



Universidad Austral de Chile

Facultad de Ciencias Forestales y Recursos Naturales

Comparación del almacenamiento de carbohidratos en dos especies arbóreas de diferente sombra-tolerancia, en respuesta a sombra y herbivoría

Patrocinante: Sra. Frida Piper B.
Copatrocinate: Sra Alejandra Zúñiga F.

Trabajo de Titulación presentado como parte
de los requisitos para optar al Título de
Ingeniero en Conservación de Recursos Naturales

PAULINA CONSTANZA BELÉN SEPÚLVEDA PEDREROS
VALDIVIA
2014

Índice de materias

Páginas

	Índice de materias	Páginas
i	Calificación del comité de titulación	i
iii	Dedicatoria	ii
iv	Resumen	iii
1	INTRODUCCIÓN	1
2	ESTADO DEL ARTE	4
3.	MÉTODOS	8
3.1.	Sitio de estudio	8
3.2	Características de las especies seleccionadas	8
3.3	Diseño experimental y tratamientos	10
3.4	Evaluación de sobrevivencia y crecimiento vegetativo	11
3.5	Evaluación biomasa nueva	12
3.6	Procesamiento y análisis químico de las muestras	12
3.7	Análisis de datos	13
4.	RESULTADOS	13
4.1	Sobrevivencia	13
4.2.	Crecimiento	13
4.3	Brotos	14
4.4.	Biomasa nueva	15
4.5	Concentración reservas de C	15
4.6	Cantidad total de reservas de C	16
5.	DISCUSIÓN	17
5.1	Sobrevivencia	18
5.2	Crecimiento	19
5.2.1	Tasa de crecimiento relativo	19
5.2.2	Brotos	19
5.2.3	Biomasa nueva	20
6	CONCLUSIONES	21

- ANEXOS 1 Invernadero Universidad Austral de Chile
- . 2 Tratamiento con 16 individuos
 - . 3 Cosecha
 - 4 Separación de individuos por órganos
 - 5 Extracción azúcares solubles con solución (M:C:W)
 - 6 Método fenol -sulfúrico
 - 7 Tasa de Crecimiento Relativo (RGRh)
 - 8 Número Brotes
 - 9 Biomasa nueva
 - 10 Hoja antigua
 - 11 Tallo antiguo
 - . 12 Raíz
 - 13 Reservas de los carbohidratos no estructurales totales en tejido viejo planta completa
 - .

Calificación del Comité de Titulación

		Nota
Patrocinante:	Sra. Frida Piper	___6,0___
Copatrocinate:	Sra. Alejandra Zúñiga	___6,5___
Informante:	Sr. Duncan Christie	___6,8___

El Patrocinante acredita que el presente Trabajo de Titulación cumple con los requisitos de contenido y de forma contemplados en el Reglamento de Titulación de la Escuela. Del mismo modo, acredita que en el presente documento han sido consideradas las sugerencias y modificaciones propuestas por los demás integrantes del Comité de Titulación.



Sra. Frida Piper B.

DEDICATORIA

A mis Padres, hermanos, abuela y pollitos.

RESUMEN

Los hidratos de carbono actúan como reserva de energía para las plantas, por lo que podrían cubrir los gastos de mantención durante períodos de estrés, teniendo un importante rol en la sobrevivencia. En particular, se ha hipotetizado que las reservas de carbono serían cruciales para sobrevivir estrés por sombra y defoliación. El objetivo general de este proyecto es comparar las reservas de carbono, sobrevivencia y crecimiento en respuesta a sombra y defoliación, en una especie sombratolerante (*Luma apiculata*) y una especie sombraintolerante (*Eucalyptus globulus*). Para ello se realizó un experimento aplicando sombra y defoliación. Según la hipótesis de estudio, se espera que la sobrevivencia y el rebrote en respuesta a sombra y defoliación sean mayores en la especie sombratolerante que en la especie sombraintolerante. Mediante un diseño experimental multifactorial aleatorizado en bloques, ambas especies fueron expuestas a dos condiciones lumínicas y dos intensidades de defoliación. El experimento se llevó a cabo en el invernadero del Instituto de Ciencias Ambientales y Evolutivas en la Universidad Austral de Chile, durante el segundo semestre de 2013. Luego de aplicados los tratamientos, se evaluó regularmente la sobrevivencia, y el rebrote. Al finalizar el experimento, todos los individuos fueron cosechados y se analizaron sus respuestas en crecimiento, biomasa y concentración de reservas de carbono en laboratorio. Las concentraciones de reservas de carbono fueron mayores en *Eucalyptus globulus*. Sólo murió un individuo intolerante. El crecimiento fue parcialmente mayor en *Luma apiculata*, por lo que la sombratolerancia no se relacionó con el almacenamiento de C, sobrevivencia y crecimiento en las especies estudiadas. La comprensión de estas características entre estas especies permitiría realizar mejores planes de restauración y predicción del efecto de la herbivoría en especies que difieran en sus requerimientos lumínicos.

Palabras Clave: Hidratos de carbono, sombratolerancia, defoliación, *Luma apiculata*, *Eucalyptus globulus*.

1. INTRODUCCIÓN

La fotosíntesis es el proceso mediante el cual los seres vivos que poseen cloroplastos captan energía solar, CO_2 y H_2O para sintetizar biomoléculas orgánicas como glúcidos, aminoácidos y otras sustancias. Los glúcidos o también llamados hidratos de carbono, son compuestos de carbono, hidrógeno y oxígeno, que se dividen en dos grupos; estructurales y no estructurales. Los primeros forman parte de la pared celular y entre éstos, se encuentran la celulosa, hemicelulosa y pectina, las cuales no están disponibles para el metabolismo energético de la planta y son insolubles en agua. Los hidratos de carbono (C) no estructurales comprenden varias clases de compuestos que se relacionan con el almacenamiento de energía, por lo que su importancia radica en que son la fuente de energía directa que tiene la planta para desarrollarse cuando las ganancias fotosintéticas resultan insuficientes. Para la mayoría de las plantas, los principales compuestos de reservas de C son el almidón y los azúcares simples.

La tolerancia a la sombra de una especie es la capacidad que ésta posee para sobrevivir en condiciones de poca luz y establecerse definitivamente en un hábitat sombrío. Esta influye en la composición, estructura y dinámica de un bosque por lo que es central para la coexistencia de las especies. Un concepto muy importante para la sobrevivencia de las plantas, es el balance de carbono. Este se refiere al resultado de las diferencias entre las ganancias de C vía fotosíntesis y pérdidas de C por respiración. La intensidad de luz a la cual las ganancias de C por fotosíntesis se igualan con las pérdidas de C por respiración se conoce como punto de compensación lumínica, el cual es menor en especies tolerantes a la sombra. En general, tanto la tasa de respiración como la capacidad fotosintética son menores en especies tolerantes a la sombra que en especies intolerantes a la sombra (Lusk, 2002). Además, las especies tolerantes a la sombra tienen una menor tasa de crecimiento potencial que las especies intolerantes (Lusk, 2002). La menor tasa de crecimiento en especies tolerantes a sombra, junto con un menor punto de compensación lumínica, tasa de respiración y capacidad fotosintética serían parte de una "estrategia de conservación de C" que determina bajas tasas metabólicas. Dichas tasas metabólicas son ventajosas en sombra, porque reducen el costo energético en condiciones de fotosíntesis limitada por luz. Además, otros mecanismos para tolerar sombra incluyen el desarrollo de hojas gruesas y densas,

robustamente construidas, con un área foliar específica baja, es decir hojas delgadas y livianas y el mayor aprovechamiento de haces de luz (sunflecks) para la captura de carbono (Lusk, 2004). Por otro lado, se sugiere que la estrategia para tolerar la sombra no es conservar C, sino capturar C a través de una mayor tasa fotosintética de las hojas individuales, sumado a su geometría, dinámica dosel, y patrón de asignación de carbono entre sus órganos (Givnish 1988). Estos rasgos fisiológicos y morfológicos suponen costos energéticos en órganos no fotosintéticos, o competencia en el ambiente físico por espacio adicional, tanto en las plantas tolerantes o intolerantes. Este rasgo debe entenderse a nivel de planta completa porque a nivel de hojas el rasgo no es evidente (Givnish, 1988).

