

Futuro Parque Nacional de la Sierra de las Nieves: Consecuencias ecosistémicas, ecofisiológicas y transcriptómicas de la deposición de N y el ozono en bosques de Abies pinsapo.

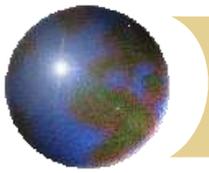
José A. CARREIRA

**Centro de Estudios Avanzados de la Tierra
(CEACTierra)**

Universidad de Jaén

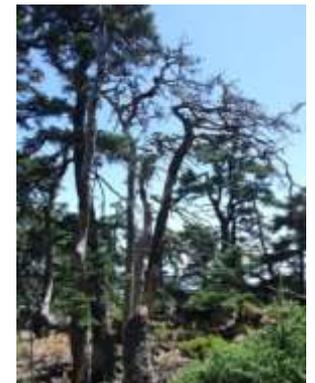
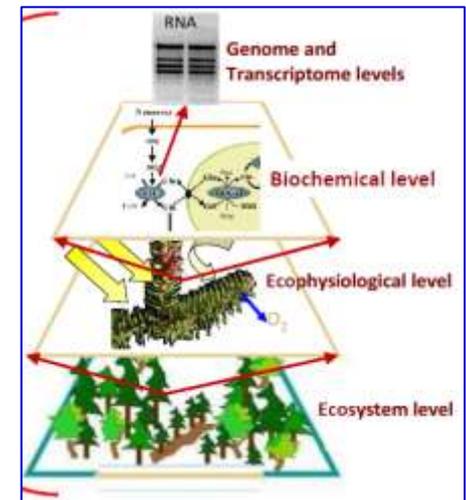
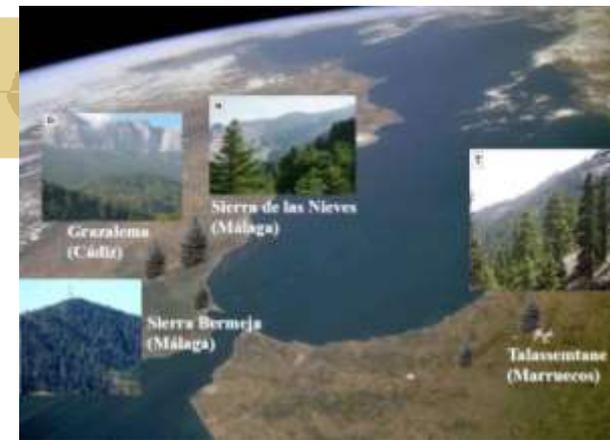
jafuente@ujaen.es

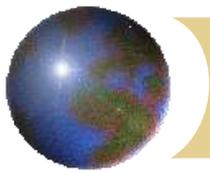




Índice:

- ❖ *El sistema de estudio: bosques de *Abies pinsapo*, un relictó climático.*
- ❖ *La aproximación: visión jerárquica y efectos en cascada*
- ❖ *Primeros resultados... y sorpresas...*
- ❖ *...desde el ecosistema al transcriptoma.*
- ❖ *Protocolos remediación (fertiliz. comp. con P) y monitorización a largo plazo.*





El Sistema de Estudio

🌀 **Bosques de *Abies pinsapo***: relictos climáticos, área de distribución reducida y disjunta; singularidad paleobiogeográfica.



Journal of Biogeography 0 (2011) 33, 619–630

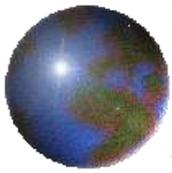


Biogeography and evolution of *Abies* (Pinaceae) in the Mediterranean Basin: the roles of long-term climatic change and glacial refugia

Juan Carlos Villar

- *Abies pinsapo*
- *Abies cilicica*
- *Abies alba*
- *Abies pinsapo* var. *maroccana*
- *Abies equi-trojani*
- *Abies nebrodensis*
- *Abies pinsapo* var. *tazantensis*
- *Abies bornmuelleriana*
- *Abies borisii-regis*
- *Abies numidica*
- *Abies nordmanniana*
- *Abies cephalonica*





Cambios predichos en la distribución de *Abies pinsapo* ante el escenario de cambio climático (basado en Modelos de Distribución de Nicho):

PNACC. Inventario Nacional de Biodiversidad

2070-2100

!!Extinct!!





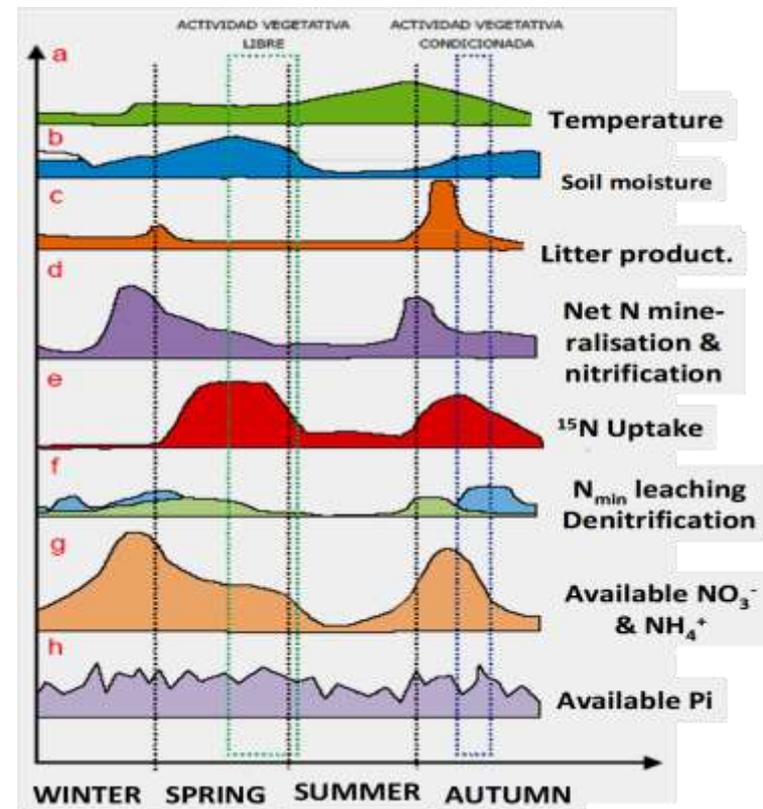
La Aproximación: visión jerárquica

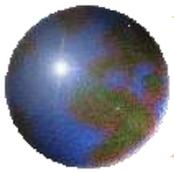


... inicialmente, estudios básicos para contrastar teorías sobre dinámica y bigeoquímica forestal:

❑ *Por ejemplo, ¿funciona en los ambientes "mediterráneos" la Hipótesis de la Sucesión-Retención de Nutrientes?*

❑ ...pues nó; ...picos de flujo hidrológico y actividad biológica desacoplados

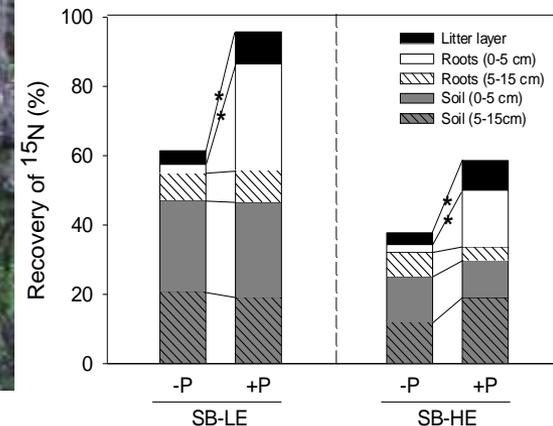
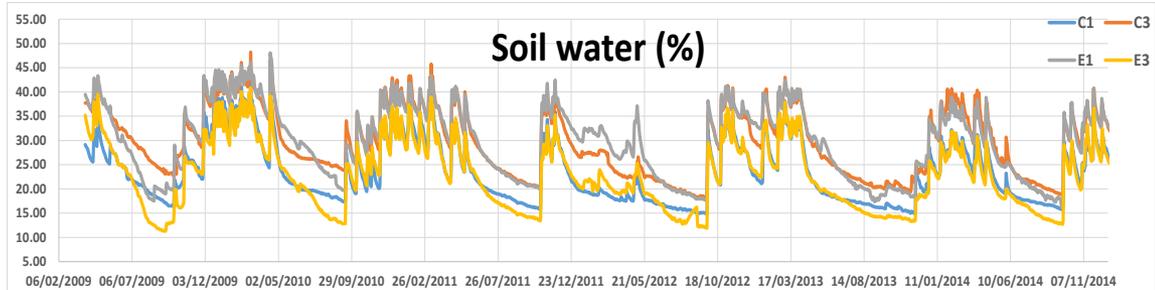




La Aproximación: visión jerárquica

Red Inter-Glob Pinsapo, parcelas permanentes de monitorización.

- Procesos a **NIVEL DE ECOSISTEMA**: condiciones climáticas, estructura dosel forestal, crecimiento, disponibilidad de nutrientes, experimentos manipulativos-adición de isótopos...

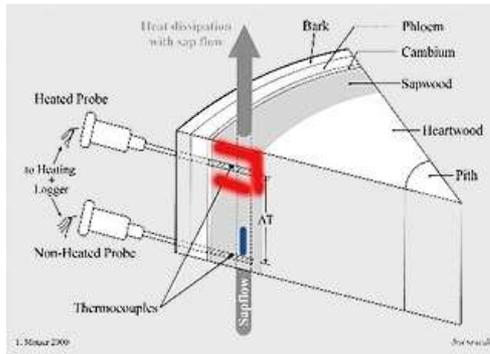




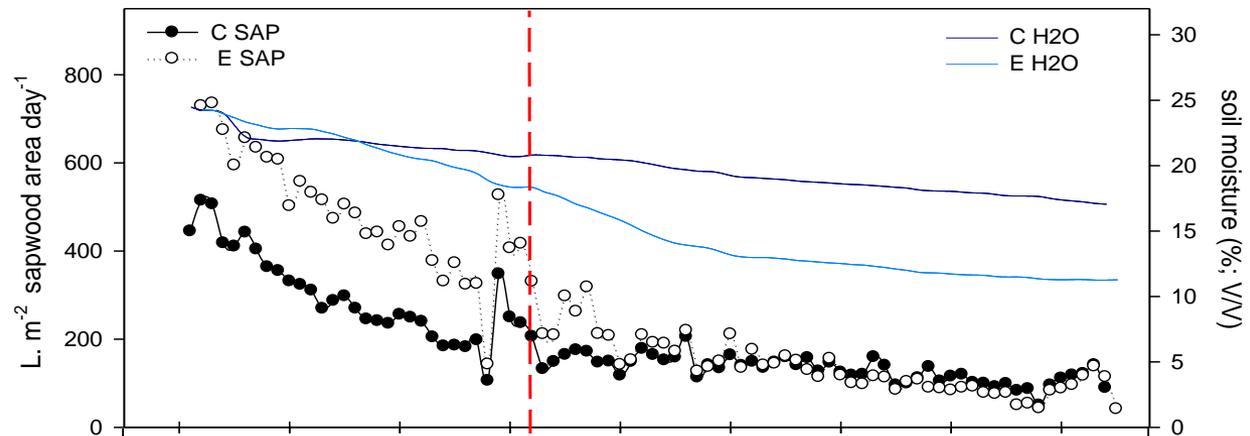
La Aproximación: visión jerárquica

Red Inter-Glob Pinsapo :

• **NIVEL individual-ÁRBOL** y ecofisiología: intercambio gaseoso, flujo de savia, dendrología, nutrición...



