

UCH-FC
KPB-B
5633
C.1

**CONTENIDO DE CARBOHIDRATOS EN EL LIGNOTUBER DE *Cryptocarya
alba* (Mol.) Looser Y RESPUESTAS MORFOLÓGICAS DE LOS REBROTOS
PRODUCIDOS A PARTIR DE ÉL, DURANTE LA REGENERACIÓN POST-
FUEGO, EN EL MATORRAL DE CHILE CENTRAL**

Tesis

entregada a la

Universidad de Chile

en cumplimiento parcial de los requisitos

para optar al grado de

Magíster en Ciencias Biológicas con mención en Botánica

Facultad de Ciencias

Por



MIGUEL CRESCENCIO GÓMEZ UNJIDOS

Marzo de 2003

Directores de Tesis: Dr. Liliana Cardemil

Prof. Gloria Montenegro

FACULTAD DE CIENCIAS

UNIVERSIDAD DE CHILE

INFORME DE APROBACIÓN

TESIS DE MAGÍSTER

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Magíster presentada por el candidato:

MIGUEL CRESCENCIO GÓMEZ UNJIDOS

Ha sido aprobada por la Comisión de Evaluación de la Tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Ciencias Biológicas con mención en Botánica, en el examen de Defensa de Tesis rendido el día 26 de noviembre de 2002

Directores de Tesis:

Firma

Dr. Liliana Cardemil

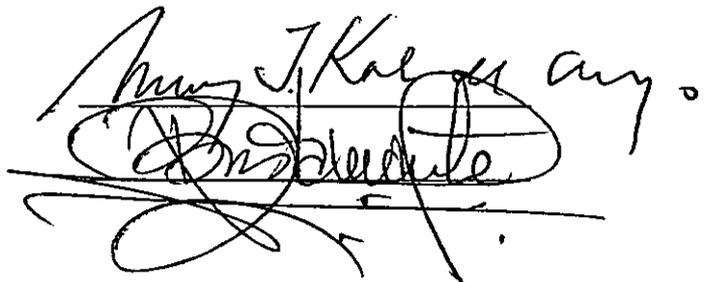


Prof. Gloria Montenegro

Comisión de Evaluación de Tesis:

Dr. Mary Kalin Arroyo

Dr. Ramiro Bustamante



*No hay nada en la Naturaleza que no sea
parte de la ciencia.*

Leonardo da Vinci

AGRADECIMIENTOS

Mi profunda gratitud a la Profesora Gloria Montenegro, quien con su constante ayuda, enseñanza, consejos y apoyo ha contribuido en mi formación científica y docente, no sólo durante mis estudios de post-grado y realización de mi tesis, sino que durante todo el tiempo en que he trabajado junto a ella. Mi especial agradecimiento también a la Doctora Liliana Cardemil por su ayuda durante la etapa experimental de mi investigación y por su permanente interés durante todo el desarrollo de ésta.

Mi agradecimiento a la Doctora Mary Kalin Arroyo y al Doctor Ramiro Bustamante por su cooperación, comentarios y sugerencias que enriquecieron la versión final de este estudio.

Mi especial agradecimiento a la Doctora Rosanna Ginocchio por su generosa ayuda y oportunos comentarios.

Quiero también agradecer a la Doctora Barbara Timmermann en cuyo Laboratorio del College of Pharmacy (University of Arizona) y gracias a una beca del Programa Bravo de la misma Universidad, realice los análisis de flavonoides, anexados al final de esta tesis. Su supervisión en el trabajo de laboratorio y su ayuda en el análisis de los datos fue fundamental en esta parte mi investigación.

A Luis González quiero agradecer su desinteresada y eficaz ayuda en terreno y su apoyo durante toda la realización de mi tesis.

Mi gratitud además, a mis amigos y amigas del Laboratorio de Botánica del Departamento de Ciencias Vegetales de la Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal

de la Pontificia Universidad Católica de Chile quienes me apoyaron y alentaron en todo momento.

Finalmente agradezco al Proyecto NIH-NSF 2U01 TW00316-08 cuya coordinadora nacional es la Profesora Gloria Montenegro, el financiamiento durante la etapa de trabajo en terreno, trabajo en laboratorio y redacción de esta tesis de Magíster.