Un rasgo menos estudiado, pero aparentemente importante en la estrategia de conservación de C de las especies sombratolerantes, es la capacidad de almacenamiento de carbohidratos no estructurales (Kitajima 1994, Lusk, 2004). Los hidratos de C no estructurales podrían amortiguar la falta de energía en individuos que se encuentran privados de ganancia de C debido, por ejemplo, a la falta de luz o a herbivoría. El rol de las reservas de C sería sobre todo importante en el comienzo de la vida de las plantas, ya que las especies sombratolerantes deben enfrentarse desde su emergencia a condiciones de escasa luminosidad y frecuentemente también a herbivoría. Si el almacenamiento de carbohidratos tiene una función adaptativa en la tolerancia a la sombra, se puede esperar que la concentración de reservas de C sea mayor en las especies tolerantes a la sombra y que estas especies toleren mejor la reducción de luz y la defoliación. En Chile, mucha de la información que hay sobre la sombratolerancia ha sido inferida de la observación (Donoso, 1989). La herbivoría afecta a las plantas en su adecuación biológica mediante una reducción en sobrevivencia (Coley y Barone, 1996). Hay registros que señalan que las tasas anuales de daños en las hojas son más altos en los bosques tropicales que en los bosques templados de hoja ancha (Coley y Barone, 1996). En Chile, Salgado-Luarte y Gianoli (2010), así como Chacón y Armesto (2006), han evaluado el efecto de la herbivoría en especies de tipo siempreverde de hoja ancha, en un bosque templado lluvioso. El estudio de Salgado-Luarte y Gianoli (2010) mostró que la herbivoría redujo la sobrevivencia y el crecimiento en individuos de sombra de una especie sombraintolerante (*Embothrium coccineum*), mientras que en individuos de sol no hubo diferencias en crecimiento y sobrevivencia. El estudio de Chacón y Armesto (2006) estimó si la luz incide en la

herbivoría para 2 especies de sombratolerancia media (*Gevuina avellana* y *Drimis wineri*), Ambas mostraron mayor sobrevivencia en sol que en sombra, siendo *G. avellana* mas afectada por herbivoría. En Chile, no se ha evaluado la herbivoría para especies sombratolerantes. El rol de las reservas de C podría ser muy importante para estas especies, ya que estas podrían amortiguar los efectos de la herbivoría y falta de luz movilizándose para cubrir los costos de mantenimiento cuando estén expuestas a sombra y herbivoría reemplazando sus hojas en este último caso (Kitajima 1994, Kobe 1997, Lusk y Piper, 2009). En cambio, las intolerantes aprovechan la disponibilidad de luz para crecer y reponerse rápidamente de la herbivoría (Lusk, 2002). Chile tiene un 17,2% de su área boscosa cubierto por plantaciones (CONAF, 2014), las especies que abarcan mayor área de las plantaciones son sombraitolerantes (CONAF 2014, Richardson 1998, Skolmen y Leding 1990). Comparar las respuestas a sombra y herbivoría entre una especie sombratolerante nativa y una sombraitolerante exótica podría ayudar a comprender mejor la coexistencia entre éstas. Dado lo anterior, para el desarrollo de esta investigación se formulan las siguientes hipótesis:

H1: una especie sombratolerante tiene mayor cantidad de reservas de carbono que una especie sombraitolerante.

H2: Una especie sombratolerante puede sobrevivir y crecer mejor frente al estrés impuesto por reducción de luz y herbivoría respecto a una especie sombraitolerante.

H3: El mayor almacenamiento de carbono en la especie sombratolerante determina su mayor sobrevivencia frente a situaciones de estrés impuesto por herbivoría y reducción de luz, respecto a la especie sombraitolerante.

Objetivo general:

- Comparar la relación entre reservas de C con sobrevivencia y crecimiento en respuesta a la reducción de luz y la herbivoría, entre dos especies de diferente grado de tolerancia a la sombra.

Objetivos específicos:

- i) Estudiar las reservas de C en una especie tolerante y una especie intolerante a la sombra.
- ii) Determinar la sobrevivencia y el rebrote en especies de diferente sombratolerancia en respuesta a estrés impuesto por sombra y herbivoría.
- iii) Determinar la relación entre la sobrevivencia de la especie tolerante y el contenido de reservas de C.

2. ESTADO DEL ARTE

El ambiente lumínico donde se establecen las plantas afecta su crecimiento y desarrollo, lo que determina su morfología foliar y fisiología (Lambers *et al.* 1998). La sobrevivencia de éstas se relaciona con lo adaptadas que se encuentran a dicho ambiente (Azcón *et al.* 2000). Por definición, las especies tolerantes a la sombra sobreviven incluso a un balance de carbono marginal y tasa de crecimiento restringida por ambientes muy sombreados, mientras que las especies menos tolerantes a la sombra simplemente no pueden sobrevivir períodos de supresión por sombra (Kobe y Coates, 1997). La variación interespecífica en la supervivencia de las plántulas, especialmente en condiciones de poca luz, juega un papel muy importante en la estructura y la dinámica de las comunidades forestales (Canham *et al.* 1999). Sin embargo, existen estudios que señalan que las especies tolerantes a la sombra no poseen la capacidad de utilizar estas 'oportunidades' para desarrollarse más rápido (Naumburg y Ellsworth, 2000).

Se ha demostrado que la tasa de crecimiento está influenciada por el área foliar específica (área hoja/peso hoja) (Villar *et al.*, 2004) y la tasa fotosintética. El área foliar específica alta (hojas delgadas y poco densas), se traduce en una alta ganancia de carbono por unidad de biomasa invertida. Este hábito potencia las tasas de crecimiento en especies tolerantes a la sombra (Lusk, 2004). Por otro lado, las especies de crecimiento lento, poseen un área foliar específica baja, estas invierten biomasa en sus unidades de superficie fotosintética (Lusk, 2004). Existe una relación positiva entre la asignación de biomasa a hojas y la capacidad para captar luz y dióxido de carbono, lo que se traduce en una mayor tasa de crecimiento

para las especies sombraitolerantes (Villar *et al.* 2004). La otra opción es que la planta invierta biomasa en sus raíces con el costo de tener una tasa de crecimiento más lenta (Villar *et al.* 2004). Dado lo anterior, para el caso de este estudio, se espera que la especie sombraitolerante, *Luma apiculata* tenga una mayor biomasa foliar que la especie sombraitolerante *Eucalyptus globulus*. Un antecedente de esto es un estudio que se realizó con 24 especies leñosas, las cuales mostraron una correlación positiva entre la tasa de crecimiento relativo y la proporción de hojas (Villar *et al.* 2004). Por un lado, la mayor asignación de biomasa a hojas se asocia a una mayor sobrevivencia, sin embargo, no siempre es así, porque las características que determinan un mayor crecimiento en la planta pueden tener efectos contraproducentes en ambientes donde hay déficit de agua (sequía), déficit de nutrientes en el suelo, o alta herbivoría (Villar *et al.* 2004). En el caso de hábitats donde los recursos son escasos, la conservación de estos es clave para la sobrevivencia. Por ello, para las plantas puede ser más ventajoso poseer una hoja robusta que se mantenga durante varias temporadas aunque el costo sea tener un crecimiento más lento (Lusk, 2004, Valladares y Niinemets 2008). Por otro lado se ha propuesto que la selección natural favorece a la planta entera, la cual se aclimata a los diferentes niveles de irradiancia con su forma, fisiología, maximizando su ganancia de energía y con estos mayores recursos ganados tienden a competir mejor por conseguir un espacio adicional en el ambiente físico (Givnish, 1988). Entonces, una cuestión central en la ecología fisiológica de la sucesión forestal es, si la tolerancia a la sombra se relaciona con la conservación de C o con la optimización en la captura neta de energía, a nivel de planta completa (Lusk, 2004, Valladares y Niinemets 2008, Givnish 1988).

