



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES Y
DE LA CONSERVACIÓN DE LA NATURALEZA

ESCUELA DE CIENCIAS FORESTALES

DEPARTAMENTO DE GESTIÓN FORESTAL Y SU MEDIO
AMBIENTE

FLUJOS DE CO₂ Y CH₄ EN FOLLAJE DE SEIS ESPECIES DEL
MATORRAL Y BOSQUE ESCLERÓFILO EN LA RESERVA
NACIONAL ROBLERÍA DEL COBRE DE LONCHA

Memoria para optar al Título
Profesional de Ingeniera Forestal

FRANCISCA BELÉN HERRERA SALDAÑA

Profesor Guía: Sr. Horacio Bown Intveen, Ingeniero Forestal, Doctor en Ciencias
Forestales.

Santiago, Chile

2018

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES Y DE LA
CONSERVACIÓN DE LA NATURALEZA**

**ESCUELA DE CIENCIAS FORESTALES DEPARTAMENTO DE
DEPARTAMENTO GESTIÓN FORESTAL Y SU MEDIO AMBIENTE**

**FLUJOS DE CO₂ Y CH₄ EN FOLLAJE DE SEIS ESPECIES DEL
MATORRAL Y BOSQUE ESCLERÓFILO EN LA RESERVA
NACIONAL ROBLERÍA DEL COBRE DE LONCHA**

Memoria para optar al Título
Profesional de Ingeniera Forestal

FRANCISCA BELÉN HERRERA SALDAÑA

Calificaciones:	Nota	Firma
Prof. Guía Sr. Horacio Bown Intveen	...6,8...
Prof. Consejero Sr. Juan Pablo Fuentes Espoz	...6,0...
Prof. Consejero Sr. Alejandro García Mora	...6,8...

DEDICATORIA

A mi Padre Celestial, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a Roger -mi amado esposo- quien ha sido mi soporte y por estar siempre en los momentos más importantes de mi vida, por ser el ejemplo de perseverar hasta el fin y por los consejos que han sido de gran ayuda espiritual para mi vida y crecimiento, son evidencia de su gran amor. ¡Gracias cotito!

A Mi madre Inés, por darme la vida y porque siempre me dijo: ¡estudia! Mamá gracias por darme una profesión para mi futuro.

AGRADECIMIENTOS

Ha llegado con mucho sacrificio, el termino de este proceso y de la ilusión de que me mantuvo inquieta por 5 años de estudio.

Han pasado los años y ya no somos los mismos, al recordar el inicio y término, me doy cuenta de que no estuve sola, mi esposo Roger Salgado que me enseña más cada día de la vida, mi madre que me decía: “Debes estudiar y obtener una carrera profesional”. Su aliento siempre permitió mantenerme firme y es a quienes les debo todo lo que soy y lo que tengo.

Ellos más que nadie son protagonistas del sacrificio, tristezas y alegrías que, junto al Padre Celestial, siempre me ayudaron a encontrar la verdad y la salida del túnel, con su amor, paciencia y cariño.

Los sinceros agradecimientos a mis compañeros de carrera y de trabajos. Como no recordar el esfuerzo realizado en más de una ocasión, por aquella fotocopia de última hora, de un apunte importante para estudiar.

A nuestra casa del conocimiento, la Universidad de Chile, lugar de enormes jornadas de trabajo, no sólo académicas, también conocimos la amistad.

A los profesores que orientaron nuestra formación profesional, con valores muy humanos y éticos. Docentes de gran capacidad intelectual, que siempre escucharon mis debilidades y las fortalecieron con sabiduría. Especialmente, a mi profesor guía de memoria Horacio Bown Intveen.

Tambien agradecer el financiamiento de la Comisión Nacional de investigación Científica y Tecnológica (CONICYT) a través del proyecto FONDECYT N° 1150877 titulado “Plant and soil methane fluxes as influenced by water, temperature and radiative stresses across a disturbance gradient in sclerophyll ecosystems in central Chile”, para la realización de esta investigación que se tradujo en mi memoria.

Por último, esculpir en el mármol, la historia de esta memoria. No ha sido una tarea sencilla, ha tenido que transitar por caminos complicados, lluviosos y calurosos. Recopilar textos, ordenar capítulos, seleccionar técnicas y métodos, “borrar y rehacer”, alimentarse de paciencia y volver a empezar.

En fin, una sola palabra, un humilde pensamiento, una idea original, una definición útil y distinta, que pueda agregar al bagaje de este estudio, habrá contribuido con creces a nuestro interés por la Ingeniería Forestal.

Gracias, el camino está listo para la siega.

La autora.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Caracterización del matorral y bosque esclerófilo.....	2
1.2. Gases de efecto invernadero	3
1.2.1. Emisiones de dióxido de carbono	4
1.2.2. Emisiones de metano	4
1.2.3. Sistema de cámara cerrada.....	5
2. MATERIAL Y MÉTODO	6
2.1. Área de estudio	6
2.2. Material de estudio	7
2.3. Medición de flujos de CO ₂ y CH ₄	9
2.4. Análisis estadístico.....	12
3. RESULTADOS Y DICUSIÓN.....	13
3.1. Caracterización de las especies.....	13
3.2. Concentraciones atmosféricas de CH ₄	13
3.3. Ensayo piloto	15
3.4. Flujos de CO ₂ y CH ₄	16
3.5. Controles ambientales de los flujos de CH ₄	20
4. CONCLUSIÓN	23
5. BIBLIOGRAFÍA	24

INDICE DE CUADROS

Tabla 1: Instrumentos para la medición de variables ambientales cuyos factores pueden influir sobre la captura y emisión de CO ₂ y CH ₄ en las plantas.....	8
Tabla 2: Caracterización biométrica de las especies en estudio.....	13
Tabla 3: Resultados de ensayo piloto para las especies Colliguay y Quillay, en procesos de fotosíntesis y respiración, r^2 , Valor de P y la ecuación de cada relación (concentración CH ₄ v/s tiempo).....	15
Tabla 4: Correlación de Pearson a la luz de los flujos de CO ₂ , CH ₄ , su razón CO ₂ /CH ₄ y variables ambientales.	20

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Localización de la Reserva Nacional Roblería del Cobre de Loncha	6
Figura 2: Especies del matorral y bosque esclerófilo seleccionadas para realizar las mediciones de flujos de CO ₂ y CH ₄	8
Figura 3: Medición de concentraciones de CO ₂ durante la fase de fotosíntesis (A) y respiración autotrófica (B). Medición de concentraciones de CH ₄ durante la fase de fotosíntesis (C) y respiración autotrófica (D).....	11
Figura 4: Concentración de CH ₄ (ppmv) para testigos ambientales (A) y en testigos de cámara (B) a las diferentes horas del día en temporada de verano e invierno y solo en invierno respectivamente.....	14
Figura 5: Mediciones ensayo pilotos de concentraciones de CH ₄ (ppmv) en las especies Colliguay - Quillay para fotosíntesis y Quillay (1 y 2) para respiración.	15
Figura 6: Tasas de fotosíntesis y respiración autotrófica de ramas según especie y temporada. Números en negrita representan la proporción de masa de follaje a masa total de la rama. .	17
Figura 7: Flujos de CH ₄ suelo (nmol m ⁻² s ⁻¹) en follaje (a y b) y suelos (c), según especies, temporada y condición de luminosidad.....	18
Figura 8: Flujos de CH ₄ (nmol m ⁻² s ⁻¹) en las plantas relacionados con flujos de CH ₄ en el suelo en temporada de verano e invierno.....	19
Figura 9: Flujos de CH ₄ (nmoles m ⁻² s ⁻¹) en temporada de verano e invierno al variar la tasa de fotosíntesis (a) y el Déficit de presión de vapor (kPa) de la atmósfera (b).	22

RESUMEN

El dióxido de carbono (CO₂) y el metano (CH₄) son los principales gases de efecto invernadero (GEI), cuyo aumento sostenido en la atmósfera contribuye al calentamiento global y al cambio climático. El ecosistema esclerófilo de Chile, es un nodo de biodiversidad global cada vez más amenazado, por la actividad humana. El objetivo de este estudio fue verificar si las plantas de este ambiente emiten CH₄ en la luz (fotosíntesis) y oscuridad (respiración autotrófica), en seis especies de árboles y arbustos contrastantes (*Cryptocarya alba*, *Quillaja saponaria*, *Lithraea cáustica*, *Acacia caven*, *Colliguaja odorifera* y *Retanilla trinervia*) de los matorrales y los bosques esclerófilos de Chile Central, comparando un verano caluroso y seco frente a un invierno húmedo de temperaturas moderadas. También se esperaba evaluar la relación de los factores ambientales sobre el control de los flujos de CH₄ en las plantas. Usando cámaras estáticas, se midieron los flujos de CO₂ y CH₄ de las plantas mediante un analizador de gases infrarrojo y cromatografía de gases, respectivamente. Las tasas de fotosíntesis fueron mucho mayores en invierno que en verano, aumentando generalmente en la serie: *C. alba*, *L. caustica*, *Q. saponaria*, *C. odorifera*, *R. trinervia* y *A. caven*. La respiración de ramas fue mayor en invierno que en verano, y además mayor en el grupo formado por *A. caven*, *R. trinervia* y *C. odorifera* en comparación con las especies esclerófilas *C. alba*, *L. caustica* y *Q. saponaria*, probablemente asociado a la menor fracción de follaje de rama en el primer grupo comparado con el segundo. Las plantas en la luz durante el verano -generalmente- capturaron CH₄, mientras que en invierno, los flujos de CH₄ en la planta no fueron significativamente diferentes de cero, excepto para *A. caven* que fue una fuente de éste a la atmósfera (intervalo de confianza del 95%, 12-151 nmol m⁻² s⁻¹). En la oscuridad, las plantas generalmente fueron sumideros de CH₄ durante el verano, no así en invierno donde no fueron significativamente diferente de cero. La mayor captura de CH₄ se observó en *R. trinervia* en verano (intervalo de confianza del 95%, 89-287 nmol m⁻² s⁻¹) en comparación con las otras especies. Los flujos de CH₄ en las plantas y en el suelo siguieron un patrón similar que sugiere una fuerte correlación entre ellos. Los flujos de CH₄ en el suelo fueron generalmente negativos en el verano capturando CH₄ (sumideros) y positivos en invierno (fuentes); que se corresponde con las plantas que capturan CH₄ en verano y sin flujos en invierno excepto para *A. caven*, que emite. Esto sugiere un mecanismo de difusión simple, mediante el cual el CH₄ producido en el suelo por metanogénesis en invierno se transporta por el árbol hacia las copas y se libera a través de lenticelas y estomas; mientras que lo opuesto ocurre en verano cuando los metanotrofos del suelo capturan CH₄ y generan un gradiente por el cual el CH₄ se mueve hacia el suelo desde la atmósfera a través de la planta donde es capturado.

Palabras claves: Dióxido de carbono, metano, bosque esclerófilo, fotosíntesis, gases de efecto invernadero.

ABSTRACT

Carbon dioxide (CO₂) and methane (CH₄) are the main greenhouse gases (GHG), which sustained increase in the atmosphere contribute to global warming and climate change. The Chilean sclerophyllous ecosystem is a global biodiversity hotspot increasingly threatened by human activity. The aim of this study was to test whether plants actually emit CH₄ in the light (photosynthesis) and dark (autotrophic respiration), in six contrasting tree and shrub species (i.e. *Cryptocarya alba*, *Quillaja saponaria*, *Lithraea caustica*, *Acacia caven*, *Colliguaja odorifera* and *Retanilla trinervia*) of the sclerophyllous shrub and forests of Central Chile in the hot dry summer versus the mild wet winter. We also aimed to better understand the environmental drivers that control plant CH₄ fluxes. Using static chambers, we measured plant CO₂ and CH₄ fluxes using an infrared gas analyzer and gas chromatography, respectively. Photosynthetic rates (A_{CO_2}) were much higher in winter than summer generally increasing in the series: *C. alba*, *L. caustica*, *Q. saponaria*, *C. odorifera*, *R. trinervia* and *A. caven*. Branch respiration was higher in winter than summer, being also highest in *A. caven*, *R. trinervia* and *C. odorifera* compared to the sclerophyllous species, probably explained by the smaller fraction of foliage to total branch of the former compared to the latter. Plants in the light during summer generally capture CH₄, while in winter plant CH₄ fluxes were not significantly different from zero except for *A. caven* which was a source (95% confidence interval, 12-151 nmol m⁻² s⁻¹). In the dark, plants were generally sinks for CH₄ during summer but not different from zero in winter. The highest CH₄ capture was observed in *R. trinervia* in summer (95% confidence interval, 89-287 nmol m⁻² s⁻¹) compared to the other species. Plant and soil CH₄ fluxes followed a similar pattern suggesting a strong correlation. Soil CH₄ fluxes were generally negative in summer capturing CH₄ (sinks) and positive in winter (sources); which corresponded well with plants capturing CH₄ in summer and with no fluxes in winter excepting for *A. caven*. This suggests a simple diffusion mechanism, by which CH₄ produced in the soil by methanogenesis in winter is transported upwards and released through lenticels and stomata; while the opposite occurs in summer when soil metanotrophs capture CH₄ and pose a gradient by which CH₄ moves downwards from the atmosphere through the plant down to the soil where it will be captured.

