gay. *Santiago*.

Maddison, W. P. and D.R. Maddison. 2016. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.10 Available at: <http://mesquiteproject.org>

Maddison, W.P. & Slatkin, M. (1991) Null models for the number of evolutionary steps in a character on a phylogenetic tree. *Evolution*, **45**, 1184-1197

Muñoz, M. Flora de Chile en su hábitat. Chile. Extraído de (<http://floradechile.cl/dicotyle/species/fnooblig.htm>, visitado 16/6/2016)

Peppe, D. J., Royer, D. L., Cariglino, B., Oliver, S. Y., Newman, S., Leight, E., ... & Wright, I. J. 2011. Sensitivity of leaf size and shape to climate: global patterns and paleoclimatic applications. *New Phytologist*. **190**: 724-739.

Royer, D. L., & Wilf, P. 2006. Why do toothed leaves correlate with cold climates? Gas exchange at leaf margins provides new insights into a classic paleotemperature proxy. *International Journal of Plant Sciences*. **167**: 11-18.

Rosenberg, N.J., Blad, B.L. and Verma, S.B. 1983. Microclimate: the biological environment. Second Edition. John Wiley & Sons.

Royer, D. L. 2012. Climate reconstruction from Leaf Size and Shape: New developments and challenges. *The Paleontological Society Papers*, Volume 18, pp. 195-212

Royer, D. L., Wilf, P., Janesko, D. A., Kowalski, E. A., & Dilcher, D. L. 2005. Correlations of climate and plant ecology to leaf size and shape: potential proxies for the fossil record. *American Journal of Botany*, **92**: 1141-1151.

Salinas, F.M. 2014. Variación de la fisionomía foliar de *Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Oerst. a los cambios climáticos del pasado. Seminario de Título entregado a Universidad de Chile, Facultad de Ciencias

Salinas, F.M. 2016. Variación fisionómica foliar y clima en un gradiente latitudinal en Chile. Tesis de Magíster entregada a Universidad de Chile, Facultad de Ciencias.

Sandoval, Isabel (2009). Diversidad, morfología foliar y clima: análogos modernos para el estudio de hojas fósiles en el sur de Chile. Seminario de Título entregado a Universidad de Chile, Facultad de Ciencias

Sinnott, E. W., & Bailey, I. W. 1915. Investigations on the Phylogeny of the Angiosperms 5. Foliar Evidence as to the Ancestry and Early Climatic Environment of the Angiosperms. *American Journal of Botany*, 2:1-22.

Spicer, R. A., Herman, A. B., & Kennedy, E. M. (2005). The sensitivity of CLAMP to taphonomic loss of foliar physiognomic characters. *Palaios*, 20(5), 429-438.

Spicer, R. A., Bera S., De Bera S., Spicer T.E.V., Srivastava G., Mehrotra R., Mehrotra N. & Yang J. (2011) Why do foliar physiognomic climate estimates sometimes differ from those observed? Insights from taphonomic information loss and a CLAMP case study from the Ganges Delta. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 302 (2011) 381–395

Stewart, D. C., Greenwood, D. R., & Boon, P. I. (2009). The chemical constraints upon leaf decay rates: Taphonomic implications among leaf species in Australian terrestrial and aquatic environments. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 157(3), 358-374.

Su, T., Spicer, R. A., LIU, Y. S. C., Huang, Y. J., Xing, Y. W., Jacques, F. M., ... & Zhou, Z. K. 2013. Regional constraints on leaf physiognomy and precipitation regression models: a case study from China. *Bull. Geosci.* **88**: 595-608.

Ter Braak C.J.F. & Šmilauer P. (2012): Canoco reference manual and user's guide: software for ordination, version 5.0. Microcomputer Power, Ithaca, USA, 496 pp.

Uhl, D., Klotz, S., Traiser, C., Thiel, C., Utescher, T., Kowalski, E., & Dilcher, D. L. (2007). Cenozoic paleotemperatures and leaf physiognomy—a European perspective. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 248(1), 24-31.