Los carbohidratos poseen varias funciones dentro de las cuales se encuentran la estructural, metabólica y tienen reserva de energía (Grajales, 2005). Los carbohidratos no estructurales (NSC) como glucosa, fructosa, sacarosa y almidón son componentes químicos importantes del material vegetal ya que cumplen una función de reserva y están asociados a la capacidad de rebrote y recuperación después de una perturbación (Villar *et al.* 2004). Diferentes estudios han caracterizado el almacenamiento de C en diferentes órganos en plántulas y sus funciones relativas, tanto en relación a la adaptación a la sombra, como a los niveles de tolerancia al estrés por herbivoría entre las especies coexistentes (Myers y Kitajima 2007, Kobe 1997 y Canham *et al.* 1999). El estudio de Myers y Kitajima (2007),

mostró que las reservas de carbohidratos mejora la tolerancia de las plantas al estrés biótico y abiótico en sotobosques tropicales (Myers y Kitajima, 2007). Este estudio también mostró que las reservas de C actúan como una función clave para la sobrevivencia, en los períodos negativos en el balance de C para las plantas, dándoles el tiempo para aclimatarse a los nuevos ambientes de luz y brindándoles los recursos necesarios para que se recuperen de la herbivoría (Myers y Kitajima, 2007). Los autores de este estudio proponen que las reservas de C no estructurales totales (TNC) en raíces y tallos, permiten que las plantas sombratolerantes sobrevivan al estrés a corto plazo, logrando un balance positivo a largo plazo (Myers y Kitajima, 2007). Según este estudio, el almacenamiento de C es un rasgo clave funcional que puede explicar las diferencias entre el crecimiento y sobrevivencia de las especies promoviendo su coexistencia (Myers y Kitajima, 2007).

Otra condición adversa a la que pueden enfrentarse las plantas es la herbivoría (Smith y Smith, 2001), la herbivoría es un tipo de depredación hacia las plantas que trae consecuencias en la supervivencia, tanto para los vegetales como para los herbívoros (Granados *et al.* 2008). En relación a las plantas, la herbivoría causa pérdida del área fotosintética lo que afecta negativamente por la pérdida de nutrientes, de acuerdo a la edad y tejidos que hayan sido extraídos (Granados *et al.* 2008). Aunque las plantas pueden compensar la pérdida de hojas incrementando su tasa fotosintética en las hojas disponibles (Granados *et al.* 2008), varios estudios muestran que la defoliación crónica afecta la demografía de las plantas, incluyendo su sobrevivencia, crecimiento y reproducción (Louda y Roman, 1996). En ambientes sin limitaciones de luz, las plantas pueden reponerse de una destrucción de su área fotosintética, pero una alteración semejante podría ser muy difícil para una plántula que crece en sombra (Myers y Kitajima, 2007). Por esto, las plantas sombratolerantes son duras, fuertemente lignificadas, con bajo contenido en su nutrición y/o con altos compuestos disuasivos, resultando ser poco atractivas para los herbívoros (Lusk, 2004). Sin embargo, se piensa que aún las hojas poco atractivas para los herbívoros pueden ser susceptibles de experimentar cierto grado de defoliación. Ante ese escenario de defoliación en condiciones de sombra, las reservas de C podrían jugar un rol fundamental ya que podrían amortiguar la falta de carbohidratos no estructurales, redistribuyéndose en las plantas cuando estas se encuentren expuestas a estrés por sombra y/o herbivoría. (Kitajima 1994, Kobe 1997, Lusk y Piper, 2009). Por ello, se ha postulado que las especies

sombratolerantes son conservadoras de recursos y almacenan una alta proporción de sus ganancias de C, a diferencia de las intolerantes a la sombra que comprometen sus recursos al nuevo crecimiento (Kitajima 1994, Lusk, 2004). Esta estrategia conservadora de recursos evitaría el agotamiento de reservas en la sombra permitiendo la recuperación tras la herbivoría, y explicando que en las mismas condiciones de estrés las especies tolerantes posean una mayor sobrevivencia (Lusk, 2004).

En resumen, las especies tolerantes a la sombra poseerían mecanismos de conservación de recursos para ‘tolerar el estrés por sombra y herbivoría como: bajo punto de compensación lumínico, bajas tasas de respiración, priorización del almacenamiento de C por sobre el crecimiento, y construcción tejidos duraderos y poco atractivos para herbívoros (Lusk, 2004).

La hipótesis acerca de la dependencia a los hidratos de C de las especies del sotobosque cuando experimentan un balance negativo de C debido a sombra y herbivoría, ha sido testeada experimentalmente. Kobe (1997) muestreó los carbohidratos no estructurales en raíces de 4 especies de brinzales en un bosque al noreste de Connecticut, USA: 2 siempreverdes y dos caducifolias con diferente tolerancia a la sombra. Las especies siempreverdes correspondieron a *Pinus strobus*, y *Tsuga canadensis*, mientras que las especies caducifolias fueron *Fraxinus americana* y *Acer saccharum*. Este estudio proporcionó evidencia sobre una relación entre la variación interespecífica en el almacenamiento de C y las diferencias entre sobrevivencia y crecimiento en brinzales. Además este estudio mostró que en condiciones de poca luz, la especie sombratolerante puede tener una estrategia efectiva de asignación de almacenamiento de carbohidratos y esto le proporciona una protección contra el estrés. Kobe (1997) sugirió que este es un mecanismo de sobrevivencia en condiciones de poca luz. Por otro lado, en un bosque neotropical se encontró una relación positiva entre la sobrevivencia de las plántulas expuestas a estrés y el almacenamiento de carbohidratos en tallos y raíces (Myers y Kitajima 2007). En Chile, Lusk y Piper (2007) testearon la relación entre tolerancia a la sombra y almacenamiento de carbohidratos en plántulas de especies arbóreas del sotobosque de un bosque templado lluvioso. Los resultados indicaron que las concentraciones de carbohidratos en hojas y raíces se correlacionaron negativamente con la

tolerancia a la sombra en el caso de las plantas grandes, aunque este patrón no se presentó de la misma forma en las plántulas pequeñas.

Dado lo anterior, este estudio pretende comparar las respuestas en la sobrevivencia, almacenamiento de carbohidratos y crecimiento, en una especie sombratolerante nativa (*Luma apiculata*) con una sombraintolerante exótica (*Eucalyptus globulus*), a través de la cuantificación de reservas de C, su relación con el crecimiento, brotes nuevos y biomasa nueva generada en cada especie.

3. METODOLOGÍA

3.1 Sitio de estudio

El estudio se llevó a cabo en el invernadero del Instituto de Cs. Ambientales y Evolutivas de la Universidad Austral de Chile (Anexo 1), ubicado en el campus Teja de la Universidad Austral de Chile en Valdivia (39°48'S y 73°14'O). El clima en Valdivia es templado lluvioso con influencia mediterránea, con precipitaciones anuales de 2.300 mm concentradas sobre todo entre Abril y Septiembre y una temperatura media anual de 12 °C, (Gerding *et al.* 2006). La temperatura media del mes más frío del año es 4,7°C y la temperatura media del mes más cálido del año es 17°C (Luebert y Pliscoff, 2006).

3.2 Características de las especies seleccionadas

El experimento se realizó con plántulas de *Luma apiculata* (D.C.) Burret y *Eucalyptus globulus* Labill (Myrtaceae). Estas dos especies son cercanas filogenéticamente ya que pertenecen a la misma familia, ambas son de hábito foliar siempreverde pero de requerimientos lumínicos diferentes. Las plántulas de *Luma apiculata* provinieron del invernadero del Instituto Ciencias Ambientales y Evolutivas de la Universidad Austral, las semillas de éstas plántulas eran de diferentes orígenes (Concepción, Valdivia, Osorno, Temuco, Puerto Montt y Chiloé) mientras que las de *Eucalyptus globulus* eran del vivero Los Castaños, ubicado 20 km al norte de la ciudad de Valdivia. *Luma apiculata*, conocida comúnmente como arrayán o palo colorado, es una especie endémica de los bosques subantárticos de Chile y Argentina. En Chile crece entre la Provincia de Valparaíso (V Región) y la Provincia de Aysén (XI Región), desde casi el nivel del mar hasta los 1000