2009

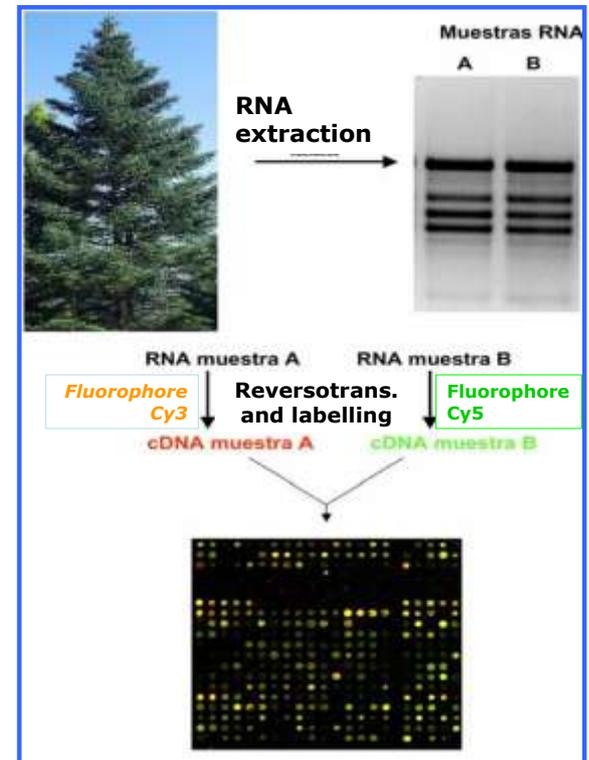
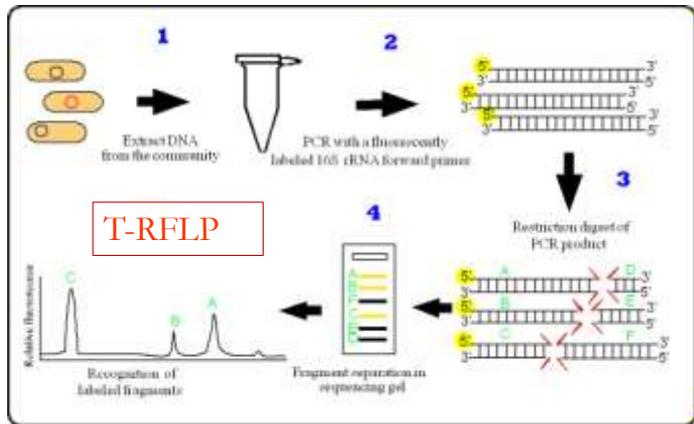
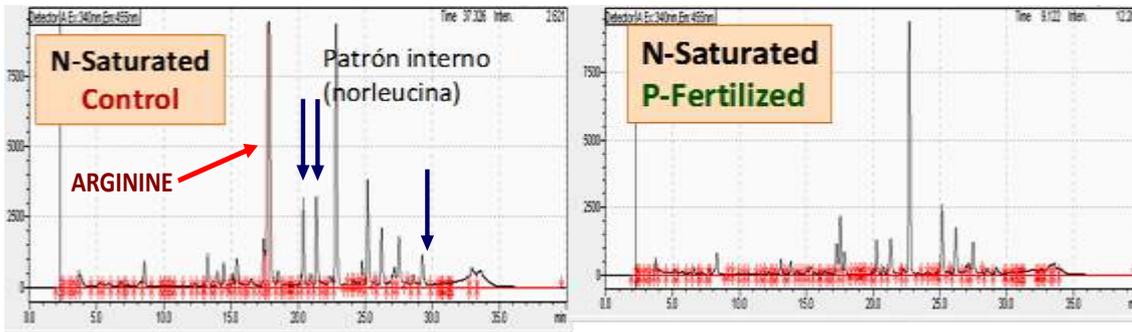




La Aproximación: visión jerárquica

Red Inter-Glob Pinsapo :

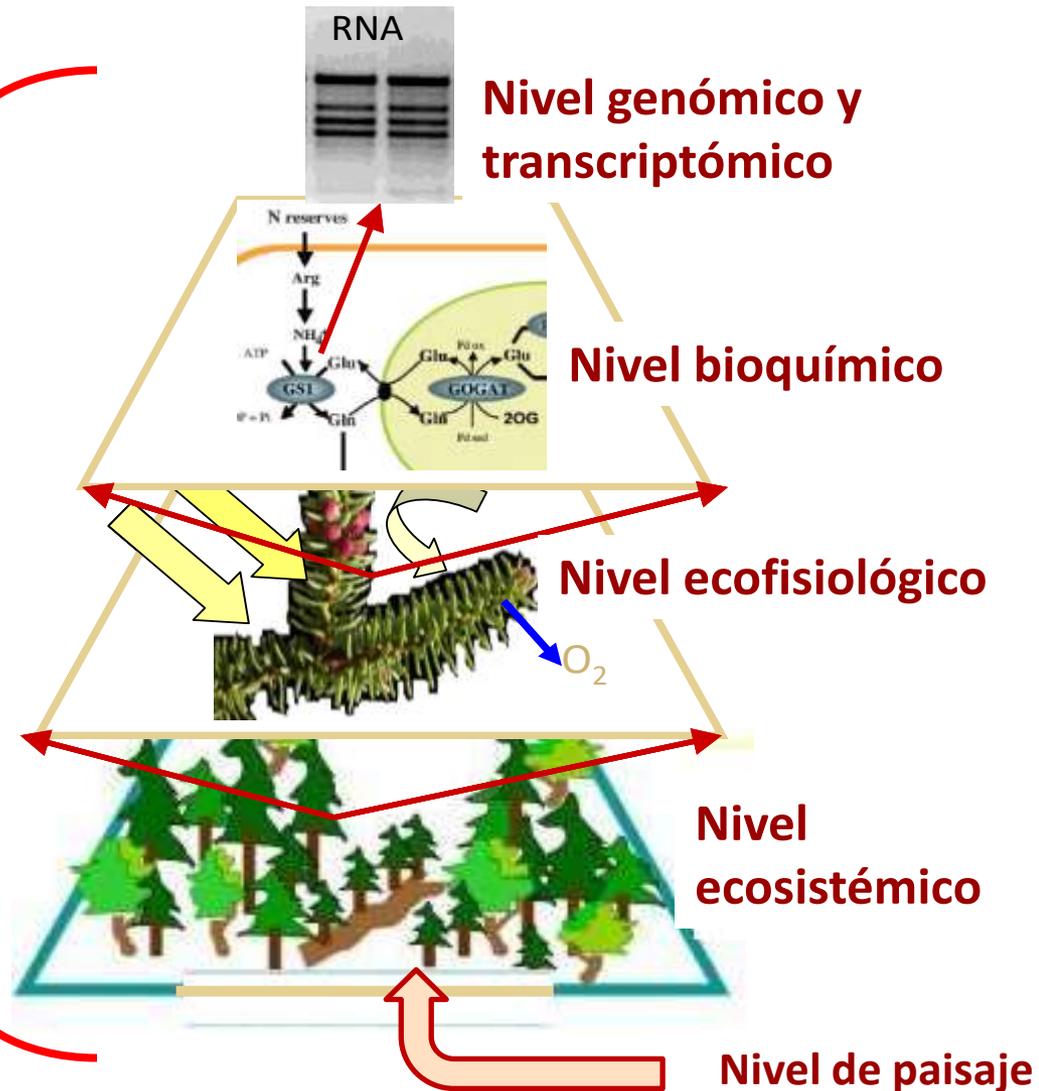
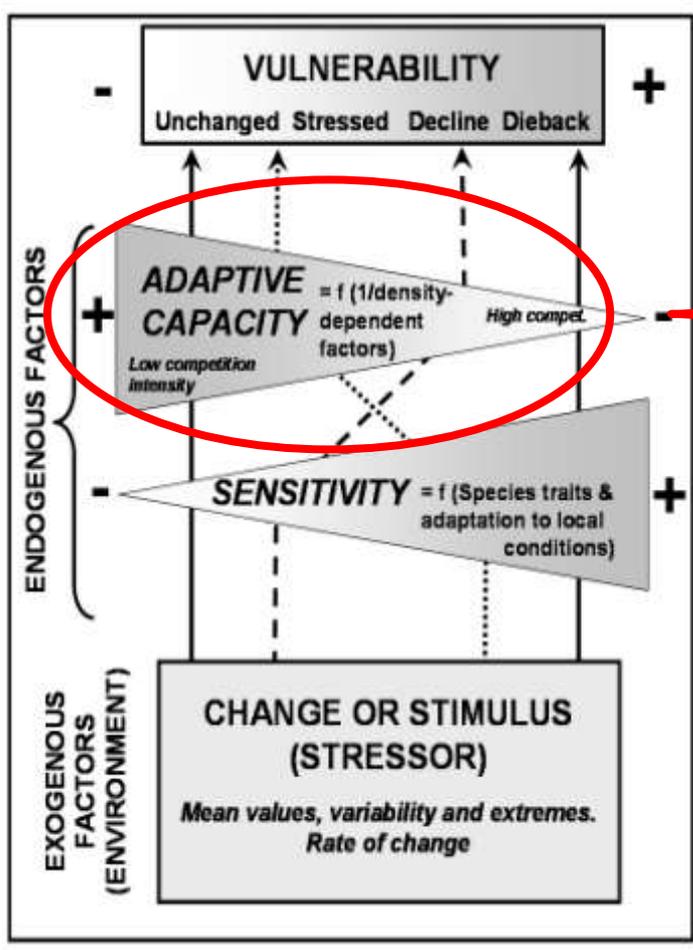
Nivel **BIOQUÍMICO-MOLECULAR**: perfiles metabólicos, marcadores genéticos, transcriptómica...





La Aproximación: visión jerárquica

🌀 **Vulnerabilidad** = f (*exposición*, "*sensitividad*" ... *capacidad adaptativa*)



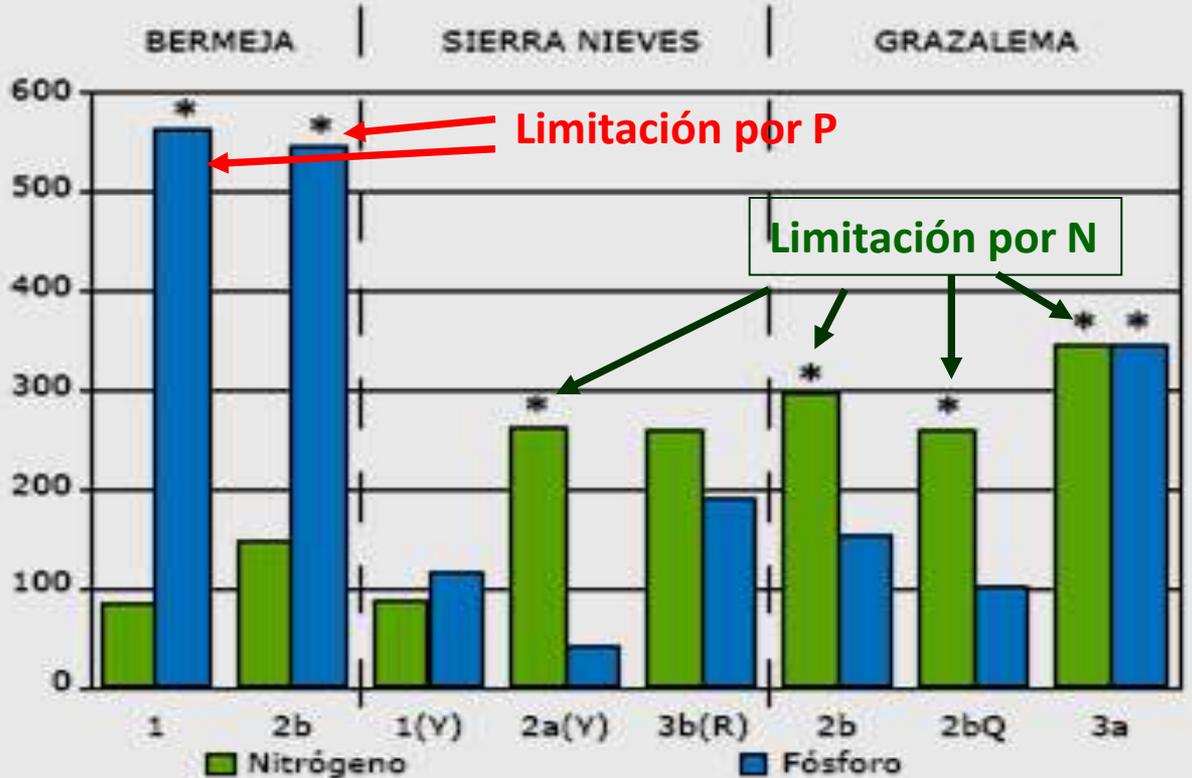


...*RESULTADOS inesperados*

... y cómo llegamos a esto de la contaminación atmosférica?