Key Words: Carbon dioxide, methane, sclerophyllous forest, photosynthesis, greenhouse gases.

1. INTRODUCCIÓN

Los matorrales esclerófilos de la zona central de Chile,-declarado- uno de los 25 “Hotspot” de biodiversidad del mundo, comprenden una diversidad de organismos vegetales, que se relacionan a nivel de composición, estructura y función (Myers *et al.*, 2000). El matorral esclerófilo, se encuentra ubicada en una zona de transición climática y de relieves montañosos, presenta un carácter relictual en algunas especies desarrolladas en el sector costero, que le otorga una importante diversidad de arbustos espinosos, suculentas y árboles esclerófilos y laurifolios de altura (Gajardo, 1994).

Consecuente con lo anterior, los matorrales esclerófilos, están siendo fuertemente afectados por el cambio climático. El creciente aumento de la temperatura global que en promedio ha aumentado en 0,8°C desde el año 1880 (IPCC, 2006) concurrente con una disminución del agua disponible, impactará entre un 40 y 70% de las especies del bosque esclerófilo (Netting y Phillips, 2013).

Ahora bien, los gases de efecto invernadero (GEI) corresponden a moléculas de gas que absorben radiación solar y la reemiten dentro del espectro infrarrojo, contribuyendo al calentamiento de la biosfera (Idowu *et al.*, 2013). Entre los GEI más importantes se encuentran el dióxido de carbono (CO₂) y el metano (CH₄), que forman parte de la composición atmosférica y que son relevantes para la regulación climática (Conrad, 1996). El CH₄ posee una capacidad entre 21-30 veces mayor para atrapar calor respecto al CO₂, contribuyendo significativamente al cambio climático global (Carmona *et al.*, 2005). Se considera que un 10% de las concentraciones de CO₂ presentes en la atmósfera son utilizadas en la fotosíntesis cada año, mediante el proceso físico químico de conversión de energía lumínica a energía química, para la mantención de los tejidos y reserva de carbohidratos o formación de nuevos tejidos (Chapin *et al.*, 2002). Aproximadamente un 50% del CO₂ absorbido es utilizado para la respiración, cuyos procesos pueden ser afectados por cambios de temperatura, disponibilidad del recurso hídrico, nutrientes, concentraciones de CO₂ y contaminantes en el ambiente (Field *et al.*, 1992).

El CH₄ es el segundo GEI más importante después del CO₂, y se cree que contribuye en un 17% al calentamiento global (Cai *et al.*, 2016), amentando su concentración rápidamente por las actividades antropogénicas, en torno a 500 millones de toneladas por año. Ahora bien, hoy en día no existe información suficiente sobre si las plantas emiten o secuestran metano, y consecuentemente es un tema digno de atención.

Consecuente con lo anterior, el presente estudio pretende evaluar los flujos de CO₂ y CH₄ en los procesos de fotosíntesis y respiración en seis especies del matorral y bosque esclerófilo: *Acacia caven* (Mol) H. et A (Espino), *Cryptocarya alba* (Mol) Looser (Peumo), *Lithraea caustica* (Molina) Hook. & Arn. (Litre), *Quillaja saponaria* Molina (Quillay), *Retanilla trinervia* (Gillies & Hook.) Hook. & Arn (Trevo) y *Colliguaja odorifera* Molina(Colliguay),

durante dos estaciones del año -verano e invierno- teniendo en cuenta las condiciones atmosféricas de temperatura, radiación y humedad relativa.

Desde aquí, la presente memoria de investigación tiene como objetivo general: “comparar los flujos de dióxido de carbono (CO₂) y metano (CH₄) durante la fotosíntesis y respiración autotrófica, en seis especies del matorral y bosque esclerófilo, en las estaciones de verano e invierno”. Además, la presente investigación tendrá los siguientes objetivos específicos:

- Comparar los flujos de CO₂, CH₄ y su razón CO₂/CH₄ durante el proceso de fotosíntesis en dos estaciones, verano e invierno, para seis especies del matorral y bosque esclerófilo.
- Comparar los flujos de CO₂, CH₄ y su razón CO₂/CH₄ durante el proceso de la respiración autotrófica en dos estaciones, verano e invierno, para seis especies del matorral y bosque esclerófilo.
- Analizar aquellas variables ambientales como temperatura, humedad relativa, radiación y déficit de presión de vapor, que pueden incidir sobre los flujos de CO₂ y CH₄.

1.1. Caracterización del matorral y bosque esclerófilo

Los ecosistemas mediterráneos en Chile se ubican entre los 31°S y los 37°S, extendiéndose por la costa hacia el norte hasta los 23°S y por el llano central hacia el sur hasta los 39°S (Luebert y Pilscoff, 2006a). El clima presenta influencias oceánicas, oscilaciones térmicas de 15°C entre verano e invierno, con marcadas temporadas de verano seco y un breve periodo de lluvias durante el invierno (Niemeyer y Cereceda, 1989).

La vegetación del ecosistema mediterráneo es variada, existiendo 2.400 especies nativas vasculares aproximadamente, representadas por matorrales esteparios, matorrales espinosos, bosques espinosos y bosques esclerófilos (Flores, 2009). La composición florística de Chile central posee un alto valor de endemismo, debido a cambios sufridos en los periodos Terciarios y Cuaternarios, además de las condiciones heterogéneas de la topografía y microclima. Tales condiciones destacan a esta región del planeta dentro de los 37 puntos prioritarios de biodiversidad global (Aguayo *et al.*, 2009). Sin embargo, los ecosistemas mediterráneos en Chile han sufrido grandes impactos debido a procesos de degradación y desertificación, producto de la extracción de leña, pastoreo, ramoneo, incendios forestales, habilitación de terrenos agrícolas y cambios de cobertura de suelo. Menos del 1% del área original de estos ecosistemas se encuentran en el Sistema Nacional de Áreas Silvestres Protegidas del Estado (SNASPE) (Fuentes y Prenafeta, 1988; Armesto *et al.*, 2010).

La distribución de especies vegetales del bosque esclerófilo se encuentra caracterizada por diferentes condiciones microclimáticas, según su ubicación. En la Región Metropolitana en laderas altas de la vertiente oriental presentes en la Cordillera de la Costa y de la Precordillera andina entre 1.400 y 2.000 msnm se encuentra dominado por *Puya coerulea* Lindl. y *Colliguaja odorifera* Molina, acompañado de *Eryngium paniculatum* Cav. & Dombey ex F. Delaroche, *Haplopappus integerrimus* (Hook. & Arn.) H. M. Hall, *Calceolaria polyfolia* Hook., *Chorizanthe virgata* Benth., *Gamochaeta americana* (Mill.) Wedd., *Tweedia birostrata* (Hook. & Arn.) Hook. & Arn., *Adesmia confusa* Ulibarri, *Gochnatia foliolosa* (D. Don) D. Don ex Hook. & Arn., *Ephedra chilensis* C. Presl. y arbustos bajos de *Lithrea caustica* (Molina) Hook. & Arn, con presencia de *Jubaea chilensis* (Molina) Baillon en algunos lugares (Luebert y Pliscoff, 2006b).

En la depresión intermedia de sectores planos, entre los ríos y esteros entre 200 y 800 msnm se generan condiciones semiáridas para el desarrollo del bosque espinoso abierto dominado por *Prosopis chilensis* (Molina) Stuntz y *Acacia caven* (Mol) H. et A., acompañados de un estrato arbustivo principalmente de *Cestrum parqui* L'Hér., *Muehlenbeckia hastulata* (Sm.) I.M. Johnst., *Schinus polygamus* (Cav.) Cabrera, *Proustia cuneifolia* D. Don y un estrato herbáceo de especies introducidas de *Avena barbata* Pott ex Link y *Cynara cardunculus* L. En algunos lugares es posible encontrar *Lithraea caustica* (Molina) Hook. & Arn. y *Quillaja saponaria* Molina (Luebert y Pliscoff, 2006b).

En la Cordillera de Los Andes, en laderas bajas entre los 600 y 1.200 msnm se encuentra el matorral espinoso arborescente, dominado por *A. caven* y *Baccharis paniculata* DC. También es posible encontrar especies como *Q. saponaria*, *L. caustica* y *Kageneckia oblonga* Ruiz & Pav. En el estrato arbustivo se desarrollan *C. odorífera*, *R. trinervia*.y *Trevoa quinquinervia* Gillies & Hook., acompañado de especies herbáceas principalmente *Helenium aromaticum* (Hook.) L.H.Bailey, *Moscharia pinnatifida* Ruiz & Pav. y *Phacelia brachyantha* Benth.e introducidas como *Avena barbata* Pott ex Link, *Bromus berterioanus* Colla y *Centaurea melitensis* L. (Luebert y Pliscoff, 2006b).

1.2. Gases de efecto invernadero

Los GEI componen un volumen menor al 0,1% del total de gases atmosféricos, los cuales tienen la propiedad de absorber y disipar la radiación infrarroja desde la superficie de la tierra en forma de calor. Por ello, son considerados fundamentales en el balance térmico de la Tierra para la generación de vida, dado que sin su existencia se estima que el planeta tendría una temperatura de -18°C, haciendo poco viable la vida del planeta (IPCC, 2001; Rodríguez y Mance, 2009). Estos gases se encuentran naturalmente en la atmósfera y corresponden a dióxido de carbono (CO₂), metano (CH₄), óxido nitroso (N₂O) y ozono (O₃), producidos por partículas gaseosas que han existido por millones de años y que absorben energía solar que incide sobre la superficie terrestre (González, 2009).

Dentro de los principales GEI se encuentran el CO₂ y el CH₄, que se producen de manera natural, aumentando sostenidamente sus concentraciones, por las actividades humanas. Los niveles de CO₂ en la atmósfera actualmente superan las 400 ppm respecto a las 285 ppm que se registraban en 1880 y CH₄ supera los 1.874 ppb de los 700 ppb registrados en 1750 (Netting y Phillips, 2013; Field *et al.*, 1992).

1.2.1. Emisiones de dióxido de carbono.

Los reservorios y flujos de CO₂ que ocurren al interior de un ecosistema natural, están contenidos en la biomasa vegetal, animal y en el suelo en forma de microflora, microfauna y materia orgánica en distintos grados de descomposición. Ahora bien, el balance de CO₂ es el resultado de los flujos de este gas (entradas y salidas) en la interface biósfera - atmósfera representado esencialmente por la fotosíntesis de las plantas y la respiración por plantas, animales y descomponedores, durante un periodo de tiempo.

El CO₂ es el medio de transferencia de carbono más rápido de la naturaleza, es fijado por organismos fotosintéticos y devueltos a la atmósfera a través de la respiración. Su periodo de vida es entre 50 – 200 años, tiempo difícil de establecer debido a que presenta un ciclo continuo entre la atmósfera, océanos y biosfera terrestre que involucra una serie de procesos con escalas de tiempo diferentes. Es clasificado dentro de los gases de efecto invernadero de larga vida (GEILV), es químicamente estable y persiste en la atmósfera durante escalas de tiempo, desde décadas a siglos o más, ejerciendo una influencia en el clima a largo plazo (IPCC, 2007; Honty, 2011).

1.2.2. Emisiones de metano

El CH₄ es el principal producto de la digestión anaeróbica de la materia orgánica, producido por fuentes naturales y antropogénicas. Cabe mencionar que los humedales son la principal fuente natural de CH₄, mientras que las principales fuentes antropogénicas son: la disposición de residuos, la ganadería, la quema de biomasa, cambios de uso de suelo y la producción de energía (Denman *et al.*, 2007).

El comportamiento y permanencia de CH₄ en la atmósfera equivale entre 23-25 veces el de CO₂ para atrapar calor y un periodo de vida aproximadamente entre 10-100 años, siendo clasificado dentro de los gases de efecto invernadero de larga vida (GEILV). Su concentración atmosférica actual es de 1,8 ppm y realiza una contribución significativa, del orden del 17%, al calentamiento climático siendo sus fuentes relativamente bien conocidas (IPCC, 2007; Solomon *et al.*, 2007; Honty, 2011).