m.s.n.m. en ambas cordilleras y en el valle central (Rodríguez *et al.* 1983). Es una especie arbórea que puede alcanzar 25 m de altura, posee un tronco de hasta 50 cm de diámetro (Donoso 1974, Rodríguez *et al.* 1983 *In: Donoso, 2006*) sus hojas son simples, opuestas, aromáticas, sus flores son hermafroditas, de color blanco. Su mayor floración es durante los meses de enero a mayo, aunque en algunos lugares se encuentran ejemplares floridos en distintas épocas del año. Fructifica desde fines de febrero a mayo (Rodríguez *et al.* 1983). El fruto es de color negro-violeta y su dispersión es por gravedad y por aves (Donoso, 1989). Es una especie tolerante a la sombra (Donoso 1989, Grubb *et al.* 2013), con un amplio rango de distribución (CONAF, 2012). En relación al crecimiento de *Luma apiculata* en ambientes naturales, este parece ser dependiente de las condiciones lumínicas (Cádiz 1999 *In: Donoso, 2006*). Es una especie higrófila por lo que crece normalmente a orillas de lagos, ríos y otros cursos de agua, formando a veces asociaciones más o menos puras donde se presentan bosquecillos de considerable espesura, bordeando las aguas corrientes (Rodríguez *et al.* 1983). Es un componente secundario de la selva Valdiviana, donde crece asociado a *Eucryphia cordifolia*, *Gevuina avellana*, *Laurelia sempervirens*, *Drimys winteri*, *Lomatia ferruginea*, *Weinmannia trichosperma* y *Nothofagus dombeyi*, entre los más importantes (Soto, 2004). Entre las especies del sotobosque del tipo forestal Valdiviano, las plántulas de *L. apiculata* son tan tolerantes como las de *Laureliopsis philippiana*, *Saxegothaea conspicua*, *Dasyphyllum diacanthoides* y *Persea lingue*, y sólo superadas por *Aextoxicon punctatum*, *Podocarpus nubigena*, *Amomyrtus luma*, *Amomyrtus meli*, *Myrceugenia ovata* y *Lomatia ferruginea* en su nivel de tolerancia. El requerimiento de luz mínimo para las plántulas (10 - 50 cm) de *L. apiculata* es cercano al 1% del dosel abierto (Lusk *et al.* 2008).

La segunda especie para este experimento correspondió a *Eucalyptus globulus* comúnmente conocido como eucalipto; es una especie arbórea que alcanza 30 m de altura, posee hojas perennes, que en estado adulto son alternas y pecioladas; su longitud puede llegar a los 30 cm. Su época de floración es en septiembre y sus flores se encuentran solitarias o agrupadas en umbelas, y fructifica a principios de otoño y su tipo de fruto corresponde a una cápsula. En Chile su utilización se ha masificado en los últimos años, ya que es una especie de crecimiento rápido (Santelices, 2005) e intolerante a la sombra (Skolmen y Leding. 1990) y de variadas posibilidades para el uso de su madera, como por ejemplo la fabricación de

pulpa y papel (Santelices, 2005). En algunas áreas de Chile las plantaciones de *Eucalyptus globulus* colindan con bosque nativo donde *Luma apiculata* es un componente frecuente (Armesto *et al.* 1995), por lo que es posible que ambas especies enfrenten episodios de estrés similares. Por ejemplo, se ha encontrado una parcela donde estas 2 especies coexisten en Chaihuín precisamente en la Reserva Costera Valdiviana (D. Lobos, comunicación personal).

La inclusión de una especie nativa y otra exótica en el experimento permitió comparar las reacciones de ambas frente a los mismos factores estresantes del medio, lo que a su vez ayudó a comprender de mejor manera la coexistencia de estas especies en el ambiente donde se encuentran inmersas. La ventaja de haber utilizado una especie exótica como *E. globulus* es realizar planes de manejo y/o restauración más eficientes en Chile.

3.3 Diseño experimental y tratamientos

Para testear las hipótesis de esta tesis, se estudiaron las respuestas a sombra y a defoliación en plántulas de las dos especies de estudio. Se usaron 16 individuos por tratamiento (Anexo 2). Se utilizó un diseño experimental multifactorial aleatorizado en 4 bloques con un total de 64 individuos por especie. Los factores fueron 3 con 2 niveles en cada uno: defoliación (defoliación, no defoliación), condición lumínica (plena luz, sombra) y especie (tolerante, intolerante: *Luma apiculata*, *Eucalyptus globulus* respectivamente). La defoliación se realizó manualmente dejando sólo el par de hojas más cercano al ápice y marcándolas con un punto blanco para tener un indicador de la altura inicial de las plántulas al momento de la cosecha. La sombra se simuló utilizando una malla raschel que cubrió ventanas del invernadero ubicado las plantas justo bajo la superficie de los mesones para evitar que las plantas recibieran la luz directa. La intensidad lumínica de las plantas en sombra fue en promedio: $24,3025 \text{ mol de fotones/m}^2$

El experimento comenzó el 09 de septiembre de 2013 con la aplicación de los tratamientos, y finalizó la primera semana de enero 2014 con la cosecha de los individuos (Anexo 3).

I				II				III				IV			
ND		D		D		ND		D		ND		ND		D	
PL	S	S	PL	PL	S	S	PL	S	PL	PL	S	PL	S	PL	S
E	L	E	L	E	L	L	E	L	E	L	E	E	L	L	E
E	E	E	E	L	E	E	E	E	L	E	L	E	E	E	L
L	L	E	L	E	L		L	L	E	E	E	L	E	E	L
E	L	L	E	E	L	E	L	E	L	E	E	L	L	L	E
L	E	L	E	L	E	L	L	E	E	L	L	E	E	L	E
L	E	L	L	L	E	L	E	L	L	L	L	L	L	E	L
E	L	L	L		L	E	E	L	E	E	E	E	L	L	E
L	E	E	E	L	E	L	L	E	L	L	L	L	E	E	L

Figura 1: Distribución de los individuos en el diseño en bloques completamente aleatorio en el invernadero. ND, D, PL, y S indican no defoliación, defoliación, plena luz y sombra, respectivamente. E. y L. se refieren a *Eucalyptus globulus* y *Luma apiculata*, respectivamente.

3.4 Evaluación de sobrevivencia y crecimiento vegetativo

La evaluación de sobrevivencia se realizó día por medio. Los criterios para determinar la sobrevivencia fueron: el grado de sequedad de los tejidos leñosos (ramas y tallos) y el grado de marchitez de las hojas. Así, un individuo se consideró muerto cuando sus tallos y ramas estaban secos y todas sus hojas estaban marchitas. Cuando se finalizó el experimento se realizó un último monitoreo de sobrevivencia. Además, previo a la cosecha, se midió la altura final de las plantas para el cálculo de tasa de crecimiento según la siguiente fórmula: $[RGR_H = (\ln h_2 - \ln h_1)]$ (Evans, 1972 In: Piper et al, 2009) donde h_1 y h_2 corresponden a las alturas de las plántulas antes y después del experimento, respectivamente. Como medida complementaria de crecimiento en respuesta a los tratamientos, se contaron semanalmente los brotes formados por cada individuo de cada especie, y se evaluó la biomasa formada después de la aplicación de los tratamientos.

3.5 Evaluación biomasa nueva

La biomasa nueva de cada individuo se estimó como la suma de la biomasa de tallo nuevo y la biomasa de hoja nueva. La biomasa de tallo nuevo se estimó pesando el tallo desarrollado sobre el par de hojas marcado en el comienzo del experimento. La biomasa de hojas nuevas se estimó pesando todas las hojas ubicadas encima del par marcado al inicio del experimento. Los brotes laterales formados durante el experimento también fueron separados en tallos y hojas para la estimación de biomasa nueva

3.6 Procesamiento y análisis químico de las muestras

El análisis de biomasa se realizó durante el mes de enero en el Laboratorio de Fisiología Vegetal en el Instituto de Ciencias Ambientales y Evolutivas (UACH) (Anexo), Valdivia. Este análisis fue realizado en Valdivia debido a que ahí se contaba con Nitrógeno líquido, el cual agilizó la molienda de las muestras. Posteriormente el análisis de reservas de C fue realizado en el laboratorio de análisis vegetal del Centro de Investigación en Ecosistemas de la Patagonia (CIEP, Coyhaique), debido a que ahí se contaba con los conocimientos sobre el análisis de reservas de C en los órganos. El análisis de biomasa contempló diferentes etapas, la primera consistió en: Lavar las raíces de cada individuo (Anexo 4). Luego, se separaron los diferentes órganos de la planta (raíz, tallo y hojas) y se colocaron en sobres de papel durante un minuto en el microondas para desnaturalizar a las proteínas y evitar la alteración de las enzimas en las muestras (Popp et al. 1996 *In*: Lusk y Piper, 2007). Posteriormente se secaron las muestras por 48 horas en una estufa a 60°C y se pesó cada órgano por separado. Los azúcares solubles totales se extrajeron con una mezcla de metanol, cloroformo y agua (M:C:W, 12:5:3) (Anexo 5) y el almidón se hidrolizó a glucosa digiriendo la muestra con amiloglucosidasa durante 15 horas a 45°C. Para la determinación de la concentración de azúcares solubles totales y almidón se utilizó el método del fenol-sulfúrico (Chow y Landhäusser, 2004) (Anexo 6). Se midió la absorbancia de las muestras a una longitud de onda de 490 nm y se calculó la concentración de azúcares utilizando una curva estándar realizada con sacarosa (para los azúcares solubles totales) y con glucosa (para el almidón). Se estimó la cantidad total de carbohidratos no estructurales por órgano de cada individuo

como el producto de la concentración de reservas de carbono y el peso del órgano respectivo. Luego se estimó la cantidad total de reservas de C por individuo mediante la multiplicación de la biomasa por reserva de C de cada órgano, los cuales fueron sumados por individuo correspondiente.