... un resultado que no encaja: *¿un abetal limitado por fósforo – P?*

Biomasa de raíces acumulada en los cilindros (% respecto a controles no fertilizados)

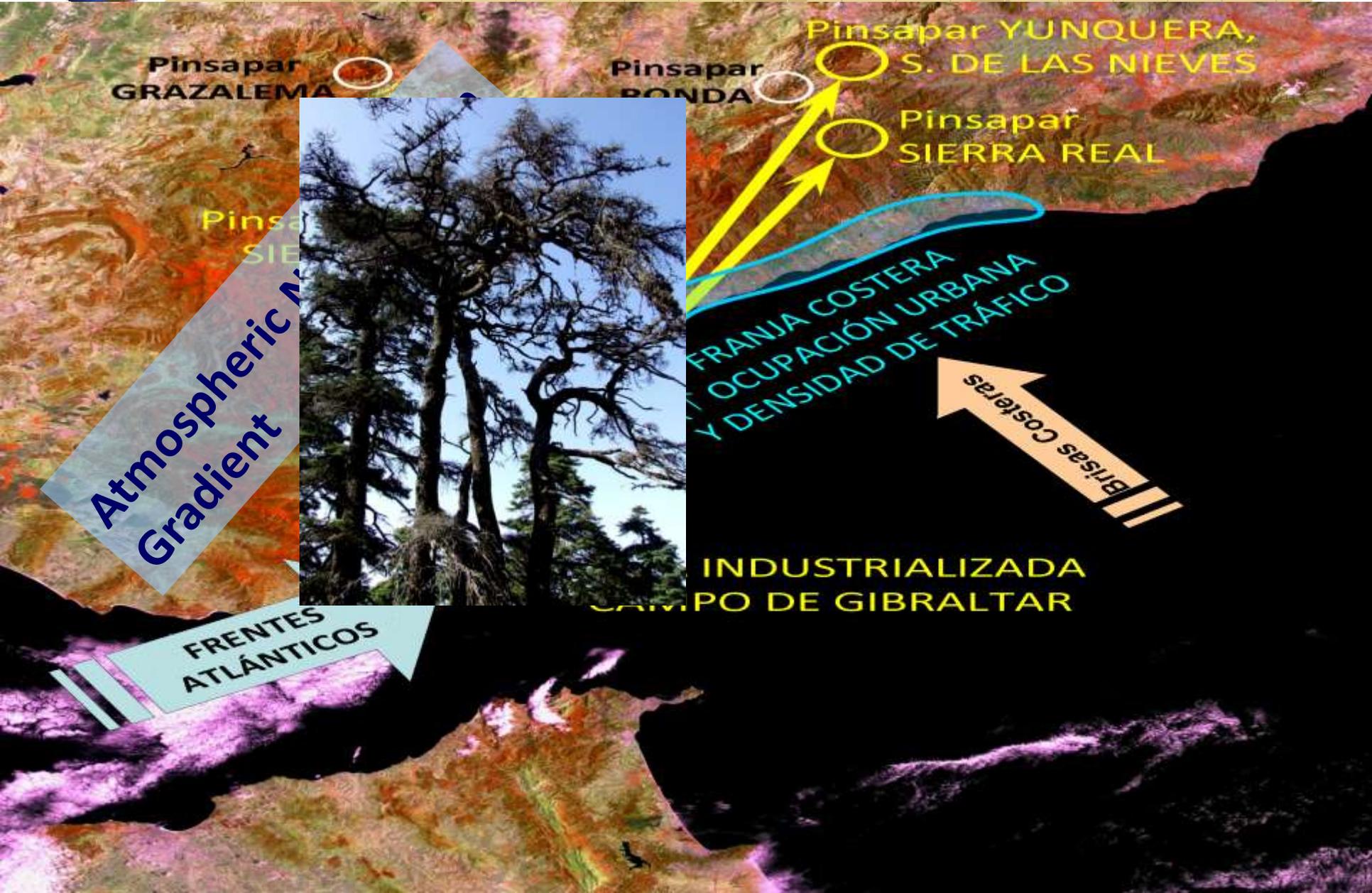


Método de los cilindros agujereados de crecimiento de raíces para evaluar limitación/deficiencia nutricional: Acumulación diferencial de biomasa de raíces en micrositios del suelo fertilizados (N, P, Ca, Mg...) o nó (controles)

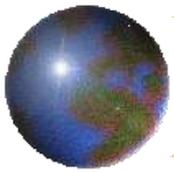
Estado sucesional del rodal: (1) Latizal, (2) Fustal, (3) Maduro-Old-growth



¿Gradiente geog. contaminación atm.?

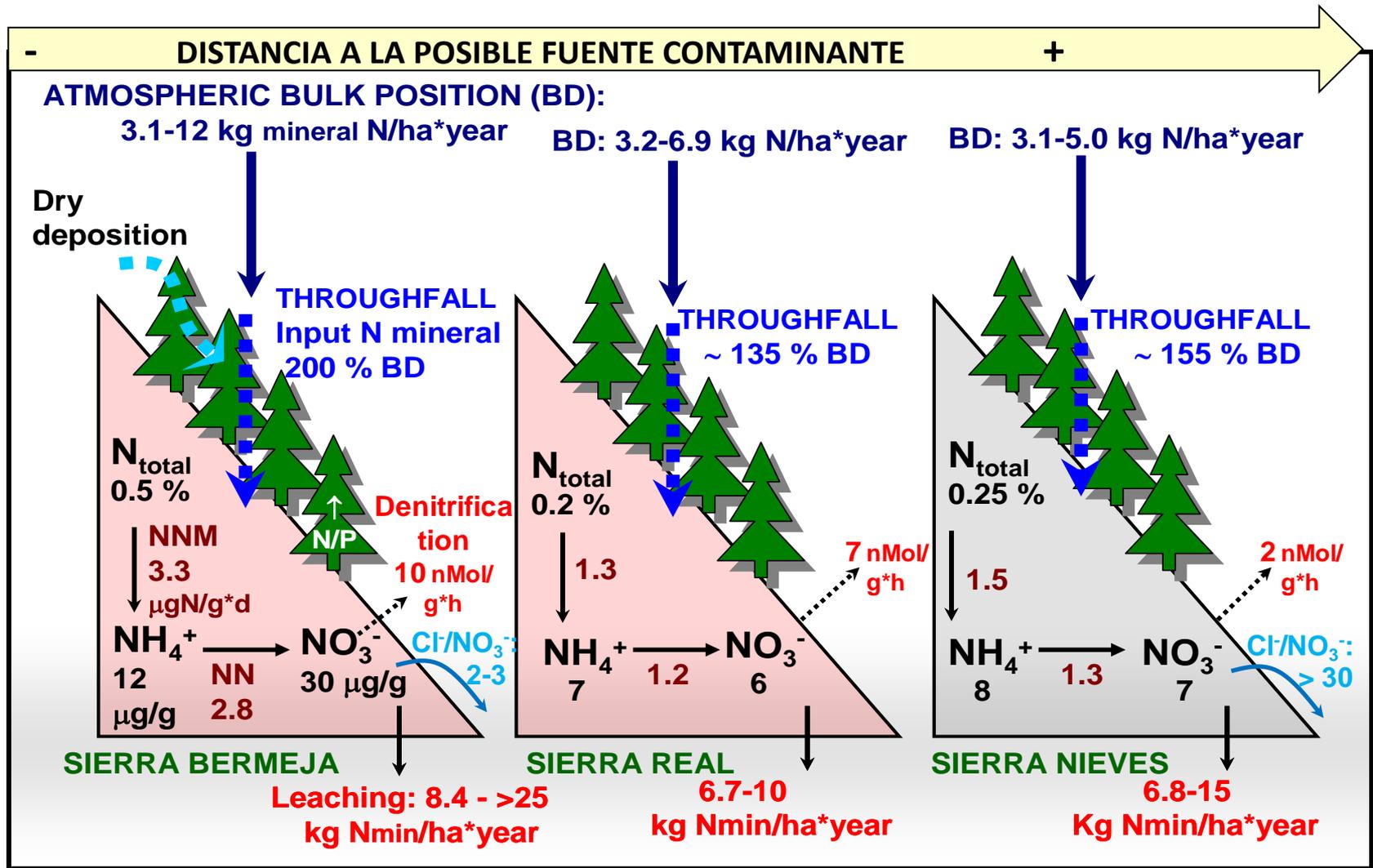






¿Gradiente geog. contaminación atm.?

● Balances de Nitrógeno: entradas atmosféricas, recirculación interna, y salidas (lixiviación y desnitrificación)

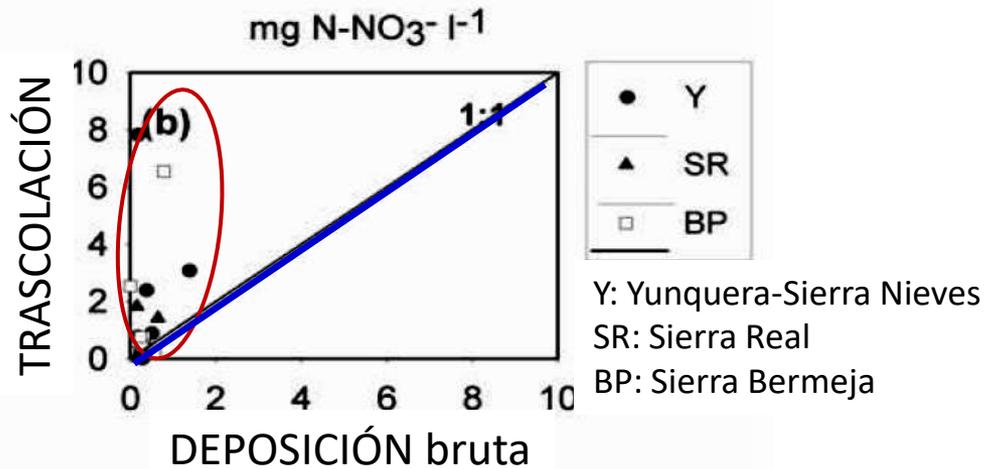




¿Gradiente geog. contaminación atm.?