ÍNDICE

Índice	v
Lista de tablas	vi
Lista de figuras	vii
RESUMEN	1
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN	5
Hipótesis	14
Objetivos	15
MATERIALES Y MÉTODOS	16
RESULTADOS	25
DISCUSIÓN	38
CONCLUSIONES	45
BIBLIOGRAFÍA	47
ANEXO	53

LISTA DE TABLAS

- Tabla 1 ANDEVA de medidas repetidas para contenido promedio de28
almidón del lignotuber de árboles quemados, durante el rebrote
post-fuego y de árboles no quemados, durante su período normal de
crecimiento.
- Tabla 2 ANDEVA de medidas repetidas para contenido promedio de 31
azúcares solubles del lignotuber de árboles quemados, durante
el rebrote post-fuego y de árboles no quemados, durante su período
normal de crecimiento.
- Tabla 3 Caracteres morfológicos promedio de hojas adultas provenientes 37
de rebrotes post-fuego y de tallos de árboles no quemados formados
durante su período normal de crecimiento.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Precipitación total mensual de Valparaíso desde diciembre de 17
1998 a enero de 2000
- Figura 2 Promedio mensual de temperatura media diaria de Valparaíso, 17
durante el período de estudio
- Figura 3 Promedio mensual de radiación global de Valparaíso desde 18
diciembre de 1998 a enero de 2000
- Figura 4 Incremento promedio de área foliar total de rebrotes post-fuego 25
- Figura 5 Incremento promedio de área foliar total de un tallo de árboles 27
no quemados formados durante el período normal de crecimiento
- Figura 6 Variación del contenido promedio de almidón del lignotuber 30
de árboles quemados, durante el rebrote post-fuego y de
árboles no quemados, durante el período normal de crecimiento
- Figura 7 Variación del contenido promedio de azúcares solubles del 32
lignotuber de árboles quemados, durante el rebrote post-fuego y
de árboles no quemados, durante el período normal de crecimiento
- Figura 8 Grosor promedio de la cutícula de la epidermis superior 33
de hojas provenientes de árboles quemados, durante el rebrote
post-fuego y de las hojas provenientes de tallos de árboles no
quemados, durante su período normal de crecimiento
- Figura 9 Grosor promedio de las hojas provenientes de árboles quemados, 34
durante el rebrote post-fuego y de las hojas provenientes de tallos de
árboles no quemados, durante su período normal de crecimiento
- Figura 10 Grosor promedio del parénquima en empalizada de las hojas 35
provenientes de árboles quemados, durante el rebrote post-fuego y
de las hojas provenientes de tallos de árboles no quemados,
durante su período normal de crecimiento
- Figura 11 Número promedio de estomas por mm^2 , de la epidermis inferior 36
de las hojas provenientes de árboles quemados, durante el rebrote
post-fuego y de las hojas provenientes de tallos de árboles no
quemados, durante su período normal de crecimiento

RESUMEN

Cryptocarya alba (Mol.) Looser, es una especie arbórea presente en el matorral de Chile central, la cual ocupa principalmente habitats méxicos. Como la mayoría de las especies leñosas del matorral, ésta tiene la capacidad de rebrotar vigorosamente, a partir del lignotuber, después que la vegetación ha sido afectada por el fuego, coincidiendo con un período desfavorable para el crecimiento vegetativo de las plantas (alta radiación solar, alta temperatura y escasa disponibilidad de agua).

Los rebrotes provienen de yemas situadas en el lignotuber, el cual corresponde a una sección del tronco principal, ubicada bajo el suelo. Muchas plantas de clima Mediterráneo acumulan carbohidratos en esta estructura y la cantidad de ellos así como la disponibilidad de agua y recursos del suelo, podrían considerarse factores importantes en controlar la respuesta de rebrote por parte de los arbustos quemados.

Después de un incendio, desaparece la cobertura vegetal, quedando todas las especies con capacidad de regenerarse vegetativamente, sometida a condiciones semejantes de humedad relativa, viento, radiación solar y temperatura.