3.7 Análisis de datos

Las variables respuesta continuas (crecimiento y concentración de carbohidratos) se analizaron con Modelos lineales mixtos, con el bloque como efecto aleatorio y los factores especie, defoliación y sombra como efectos fijos del modelo. Las variables respuesta continuas (brote y la biomasa nueva), se analizaron utilizando Modelos lineales Generalizados, considerando una distribución de Poisson y una transformación Log-Normal, y asumiendo el bloque, especie, sombra y la defoliación como efectos fijos en modelo. El programa que se utilizó fue software JMP 8.

4. RESULTADOS

4.1 Supervivencia

En todos los tratamientos la supervivencia fue total, excepto por la mortalidad de un individuo de *Eucalyptus globulus* en el tratamiento de sombra y defoliación.

4.2 Crecimiento

La tasa de crecimiento relativo (RGRh) tuvo diferencias significativas en respuesta a los factores luz, especie e interacción especie x luz (Anexo 7). En mayor detalle, RGRh fue mayor en la especie intolerante en luz, mientras que la especie tolerante no mostró diferencia entre luz y sombra (figura 2).

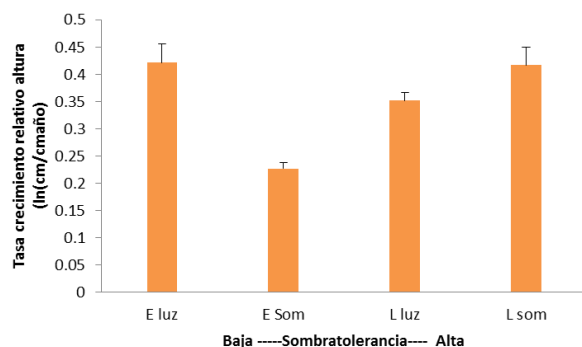


Figura 2: Tasa de crecimiento relativo para la especie sombra tolerante (*Luma apiculata*) e intolerante (*Eucalyptus globulus*) durante 4 meses frente a estrés impuesto por sombra y defoliación. E y L se refieren a *Eucalyptus globulus* y *Luma apiculata*, respectivamente.

4.3 Brotes

El número de brotes varió significativamente según especie, tratamiento de luz, e interacción especie x defoliación (Anexo 8). El número de brotes fue mayor en la especie tolerante, tanto en luz como en sombra, respecto a la intolerante. La especie sombratolerante defoliada tuvo más brotes en luz y sombra, mientras que la especie sombratolerante no defoliada tuvo más brotes en ambos tratamientos de luz (figura 4).

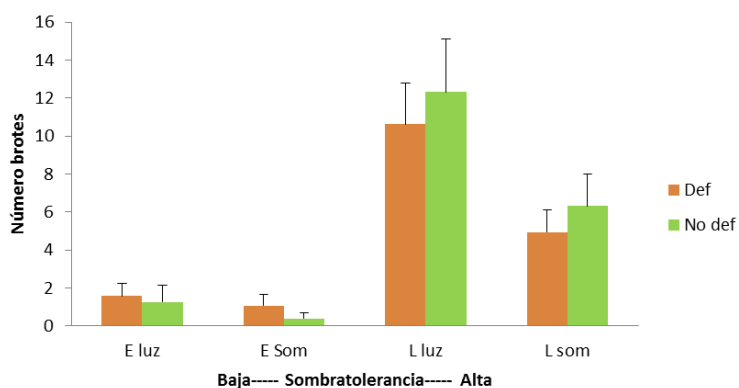


Figura 4: Número de brotes en especie sombra tolerante (*Luma apiculata*) y sombra intolerante (*Eucalyptus globulus*) frente a estrés impuesto por sombra y defoliación. E y L se refieren a *Eucalyptus globulus* y *Luma apiculata*, respectivamente.

4.4 Biomasa nueva

La biomasa nueva difirió significativamente entre los tratamientos de luz (Anexo 9). La especie sombra tolerante en luz no defoliada fue la que tuvo un mayor biomasa nueva. En la especie intolerante se observó esta misma tendencia, es decir mayor biomasa nueva en los individuos no defoliados tanto en luz como en sombra (figura 5).

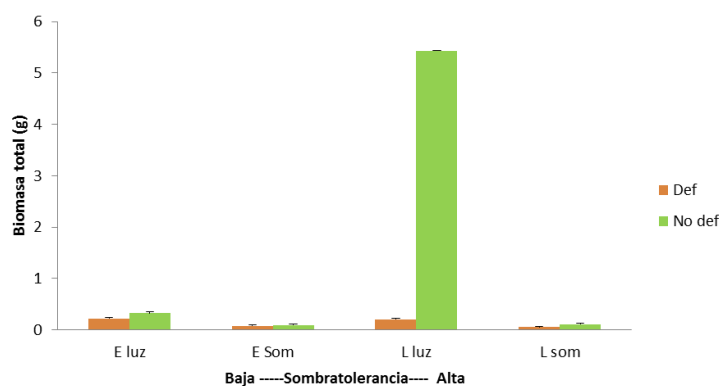


Figura 5: Biomasa nueva generada en los individuos (hoja nueva + tallo nuevo) durante el experimento. E y L se refieren a *Eucalyptus globulus* (sombraintolerante) y *Luma apiculata* (sombratolerante), respectivamente.

4.5 Concentración reservas de C

Las concentraciones de reservas de carbohidratos no estructurales variaron entre las especies y a su vez entre sus diferentes órganos frente a los distintos tratamientos (Figura 6). En hoja antigua el tratamiento de condición lumínica fue el único factor que causó diferencias significativas (Anexo 10). Las reservas de carbono fueron mayores en la especie intolerante que en la tolerante tanto en luz como en sombra. Para los tallos antiguos, la condición lumínica, la especie y la interacción entre condición lumínica y defoliación tuvieron un efecto significativo sobre las reservas de carbono (Anexo 11). En este órgano, la concentración de reservas de C fue mayor en plena luz, y contrario a lo esperado, la especie sombraitolerante tuvo una mayor concentración de carbono que la sombratolerante. Para raíces, hubo diferencias significativas en respuesta a la condición lumínica (Anexo 12), siendo mayor el valor de concentración de reservas de C en plena luz que en sombra, siendo la especie tolerante en luz la que tuvo más concentración de carbono.