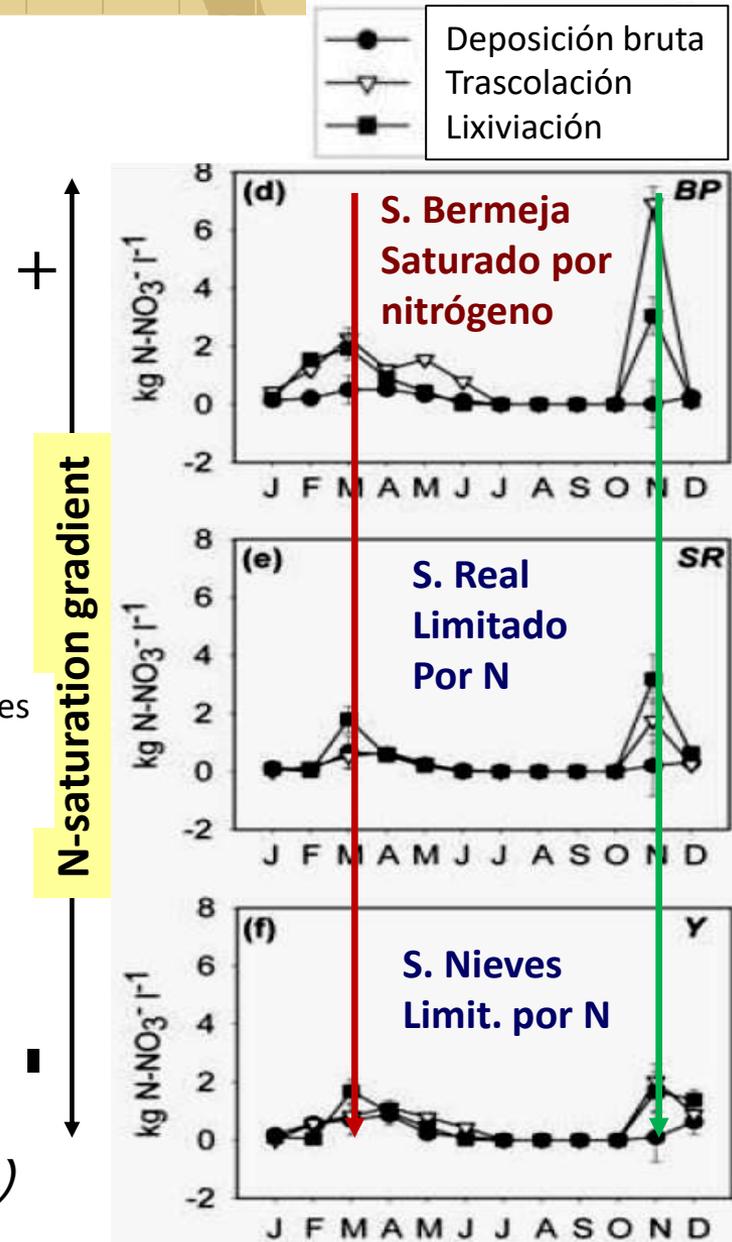
Hay asociado un gradiente de estado de saturación de N en los bosques?

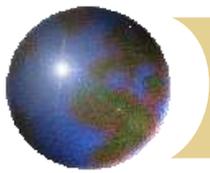
Importancia de la deposición seca (típico en ambientes mediterráneos)



- Ciclo del N intrínsecamente abierto:**
 ↑ lixiviación de NO₃⁻ incluso en pinsapares jóvenes (en otoño, independientemente del estado de saturación; pero no en primavera)

Salido et al. Biogeochemistry



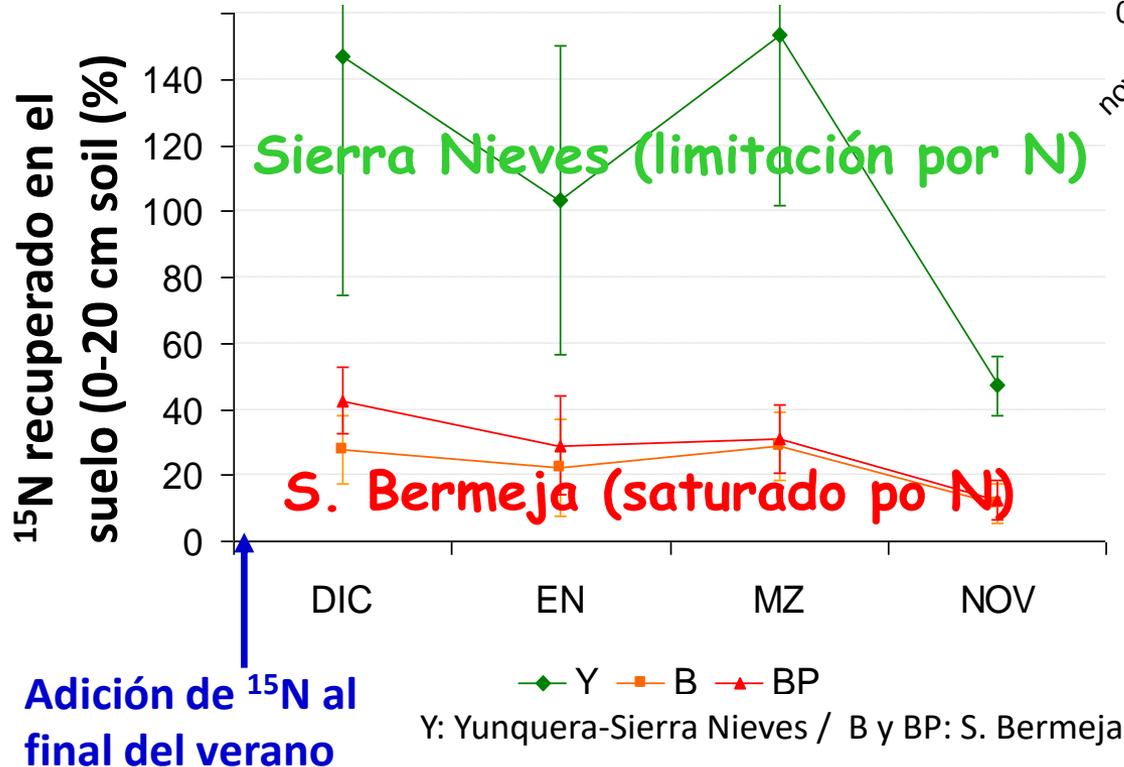


Efectos a nivel de Ecosistema

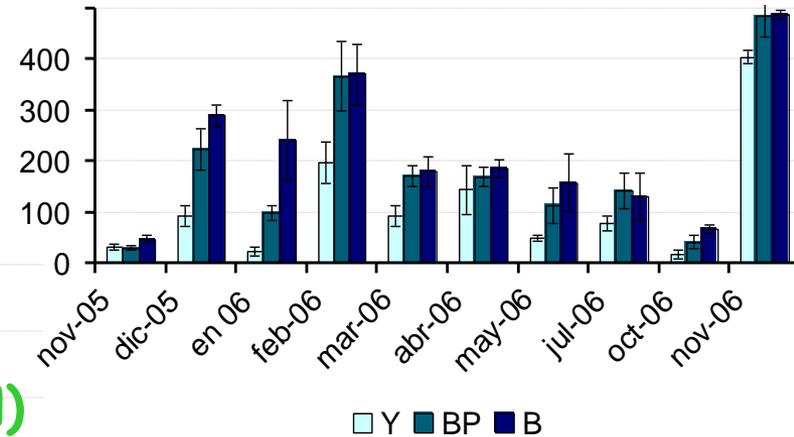
Experimento de campo de adición de Nitrógeno-15N:

Tratamientos: parcelas Control /
parcelas + 25 kg N¹⁵-NO₃/ha

Medidas: ¹⁵N en lixiviación & ¹⁵N
retenido en el suelo



Lisímetros-flujo de agua (l m⁻²)

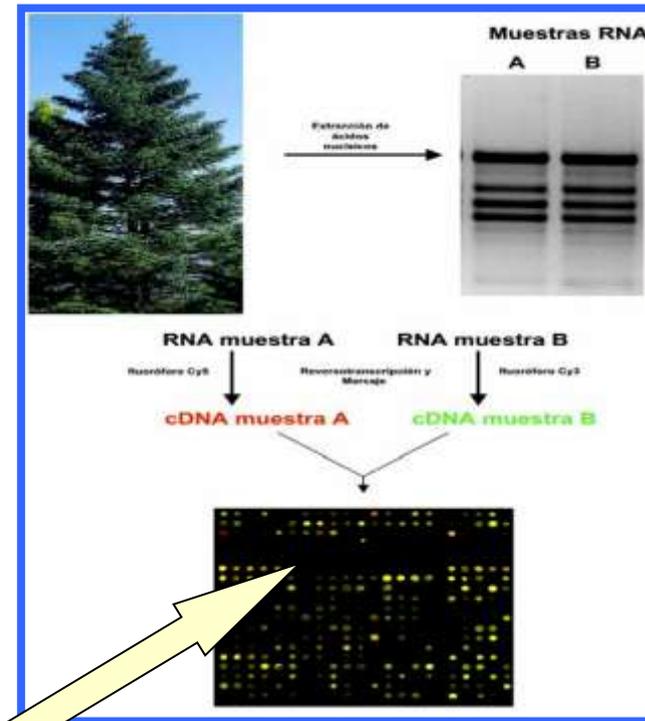
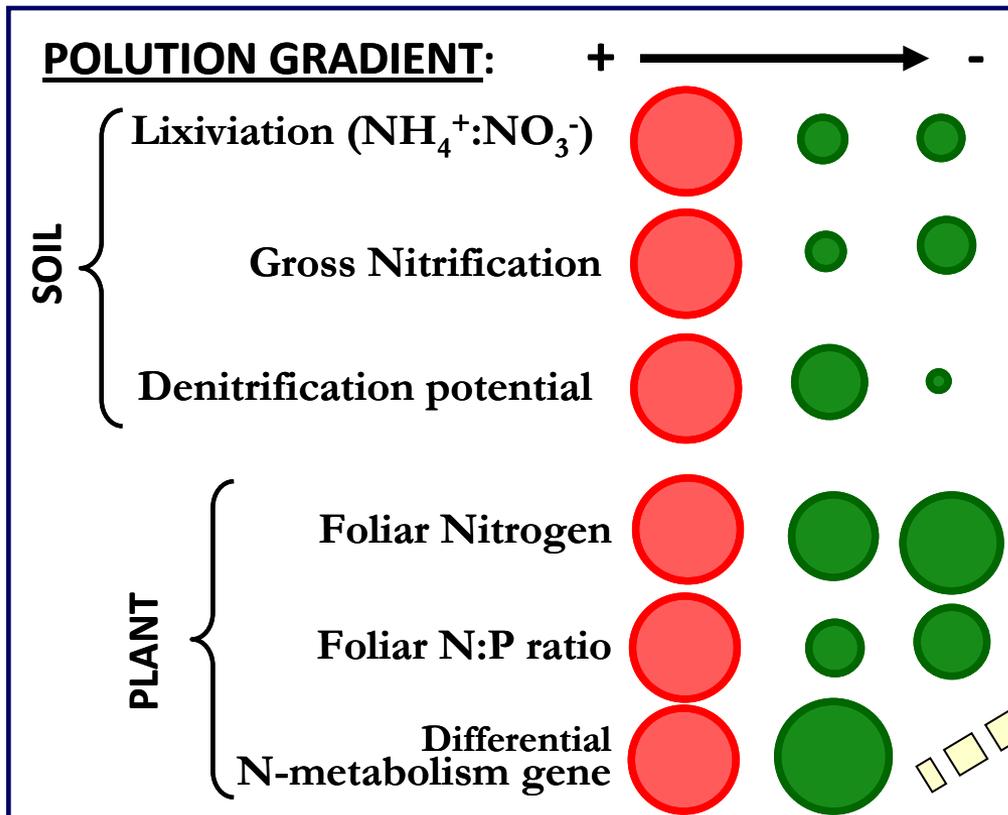




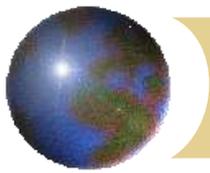
Efectos a nivel de Àrbol-Fisiología

Indicadores de saturación de N: ¿suelo o plantas como elementos de diagnóstico?:

- ⊠ ↑ magnitud de las diferencias empleando indicadores del SUELO.
- ⊠ No significación o ↓ efecto con indicadores basados en los ÁRBOLES.