Estudios relativamente recientes han descubierto la emisión de metano (CH_4) en plantas, lo cual ha despertado el interés dado a que sus emisiones pueden llegar a contribuir entre un 10% y un 30% a la cantidad global de metano en el planeta (Lowe, 2006). Keppler *et al.* (2006), afirma que una de las principales fuentes de emisión de metano son las bacterias que crecen en ambientes sin oxígeno de los campos inundados de arroz, pero que también bajo condiciones aeróbicas las plantas pueden emitir metano. Por ello, señala que “parte de la emisión de metano que se le atribuye a las bacterias corresponderían a las plantas”. Con la esterilización de hojas, demostró que las emisiones de CH_4 la hacen muchas especies en estado vivo como también muertas, esto debido a la acción de la pectina, una sustancia empleada por las plantas para construir a su estructura de soporte, descartándose la producción de CH_4 por bacterias en condiciones anóxicas. Ahora bien, se evidenció que la eliminación previa de la pectina en plantas detuvo la producción de CH_4 bajo la radiación UV, lo que demostró que la pectina puede ser una fuente de CH_4 bajo la influencia de la radiación UV, incluyendo la luz solar natural (Bruhn *et al.* 2009).

Cabe entonces preguntarse ¿Las especies vegetales de matorrales y bosques esclerófilos emiten metano? y en el caso que si emitan metano ¿Qué factores ambientales controlan sus flujos?

1.2.3. Sistema de cámara cerrada

Para determinar las emisiones de CO_2 y CH_4 , las técnicas basadas en cámaras son las más utilizadas para las mediciones de gases de efecto invernadero en los ecosistemas terrestres (Denmead, 2008; Butterbach-Bahl *et al.*, 2011). Entre éstas, se destacan las cámaras dinámicas que integran un analizador de gases y un sofisticado sistema automatizado que minimiza los errores de muestreo derivados de la técnica. A pesar de reducir los errores de medición y de obtener más datos, su costo de operación la hace menos accesible a diferencia de la cámara estática cerrada, que posee un diseño práctico y adecuado para trabajar en campo, pero con algunos sesgos asociados al diseño, como la difusión de aire desde el interior de la cámara hacia el ambiente, y el aumento de la temperatura y humedad al interior de la cámara (Lasso y Silva, 2010).

Para la fabricación de las cámaras se debe tener en consideración que los materiales de construcción no sean reactivos (acero inoxidable, aluminio, PVC, polipropileno, polietileno, o plexiglás). Para reducir el aumento de temperatura al interior de las cámaras, generalmente se utiliza un color blanco, recubierto con material reflectante, o aislados usando espuma de poliestireno, en el exterior de las cámaras (Barton *et al.*, 2008).

2. MATERIAL Y MÉTODO

2.1. Área de estudio

El área de estudio corresponde a la Reserva Nacional Roblería del Cobre de Loncha, ubicada aproximadamente en los $34^{\circ}08' S$ y los $71^{\circ} 57' W$ en la comuna de Alhué, Provincia de Melipilla, Región Metropolitana. De acuerdo con Avilez (2001) posee una superficie de 5.870 ha (ver Figura 1). Fue creada el 25 de julio 1996, mediante Decreto Supremo N° 186 del Ministerio de Agricultura, estando administrada por CONAF Región de O'Higgins (CONAF, 2000). Alberga un gran número de especies de flora nativa y endémica. Se inserta en dos regiones vegetacionales de acuerdo con Gajardo (1994): Región del Matorral y del Bosque Esclerófilo en la exposición norte y Región del Bosque Caducifolio, principalmente en la exposición sur.

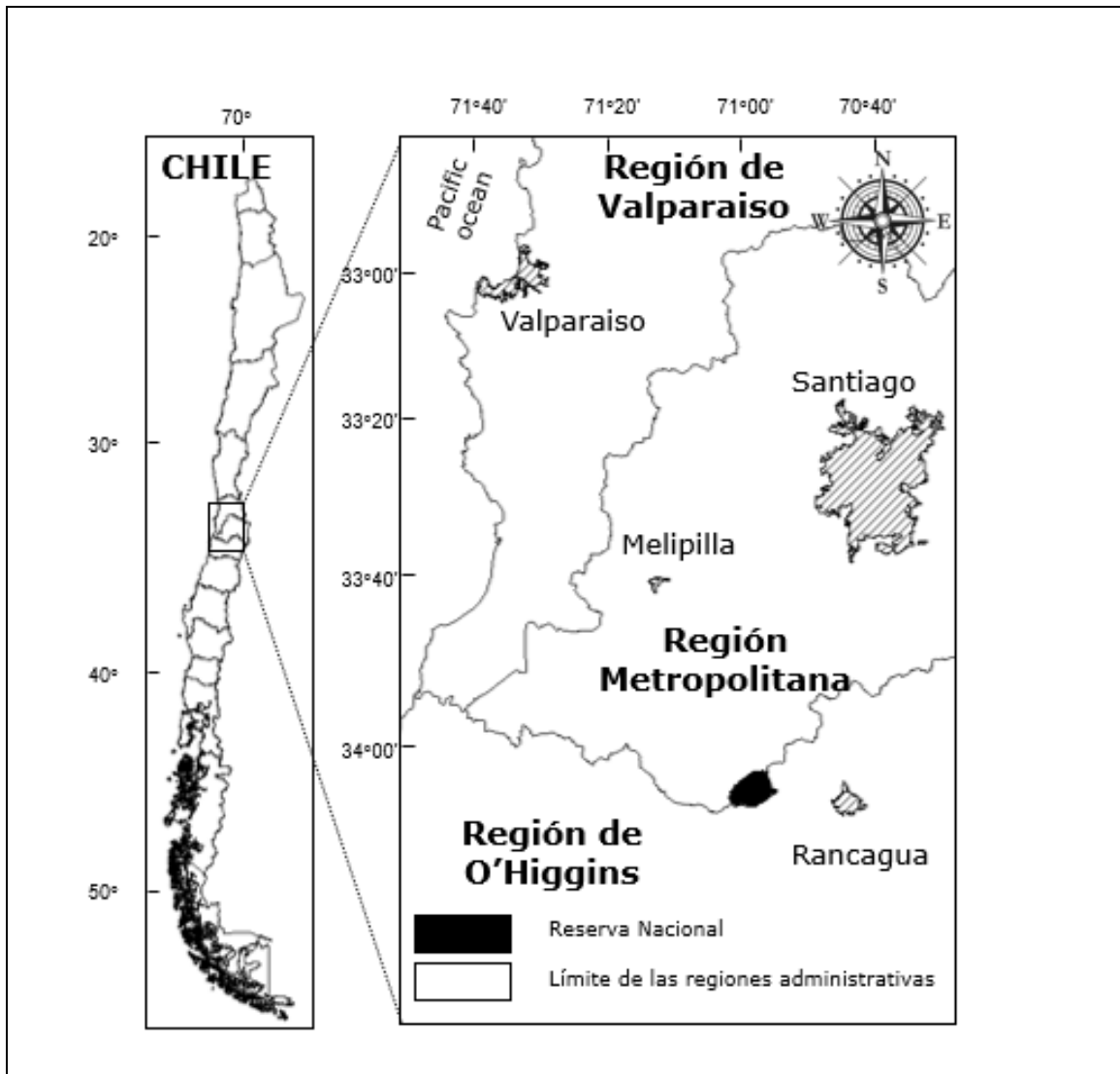


Figura 1: Localización de la Reserva Nacional Roblería del Cobre de Loncha.

Las mediciones se realizaron en parcelas de 25×25 m (625 m²), ubicadas en una ladera de exposición norte dentro de la Reserva Nacional. Las parcelas representan matorrales y bosques esclerófilos con distintos grados de perturbación y asociaciones vegetales (PLQ, QTC y ESP), donde PLQ (peumo-litre-quillay) es la menos perturbada, QTC (quillay-trevo-colliguay) medianamente perturbada y ESP (espinal) es la más perturbada, lo cual se evidencia por la composición de especies, índice de área foliar (IAF) y porcentaje de cobertura arbórea que presentan las diferentes formaciones esclerófilas. Cada situación fue representada por tres parcelas. Para este caso, se utilizaron nueve parcelas que representaron las tres condiciones de degradación (PLQ, QTC y ESP).

La situación PLQ está dominada por las especies arbóreas peumo (*C. alba*), litre (*L. caustica*) y quillay (*Q. saponaria*), su estructura corresponde a un bosque esclerófilo por monte bajo, presenta una cobertura arbórea entre 50 a 75% e IAF de $3,26$ m²m⁻². La situación QTC está dominada por las especies arbustivas tevo (*R. trinervia*) y colliguay (*C. odorifera*), con algunos individuos de especies arbóreas (principalmente quillay), su estructura es un matorral espinoso, con cobertura de especies arbustivas de 50% y de especies arbóreas de 15%. En conjunto, la formación presenta un IAF de $2,84$ m²m⁻². Finalmente, la situación más perturbada ESP está dominada por la especie arbustiva espino (*A. caven*), con una cobertura herbácea densa de pastos anuales. Su estructura es un bosque abierto xerófito con presencia ocasional de individuos arbóreos emergentes de las especies quillay, peumo y litre.

2.2. Material de estudio

Para el presente estudio se muestrearon un total de 60 plantas seleccionadas al azar en las nueve parcelas o en sus alrededores, correspondientes a 10 ejemplares de cada una de las especies: Peumo, Litre, Quillay, Espino, Colliguay y Trevo (Figura 2).

Cada uno de los individuos se eligió con exposición al sol durante todo el día o la mayor parte de él. La selección de las plantas se realizó bajo un patrón de distancia de 10 metros entre ellas para evitar la influencia y dependencia biológica. A cada individuo seleccionado se le midió la altura, el diámetro de copa, el número de vástagos y el diámetro a la altura de tocón (DAC) (Tabla 2).

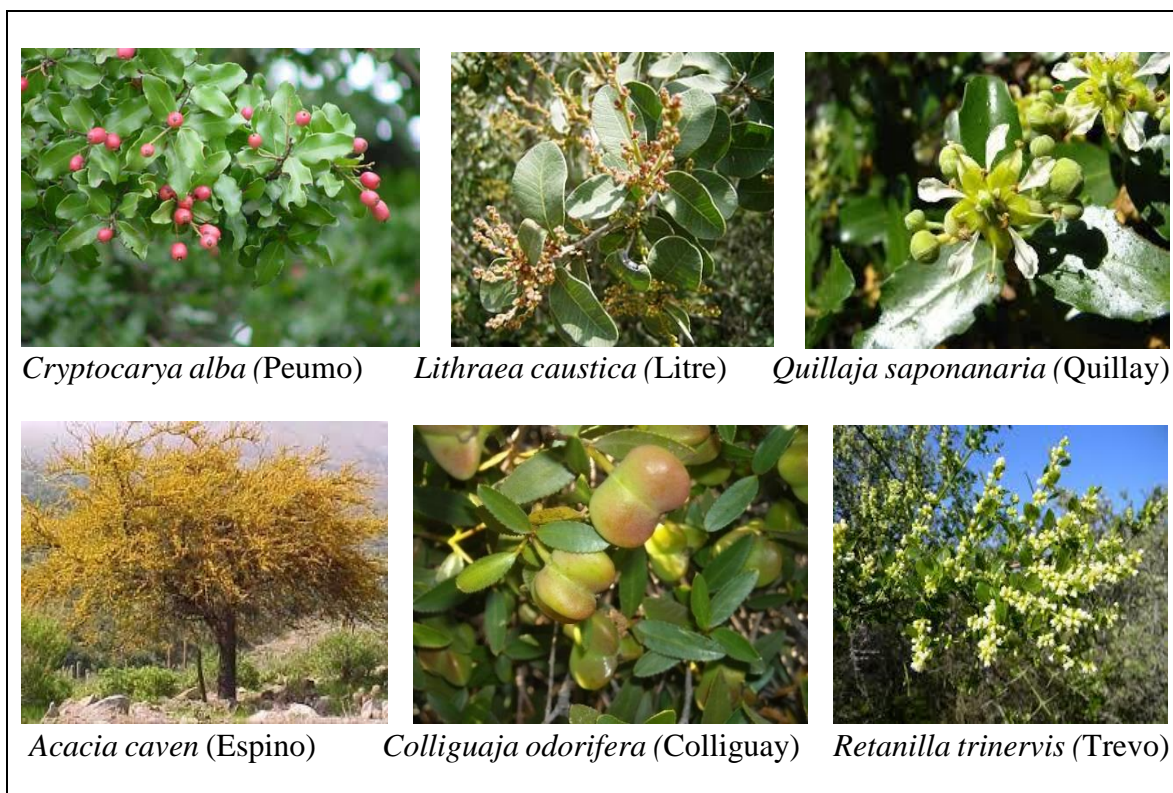





Figura 2: Especies del matorral y bosque esclerófilo seleccionadas para realizar las mediciones de flujos de CO₂ y CH₄.

Las variables ambientales consideradas potencialmente influyentes sobre el flujo de gases en estudio son la temperatura, radiación, y humedad relativa circundante de cada rama. Estas variables se midieron constantemente y durante el día entre las 10:00 y 17:00 horas, a través de un data logger Decagon Em50, unido a un piranómetro (PYR) con detección de radiación solar entre 380 y 1.120 nm de longitud de onda y un sensor PASS VP-3 modelo Decagon Devices (USA) para determinar temperatura y humedad relativa ambiental (Tabla 1).