Los órganos fotosintéticos generados después de un incendio deberán ser capaces de maximizar la fotosíntesis, adecuando su morfología y fisiología a las limitaciones impuestas por el medio ambiente físico, de manera tal que permitan establecer un equilibrio satisfactorio entre la pérdida de agua y la ganancia de CO₂ con el fin de obtener la energía suficiente para crecer.

En este trabajo se determinó la dinámica de crecimiento de *C. alba*, se cuantificó el contenido de carbohidratos del lignotuber y se analizó los caracteres morfológicos de

las hojas de esta especie, durante su rebrote post-fuego y durante su período normal de crecimiento, en una zona de matorral de la V Región del país.

Los resultados muestran que las reservas de carbohidratos del lignotuber de árboles quemados disminuyen durante el primer período de rebrote post-fuego al ser utilizados en la respuesta de rebrote, pero estas reservas también son utilizadas en otros procesos del desarrollo de la planta en los árboles no quemados. Por otro lado, las hojas adultas provenientes de los rebrotes post-fuego son más gruesas, desarrollan un parénquima en empalizada de mayor grosor y su epidermis inferior presenta un mayor número de estomas por unidad de superficie con relación a las hojas adultas formadas durante el período normal de crecimiento.

ABSTRACT

Cryptocarya alba (Mol.) Looser, is a tree of the matorral of central Chile, occupying mainly mesic habitats. Like most of the species of the matorral, it has the capacity to resprout vigorously from the lignotuber after the vegetation has been affected by the fire, in an unfavorable period for vegetative growth (high solar radiation, high temperature and little availability of water).

Resprouts come from buds located in lignotuber, which corresponds to a section of the main trunk, located under the ground. Many Mediterranean climate plants accumulate carbohydrates in this structure; the amount of carbohydrates as well as the availability of water and resources of the ground, could be considered important factors in controlling the answer of resprout on the part of the burned shrubs.

After a fire, plant cover disappears, with only species with capacity to regenerate vegetative remaining under similar conditions of relative humidity, wind, solar radiation and temperature. The photosynthetic organs produced should maximize photosynthesis, adapting their morphology and physiology to the limitations imposed by the physical conditions, so as to establish a satisfactory balance between the loss of water and CO_2 gain, and accumulate sufficient resources to grow.

In this research the dynamics of growth of *C. alba* were determined. Carbohydrate content of the lignotuber and morphological characteristics of the leaves were analyzed for the species during post-fire resprout and its normal period of growth, in matorral zone of the V Region of the country.

The results show that the carbohydrate reserves of lignotuber of burned trees diminish during the first period of post-fire resprout, but these reserves also are used in other processes of plant development in nonburned trees. On the other hand, the adult leaves originating in the post-fire resprouts are thicker, develop parenchyma of greater thickness and have a greater numbers of stomata by unit of surface on the lower leaf surface in relation to the adult leaves formed during the normal period of growth.

INTRODUCCIÓN

La zona central de Chile presenta un clima de tipo mediterráneo caracterizado por un invierno con lluvias frecuentes, bajas temperaturas y baja radiación solar y por un verano con un período de sequía variable y alta radiación solar (Di Castri, 1968; Di Castri y Hajek, 1976; Hobbs y col., 1995).

El matorral es la vegetación esclerófila arbustiva natural que crece en la región mediterránea semi-árida de Chile Central, entre los 32° y 36 ° S (Arroyo y col., 1995). Esta vegetación está adaptada a un ambiente severo, que incluye un período extenso de sequía, vientos desecadores y baja disponibilidad de nutrientes en el suelo (Aljaro y Montenegro, 1981; Miller, 1981; Montenegro y col., 1989). Está compuesta por un estrato arbustivo de especies siempreverdes de hojas esclerófilas y decíduas de verano de hojas malacófilas (Montenegro y col., 1979, 1981) y un estrato herbáceo estacional compuesto por terófitas y geófitas. Según Miller (1981), nueve especies dan cuenta del 50% de la cobertura relativa en el matorral de Chile central: *Lithrea caustica*, *Colliguaja odorifera*, *Cryptocarya alba*, *Trevoa trinervis*, *Satureja gilliesii*, *Quillaja saponaria*, *Baccharis rosmarinifolia*, *Flourenzia thourifera* y *Kageneckia oblonga*. Algunas especies predominan en laderas de orientación polar y fondos de quebradas (*Peumus boldus*, *Cryptocarya alba*) y otras en laderas de orientación ecuatorial (*Colliguaja odorifera*, *Lithrea caustica*).