Muestreo de hojas-protocolo ICP-Forest : acículas de 1-2 (3) años



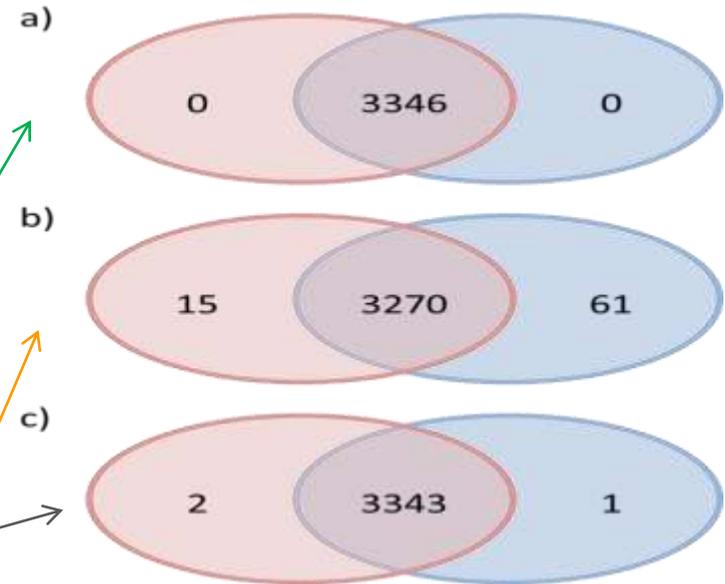
Efectos a nivel de transcriptoma

✪ ***Abies pinsapo*** (especie oligotrófica) **no parece ser capaz de regular la expresión génica cuando está sujeto a ↑↑ disponibilidad de N**

Diagrama de Venn: Comparación de genes expresados en tejidos procedentes del **bosque contaminado-Saturado por N (rojo)** respecto al **bosque no contaminado-limitado por N (azul)** in **hojas** (a), **yemas** (b) and **xilema** (c).

Acículas: No hay diferencias.

Xilema : No hay diferencias



Yemas-brotes nuevos:
Sitio Contaminado: Glycolysis / Gluconeogenesis; pyruvate metabolism, ATP synthase, histones
Sitio NO contaminado: Rubisco, chlorophyll precursor, chloroplast precursor, cellulose synthase...

Relacionados con diferencias fenológicas,
NO CON EL METABOLISMO DEL N



¿por qué no se refleja en transcriptoma?

❖ !Vuelta hacia “arriba”! Nivel molecular \Rightarrow nivel de árbol.

❖ *Abies pinsapo*: muy alta longevidad foliar (hasta 15 años)

❖ *Pinus pinaster*: menor longevidad foliar (4 years)

❖ **Muestreo de todas las cohortes foliares!!!**

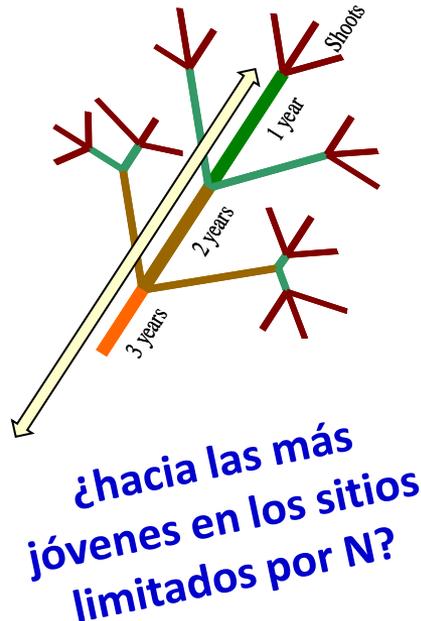
❖ **[N], [P], estequiometría N:P y aminoácidos foliares**

❖ **Marcaje de acículas con ^{15}N (¿traslocación del N?):**

❖ Hojas jóvenes (1+2 yr) / viejas (4+5 yr) en ramas distintas.

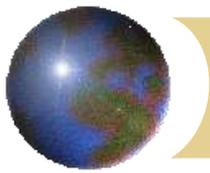


¿se transfiere el exceso de N hacia las hojas viejas en los bosques saturados por N?



¿hacia las más jóvenes en los sitios limitados por N?





Nivel fisiológico-individuo

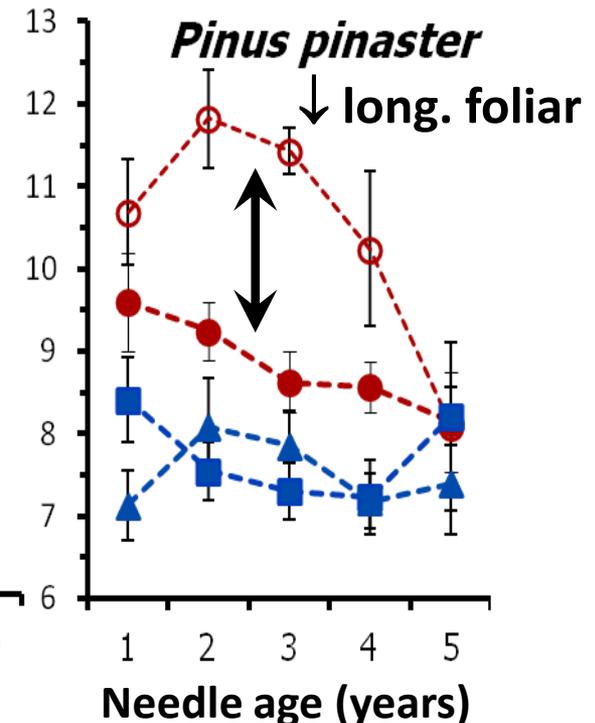
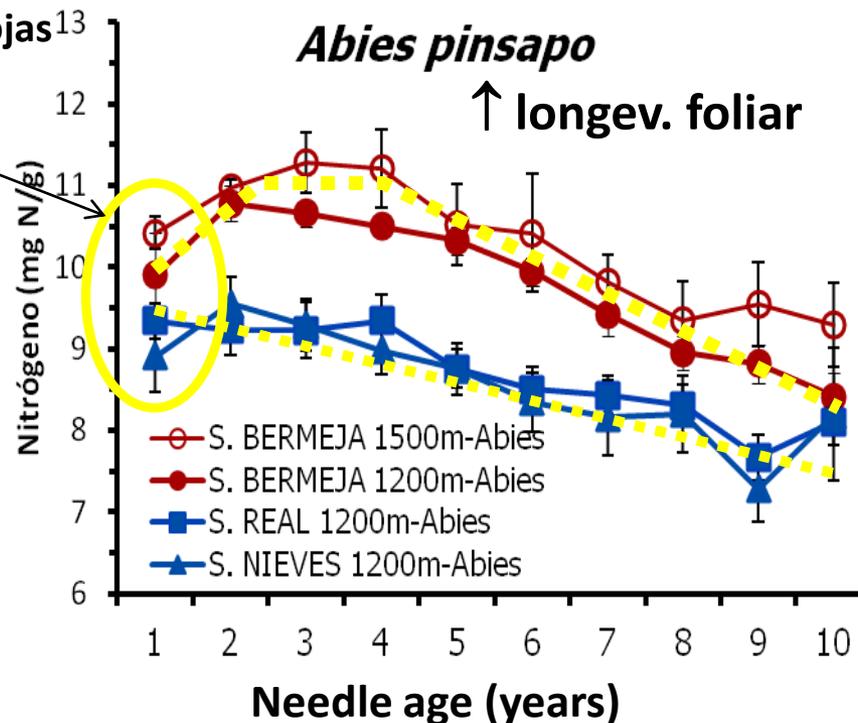
Cambios con la edad en los nutrientes foliares. Nitrógeno.

- Variaciones a lo largo del gradiente de deposición de N.
 - Comparación especies con alta *versus* baja longevidad foliar.

No diferencias significativas para hojas jóvenes

Acumulación de N hacia hojas más viejas ¿consumo de lujo?

[N] ↓ con la edad de la hoja (patrón universal en plantas)





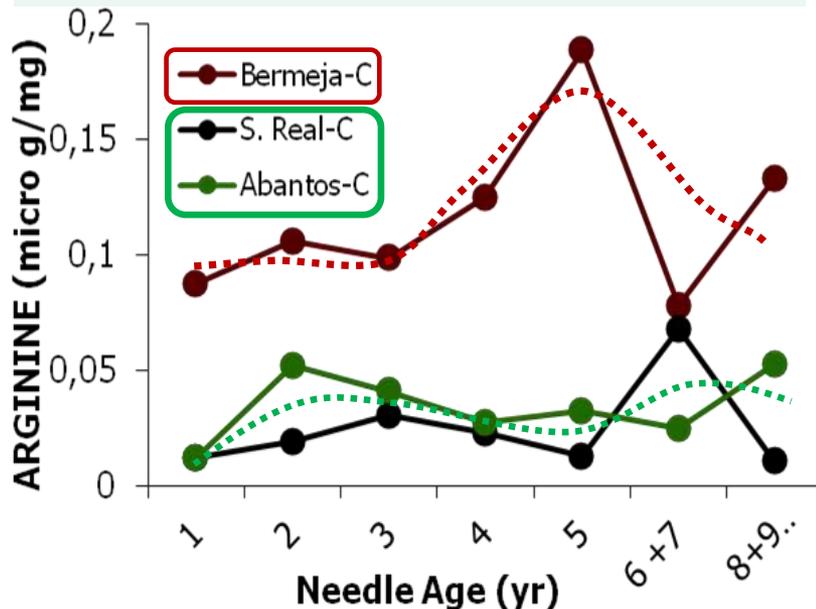
¿por qué no se refleja en transcriptoma?

- ✦ En las zonas con mayor deposición de N, el pinsapo hace un “consumo de lujo” del N.