Wilf, P., Wing, S. L., Greenwood, D. R., & Greenwood, C. L. 1998. Using fossil leaves as paleoprecipitation indicators: An Eocene example. *Geology*. **26**: 203-206

Wolfe, J. A. 1993. A method of obtaining climatic parameters from leaf assemblages. *US Geological Survey Bulletin*. 2040, 73 pp

ANEXO I. Detalle de los 21 rasgos usados en análisis digital foliar

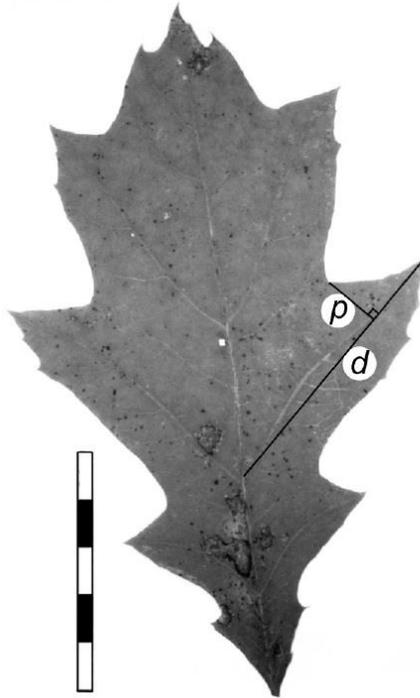
Nº	Rasgo	Abreviatura	Tipo	Unidad de medida	Definición
1	Área total	A	Lámina	cm <sup>2</sup>	Área de lámina foliar con dientes
2	Área interna de lámina	A_int	Lámina	cm <sup>2</sup>	Área de lámina foliar sin dientes
3	Perímetro total	P	Lámina	cm	Perímetro de lámina foliar con dientes
4	Perímetro interno de lámina	P_int	Lámina	cm	Perímetro de lámina foliar sin dientes
5	Largo mayor de lámina	Largo_ma	Lámina	cm	Línea más larga medible a través de la lámina (eje mayor)
6	Largo menor de lámina	Largo_me	Lámina	cm	Línea más larga perpendicular al eje mayor
7	Perímetro total/Perímetro interno	P: P_int	Lámina	Adimensional	Razón de perímetros
8	Compacidad	Comp	Grado de disección foliar*	Adimensional	$P^2/A$ (mayor valor, mayor disección*)
9	Factor de forma	Fac_form	Grado de disección foliar*	Adimensional	$4\pi A/P^2$ (menor valor, mayor disección*)
10	Diámetro de Feret	Feret	Grado de disección foliar*	cm	Diámetro de un círculo con la misma área que lámina foliar
11	Relación de Feret	Rel_Feret	Grado de disección foliar*	Adimensional	Diámetro de Feret/Eje mayor
12	Área de dientes	A_d	Dientes	cm <sup>2</sup>	Área total - Área interna
13	Área de dientes/Área total	A_d:A	Dientes	Adimensional	
14	Área de dientes/Perímetro total	A_d:P	Dientes	cm	
15	Área de dientes/Perímetro interno	A_d:P_int	Dientes	cm	
16	Número de dientes primarios	N_d_prim	Dientes	conteo	Dientes con igual incisión y/o asociados a venas de mayor tamaño
17	Número de dientes secundarios	N_d_sec	Dientes	conteo	Dientes con incisiones distintas y/o asociados a venas más pequeñas
18	Número total de dientes	N_d_tot	Dientes	conteo	Suma de los rasgos 16 y 17
19	Promedio de área de dientes	Prom_A_d	Dientes	cm <sup>2</sup>	Área de dientes/Número de dientes primarios
20	Número total de dientes/Perímetro total	N_d:P	Dientes	1/cm	
21	Número total de dientes/Perímetro interno	N_d:P_int	Dientes	1/cm	
	*Grado de disección: un mayor valor indica una forma menos circular (y viceversa).				