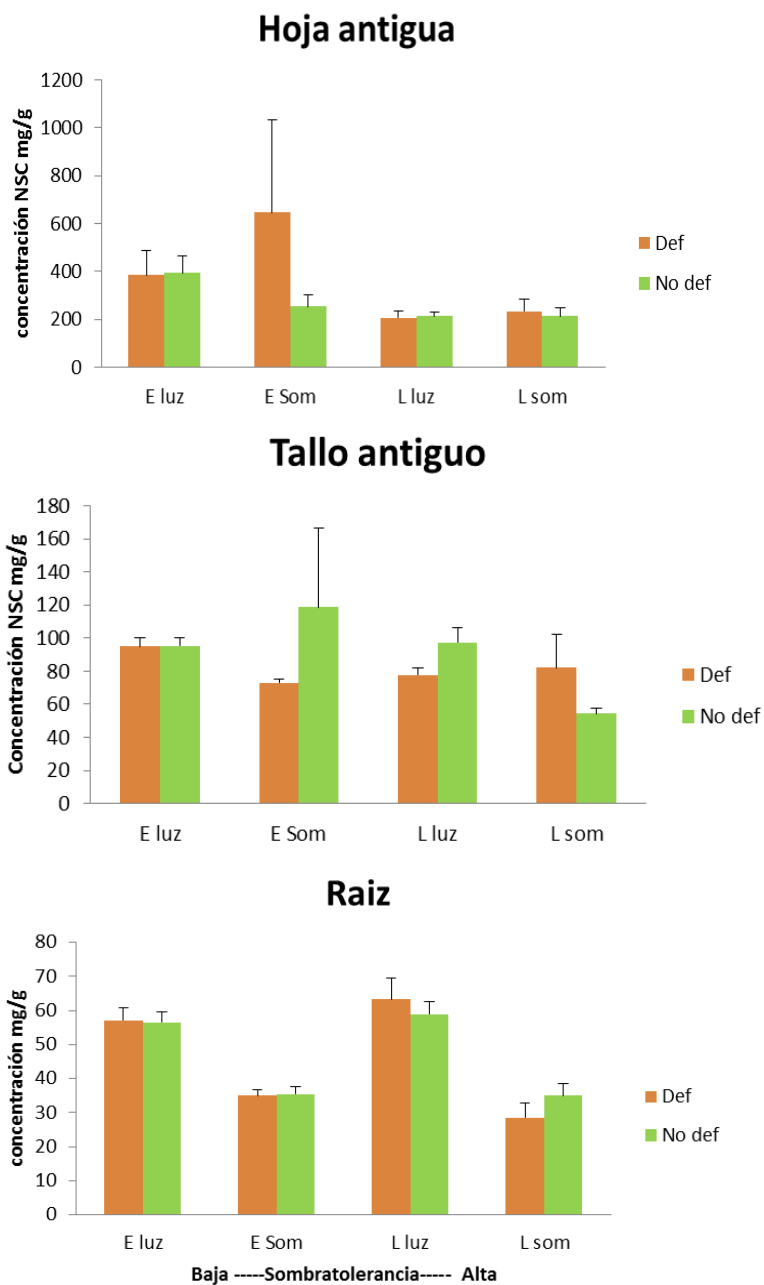


Figura 6: Reservas de carbohidratos no estructurales en los órganos: hoja vieja, tallo viejo y raíz en especie sombra tolerante y sombra intolerante. E y L se refieren a *Eucalyptus globulus* y *Luma apiculata* respectivamente.

4.6 Cantidad total de reservas de C

La cantidad total de reservas de C en tejido viejo (figura 7) difirió significativamente entre los factores luz, defoliación, y especie (Anexo 13), siendo mayor la reserva de C en ambas

especies en luz. En los tratamientos de defoliación, la cantidad de reservas de C fueron mayores en los individuos no defoliados, aunque la especie sombratolerante en sombra mostró una tendencia inversa. La especie intolerante tuvo mayor reserva de C que la tolerante.

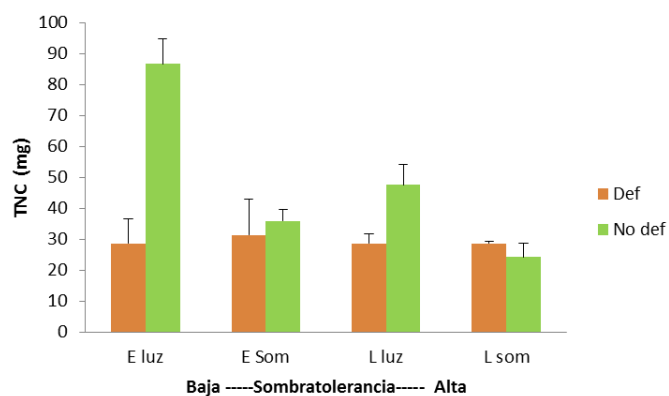


Figura 7: Tamaño del pool de carbohidratos no estructurales totales (biomasa * NSC) tejido viejo (hoja vieja, tallo viejo y raíz) para la especie sombra tolerante y sombra intolerante. E y L se refieren a *Eucalyptus globulus* y *Luma apiculata*, respectivamente.

5. DISCUSIÓN

La primera hipótesis testeada en esta tesis no fue aceptada, ya que la concentración y las reservas de C en todos los órganos (hoja antigua, tallo antiguo y raíz) fue mayor en la especie sombratolerante. Este resultado difiere de lo que se ha encontrado en el estudio de Myers y Kitajima 2007 ya que estos autores encontraron una relación positiva entre la sombratolerancia y el contenido de reservas de carbono. Sin embargo el estudio de Lusk y Piper 2007 tampoco encontraron una relación entre los niveles de C en las pequeñas plántulas y la sombratolerancia de las especies. El almacenamiento se define como los recursos que se acumulan en la planta y que pueden movilizarse en el futuro para apoyar el crecimiento u otras funciones de la planta (Chapin *et al.* 1990). Kobe (1997) sostiene que la asignación de C para el almacenamiento frente al desarrollo de un nuevo tejido podría explicar la variación interespecífica en tolerancia a la sombra. Por lo que la etapa ontogénica de ambas especies en el experimento (Lusk y Piper, 2007) podría ser un factor que explique el por qué las especie tolerante a sombra *L. apiculata* no mostro mayores

niveles de reservas de C que la especie sombratolerante *E. globulus* en condiciones de sombra. Körner (2003) sugiere que la concentración de C en tallo es una medida más fiable del estado de la fuente de carbono de un árbol. En relación al experimento, los tallos antiguos también mostraron diferencias significativas en el factor especie, e interacción luz con defoliación, a diferencia de los otros órganos.

La segunda hipótesis examinada en esta tesis fue parcialmente aceptada, ya que la tasa de crecimiento relativo y el número de brotes fue mayor *Luma apiculata* en sombra que para *Eucalyptus globulus*. En este caso la especie tolerante crece y sobrevive mejor que la especie intolerante al estrés por sombra y herbivoría. Sin embargo para la biomasa nueva la hipótesis se rechaza, ya que la especie intolerante tuvo más biomasa nueva en sombra, comparado con la especie sombratolerante,. Lo anterior, muestra una inconsistencia en los resultados de este estudio para determinar si se cumple o rechaza la segunda hipótesis ya que de un total de tres resultados, sólo dos la apoya.

Como tercera hipótesis de esta tesis se postuló que el mayor almacenamiento de C en la especie sombratolerante determina su mayor sobrevivencia frente a situaciones de estrés impuesto por herbivoría y sombra, respecto a la especie sombratolerante. Esta hipótesis no fue aceptada ya que se encontró que el almacenamiento de C fue menor en la especie sombratolerante respecto a la sombratolerante. Por otro lado no hubieron diferencias significativas entre especies frente a los tratamientos de estrés por sombra y herbivoría.

5.1 Sobrevivencia

No hubieron diferencias significativas entre especies, en sobrevivencia en respuesta a sombra y herbivoría, por lo que la hipótesis de que la especie tolerante sobrevive mejor al estrés impuesto por sombra y herbivoría no se cumplió. Este resultado difiere de lo encontrado en estudios similares. Myers y Kitajima, (2007) hicieron un experimento muy similar a 13 especies tropicales que diferían en su sombratolerancia, pero la sombra se dio ocupando jaulas oscuras para las plantas, que representó una sombra más profunda que la usada en esta tesis, por lo que ellos sí tuvieron mortandad en sus plántulas. Por el contrario, en el presente estudio, cada conjunto de plantas (bloque) fue ubicado bajo una mesa y fueron tapadas adelante y atrás con una malla raschel evitando así la luz directa, solamente

atenuado el parte la luz. Si se hubiera dado la sombra por completo, la malla debería también haber tapado a los lados de cada conjunto (bloque) de plantas. Por otra parte, la defoliación realizada posiblemente tampoco fue lo suficientemente drástica, ya que se dejaron 2 hojas por individuo en el comienzo del experimento, estas hojas podrían haber sido fuentes de energía muy importantes para los individuos sombratolerantes.

5.2 Crecimiento

5.2.1 Tasa de crecimiento relativo

En la emergencia de las plantas, estas dependen de la energía de su semilla para poder desarrollarse y las especies sombratolerantes mantienen las reservas de semillas como almacenamiento por períodos más largos, a expensas de la tasa de crecimiento (Kitajima, 1994). Una vez que las plantas ya no dependen de la energía de la semilla sino que de la luz, la tasa de crecimiento relativo está influenciada por una combinación de rasgos fisiológicos y morfológicos (Kitajima 1994, Villar 2004). En sombra, sólo los rasgos morfológicos, se pueden relacionar con RGR ya que la respiración de los órganos no fotosintéticos de las plantas son los que mantienen el equilibrio entre la respiración y la fotosíntesis de las plantas en sombra (Givnish 1988, Kitajima 1994).