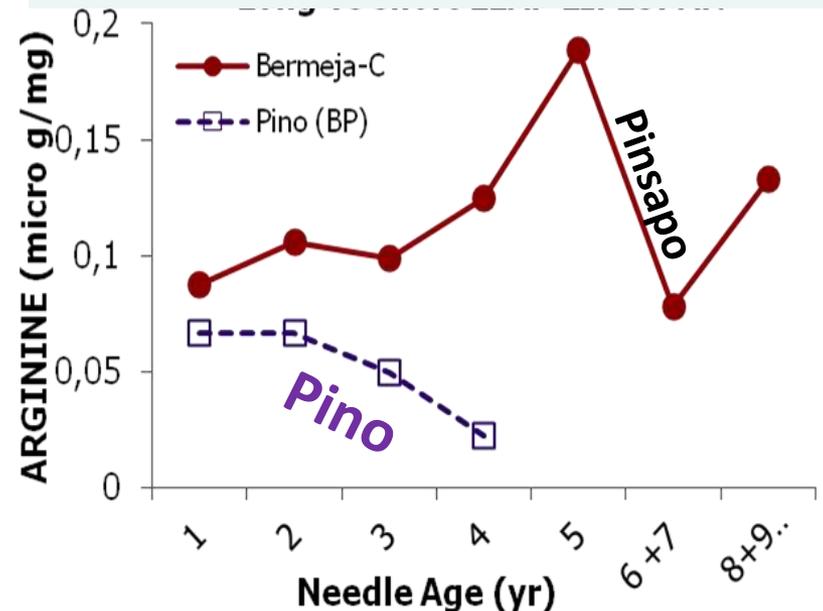
- ✦ *Perfiles de aminoácidos según la edad de las hojas.*

- ✦ *Abies pinsapo* (alta longevidad foliar) acumula **ARGININA** en las hojas de edad intermedia a viejas

Gradiente Geogr. DEPOSICIÓN DE N
(PINSAPO)



Sierra BERMEJA (↑↑ Dep. atmosf. de N)
(PINSAPO vs PINO)

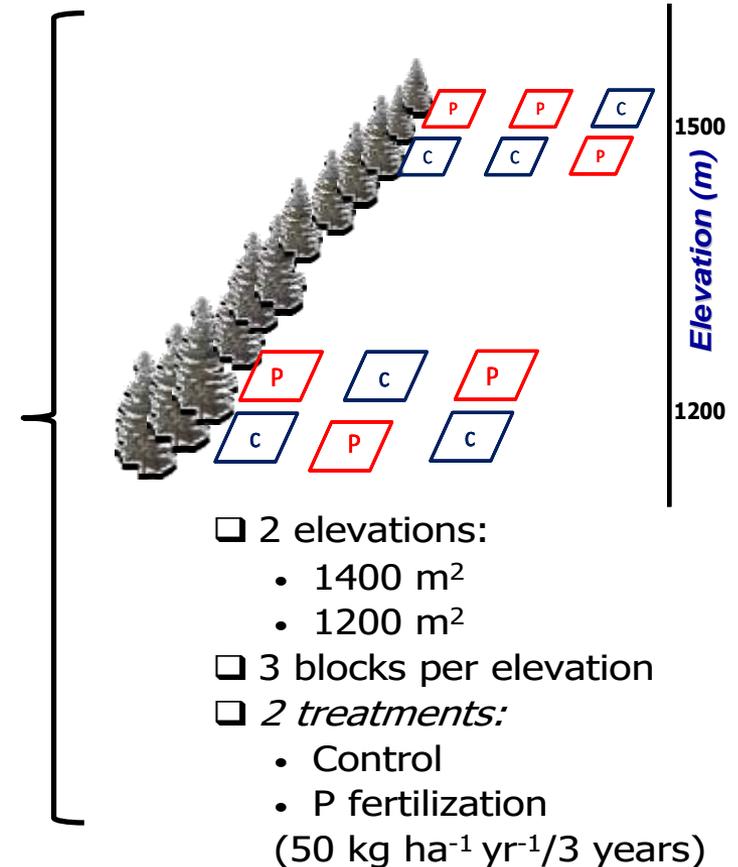
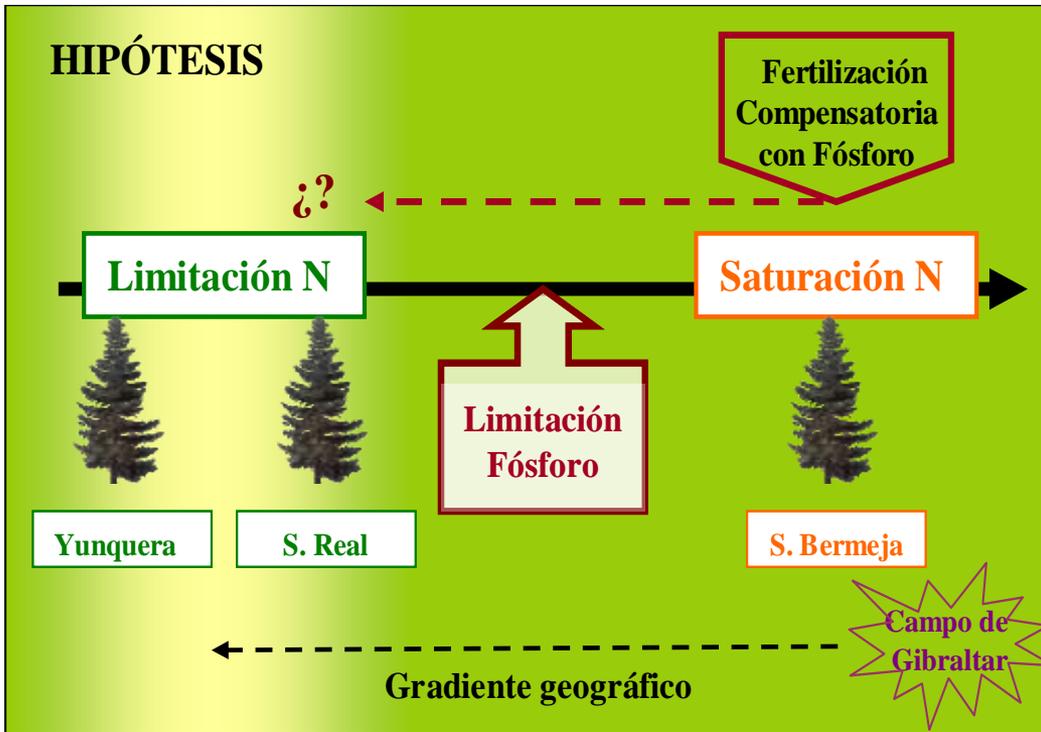


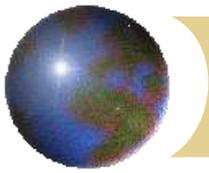


Protocolos de remediación

❊ Sitio contaminado: Medidas de Mitigation. Expto. de campo de fertilización compensatoria con P

- ❊ Deposición crónica de N \Rightarrow Desbalance N:P \Rightarrow Limitación por P.
- ❊ ... si fertilización P \Rightarrow ¿cambio a N limitation/alivio síntomas de saturación de N?





Ensayo protocolos remediación

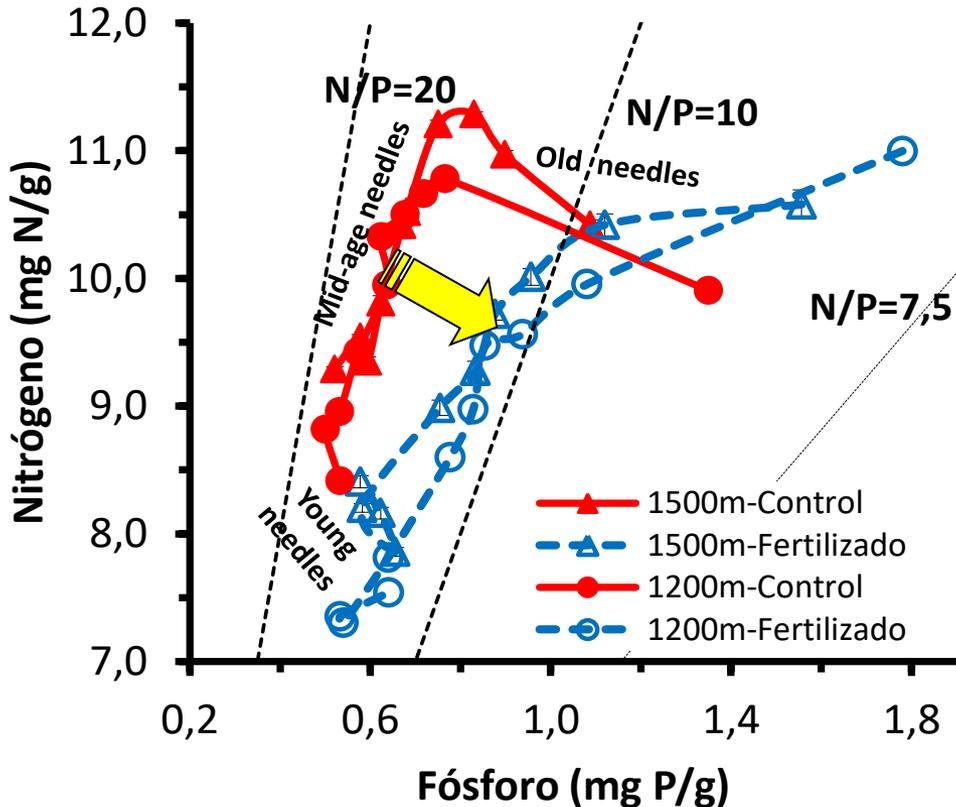
Respuestas a la fertilización compensatoria con fósforo:

Nutrientes foliares y reajuste estequiométrico N:P

Abies pinsapo (elevada longev. Foliar), sitios contaminados

El patrón de alta relación N/P en hojas de edad intermedia desaparece

El exceso de N en el árbol (consumo de lujo) puede ahora metabolizarse más allá, hacia la síntesis de proteínas y crecimiento