Tabla 1: Instrumentos para la medición de variables ambientales cuyos factores pueden influir sobre la captura y emisión de CO₂ y CH₄ en las plantas.

Variable	Instrumentos de medición		
Temperatura ambiental (°C)	Data logger Em50 con system a ECH2O (1) - sensor PASS VP-3 modelo Decagon Devices (USA) (2)		
Humedad relativa (%)			
		(1)	(2)

Radiación solar (W/m ²)	Data logger Em50 con sistema ECH ₂ O (1) - piranómetro (PYR) (3)	 (3)
Déficit de presión de vapor (kPa)	$DPV = e_s - e_a$	

El déficit de presión de vapor (DPV) se define como la diferencia entre la presión parcial de vapor de agua (e_a) y la presión parcial del aire seco (e_s) (Francisco y Villalobos, 2009). El DPV se calculó de la siguiente manera:

$$DPV = e_s - e_a \quad \text{(Ecuación 1)}$$

Donde:

DPV = Déficit de presión de vapor (kPa)

e_s = presión de vapor de agua a saturación a una temperatura del aire dada (kPa).

e_a = presión de vapor de agua actual (presión parcial de vapor de agua en la atmósfera) (kPa).

$$e_s = 0.611 \exp[17.2 T (^{\circ}\text{C})/T(^{\circ}\text{C}) + 237.3] \quad \text{(Ecuación 2)}$$

Donde:

e_s = Corresponde a la presión de vapor de agua a saturación a una temperatura del aire dada (kPa).

T = Corresponde a la temperatura del aire en un momento dado ($^{\circ}\text{C}$).

$$e_a = [HR(\%)]/100 \quad \text{(Ecuación 3)}$$

Donde:

e_a = Corresponde a la presión de vapor de agua actual (presión parcial de vapor de agua en la atmósfera) (kPa).

HR = Corresponde a la humedad relativa del aire en un momento dado (%).

2.3. Medición de flujos de CO₂ y CH₄

Se midieron los flujos de CO₂ y CH₄ en las 60 plantas seleccionadas (10 por especie), en la luz (fotosíntesis) y en la oscuridad (respiración autotrófica), en verano e invierno. Por lo tanto, hubo 60 plantas \times 2 condiciones de luz \times 2 temporadas, lo que arrojó 240 mediciones. Las mediciones se realizaron en días sin lluvia entre las 10 am y las 5 pm en las siguientes fechas: del 10 al 20 de enero de 2017 (verano) y del 5 de junio al 12 de julio de 2017 (invierno). Después de medir la fotosíntesis de la planta; la cámara se cubrió completamente

con una tela negra; registrando la respiración autotrófica. Los flujos de CO₂ se midieron durante un periodo de 90 segundos.

Para la extracción correcta de las muestras gaseosas, se realizaron mediciones pilotos en la Reserva Nacional Roblería del Cobre del Loncha, durante el mes de octubre y noviembre de 2016. A través de un sistema cerrado de cámara estática, se obtuvieron 6 muestras de aire por rama a distintos tiempos, con una jeringa de 25 ml, primero en fotosíntesis y luego con la cámara cubierta, en respiración autotrófica. Las extracciones consistieron en homogenizar la muestra de aire en la jeringa mediante el bombeo de 3 veces, un minuto antes de cada extracción, los tiempos definidos para el piloto fueron de 30 segundos, 1, 2, 5, 10 y 20 minutos, manteniéndose cerrada la cámara durante los 20 minutos. Las muestras se almacenaron en viales de vidrio Labco Exetainer® de 12 ml, con tapón de rosca pre-evacuados de color blanco y de goma gris, distribuidos por Labco Limited, Reino Unido. El traslado hacia el laboratorio de análisis fue adecuado a las recomendaciones de Parkin y Venterea (2010) y Collier *et al.* (2014). Las muestras fueron analizadas en el Laboratorio de Suelos de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Concepción en un cromatógrafo de gases Perkin Elmer® Clarus GC.

Las mediciones de los flujos de CO₂ y CH₄ de la planta se llevaron a cabo de forma consecutiva, es decir, los flujos de CO₂ y CH₄ se midieron en la luz primero y luego en la oscuridad. La cámara se ventiló durante 120 segundos antes de comenzar las nuevas mediciones. Para los flujos de CH₄ de la planta, la cámara cerrada (volumen 2.356 cm³) se selló durante 300 segundos antes de extraer una muestra de gas utilizando jeringas de polietileno provistas de llaves de nylon (25 ml) y se inyectaron en viales de 12 ml previamente evacuados (Exetainers, Labco Ltd., Reino Unido).

También, se tomaron muestras testigos ambientales de CH₄, para los flujos de CH₄ en las temporadas de verano e invierno, cada dos horas, a las 11:00, 13:00, 15:00 y 17:00 horas. Además, se midieron las concentraciones de CH₄ al final de 5 minutos en las cámaras selladas, pero sin plantas, en la temporada de invierno solamente para los procesos de fotosíntesis y respiración, en dos horas del día, a las 11:00 y 15:00 horas. Lo anterior, se realizó para verificar que no hubiera diferencias entre las concentraciones de CH₄ en la atmosfera versus la cámara cerrada sin planta, lo que sugeriría que cualquier variación en la concentración de CH₄ en la cámara con planta se debe a ésta última y no a otro factor.

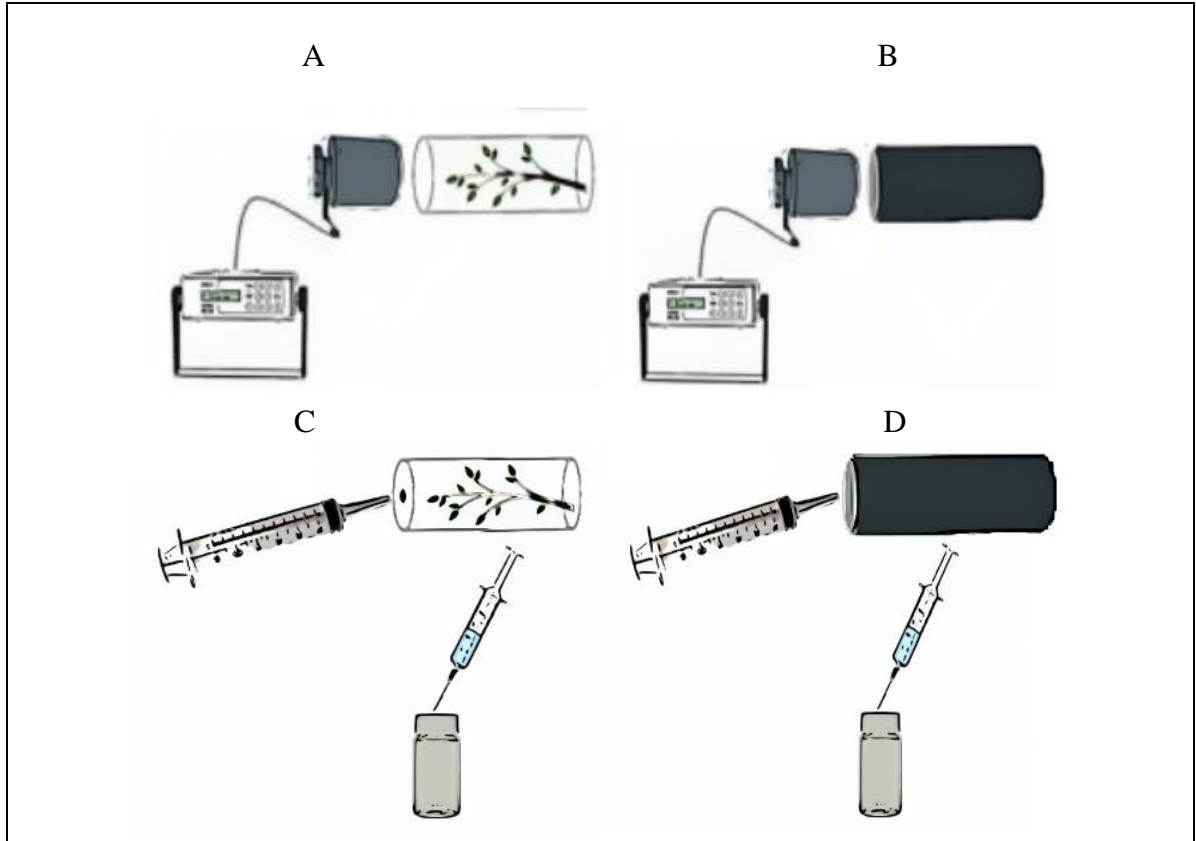


Figura 3: Medición de concentraciones de CO₂ durante la fase de fotosíntesis (A) y respiración autotrófica (B)¹. Medición de concentraciones de CH₄ durante la fase de fotosíntesis (C) y respiración autotrófica (D)².

Para el cálculo de flujos de CH₄ y CO₂, cada una de las ramas muestreadas fueron extraídas cuidadosamente con una tijera de podar, sin perder ningún componente y sin dañar al individuo, posteriormente fueron almacenadas en bolsas de papel individualmente y etiquetadas. En el mismo sitio antes de su almacenaje, se obtuvo una fotografía de cada muestra, para lo que se dispuso de una hoja de papel blanco junto a dos reglas en la esquina superior y lateral de la hoja.

Las muestras de ramas colectadas fueron secadas a 70°C por 48 horas en un horno de aire forzado. Luego cada rama y por componentes presentes (hojas, flores y frutos) fueron pesadas en una balanza. Se utilizó el programa ImageJ, para estimar el área foliar de las hojas fotografiadas en fresco (Kolukisaoglu y Thurow, 2010). Los flujos de CO₂ fueron corregidos (F_c , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) de acuerdo con el área foliar fresca de cada una de las muestras, según a la ecuación 4:

$$F_c = F \times A \times A_f^{-1} \times 6.3131 \quad \text{(Ecuación 4)}$$

¹ A y B muestran las mediciones realizadas con el sistema portátil analizador compacto EGM-4 (PP systems).

² C y D muestran las mediciones realizadas mediante la extracción de aire para análisis cromatográfico.

Donde:

F_c = Corresponde al flujo de CO₂ (μmoles de CO₂ m⁻² s⁻¹).

F = Corresponde al flujo de CO₂ (gr CO₂ m⁻² h⁻¹) no corregido entregado por el instrumento.

A = Corresponde al área de la cámara (cm²).

A_f = Corresponde al área foliar fresca (cm²).

Para calcular el flujo de CH₄ a partir de las concentraciones obtenidas por cromatografía, se utilizó el promedio de las concentraciones de CH₄ ambientales y el área foliar fresca, además de un factor constante (K= 44,6) de transformación de unidad, con la ecuación revisada de Collier *et al* (2014):

$$F_{CH_4} = P \times K \times V \times A^{-1} \quad \text{(Ecuación 5)}$$

Donde:

F_{CH_4} = Corresponde al flujo de CH₄ por unidad de área foliar y tiempo (nmoles m⁻² s⁻¹).

P = Corresponde a la diferencia entre la concentración de CH₄ promedio ambiental y la concentración de CH₄ del individuo al interior de la cámara con rama en su interior.

V = Corresponde al volumen de la cámara (m³).

A = Corresponde al área foliar en estado fresco (m²).

2.4. Análisis estadístico

Para analizar si los flujos de CO₂ y CH₄ y la razón CO₂/CH₄, fueron influidos por la especie y la temporada, se utilizaron modelos lineales (Análisis de Varianza) cuando se cumplieron los supuestos de normalidad y homocedasticidad. Cuando no se cumplieron los supuestos, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Cuando existieron diferencias significativas entre tratamientos, dichas diferencias fueron discriminadas con la prueba de comparaciones múltiples de Tukey (paramétrica) o Nemenyi (no paramétrica).

Luego con el fin de corregir las respuestas e identificar las variables ambientales influyentes (temperatura, radiación, humedad relativa y déficit de presión de vapor) sobre los flujos de CO₂ y CH₄ en especies del bosque esclerófilo en procesos de fotosíntesis y respiración en las temporadas de verano e invierno, se realizó un análisis de correlación de Pearson, y se ajustaron modelos generales lineales.

3. RESULTADOS Y DICUSIÓN

3.1. Caracterización de las especies

Los árboles medidos (es decir: *C. alba*, *Q. saponaria*, *A. caven*, *L. cautica*) presentaron un rango del DAC de 2,9 – 36,6 cm (promedio 19,8 cm), diámetros de copa entre 0,7 – 8,2 m (promedio 4,5 m), alturas entre 1,6 – 21,8 m (promedio 11,7 m) y numero de vástagos entre 1 – 15 (promedio 8). Para los arbustos (es decir: *C. odorifera* y *R. trinervis*) las alturas oscilaron entre 1,5 – 3 m (promedio 2,3), mientras que los diámetros de copa entre 1,3 - 4,5 m (promedio 2,9). Trevo y Espino presentaron los mayores cambios fenológicos de verano a invierno.