ANEXO II. Datos obtenidos de tesis de Francisco Salinas. Los utilizados en este seminario sólo fueron los correspondientes a subfósiles y su unidad es mm y mm<sup>2</sup> (dependiendo de el rasgo a medir).

Muestra	años/localidad	area	areainterna	Ptotal	Pinterno	P:PI	compacidad	f forma	eje long	eje trans	feret	rferet	areadientes	AD:AL	AD:P	AD:PI	nDP	nDS	dientesTOTAL	AD:nDP	NDT:P	NDT:PI
Hoja subfósil	15537	77.402	72.305	41.720	36.898	1.132	23.038	0.552	14.800	7.228	9.804	0.669	5.097	0.067	0.121	0.137	17.667	9.667	27.333	0.292	0.656	0.743
	14954	106.629	99.450	50.146	43.695	1.148	24.216	0.529	17.496	8.404	11.519	0.665	7.179	0.069	0.141	0.163	24.400	6.233	30.633	0.298	0.623	0.718
	14777	88.026	81.882	44.844	38.903	1.152	23.736	0.537	15.626	7.737	10.424	0.668	6.144	0.071	0.134	0.155	24.033	5.600	29.633	0.261	0.672	0.775
	14585	67.179	61.940	39.688	34.445	1.149	23.949	0.539	13.839	6.724	9.163	0.670	5.240	0.078	0.129	0.149	22.333	4.333	26.667	0.235	0.676	0.776
	13767	92.452	86.375	47.303	40.975	1.151	24.454	0.522	16.566	7.798	10.780	0.656	6.077	0.066	0.127	0.147	26.433	6.100	32.533	0.231	0.693	0.794
	13341	87.114	82.195	46.128	39.759	1.160	24.961	0.512	15.921	7.760	10.411	0.662	4.920	0.058	0.105	0.123	24.200	4.667	28.867	0.205	0.634	0.735
	13176	69.080	64.959	40.397	35.334	1.144	24.074	0.530	14.079	6.830	9.270	0.672	4.121	0.061	0.101	0.116	22.800	4.300	27.100	0.182	0.683	0.780
	6738	113.912	107.853	49.873	43.696	1.137	23.034	0.553	17.331	8.711	11.684	0.677	6.059	0.054	0.116	0.132	26.533	4.700	31.233	0.225	0.645	0.732
	5162	106.580	100.700	50.530	43.822	1.154	24.588	0.520	17.285	8.437	11.499	0.673	5.880	0.056	0.114	0.132	26.733	6.400	33.133	0.225	0.669	0.772
	4999	90.425	85.869	45.368	40.623	1.115	23.611	0.543	16.380	7.529	10.550	0.652	4.556	0.051	0.098	0.109	26.233	4.200	30.433	0.173	0.679	0.758

### ANEXO III

La diferenciación de un lóbulo y un diente se hace de la siguiente manera (ver en Figura \*): se traza el eje de simetría del diente/lóbulo desde el ápice del mismo hasta la vena principal ( $d$ ). Luego se proyecta una recta perpendicular ( $p$ ) desde el seno apical del diente/lóbulo hacia  $d$ . Si la distancia del ápice a  $p$  es mayor a  $0.25d$ , el carácter es un lóbulo.



**Figura \***. Hoja de *Quercus rubra* presentada en Apéndice I de Royer 2005 que ilustra la regla lóbulo vs diente. Líneas  $p$  y  $d$  están definidas en texto. Barra de escala = 1 cm.

## ANEXO IV

Para saber si el rasgo tiene o no inercia filogenética se hace lo que muestra la siguiente imagen en software Mesquite. Las barras azules muestran la distribución para el rasgo determinado (en este ejemplo, área foliar) con sus permutaciones correspondientes. Las líneas rojas marcan los percentiles 25 y 75. Si el valor de parsimonia en la ventana celeste (4952 en este ejemplo) cae entre las líneas rojas, el rasgo ha evolucionado más de lo esperado por azar, por lo que no poseería inercia filogenética.