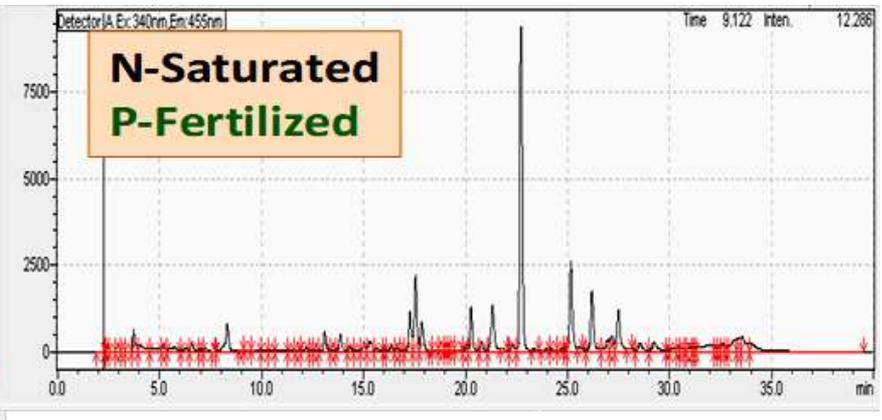
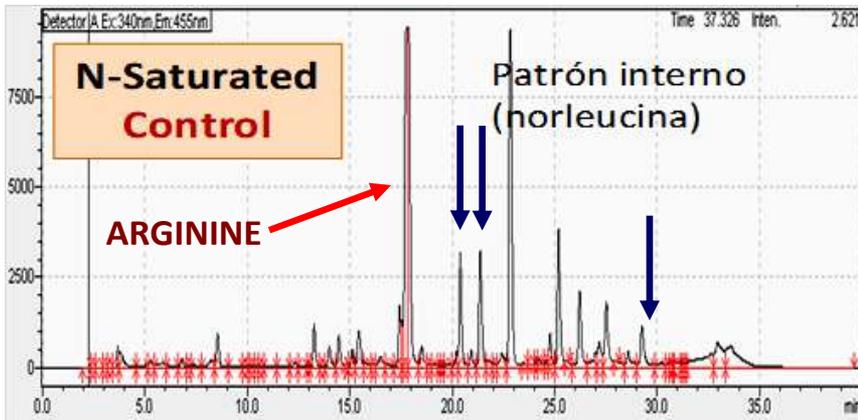
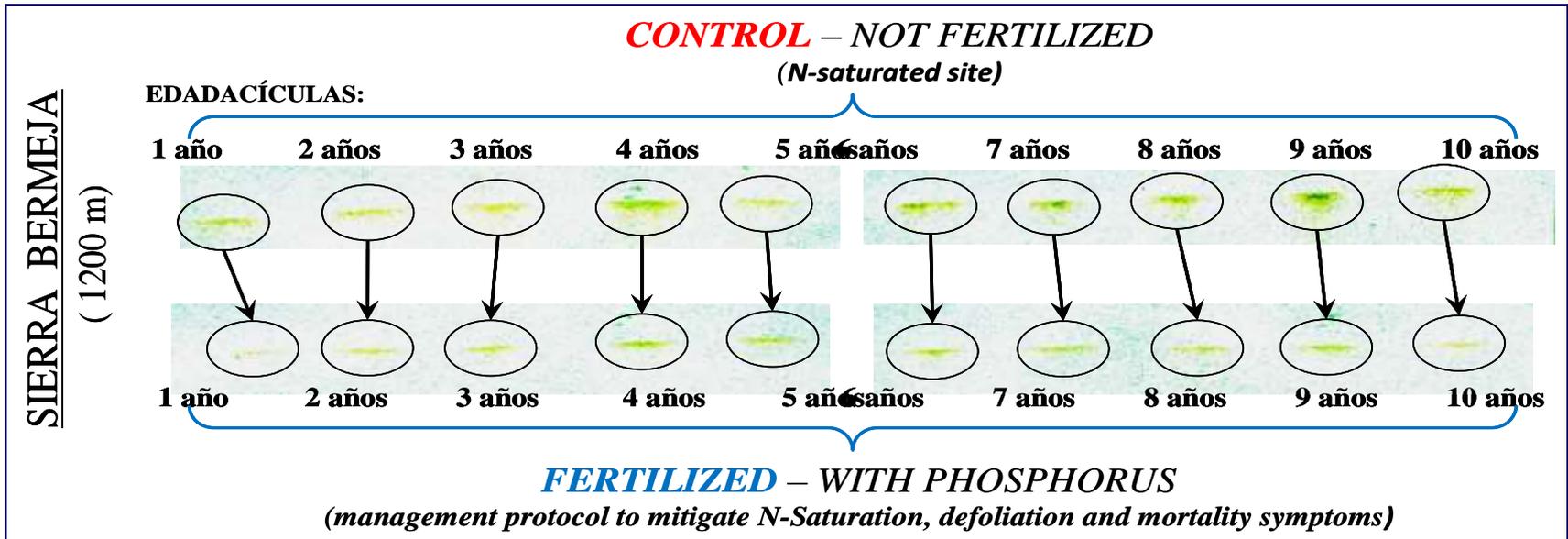


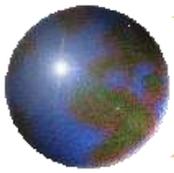


Ensayo protocolos remediación

Respuestas: aminoácidos foliares - cromatografía papel & HPLC

* *Abies pinsapo*, Sitio contaminado-control vs P-fertilizado



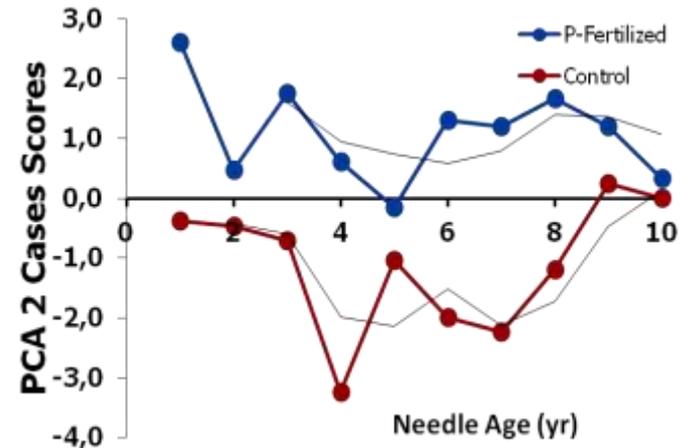
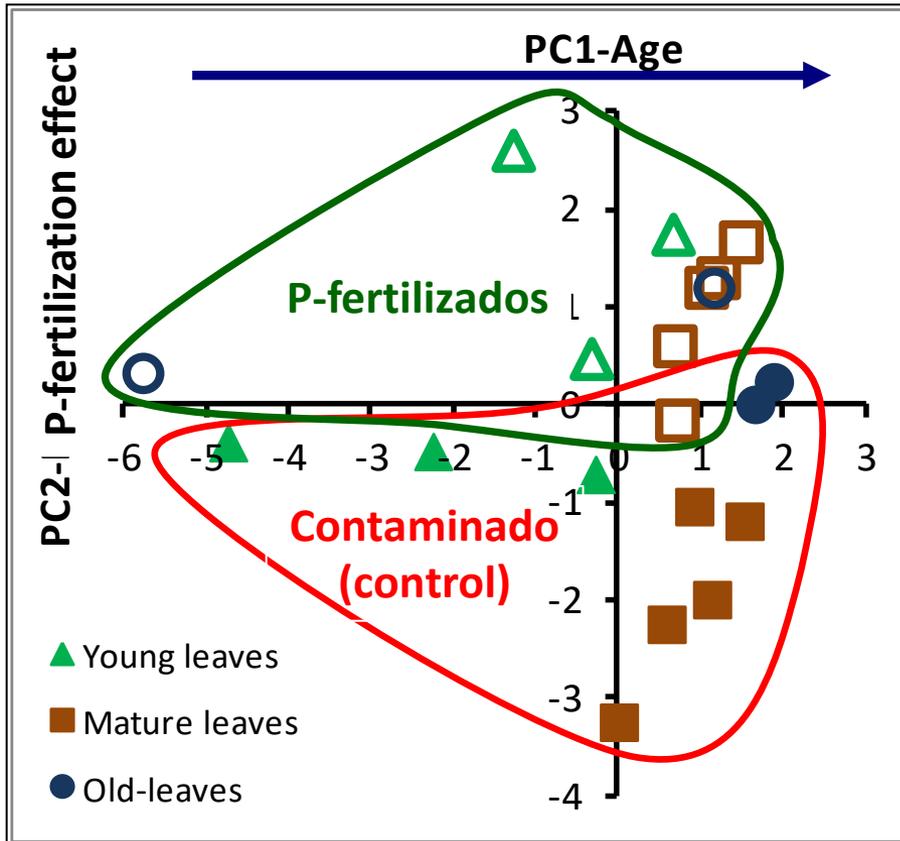


Ensayo protocolos remediación

Respuesta a fertilización compensatoria con P.

Perfiles de aminoácidos – Análisis Multivariante

- Abies pinsapo* (long leaf-longevity), polluted sites.



| Factor-variable correlations (factor loadings) | | |
|--|--------------|----------------------|
| | PCA-1 (Age) | PCA-2 (N-Saturation) |
| Aspartato | -0,40 | 0,20 |
| Glutamato | 0,49 | -0,59 |
| Arginina | -0,25 | -0,80 |
| Serina | -0,77 | 0,24 |
| Met-Val | -0,79 | -0,09 |
| Fenilalanina | -0,60 | -0,47 |
| Alanina | -0,24 | -0,53 |
| Glicina | -0,96 | -0,04 |
| Histidina | -0,75 | 0,08 |
| Treonina | -0,79 | -0,12 |
| Tirosina | 0,26 | -0,74 |

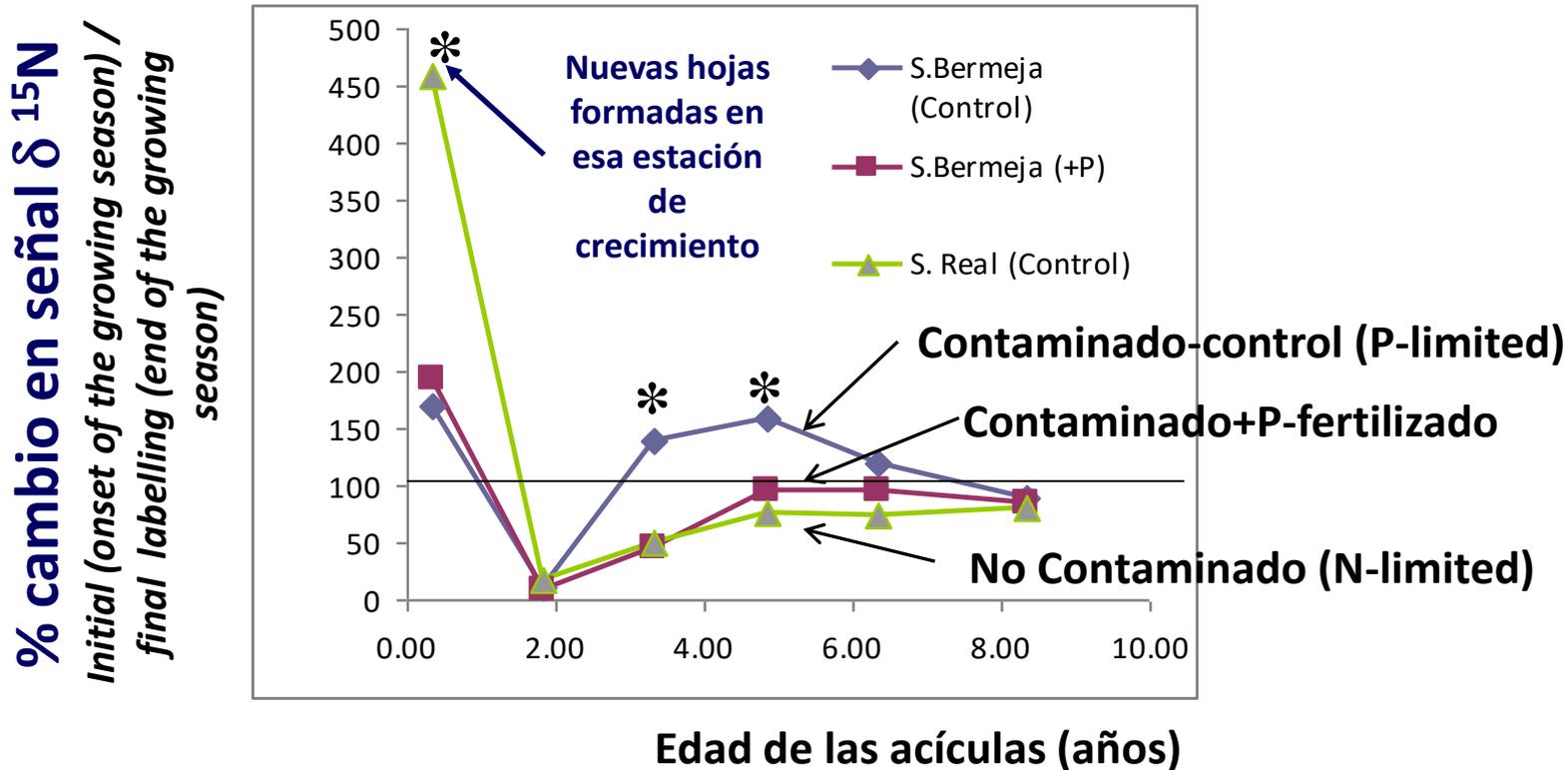


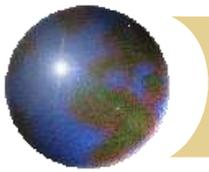
Ensayo protocolos remediación

Respuesta a fertilización compensatoria con P

■ Marcaje con ^{15}N para evaluar flujo interno de N

- **Las hojas nuevas son atractores de N:** efecto más acusado en Sierra Real (bosque limitado por N).
- Más ^{15}N desde hojas jóvenes a más viejas en S. Bermeja (contaminado).
- Árboles de parcelas fertilizadas-P (sitio contaminado): como en no contaminados.