Tabla 2: Caracterización biométrica de las especies en estudio.

Rango				
Especie	DAC (cm)	Diámetro de copa (m)	Altura (m)	N° vástagos
Colliguay	3.5-5	2-4.5	1.6-2.8	> 15
Espino	9.2-36.6	3-7.7	1.9-4	1 - 15
Litre	1.6-16.5	2-5.3	1.6-5.1	1 - 15
Peumo	2.9-20.2	0.7-4.5	1.8-21.8	1 - 15
Quillay	3.8-25.5	2.5-8.2	2.4-11.8	1 - 5
Trevo	<5.00	1.3-4	1.5-3	6 - 15

3.2. Concentraciones atmosféricas de CH₄

Las concentraciones de CH₄ de las muestras testigos ambientales (Figura 4A) no presentaron diferencias significativas durante las diferentes horas del día en las temporadas de verano (P=0,22) e invierno (P=0,29). En la temporada de verano promedió $2,05 \pm 0,3$ ppmv y en invierno $2,07 \pm 0,53$ ppmv de CH₄ entre las 10:00 y 17:00 horas del día (ver figura 4). Lo anterior permitió utilizar la concentración promedio de CH₄ de los testigos ambientales para calcular los flujos de CH₄ de las ramas de Colliguay, Espino, Litre, Peumo Quillay y Trevo.

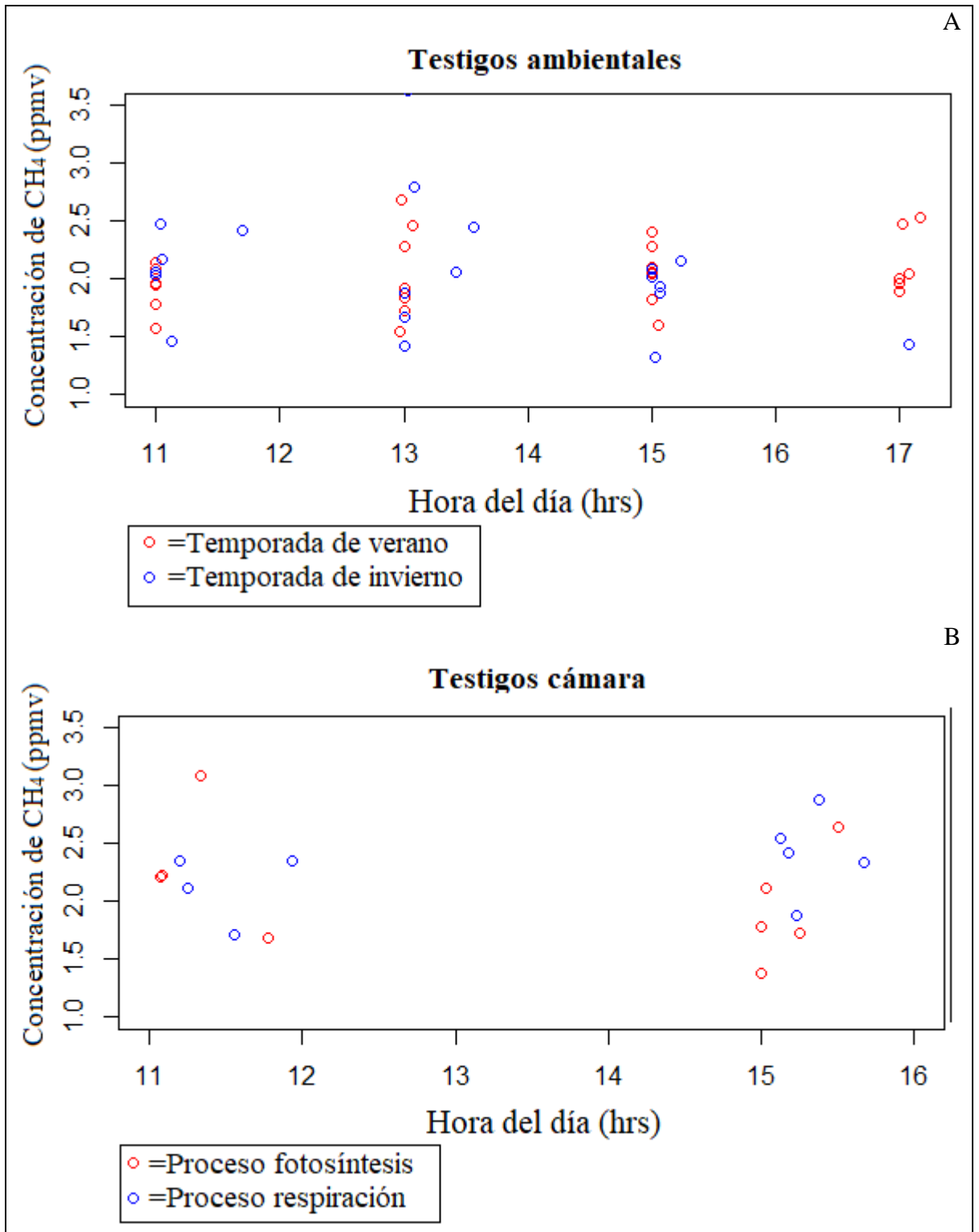


Figura 4: Concentración de CH₄ (ppmv) para testigos ambientales (A) y en testigos de cámara (B) a las diferentes horas del día en temporada de verano e invierno y solo en invierno respectivamente.

Durante el invierno, también se verificó que no hubo diferencias entre las concentraciones de CH₄ en la atmósfera ($2.07 \pm 0.12 \mu\text{mol mol}^{-1}$, n = 20) comparadas con la cámara de acrílico vacía cerrada, es decir, sin una rama en su interior después de 300 segundos ($2.10 \pm 0.19 \mu\text{mol mol}^{-1}$, n = 9) (P = 0.89) (Figura 4B). Esto sugeriría que cualquier variación en la concentración de CH₄ en la cámara con una rama viva se debe a la planta y no a un sesgo de medición en la cámara.

3.3. Ensayo piloto

Las mediciones piloto se utilizaron para fijar el tiempo apropiado para poder medir los flujos de CH₄ en las plantas. Se eligió un tiempo de 5 minutos para calcular los flujos de CH₄, para el proceso de fotosíntesis y respiración en las temporadas de verano e invierno. Las concentraciones de metano mostraron un aumento en el interior de la cámara desde los 30 segundos a los 20 minutos medidos (Figura 5), que refleja la posible existencia de flujos de CH₄ en las especies del bosque esclerófilo. En el proceso de fotosíntesis se obtuvo un ajuste lineal de $r^2=0,88$ para la especie Quillay y de $r^2=0,35$ para la especie Colliguay. En el proceso de respiración se obtuvo un ajuste lineal (r^2) de 0,50 y 0,41 para la especie Quillay en individuos diferentes (Tabla 3).

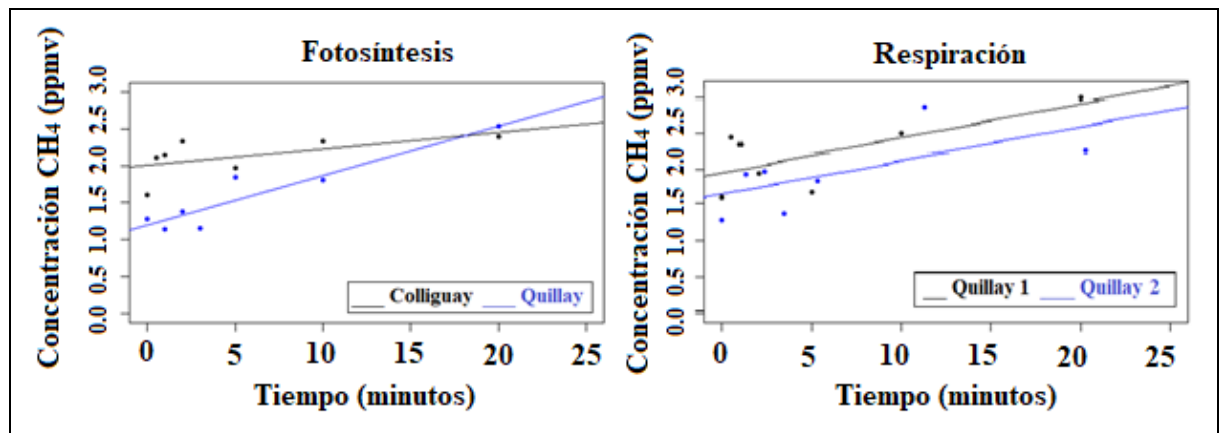


Figura 5: Mediciones ensayo pilotos de concentraciones de CH₄ (ppmv) en las especies Colliguay - Quillay para fotosíntesis y Quillay (1 y 2) para respiración.

Tabla 3: Resultados de ensayo piloto para las especies Colliguay y Quillay, en procesos de fotosíntesis y respiración, r^2 , Valor de P y la ecuación de cada relación (concentración CH₄ v/s tiempo).

Resultados piloto				
Individuo	Proceso	r^2	Valor P	Ecuación
Colliguay	Fotosíntesis	0,35	0,16	$y=0,0225x+2,0037$
Quillay	Fotosíntesis	0,88	0,0017	$y=0,0669x+1,1994$
Quillay 1	Respiración	0,50	0,074	$y=0,0492x+1,9463$
Quillay2	Respiración	0,41	0,12	$y=0,0477x+1,6355$

Lo anterior muestra que de los cuatro casos tratados anteriormente; tres, correspondientes a *Q. saponaria*, aumentaron su concentración de CH₄ en el tiempo de forma significativa, por lo cual se consideró que el tiempo mínimo al cual se puede detectar esta tendencia es a los 5 minutos, valor que se usó para las mediciones de las 60 plantas objeto de este estudio.

3.4. Flujos de CO₂ y CH₄

Las tasas de fotosíntesis (CO₂) fueron significativamente mayores en invierno que en verano (P = 0.04) para todas las especies excepto para litre (*L. caustica*) en donde la tendencia fue inversa (Figura 6), lo cual puede deberse a que las plantas se encontraban sometidas a fuertes estreses hídricos, térmicos y radiativos durante el verano. Las tasas de fotosíntesis, excepto para litre (*L. caustica*), generalmente aumentaron (P = 0.002) en la serie: peumo (*C. alba*), quillay (*Q. saponaria*), colliguay (*C. odorifera*), trevo (*R. trinervia*) y espino (*A. caven*). No se detectaron diferencias significativas entre las temporadas de verano e invierno para litre (*L. caustica*), lo que se prevé como una adaptación de la especie para la temporada de mayor calor.

La respiración autotrófica (CO₂) no difirió significativamente entre el verano y el invierno (P = 0,84), pero sí entre las especies (P <0,001) con respuesta diferencial entre las estaciones (P = 0,004). En general, las tasas de respiración fueron mayores para trevo (*R. trinervia*) y Espino (*A. caven*), que también corresponden a los mayores valores en fotosíntesis, en comparación con las otras especies. Las diferencias entre especies en las tasas de respiración probablemente se asocian a la proporción de follaje en comparación a la masa total de las ramas (Figura 6, los números en negrita). La proporción de follaje a masa total fue mucho mayor para las especies peumo (0.78), litre (0.75) y quillay (0.68) en comparación con colliguay (0.57), espino (0.45) y trevo que sólo presentaba tallos verdes, pero no hojas, que realizaban fotosíntesis. Esto puede explicar parcialmente por qué la respiración autotrófica fue menor en el grupo esclerófilo en comparación con el grupo malacófilo, ya que las tasas de respiración se expresan en función del área del follaje (Figura 6).

La concentración de CH₄ (media ± 1SE) dentro de la cámara cerrada después de 300 segundos en la luz fue en general ligeramente mayor que la del aire libre (2.06 ± 0.06 μ mol mol⁻¹, n = 46) durante el muestreo invernal (2.12 ± 0.06 μ mol mol⁻¹, n = 60) pero considerablemente menor durante el muestreo de verano (1.52 ± 0.05 μ mol mol⁻¹, n = 60). En la oscuridad, la concentración de CH₄ (media ± 1SE) dentro de la cámara cerrada después de 300 segundos fue muy similar (2.02 ± 0.07 μ mol mol⁻¹, n = 60) a la atmosférica durante el invierno, pero considerablemente menor durante el verano (1.51 ± 0.05 μ mol mol⁻¹, n = 60). Por lo tanto, las plantas en la luz durante el verano fueron generalmente sumideros de CH₄ (Figura 7a), con algunas tendencias de emisión de las especies *C. alba* y *R. trinervia* en algunos casos, mientras que en invierno los flujos de CH₄ no fueron significativamente diferentes de cero, excepto *A. caven* que fue una fuente (95% intervalo de confianza, 12-151 nmol m⁻² s⁻¹). En la oscuridad, las plantas generalmente fueron sumideros de CH₄ durante el verano, pero no fueron significativamente diferentes de cero en invierno (Figura 7b). Se

observó una mayor capacidad de sumidero para CH₄ de *R. trinervia* durante el verano (intervalo de confianza del 95%, 89-287 nmol m⁻² s⁻¹) en comparación con las otras especies.