Los arbustos del matorral tienden a crecer menos densamente en las laderas de orientación ecuatorial, donde los espacios abiertos entre los conjuntos de arbustos y plantas suculentas caracterizan el paisaje (Fuentes y Muñoz, 1995). Sólo en las laderas más húmedas y sombrías de orientación polar los conjuntos de arbustos se superponen produciendo una cubierta más cerrada. También existe variación en la diversidad,

dominancia y cobertura de las especies a lo largo de un transecto altitudinal desde la costa hacia los 2.200 m sobre el nivel del mar en la Cordillera de los Andes (Montenegro y col., 2002).

La larga historia de ocupación humana en esta zona ha modificado profundamente el paisaje natural y ha reducido el área ocupada por vegetación nativa (Fuentes y col., 1990, 1995). Hoy en día el 80% de la población chilena vive entre la V y la IX regiones, concentrándose también en esta zona la actividad agrícola y forestal, lo que ha implicado la utilización de la vegetación como recurso para leña y carbón y el reemplazo de la flora nativa por campos de cultivo, pastoreo y por plantaciones de pinos y eucaliptos. (Montenegro, 1986; Montenegro y col., 1988; Arroyo y Cavieres, 1997).

Otra importante perturbación asociada a la acción antrópica se relaciona con los incendios forestales (Araya y Avila, 1981; Avila y col., 1981, 1988; Muñoz y Fuentes 1989; Villaseñor y Sáiz, 1993; Armesto y col., 1995; Fuentes y Muñoz, 1995; Keeley, 1995). Aunque el fuego es un disturbio natural importante, que ha jugado un rol preponderante y prolongado en la ecología y evolución de las floras mediterráneas, con excepción del matorral de Chile Central, este rol ha sido modificado como consecuencia de las actividades humanas en estos ecosistemas (Montenegro y col., 2002).

Los incendios naturales son mucho menos comunes en Chile que en otras regiones mediterráneas como California, el sur oeste de la provincia del Cabo, el sur oeste de Australia y la cuenca del Mediterráneo (Aschmann y Bahre, 1977; Keeley y Johnson, 1977; Araya y Ávila, 1981; Ávila y col., 1988; Aschmann, 1991). La literatura indica que los incendios son esencialmente el resultado de causas humanas en Chile

Central ya que los incendios naturales, producidos por rayos o tormentas eléctricas son raros y están ausentes en los registros oficiales (Montenegro y col., 2002).

Según Montenegro y col. (2002), la frecuencia de incendios ha aumentado dramáticamente durante el período 1963-1998 (500 incendios para 1963-1964 a 5.500 incendios para 1997-1998), estando estrechamente relacionada con el rápido crecimiento de la población, producido en Chile Central, durante el mismo período de tiempo.

Por otro lado, la mayor superficie quemada corresponde a vegetación nativa, lo que puede ser el resultado de la alta presión humana sobre áreas de matorral, como por ejemplo, expansión urbana y agrícola sobre ecosistemas naturales y usos más diversificados de áreas silvestres, con más alto riesgo de fuego.

La mayor frecuencia de incendios coincide, también, con la etapa fenológica de floración de la mayoría de las especies leñosas del matorral, produciendo un efecto inmediato en el potencial reproductivo de las plantas, el cual persiste incluso pasados dos años de producido el incendio, provocando que las plantas afectadas por el fuego, no produzcan módulos reproductivos (Montenegro y col., 1989; Ginocchio y col., 1994).

Los incendios producen perturbación a nivel de paisaje al aumentar la heterogeneidad espacial de la vegetación y la fragmentación de habitats; a nivel de comunidad, ya que algunas especies se ven afectadas negativamente y otras aumentan su abundancia; y a nivel de organismos, ya que cambios en algunos factores abióticos debido al fuego, pueden producir nuevos estrés en las plantas (Montenegro y col., 1996).