5.2.2 Brotes

El número de brotes fue mayor en la especie tolerante en todos los tratamientos frente a la intolerante. Esta respuesta también se observó cuando se aplicó defoliación y sombra, lo que implica que *Luma apiculata* puede sobrevivir y crecer mejor frente al estrés impuesto por reducción de luz y herbivoría respecto a *Eucalyptus globulus*. La capacidad de rebrote se relaciona con la tolerancia a la sombra debido a 3 razones (Poorter *et al.* 2010). Los individuos en el sotobosque están más expuestos a daños por caída de escombros que especies más exigentes de luz que regeneran en los espacios de luz que quedan en el sotobosque; su historia de vida está relacionada con una mayor sobrevivencia cuando hay menos recursos y por último el rebrote de estas plantas se relaciona con las reservas de carbono y nutrientes (Bond y Midgley, 2001 *In:* Poorter *et al.* 2010). La inversión en las

reservas y los órganos de almacenamiento se produce a expensas de una reducción del crecimiento, y el costo de oportunidad de esta reducción del crecimiento es mucho menor para las especies de crecimiento lento que para las especies de crecimiento rápido (Coley 1987 *In: Poorter et al. 2010*, Kobe 1997). Esto sugiere que las especies sombratolerantes deberían ser mejores rebrotadoras que las especies sombraitolerantes (Poorter *et al.* 2010). Ya que también se sabe que el rebrote ocurre cuando disminuye la irradiancia (Shirley 1929, *In: Poorter y Nagel, 2000*), por lo que su función sería fomentar la fotosíntesis de los individuos cuando hay menor irradiancia. Esto podría ser interesante para la especie sombratolerante, ya que probablemente este mayor número de brotes se deba a la forma de vida que este posee esta especie, para fomentar la fotosíntesis en los ambientes sombríos y anegados donde se encuentra generalmente. Para el caso de la especie sombraitolerante estudiada, su ambiente natural es seco e iluminado y ahí también brota (Williams y Potts, 1996). Por lo que su capacidad de rebrote en el experimento se podría explicar por su adaptación a la sequía más que a la sombra y herbivoría (Skolmen y Ledig 1990). Además en su hábitat original se encuentra inmersa en un régimen de incendios, donde su adaptación está dada por el desarrollo de mecanismos defensivos frente al fuego (FAO,1981). Probablemente en el experimento, al no tener sus condiciones naturales, específicamente la temperatura, podría haber sido el factor limitante para el desarrollo de los brotes en *Eucalyptus globulus*. Esta especie creció (RGRh) a expensas del almacenamiento, porque es una especie oportunista (Skolmen y Ledig 1990), lo que se vió reflejado en el brote ya que no brotó más para buscar más luz.

5.2.3 Biomasa nueva

La asignación de biomasa a diferentes órganos de la planta depende de la especie, ontogenia y en el medio ambiente experimentado por la planta (Poorter y Nagel, 2000). La característica más importante para que una plántula sobreviva en sombra es la capacidad que esta tenga de construir su cuerpo de forma duradera, más allá de la maximización de la ganancia neta de carbono y el crecimiento (Kitajima, 1994). Boucher, 1963 *In: Poorter y Nagel, 2000* diseña la teoría del equilibrio funcional, que trata sobre las plantas que invierten en brotes de hojas cuando hay menos luz y CO₂ del mismo modo, si falta agua y

nutriente, aumentan la biomasa en sus raíces, o sea las plantas asignan más biomasa para el órgano que está más cerca del recurso limitante. Lo implícito de este modelo de equilibrio funcional es que una planta asigna su biomasa de una manera tal que su tasa de crecimiento es máxima en las condiciones ambientales dadas (Poorter y Nagel, 2000). Esto puede explicar el por qué la especie sombratolerante no defoliada en luz es la que genera más biomasa nueva en el experimento. Por otra parte, una tasa rápida de crecimiento como es el caso de *Eucalyptus globulus*, permite a la plántula escapar pronto de los tamaños pequeños, más vulnerables, pero con tejidos de menor densidad haciéndolos más vulnerables frente a herbívoros (Coley 1988; Kitajima y Fenner 2000 In: Villar, 2004). Esto puede explicar por qué *Luma apiculata* a pesar de crecer menos que *Eucalyptus globulus* frente a tratamientos de sombra y defoliación, posee mayor biomasa, ya que ésta podría tener mayor densidad.

Existen estudios de impacto del estrés sobre bosques (Waring y Pitman, 1985 In: King, 1991) los cuales señalan que el fotosintato se asigna preferentemente al crecimiento de las hojas, y luego a las raíces, el almacenamiento y el crecimiento del tallo según aumente la disponibilidad de carbono. Los puntos de compensación de luz de la planta completa pueden aumentar, si las plantas se ven obligadas a destinar una cierta fracción de su carbono fijo para el crecimiento del tallo (Givnish 1988, King 1991). Por lo tanto, la capacidad de cambiar la asignación de biomasa al tallo y hojas en vez de raíz tiene un valor de supervivencia en árboles jóvenes que existen en sombra (King, 1991).

6. CONCLUSIONES

No se encontró una relación directa entre la sombratolerancia, sobrevivencia, crecimiento y almacenamiento de carbono de las especies estudiadas, aunque la relación positiva entre el crecimiento y sombratolerancia podría ser un rasgo de vida de la especie sombratolerante estudiada.

La comprensión sobre la formas de vida y coexistencia que hay entre las especies nativas y nativas con exóticas podría implicar realizar mejores planes de restauración con un mayor conocimiento del comportamiento de las especies, como es el caso de la Reserva Costera Valdiviana.

REFERENCIAS

- Azcón-Bieto J, M Talón. 2000. Fundamentos de Fisiología Vegetal. Barcelona, España. 515 p.
- Canham C, Kobe R, Latty F, Chazdon L. 1999. Interspecific and intraspecific variation in tree seedling survival: effects of allocation to roots versus carbohydrate reserves. *Oecologia* 121:1-11
- Chapin F, Schulze E, Mooney H. 1990. The ecology and economics of storage in plants. *Annual review of ecology and systematics*, 423-447.
- Coley P, Barone J. 1996. Herbivory and plant defenses in tropical forests. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 305-335.
- CONAF (Corporación Nacional Forestal, CL) 2012. Arrayán. Ministerio de agricultura. Programa de arborización urbana. Consultado el 20 de mayo. 2013. Disponible en <http://arborizacion.cl/wp-content/uploads/2012/01/arrayan.pdf>
- CONAF 2014. Plantaciones Forestales. Consultado el: 19 de diciembre. 2014. Disponible en <http://www.conaf.cl/nuestros-bosques/plantaciones-forestales/>
- Chow P, Landhäusser S. 2004. A method for routine measurements of total sugar and starch content in woody plant tissues. *Tree Physiology*, 24(10), 1129-1136.
- Donoso C. 1989. Antecedentes básicos para la silvicultura del tipo forestal siempreverde. *Bosque*. 10(1-2).
- Donoso C. 2006. Especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina. *Autoecología*. Valdivia, Chile. Marisa Cúneo Ediciones. 678 p
- FAO (Food and Agriculture Organization) 1981. El Eucalipto en la repoblación forestal. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación. Roma, 1981. 790
- Granados-Sánchez D, Ruíz-Puga P, Barrera-Escorcía H. 2008. Ecología de la herbivoría. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente*. 14(1): 51-63
- Gerding V, Geldres E, Moya J. 2006. Diagnóstico del desarrollo de *Pinus massoniana* y *Pinus brutia* establecidos en el arboreto de la Universidad Austral de Chile, Valdivia. *Bosque* 27(1):57-63.
- Grajales M. 2005. Apuntes de Bioquímica Vegetal. Bases Para Su Aplicación Fisiológica. Consultado el 20 de octubre 2013. Disponible en: http://books.google.cl/books?id=_zC3SseYwoICyprintsec=frontcoveryh1=es#v=one