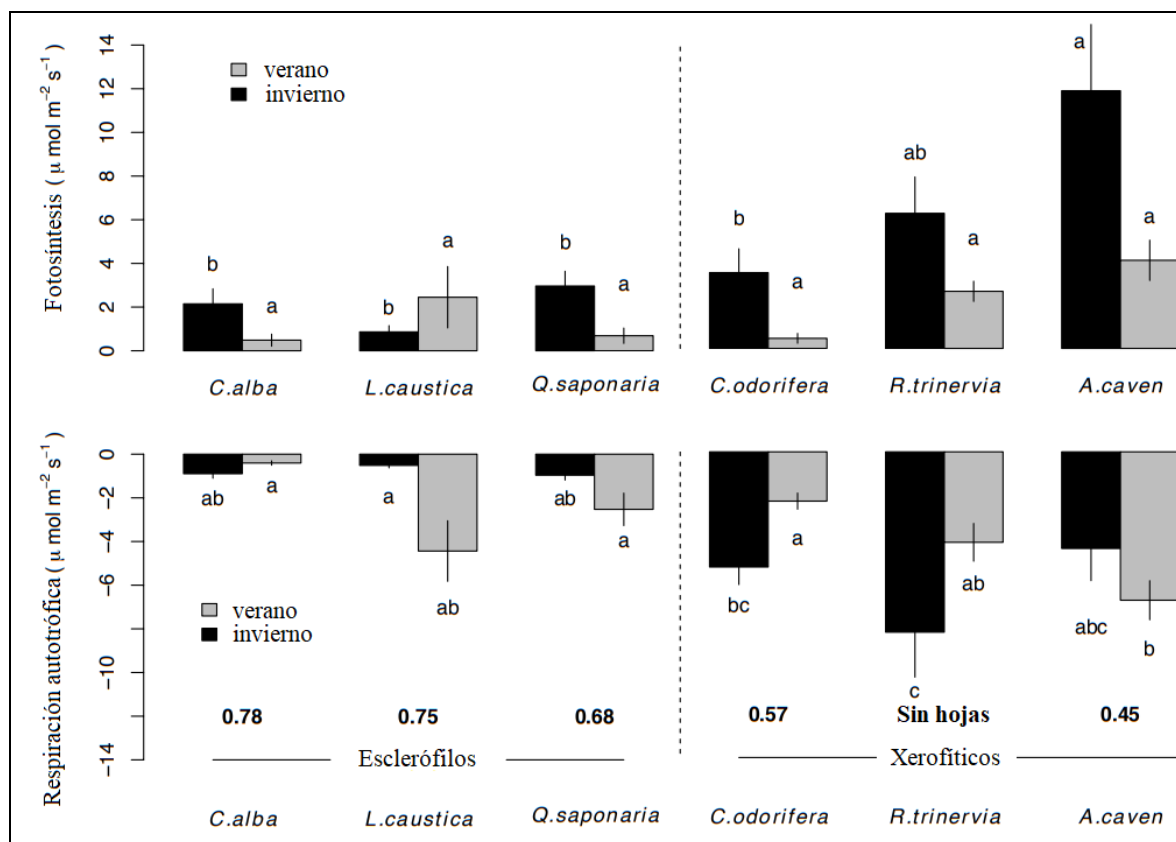


Figura 6: Tasas de fotosíntesis y respiración autotrófica de ramas según especie y temporada. Números en negrita representan la proporción de masa de follaje a masa total de la rama.

En general, tanto en invierno como verano, se observó que las plantas fueron mayoritariamente sumideros de CH₄. Keppler *et al.* (2006) plantea que las emisiones de metano son de alrededor de 62 a 236 Tg cada año, lo que representaría el 10-30% de la entrada total de CH₄ a la atmósfera (Lowe, 2006). Varios estudios posteriores respaldaron los hallazgos de las emisiones aeróbicas de CH₄ (por ejemplo, Wang *et al.*, 2008; McLeod *et al.*, 2008 y Vigano *et al.*, 2008). Como otros estudios proveyeron cifras bastante más conservadoras de emisiones de metano por las plantas, en el orden de 10-60 Tg año⁻¹ (Kirschbaum, 2006; Houweling *et al.*, 2006; Butenhoff y Khalil, 2007; Ferretti *et al.*, 2007), todas las cuales resultan en estimaciones más bajas que las de Keppler *et al.* (2006). Aparentemente la producción de metano estaría asociada a la radiación ultravioleta y a la pectina de las plantas como sustrato, que impulsaría la producción aeróbica de CH₄ (McLeod *et al.*, 2008; Vigano *et al.*, 2008). Sin embargo Nisbet (2009) sugirió que las plantas en condiciones aeróbicas no contribuirían sustancialmente al presupuesto mundial de metano. Los resultados de este estudio también apuntan en esta dirección.

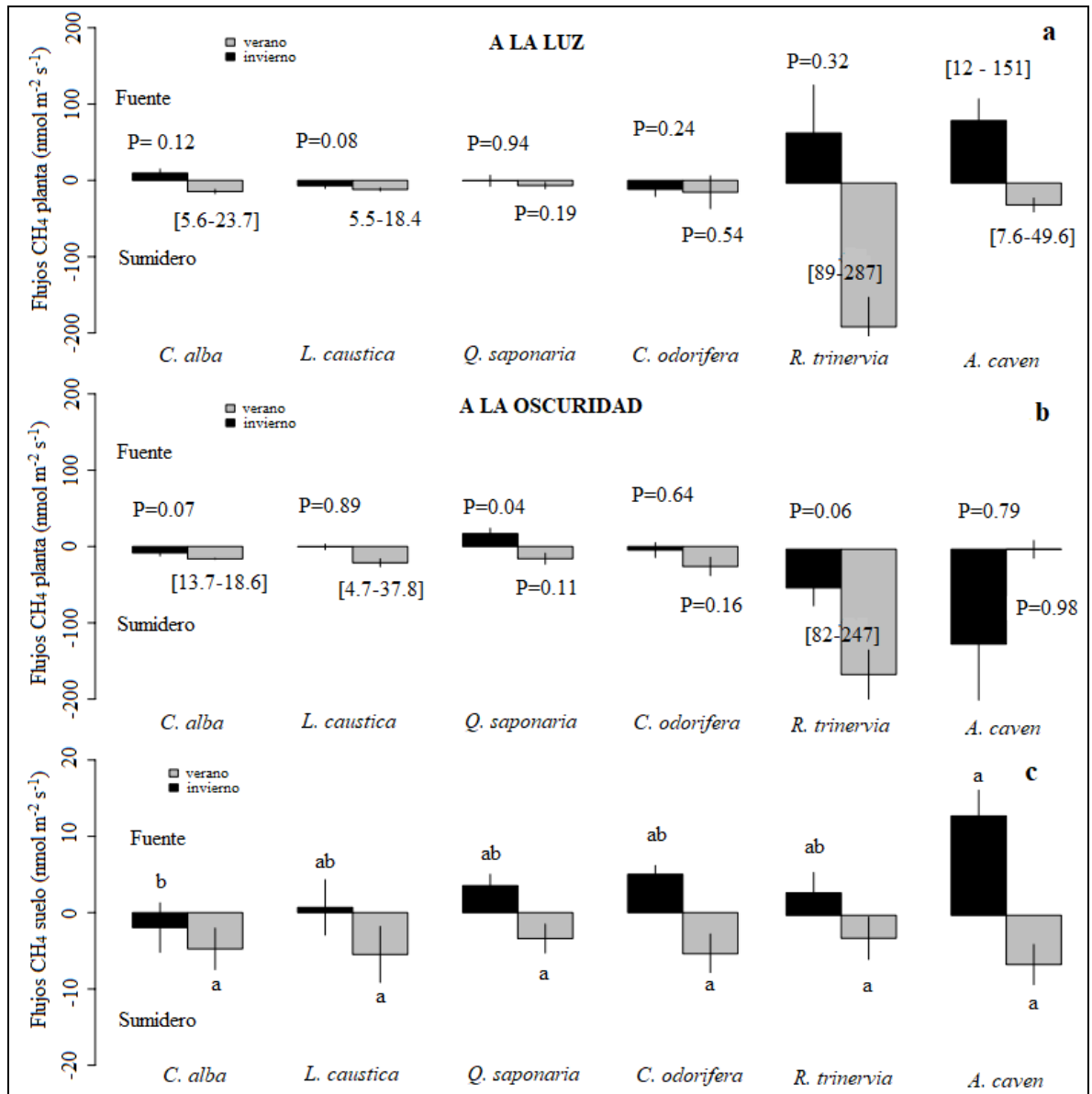


Figura 7: Flujos de CH₄ suelo (nmol m⁻² s⁻¹) en follaje (a y b) y suelos (c)³, según especies, temporada y condición de luminosidad.

Singh *et al.* (2010) plantearon que los flujos de CH₄ se generan principalmente por microorganismos en el suelo, más que por la actividad interna de las plantas. Bhullar *et al.* (2013) sostienen que las plantas pueden transportar CH₄ producido en la rizosfera a través de sus raíces, tallos y hojas, el llamado "efecto chimenea". El CH₄ del suelo es producido por metanogénesis anaeróbica en suelos saturados de agua y oxidado y capturado por bacterias metanotróficas bajo condiciones aeróbicas cuando el contenido de agua en el suelo es menor (Machacova *et al.*, 2016). Es probable que las emisiones de CH₄ de la planta provengan del CH₄ disuelto en el agua del suelo que es absorbido por la planta y posteriormente se libera

³ Los flujos de CH₄ en suelos corresponden a la memoria de título de Ingeniería Forestal de la Universidad de Chile, de la Srta. María Andrea Díaz (2018), datos que fueron colectados simultáneamente y en los mismos lugares de este estudio.

por difusión (Dueck *et al.*, 2007) o por transpiración (Nisbet, 2009). La Figura 7c muestra como los suelos capturan CH₄ en el verano y lo liberan durante el invierno, comportamiento muy similar al observado en las plantas (Figura 7a). Por lo anterior, es muy posible que los flujos de CH₄ no estén asociados a las condiciones de luz, sino a la actividad del suelo (Scheffer, 1966).

Según las mediciones de Bowling *et al.* (2009) en perfiles verticales de suelo de CO₂ y CH₄ en un bosque de coníferas subalpinas, encontraron una fuerte evidencia de que el suelo era un sumidero significativo para CH₄ (~ 1.7 mg CH₄ m⁻² d⁻¹) pero que el dosel podría ser sólo una fuente débil de CH₄ incluso bajo alta irradiación UV. En este estudio los suelos actuaron como sumidero para el metano durante el verano, resultado de la actividad metabólica de los microorganismos metanotróficos (Chapin *et al.*, 2002, Bowling *et al.*, 2009), así se prevé que el CH₄ podría ser transportado desde la atmósfera a través de las plantas hacia el suelo donde sería capturado.

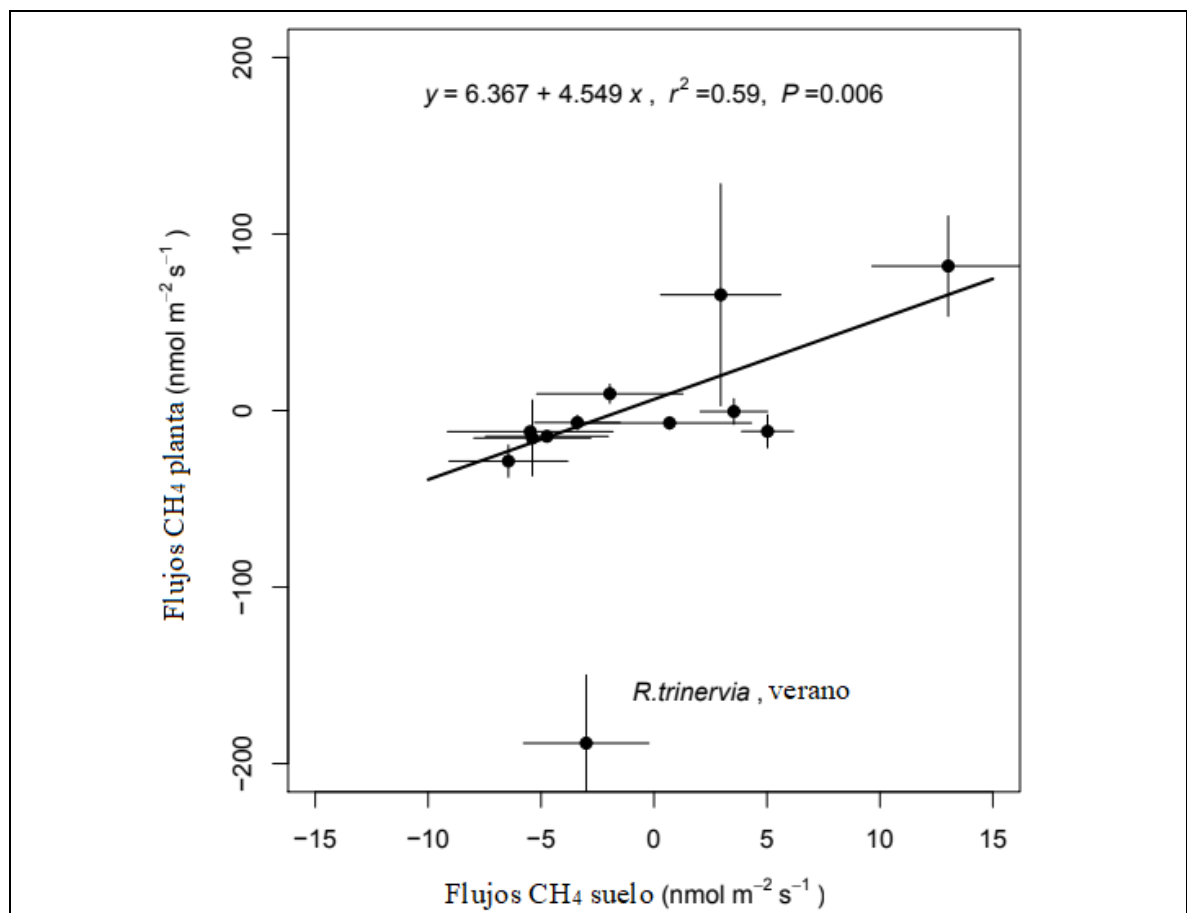


Figura 8: Flujos de CH₄ (nmol m⁻² s⁻¹) en las plantas relacionados con flujos de CH₄ en el suelo⁴ en temporada de verano e invierno.