Los caracteres adaptativos de las plantas leñosas como respuesta al fuego son más diversos y complejos que los que presentan otras formas de crecimiento. Las respuestas básicas que pueden presentar las plantas leñosas para recuperarse después de

un incendio son: regeneración vegetativa a partir de yemas ubicadas en una estructura subterránea (lignotuber) o yemas epicórmicas ubicadas en los tallos y/o regeneración sexual debido a la floración, liberación de semillas o germinación estimulada por el fuego (Hanes, 1971; Keeley y Johnson, 1977; Montenegro y col., 1983; Keeley, 1986). Casi todas las especies leñosas del matorral de Chile central rebrotan después del fuego, pero fallan en reclutar plántulas en el ambiente post-fuego (Cody y Mooney, 1978; Araya y Avila, 1981; Montenegro y col., 1983; Ginocchio y col., 1994). Las plantas que pueden o no rebrotar después del fuego y restringen el reclutamiento de plántulas al ambiente post-fuego mediato o inmediato están pobremente representadas por algunas especies como *Trevoa trinervis*, *Muehlenbeckia hastulata* y *Baccharis spp.* (Araya y Ávila, 1981; Keeley, 1995).

Montenegro y Ginocchio (1995) encontraron que un carácter ecomorfológico común, presente en las plantas leñosas que rebrotan después del fuego, es el desarrollo de un tallo lignificado subterráneo, el lignotuber.

El lignotuber corresponde a una sección del tallo principal, ubicado en la unión de éste con la raíz, este órgano, presenta un mayor número de capas de células parenquimáticas que el tallo principal, con gran cantidad de almidón y yemas epicórmicas almacenadas o por diferenciarse (Montenegro y col., 1983). Tales yemas son capaces de brotar después que las estructuras aéreas mueren, consumidas por el fuego o removidas por medios mecánicos, regenerando la parte aérea de la planta. Aunque el lignotuber no haya sido el resultado de una presión selectiva por fuego, puede haber sido el resultado de la estacionalidad en el clima (Montenegro y Ginocchio,

1995) y por ésto representa una “pre-adaptación” a los incendios producidos por el hombre.

El lignotuber es un carácter ontogenético adaptado a iniciar su desarrollo temprano en el crecimiento de la plántula (Wells, 1969; Montenegro y col., 1983). La capacidad de respuesta difiere entre las especies, en la proporción de individuos que exhiben la respuesta y en la cantidad de follaje que producen (Ginocchio y col., 1994) y el rebrote puede ocurrir inmediatamente después de un incendio, independientemente de la estación del año. Parece ser que la capacidad de rebrote desde el lignotuber, se relaciona con la edad de la planta y por ésto con la edad de la estructura subterránea. Plantas de mayor edad tienen lignotuber más grandes y una capacidad mayor de rebrote, lo que puede ser debido a una mayor capacidad de reserva de almidón en las células parenquimáticas de este órgano (Montenegro y col., 1996). Parece ser también, que en las plantas que sobreviven a un incendio, el tamaño de la planta es un factor importante que explica el vigor del rebrote (Lloret y col., 1999).

Montenegro y col. (1996), considera que los vigorosos rebrotes de algunas especies están relacionados con la cantidad de parénquima cortical presente en los tallos más viejos y en el lignotuber. El contenido de carbohidratos de esta estructura así como la disponibilidad de agua y recursos del suelo, han sido considerados factores importantes en controlar la respuesta de rebrote por parte de arbustos quemados. El contenido de carbohidratos alcanza valores de 4,5 a 10,2% del peso seco del lignotuber en *Erica australis*, un arbusto de la zona mediterránea de España, siendo el almidón la fracción cuantitativamente más importante, el cual decrece durante la primavera y el verano (Cruz y Moreno, 1997a, 1997b, 1997c, 2001). Experiencias realizadas con la

misma especie muestran que los niveles de carbohidratos en el lignotuber son normalmente muy altos y que afectan la respuesta de rebrote solamente cuando ellos se encuentran a niveles muy bajos, mucho más de los usualmente registrados en terreno (Cruz y Moreno, 1997b). Existe evidencia que la disminución estacional de los carbohidratos puede afectar fuertemente la capacidad regenerativa de la planta (Rundel y col., 1987). La utilización de las reservas de carbono del lignotuber para rebrotar luego de una perturbación importante invocada en algunos estudios, proviene de experiencias realizadas en otras zonas de clima mediterráneo, pero ningún estudio que revele el comportamiento de los carbohidratos del lignotuber, después de un incendio, se ha realizado en la zona de clima Mediterráneo de Chile.