pageyqyf=false

- Grubb P, Bellingham P, Kohyama T, Piper F, Valido A. 2013. Disturbance regimes, gap-demanding trees and seed mass related to tree height in warm temperate rain forests worldwide. *Biological Reviews*.
- Lambers, H. Chapin, F.S. Pons, T. 1998. *Plant physiological ecology*. Springer.
- Louda, S. Rodman, J. 1996. Insect herbivory as a major factor in the shade distribution of a native crucifer (*Cardamine cordifolia* A. Gray, bittercress). *Journal of Ecology*, 229-237.
- Lusk C. 2004. Adaptación a la sombra en especies arbóreas siempreverdes. In Cabrera HM ed *Fisiología ecológica en plantas. Mecanismos y respuestas a estrés en los ecosistemas Valparaíso, Chile*. 235-247 p.
- Lusk C, Piper F. 2007. Seedling size influences relationships of shade tolerance with carbohydrate-storage patterns in a temperate rainforest. *Functional ecology*. 21(1): 78-86.
- Lusk C, Falster D, Jara-Vergara C, Jimenez-Castillo M, Saldaña-Mendoza A. 2008. Ontogenetic variation in light requirements of juvenile rainforest evergreens. *Functional Ecology*, 22(3), 454-459.
- Luebert F, Pliscoff P. 2006. *Sinopsis bioclimática y vegetacional de Chile*. Universitaria. 323 p.
- Myers J, Kitajima K. 2007. Carbohydrate storage enhances seedling shade and stress tolerance in a neotropical forest. *Journal of Ecology*. 95(2): 383-395.
- King, D. 1991. Correlations between biomass allocation, relative growth rate and light environment in tropical forest saplings. *Functional ecology*, 485-492.
- Körner C. 2003. Carbon limitation in trees. *Journal of ecology*, 91(1), 4-17.
- Kobe R, Coates K. 1997. Models of sapling mortality as a function of growth to characterize interspecific variation in shade tolerance of eight tree species of northwestern British Columbia. *Canadian Journal of Forest Research*. 27(2): 227-236.
- Poorter L, Kitajima K, Mercado P, Chubiña J, Melgar I, Prins H. 2010. Resprouting as a persistent strategy in dry and moist tropical forest trees: its relation with carbohydrate storage and shade tolerance. *Ecology* 91: 2613-2627.
- Naumburg E, Ellsworth D. 2000. Photosynthetic sunfleck utilization potential of

- understory saplings growing under elevated CO₂ in FACE. *Oecologia*. 122(2): 163-174
- Piper F, Reyes-Díaz M, Corcuera L, Lusk C. 2009. Carbohydrate storage, survival, and growth of two evergreen *Nothofagus* species in two contrasting light environments. *Ecological research*. 24(6): 1233-1241.
- Poorter H, Sack L. 2012. Pitfalls and possibilities in the analysis of biomass allocation patterns in plants. *Frontiers in plant science*, 3.
- Richardson DM. 1998. *Ecology and Biogeography of Pinus*. D.M. Richardson. Cambridge, Inglaterra. University Press, 527 pp.
- Rodríguez R, Matthei O, Quezada M. 1983. *Flora arbórea de Chile*. Ed. de la U. De Concepción. Concepción. 408 p.
- Santelices, R. 2005. Desarrollo de una plantación de *Eucalyptus globulus* establecida en primavera con diferentes tratamientos de riego. *Bosque*. Valdivia. 26(3): 105-112.
- Skolmen R, Ledig G, Thomas F. 1990. *Eucalyptus globulus* Labill. Bluegum eucalyptus. In: Burns, Russell M.; Honkala, Barbara H, . *Silvics of North America* eds. Hardwoods. Washington. US. Department of Agriculture, Forest Service: 299-304.
- Smith, T. Smith, R. 2001. *Ecología*. Madrid, España. Addison-Wesley. 628 p.
- Soto P. 2004. Reproducción vegetativa por estacas en *Amomyrtus luma* (luma), *Amomyrtus meli* (meli) y *Luma apiculata* (arrayán) mediante el uso de plantas madres jóvenes y adultas. Tesis pregrado Ingeniería Forestal. Valdivia. Chile. Facultad de Ciencias Forestales y Recursos Naturales. Universidad Austral de Chile. 41 p.
- Valladares F, Niinemets U. 2008. Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. *The Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 39: 237-57
- Villar R, Ruiz- Robleto J, Quero J, Poorter H, Valladares F, Marañón T. 2004. Tasas de crecimiento en especies leñosas: aspectos funcionales e implicaciones ecológicas. N°7. In Valladares F eds. *Organismo autónomo parques nacionales. Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*. Madrid, España. p 191-227

ANEXOS

Anexo 1. Invernadero Universidad Austral de Chile



Anexo 2. Tratamiento con 16 individuos



Anexo 3. Cosecha



Anexo 4. Separación de individuos por órganos



Anexo 5. Extracción azúcares solubles con solución (M:C:W)



Anexo 6. Método fenol - sulfúrico



Anexo 7. Tasa de Crecimiento Relativo (RGRh)

NSC	D.F.	F	p
Especie	1	4.0925	0.0288*
Tratamiento luz	1	5.0633	0.0263*
Tratamiento Def.	1	0.2371	0.6272
Especie*Trat. Luz	1	5.5739	0.0199*
Especie*Trat. Def.	1	4.6126	0.0338
Especie*Trat. Luz* Trat. Def.	1	0.2878	0.5927
Trat. Luz* Trat. Def.	1	1.2859	0.2591

Anexo 8. Número Brotes

NSC	D.F.	Chi cuadrado	p
Especie	1	380.37537	<.0001*
Tratamiento luz	1	30.018315	<.0001*
Tratamiento Def.	1	2.2908835	0.1301
Bloque	3	21.180658	<.0001*
Especie*Trat. Luz	1	0.0697941	0.7916
Especie*Trat. Def.	1	8.5616619	0.0034*
Especie*Trat. Luz* Trat. Def.	1	2.5267651	0.1119
Trat. Luz* Trat. Def.	1	1.5455135	0.2138

Anexo 9. Biomasa nueva

NSC	D.F.	Chi cuadrado	p
Especie	1	0.1049342	0.746
Tratamiento luz	1	4.5348083	0.0332*
Tratamiento Def.	1	0.2992916	0.5843
Bloque	3	0.2934971	0.9612
Especie*Trat. Def.	1	0.0100502	0.9201
Especie*Trat. Def.	1	0.0072299	0.9322
Especie*Trat Luz* Trat. Def.	1	0.1602092	0.689
Trat. Luz* Trat. Def.	1	0.0699263	0.7914

Anexo 10. Hoja antigua

NSC	D.F.	F	P
Especie	1	3.2069	0.0762
Tratamiento luz	1	9.5032	0.0026*
Tratamiento Def.	1	1.0574	0.3062
Especie* Trat. Luz	1	2.7516	0.1002
Especie*Trat. Def.	1	0.0392	0.8435
Especie*Trat. Luz*Trat. Def.	1	0.1588	0.6911
Trat. Luz* Trat. Def.	1	0.1609	0.6892

Anexo 11. Tallo antiguo

NSC	D.F.	F	p
Especie	1	14.7735	0.0002*
Tratamiento luz	1	88.2827	<.0001*
Tratamiento Def.	1	1.1756	0.2806
Especie*Trat. Luz	1	3.8840	0.0513
Especie*Trat. Def.	1	2.5898	0.1104
Especie*Trat. Luz* Trat. Def.	1	3.8460	0.0524
Trat. Luz* Trat. Def.	1	7.2760	0.0081*

Anexo 12. Raíz

NSC	D.F.	F	p
Especie	1	1.0501	0.3077
Tratamiento luz	1	136.9679	<.0001*
Tratamiento Def.	1	0.5563	0.4573
Especie*Trat. luz	1	2.5768	0.1112
Especie*Trat. Def.	1	0.9632	0.3285
Especie*Trat. Luz* Trat. Def.	1	0.9007	0.3446
Trat. Luz* Trat. Def.	1	1.0627	0.3048

Anexo 13 . Reservas de los carbohidratos no estructurales totales en tejido viejo planta completa

NSC	D.F.	F	p
Especie	1	45.572	<.0001*

Tratamiento luz	1	83.4655	<.0001*
Tratamiento Def.	1	21.6805	<.0001*
Especie*Trat. luz	1	0.2616	0.6102
Especie*Trat. Def.	1	1.1114	0.2943
Especie*Trat. Luz* Trat. Def.	1	0.0018	0.9662
Trat. Luz* Trat. Def.	1	1.113	0.294