⁴ . Los flujos de CH₄ en suelos corresponden a la memoria de título de Ingeniería Forestal de la Universidad de Chile, de la Srta. María Andrea Díaz (2018), datos que fueron colectados simultáneamente y en los mismos lugares de este estudio.

Las flujos de CH₄ de las plantas y del suelo siguieron un patrón similar como sumideros durante el verano. Durante el invierno, los suelos actuaron como fuentes, mientras que las plantas mostraron flujos de CH₄ que no fueron significativamente diferentes de cero, excepto por espino (*A.caven*), que emitió CH₄ (intervalo de confianza del 95%, 12-151 nmol m⁻² s⁻¹). La figura 9 muestra la relación positiva significativa entre los flujos de CH₄ en las plantas ($y = 6.367 + 4.549 x$, $r^2 = 0.59$, $P = 0.006$) excluyendo los datos de trevo (*R.trinervia*) en verano que actuaron como valores atípicos. Esto puede demostrar que cuando los suelos actuaron como sumideros, las plantas también lo hicieron y cuando los suelos actuaron como fuentes, a veces las plantas también lo hicieron. Parece que los suelos actúan como sumideros (verano) y fuentes (invierno), mientras que las plantas como captadoras fuertes en el verano pero como fuentes débiles durante el invierno. Además los datos de este estudio sugieren que las plantas transportan CH₄ hacia arriba o hacia abajo basado en una diferencia de gradiente entre el suelo y la atmósfera.

3.5. Controles ambientales de los flujos de CH₄

La temperatura y la humedad relativa del aire durante el verano varió de 26 a 39°C y de 13 a 34%, mientras que en el invierno varió entre 6 a 24°C y entre 22 a 74%, respectivamente. La radiación solar y el déficit de presión de vapor durante el verano varió de 79 a 824 W m⁻² y 3.4 a 7.3 kPa, mientras que en invierno varió entre 14 a 694 W m⁻² y 0.9 a 3.1 kPa, respectivamente.

Tabla 4: Correlación de Pearson⁵ a la luz de los flujos de CO₂, CH₄, su razón CO₂/CH₄ y variables ambientales.

Correlación a la luz							
Fotosíntesis	CO ₂	CH ₄	CO ₂ /CH ₄	Humedad	Temperatura	Radiación	DPV
CO ₂	1	0.34**	-0.05 ^{ns}	-0.3**	0.41***	0.21*	0.42***
CH ₄	-	1	0.00003 ^{ns}	0.33***	-0.36***	-0.23**	-0.34***
CO ₂ /CH ₄	-	-	1	-0.04 ^{ns}	-0.09 ^{ns}	0.02 ^{ns}	-0.08 ^{ns}
Humedad	-	-	-	1	-0.81***	-0.66***	-0.78***
Temperatura	-	-	-	-	1	0.6***	0.99***
Radiación	-	-	-	-	-	1	0.54***
DPV	-	-	-	-	-	-	1

Los flujos de CH₄ en la luz (A_{CH_4}), pero no en la oscuridad ($P > 0.24$) (R_{CH_4}), se correlacionaron positivamente con la tasa de fotosíntesis (A_{CO_2} , Pearson- $r = 0.34$, $P < 0.01$), y negativamente con la radiación solar ($r = -0.23$, $P = 0.034$), temperatura del aire ($r = -0.36$, $P < 0.001$) y déficit de presión de vapor (D_a , $r = -0.34$, $P = 0.002$), aunque las variables ambientales estuvieron fuertemente autocorrelacionadas entre sí ($r > 0.54$, $P < 0.001$). El

⁵ ns: no significativo $P = 0.05$. Significativo $P = 0.05$ *. Significativo $P = 0.01$ ** . Significativo $P = 0.001$ ***.

análisis de covarianza mostró que las pendientes ($P < 0.006$) pero no los interceptos ($P > 0.18$), de las relaciones lineales A_{CH_4} / A_{CO_2} y A_{CH_4} / D_a difirieron significativamente entre las especies (Figura 9). La razón CO_2/CH_4 no se correlacionó con los flujos de CO_2 o CH_4 ni con ninguna variable ambiental en la luz, pero en la oscuridad se correlacionó negativamente con la temperatura y el déficit de presión de vapor (Tabla 4).

Los flujos de CH_4 en la luz (A_{CH_4}) aumentaron linealmente con la tasa de fotosíntesis (A_{CO_2}) pero *R.trinervia* ($y = -168.41 + 27.82 x$, $r^2 = 0.35$, $P = 0.021$) mostró una pendiente positiva más pronunciada en comparación con las otras especies ($y = -12.038 + 3.890 x$, $r^2 = 0.17$, $P < 0.001$), que no difirieron entre ellas (Figura 9a). Los valores de A_{CH_4} disminuyeron linealmente con el déficit de presión de vapor (D_a) pero *R.trinervia* ($y = 260.5 - 94.61 x$, $r^2 = 0.45$, $P = 0.006$) exhibió una pendiente negativa más pronunciada en comparación con *C.alba*, *L.caustica* y *Q. saponaria* ($y = 4.448 - 6.893 x$, $r^2 = 0.08$, $P = 0.045$) que no difirieron entre ellas (Figura 9b). Esta relación fue insignificante para *C.odorifera* ($P = 0.88$).

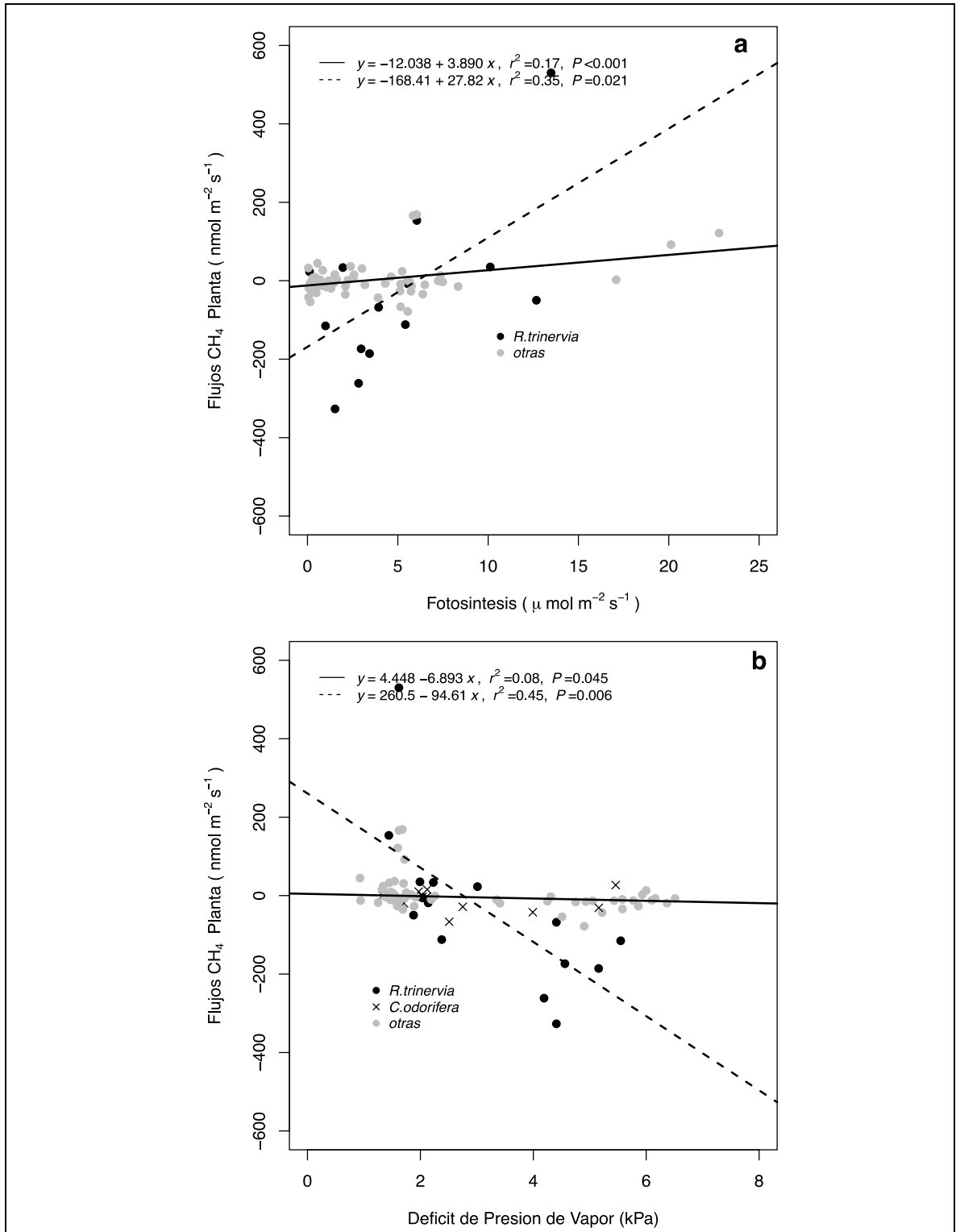


Figura 9: Flujos de CH_4 ⁶ ($\text{nmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en temporada de verano e invierno al variar la tasa de fotosíntesis (a) y el Déficit de presión de vapor (kPa) de la atmósfera (b).

⁶ Los flujos positivos implican emisiones y negativos captura de CH_4 .

4. CONCLUSIÓN

Las tasas de fotosíntesis, fueron mucho mayores en invierno que en verano, aumentando generalmente en la serie: *C. alba*, *L. caustica*, *Q. saponaria*, *C. odorifera*, *R. trinervia* y *A. caven*. La respiración de la rama fue mayor en invierno que en verano, y además mayor en el grupo formado por *A. caven*, *R. trinervia* y *C. odorifera* en comparación con las especies esclerófilas (*C. alba*, *L. caustica*, *Q. saponaria*), probablemente asociado a la menor fracción de follaje de rama en el primer grupo comparado con el segundo.

Las plantas en la luz durante el verano generalmente capturaron CH₄, mientras que en invierno los flujos de CH₄ en la planta no fueron significativamente diferentes de cero, excepto por *A. caven* que fue una fuente. En la oscuridad, las plantas generalmente fueron sumideros de CH₄ durante el verano y en invierno sus flujos no fueron significativamente diferentes de cero.

La mayor captura de CH₄ se observó en *R. trinervia* en verano en comparación con las otras especies. Los flujos de CH₄ en las plantas y en el suelo siguieron un patrón similar que sugiere una fuerte correlación entre ellos. Los flujos de CH₄ en el suelo fueron generalmente negativos en el verano capturando CH₄ (sumideros) y positivos en invierno (fuentes); que se corresponde con las plantas que capturan CH₄ en verano y presentaron flujos nulos en invierno excepto por *A. caven* que emitió.

Esto sugiere un mecanismo de difusión simple, mediante el cual el CH₄ producido en el suelo por metanogénesis en invierno se transporta por el árbol hacia arriba y se libera a través de lenticelas y estomas; mientras que lo opuesto ocurre en verano cuando los metanotrofos del suelo capturan CH₄ y generan un gradiente por el cual el CH₄ se mueve hacia abajo desde la atmósfera a través de la planta hasta el suelo donde es capturado.