Después de un incendio de alta intensidad, se elimina la cobertura vegetal y la estructura de la comunidad desaparece, quedando todas las especies sobrevivientes y su potencial biomasa de regeneración sometida a condiciones medioambientales semejantes, en una época del año (verano), en la cual la radiación solar media y la temperatura alcanzan valores muy altos, mientras que la humedad relativa valores muy bajos y la precipitación es nula (Miller, 1981). A pesar de estas condiciones ambientales adversas, la mayoría de las especies arbustivas tienen la capacidad de rebrotar vigorosa y rápidamente después de un mes de haberse producido el incendio (Araya y Ávila, 1981; Montenegro y col., 1983, 1996).

Las variables climáticas son factores importantes en la vida de las plantas ya que definen sus límites de sobrevivencia y sus área de distribución. Su naturaleza sésil, las hace susceptibles a las variaciones del ambiente. Como consecuencia, han evolucionado respuestas morfológicas, fisiológicas y del desarrollo que alivian los efectos deletéreos

de los cambios ambientales tales como el frío, la sequía y la privación de nutrientes, mejorando la eficiencia con la cual son usados los recursos potencialmente limitados. (Walters y col., 1999).

En los climas mediterráneos son varios los estrés que limitan el desarrollo y la sobrevivencia de las plantas. En la zona central de Chile la disponibilidad de agua y las temperaturas restringen su crecimiento a los meses de primavera, mientras que la escasez de precipitaciones, las altas temperaturas y el estrés hídrico de los meses de verano, producen el cese de los procesos de crecimiento. Por lo tanto, los rebrotes producidos, como respuesta de regeneración vegetativa, por las plantas leñosas afectadas por un incendio, justamente en el verano, cuando normalmente se encuentran en un período de receso vegetativo, debieran adoptar estrategias morfológicas y fisiológicas que les permitan mantener y optimizar el balance de agua y carbono frente a la sequía estacional.

Según Montenegro y col. (1981), el desarrollo de características xeromórficas en los órganos de las plantas que crecen bajo condiciones áridas o semiáridas, se atribuye fundamentalmente a factores como estrés hídrico y alta intensidad lumínica.

Las plantas pueden responder a estos factores alterando la estructura interna del tejido fotosintético tales como la cantidad y distribución de los tejidos en empalizada y esponjoso como también su estructura externa.

Las hojas expuestas al sol tienden a ser más gruesas (Montenegro y col., 1981; Poblete y col., 1991; Jansen y col., 1998), con un tejido en empalizada altamente desarrollado, permitiendo un aumento de la fotosíntesis por unidad de área fotosintética (Montenegro y col., 1981; Poblete y col., 1991; Silva y col., 2001). Presentan además,

grandes cantidades de ceras en su superficie, contribuyendo a aumentar los valores de resistencia cuticular a la pérdida de agua (Silva y col., 2001). La cutícula puede además contribuir al balance energético por reducción de la radiación neta y aumento de la reflectancia. (Silva y col., 2001).

Si bien un mayor número de estomas por unidad de superficie, en estas hojas, puede disminuir la resistencia al flujo gaseoso de agua, el comportamiento de los estomas durante el estrés hídrico y la presencia de una cutícula altamente eficiente son probablemente los caracteres que permiten sobrellevar las severas condiciones de sequía (Mooney y Kumerow, 1971; Keith y Buckley, 2000).

Las variaciones en la anatomía del tejido fotosintético como su grosor, la pubescencia, las dimensiones celulares y la relación entre la superficie de las paredes celulares del clorénquima y la superficie exterior sirven a la planta como adaptaciones a medios calurosos y secos (Silva y col., 1999).