EXAMPLE 2: Ozone

Evidences for potentially damaging O₃ levels and a putative source of pollution...

- Continuous monitoring (passive samplers) of [O₃] at *Abies pinsapo* "LTER"-Network. *Moderate-to-high levels.*
- Model simulations of back-trajectories of air masses.

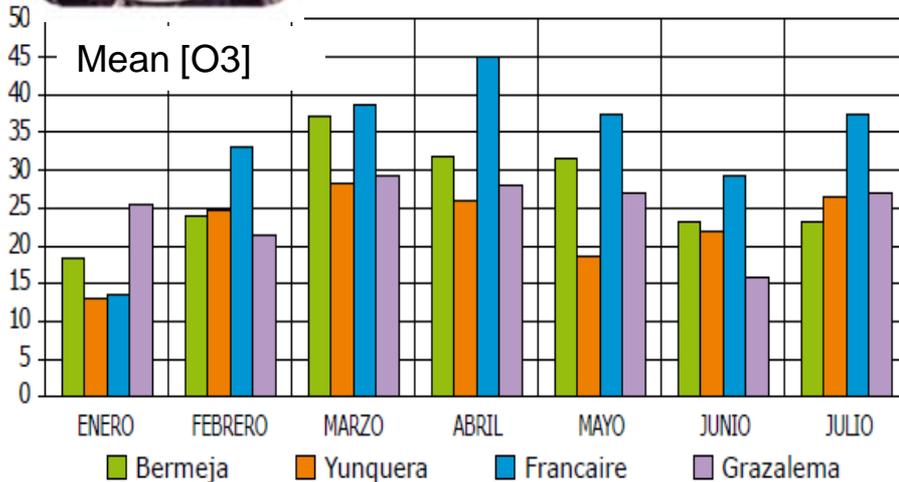
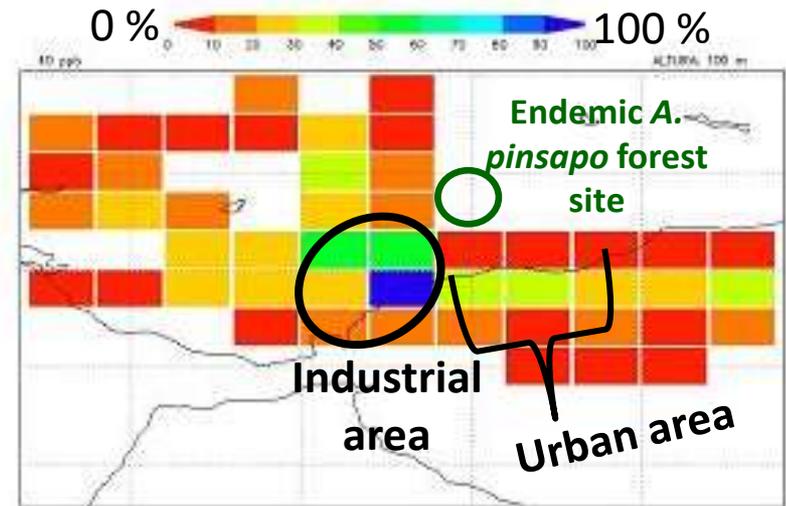
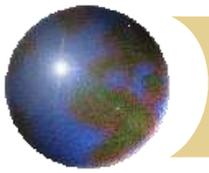


Figura 1. Concentraciones medias de Ozono (ppb) en las cuatro estaciones consideradas a lo largo de siete meses de observación.



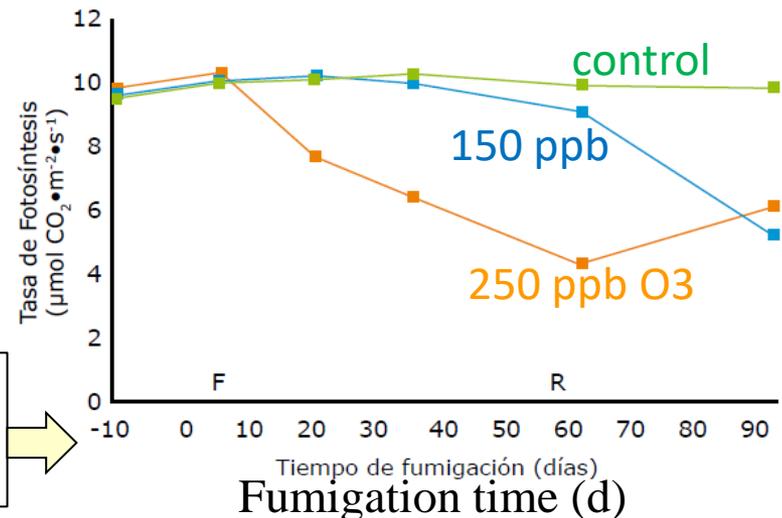
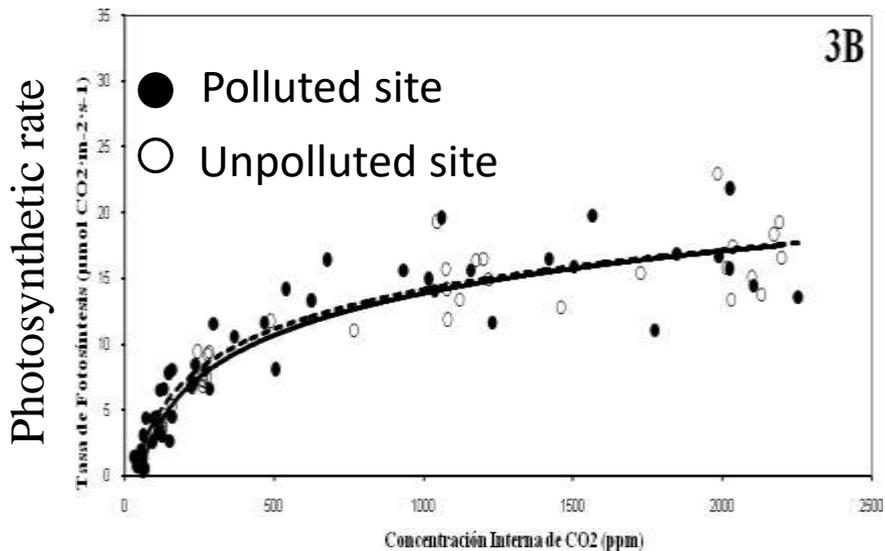
Origin of air masses (% of trajectories which cross the protected forest site) on days when O₃ concentrations are maximums according to the I1 index



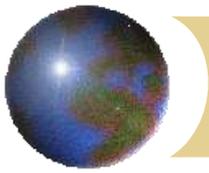
EXAMPLE 1: Ozone

... but no symptoms of visual leaf injury or impaired ecophysiological (gas exchange) performance.

Photosynthetic rates similar in polluted and unpolluted sites, and in experimental saplings well above ozone field-levels.



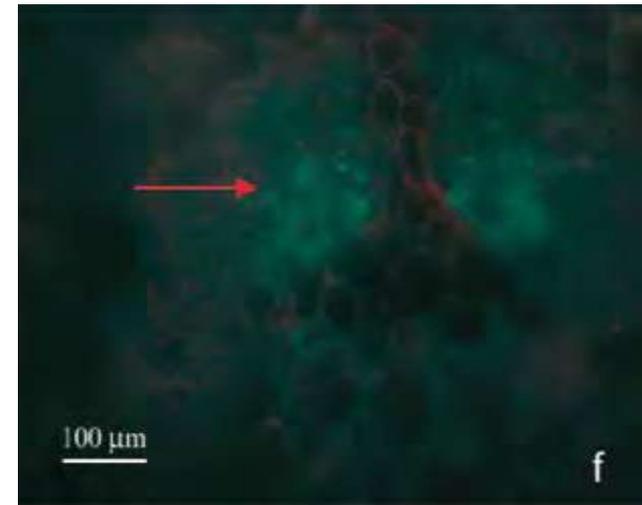
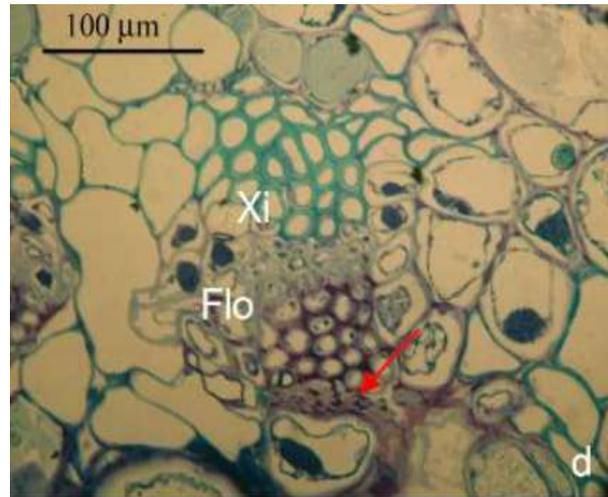
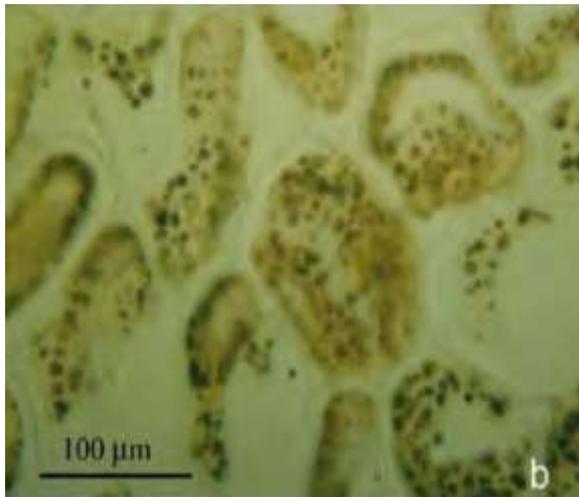
Time response of the Photosynthetic rate in *Abies pinsapo* saplings from the polluted site, under control, 150 ppb and 250 ppb of O₃ concentration in controlled chambers.

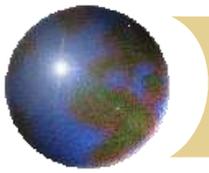


EXAMPLE 1: Ozone

✚ ... however effects in the vascular system and reduced stem growth.

- ❏ Accumulation of starch granules in cell of leaves (b), impairment of the vascular system with phloem collapse (d) due to precipitation of callose (f, a polysaccharide high is usually produced in response to wounding and pathogen infection)





Conclusions

The higher P use efficiency found in the trees from Sierra Bermeja suggest a P limitation status, associated to an increase in the P demand which has been induced by the greater N availability.

Although some effects has been found at the ecophysiological and biochemical levels, *Abies pinsapo* has shown no ability to cope with N saturation by means of the modulation of gene expression.

This lack of ability to modulate the transcriptome expression could be the reason for the vulnerability shown by temperate fir forests to the N saturation syndrome, could these results be extrapolated to different fir species.