5. BIBLIOGRAFÍA

1. AGUAYO, M., PAUCHARD, A., AZÓCAR, G. Y PARRA, O. 2009. Cambio del uso del suelo en el centro sur de Chile a fines del siglo XX. Entendiendo la dinámica espacial y temporal del paisaje. *Revista Chilena de Historia Natural*. [En línea] <https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0716-078X2009000300004&script=sci_arttext> [Consulta: 13 octubre 2016]
2. AVILEZ, R. H. 2001. Estudio de la flora y vegetación de la Reserva Nacional “Roblería del Cobre de Loncha”. Memoria de Título, Universidad de Talca, Facultad de Ciencias Forestales, Talca, Chile.
3. ARMESTO, J., MANUSCHEVICH, D., MORA, A., SMITH-RAMIREZ, C., ROZZI, R., ABARZUA, A. M. Y MARQUET, P. 2010. From the holocene to the anthropocene: a historical framework for land cover change in southwestern South America in the past 15,000 years. *Land Use Policy* [En línea] <<https://doi.org/10.1016/j.landusepol.2009.07.006>> [Consulta: 9 noviembre 2016].
4. BARTON, L., KIESE, R., GATTER, D., BUTTERBACH-BAHL, K., BUCK, R., HINZ, C., Y MURPHY, D. V. 2008. Nitrous oxide emissions from a cropped soil in a semi-arid climate. *Global Change Biology*. [En línea] <<https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2007.01474.x>> [Consulta: 20 noviembre 2016].
5. BHULLAR, G. S., IRAVANI, M., EDWARDS, P. J., & VENTERINK, H. O. 2013. Methane transport and emissions from soil as affected by water table and vascular plants. *BMC ecology*. [En línea] <<https://link.springer.com.uchile.idm.oclc.org/article/10.1186%2F1472-6785-13-32>> [Consulta: 3 marzo 2018].
6. BOWLING, D.R., MILLER, J.B., RHODES, M.E., BURNS, S.P., MONSON, R.K., BAER, D., 2009. Soil and plant contributions to the methane flux balance of a subalpine forest under high ultraviolet irradiance. *Biogeosciences* <<https://doi.org/10.5194/bgd-6-4765-2009>> [Consulta: 10 marzo 2018].
7. BRUHN D, MIKKELSEN T. N, OBRO J, WILLATS W. G. T. Y AMBUS P. 2009. Effects of temperature, ultraviolet radiation and pectin methyl esterase on aerobic methane release from plant material. *Plant Biology*. [En línea] <<http://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2009.00202.x>> [Consulta: 15 noviembre 2016].

8. BUTENHOFF, C. L., & KHALIL, M. A. K. 2007. Global methane emissions from terrestrial plants. *Environmental science & technology*. [En línea] [Consulta e impresión: 5 marzo 2018] <<http://ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17612186>>.
9. BUTTERBACH-BAHL, K., KIESE, R., Y LIU, C. 2011. Measurements of biosphere-atmosphere exchange of CH₄ in terrestrial ecosystems. *Methods Enzymol*. [En línea] [Consulta e impresión: 6 marzo 2018] <<http://doi.org/10.1016/B978-0-12-386905-0.00018-8>>.
10. CAI, Y., ZHENG, Y., BODELIER, P. L., CONRAD, R., Y JIA, Z. 2016. Conventional methanotrophs are responsible for atmospheric methane oxidation in paddy soils. *Nature*. [En línea] <<http://doi:10.1038/ncomms11728>> [Consulta: 10 octubre 2016].
11. CARMONA, J. C., BOLÍVAR, D. M. Y GIRALDO, L. A. 2005. El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 18:51 p.
12. CHAPIN, F., MATSON, P. Y MOONEY, H. 2002. Principles of terrestrial Ecosystem Ecology. Springer, New York, U.S.A. [En línea] [Consulta e impresión: 10 octubre 2016] <http://springer.com/chapter/10.1007%2F0-387-21663-4_7>.
13. COLLIER, S. M., RUARK, M. D., OATES, L. G., JOKELA, W. E., Y DELL, C. J. 2014. Measurement of greenhouse gas flux from agricultural soils using static chambers. *Journal of visualized experiments: JoVE*. [En línea] <<http://ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4827936/>> [Consulta: 15 noviembre 2016].
14. CONAF. 2000. Plan de Manejo Reserva Nacional Roblería del Cobre de Loncha. Período 2001- 2011. En: CONRAD, R. 1996. Soil microorganisms as controllers of atmospheric trace gases (H₂, CO, CH₄, OCS, N₂O, and NO). *Microbiological Reviews*, 610p.
15. DENMAN, K. L., BRASSEUR, G., CHIDTHAISONG, A., CIAIS, P., COX, P. M., DICKINSON, R. E., HAUGLUSTAINE, D., HEINZE, C., HOLLAND, E. Y JACOB, D. 2007. Couplings between changes in the climate system and biogeochemistry. *Climate Change*, 541p.
16. DENMEAD, O. T. 2008. Approaches to measuring fluxes of methane and nitrous oxide between landscapes and the atmosphere. *Plant and Soil*. [En línea] <<http://springer.com/article/10.1007%2Fs11104-008-9599-z>> [Consulta: 20 noviembre 2016].

17. DUECK, T. A., DE VISSER, R., POORTER, H., PERSIJN, S., GORISSEN, A., DE VISSER, W., NGAI, A. K. 2007. No evidence for substantial aerobic methane emission by terrestrial plants: a ^{13}C -labelling approach. *New Phytologist*. 29p.
18. FERRETTI, M., BUSSOTTI, F., CALATAYUD, V., SCHAUB, M., KRÄUCHI, N., PETRICCIONE, B. Y ULRICH, E. 2007. Ozone and forests in South-Western Europe. [En línea] <<http://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.02.026>> [Consulta: 6 marzo 2018].
19. FIELD, C., CHAPIN, S., MATSON, P. Y MOONEY, H. 1992. Responses of terrestrial ecosystems to the changing atmosphere: A resource-based approach. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 205p.
20. FLORES, D. 2009. Análisis del cambio del uso del suelo sobre laderas de bosque y matorral esclerófilo en las cuencas de Quillota y Casablanca, Región de Valparaíso, Chile. Proyecto de grado presentado como parte de los requisitos para optar al grado de Magíster en Áreas Silvestres y Conservación de la Naturaleza. Santiago. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Forestales, Escuela de Postgrado. 46p.
21. FORSTER P., RAMASWAMY V., ARTAXO P., BERNTSEN T., BETTS R., FAHEY D. W., HAYWOOD J., LEAN J., LOWE D. C. y MYHRE G. 2007. Changes in atmospheric constituents and in radiative forcing. En: SOLOMON S., QIN D., MANNING M., CHEN Z., MARQUIS M., AVERYT KB., TIGNOR M, MILLER H. L. 2007. The physical science basis. Contribution of working group I to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. New York, NY, USA: Cambridge University. 129p.
22. FRANCISCO, J., Y VILLALOBOS, M. 2009. Fitotecnia: Bases y tecnologías de la producción agrícola. 2^{da} ed. 71p.
23. FUENTES, E. 1988. Sinopsis de paisajes de Chile central. En: FUENTES, E. y PRENAFETA, S. 1988. Ecología del paisaje en Chile Central. Estudios sobre sus espacios montañosos. Ediciones Universidad Católica de Chile. Santiago. 17p.
24. GAJARDO R. 1994. La vegetación natural de Chile: clasificación y distribución geográfica. Editorial Universitaria, Santiago, Chile. 45p.

25. GONZÁLEZ, S. 2009. Inventarios anuales de gases de efecto invernadero de Chile. Serie temporal 1984/2003 para sectores no-energía. Boletín Técnico INIA. 260p.
26. HONTY, G. 2011. Cambio climático: Negociaciones y consecuencias para América Latina. 205p.
27. HOUWELING, S., RÖCKMANN, T., ABEN, I., KEPPLER, F., KROL, M., MEIRINK, J. F. y FRANKENBERG, C. 2006. Atmospheric constraints on global emissions of methane from plants. *Geophysical Research Letters*. [En línea] <<http://doi.org/10.1029/2006GL026162>> [Consulta: 5 marzo 2018].
28. IDOWU, S. O. CAPALDI N. ZU, L. DAS GUPTA, A. 2013. *Encyclopedia of corporate social responsibility*. New York: Springer. 1309p.
29. INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (IPCC). 2001. Cambio climático: Base científica. Contribución del Grupo de trabajo I al Tercer Informe de evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA. 881p.
30. INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (IPCC). 2006. *IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas inventories. General Guidance and Reporting*, USA. 6p.
31. INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (IPCC), 2007. Cambio climático: Base científica física. Contribución del Grupo de trabajo I al Cuarto Informe de evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA. 4p.
32. KEPPLER, F., HAMILTON, J. T., BRAß, M., y RÖCKMANN, T. 2006. Methane emissions from terrestrial plants under aerobic conditions. *Nature*. 439(7073), 187p.
33. KIRSCHBAUM, M. U. F. 2006. The temperature dependence of organic-matter decomposition—still a topic of debate. *Soil Biology and Biochemistry*. 38(9):2510-2518p.
34. KOLUKISA OGLU, Ü. Y K. THUROW. 2010. Future and frontiers of automated screening in plant sciences. *Plant Science*. 178(6):476-484p.

35. LASSO, A. P. y SILVA, J. P. 2010. Cámaras estáticas para la estimación de emisiones de gases de efecto invernadero en lagunas de estabilización para el tratamiento de aguas residuales domésticas. Doctoral dissertation, Tesis. Facultad de Ingeniería Universidad del Valle. Santiago de Cali. 189p.
36. LOWE, E. J. 2006. The four-category ontology: A metaphysical foundation for natural science. Oxford University Press. 34p.
37. LUEBERT, F Y PLISCOFF, P. 2006a. Los límites del clima mediterráneo en Chile. Departamento de Silvicultura, Facultad de Ciencias Forestales. Universidad de Chile. Santiago, Chile. 13p.
38. LUEBERT, F., y PLISCOFF, P. 2006b. Sinopsis bioclimática y vegetacional de Chile. Editorial Universitaria. 101p.
39. MACHACOVA, K., BÄCK, J., VANHATALO, A., HALMEENMÄKI, E., KOLARI, P., MAMMARELLA, I., y PIHLATIE, M. 2016. Pinus sylvestris as a missing source of nitrous oxide and methane in boreal forest. Scientific reports, (6):23410p.
40. MCLEOD A. R, FRY S. C, LOAKE G. J, MESSENGER D. J, REAY D. S, SMITH K. A. y YUN B. W. 2008. Ultraviolet radiation drives methane emissions from terrestrial plant pectins. New Phytologist. (180):124p.
41. MYERS, N., MITTERMEIER, R. A., MITTERMEIER, C. G., DA FONSECA, G. A. y KENT, J. 2000. Biodiversity *hotspots* for conservation priorities. Nature, 403(6772):853p.
42. NETTING, R. y PHILLIPS, T. 2013. La NASA confirma una tendencia de calentamiento climático a largo plazo. Oficina central de la NASA. [En línea] <http://ciencia.nasa.gov/ciencias-especiales/15jan_warming/> [Consulta: 28 de Julio de 2016].
43. NIEMEYER, H. y P. CERECEDA, 1989. Geografía de Chile. Tomo VIII: HIDROGRAFIA. Instituto geográfico militar, Santiago de Chile, Chile. 320p.

44. NISBET, M. C. 2009. Communicating climate change: Why frames matter for public engagement. *Environment: Science and policy for sustainable development*, 51(2):12p
45. PARKIN, T. B., y VENTEREA, R. T. 2010. USDA-ARS GRACEnet. Chamber-based Trace Gas Flux Measurements. [En línea] [Consulta e impresión: 20 noviembre 2016] < <https://ars.usda.gov/ARSTUserFiles/31831/2003GRACEnetTraceGasProtocol.pdf> >
46. Scheffer T.C. 1966. Natural resistance of wood to microbial deterioration. *Annul Rev. Phytopathol.* [En línea] < <https://doi.org/10.1146/annurev.py.04.090166.001051> > [Consulta: 3 marzo 2018].
47. SINGH, B. K., BARDGETT, R. D., SMITH, P., y REAY, D. S. 2010. Microorganisms and climate change: terrestrial feedbacks and mitigation options. *Nature Reviews Microbiology*, 8(11)779p.
48. VIGANO, I., VAN WEELDEN, H., HOLZINGER, R., KEPPLER, F., y RÖCKMANN, T. 2008. Effect of UV radiation and temperature on the emission of methane from plant biomass and structural components. *Biogeosciences discussions* (5):250-261.
49. WANG ZP, GU Q, DENG FD, HUANG JH, MEGONIGAL JP, YU Q, LÜ XT, LI LH, CHANG S, ZHANG YH, FENG JC. y HAN XG. 2016. Methane emissions from the trunks of living trees on upland soils. *New Phytol.* [En línea] <<http://doi.org/10.1111/nph.13909>>.[Consulta: 6 marzo 2018].