Por lo tanto, para que las plantas puedan regenerarse vegetativamente y lograr una elevada producción de biomasa, después de un incendio, en verano, a partir de rebrotes desde el lignotuber y/o de yemas epicórmicas protegidas bajo la corteza, cuando la sequía, la radiación y la temperatura son factores que podrían directamente limitar la asimilación de CO_2 y cuando normalmente se encuentran en receso vegetativo, deberán desarrollar estrategias que permitan iniciar la respuesta de rebrote y mantener el crecimiento de los tallos en este período desfavorable para el crecimiento.

En la zona Mediterránea de Chile Central, no existen estudios morfofisiológicos que permitan comprender estas estrategias de regeneración post-fuego. Por ello, resulta

necesario e interesante realizar estudios en esta área, que permitan responder interrogantes relacionadas con las respuestas de rebrote luego de esta perturbación.

Cryptocarya alba, es una de las especies, presentes en el matorral, que tiene la capacidad de rebrotar vigorosamente después del fuego (Araya y Ávila, 1981; Villaseñor y Sáiz, 1993; Montenegro y col., 2002). Es un árbol, siempreverde, con un período de crecimiento vegetativo que comienza en octubre y termina en diciembre (Montenegro, 1987). Se desarrolla preferentemente en quebradas y valles húmedos y sombríos, encontrándose también en terrenos expuestos a fuerte insolación, pero con cierto grado de humedad (Rodríguez y col., 1983).

Sus hojas son consideradas esclerófilas (Montenegro y col., 1981). Presenta grandes fluctuaciones en sus potenciales hídricos durante el año y las tasas de transpiración que son bajas en invierno, aumentan gradualmente en primavera (Montenegro y col., 1980). La capacidad de esta especie de rebrotar luego de un incendio es notable, teniendo en cuenta que es una especie que ocupa habitats mésicos y que luego de un incendio se encuentra enfrentada a una alta radiación solar y a condiciones adversas de disponibilidad de agua, lo que provoca potenciales hídricos altamente negativos y bajas tasas transpiratorias, todos ellos factores ambientales adversos para el crecimiento de las plantas. El estudio de respuestas morfológicas y fisiológicas para poder crecer bajo estas condiciones y recuperarse luego de esta perturbación, como es el caso de *Cryptocarya alba* contribuirá a la comprensión de los procesos que permiten a muchas especies del matorral de Chile Central recuperarse después de fuego.

Hipótesis 1

Las reservas de carbohidratos acumuladas en el lignotuber de *Cryptocarya alba*, en el matorral de Chile Central, disminuirán después de un incendio, al ser utilizadas en la formación de nuevas ramas al comienzo de la regeneración post-fuego, en comparación con aquellas de individuos de la misma especie, no afectados por el fuego, durante la estación normal de crecimiento

Hipótesis 2

Las hojas adultas de los rebrotes de *Cryptocarya alba*, producidos desde el lignotuber, después de un incendio, en el matorral de Chile Central, presentarán cutículas, hojas y parénquima en empalizada de mayor grosor y mayor frecuencia estomática, en comparación a las hojas de individuos de la misma especie, no afectados por el fuego, desarrolladas durante la estación normal de crecimiento

Objetivo general

Analizar el contenido de carbohidratos del lignotuber y los caracteres morfológicos de las nuevas hojas de *Cryptocarya alba*, durante el rebrote post-fuego y durante el período normal de crecimiento, en el matorral de Chile Central.

Objetivos específicos

1. Determinar la dinámica de crecimiento de la especie en estudio a través del incremento de área foliar, durante el período normal de crecimiento y durante el rebrote post-fuego.
2. Cuantificar el contenido de almidón y de azúcares solubles en el lignotuber de los árboles de la especie estudiada, en condiciones normales de crecimiento y durante el rebrote post-fuego
3. Comparar caracteres morfológicos foliares en la especie estudiada (grosor de cutícula superior, hojas y parénquima en empalizada y frecuencia estomática de epidermis inferior), en condiciones normales de crecimiento y durante el rebrote post-fuego.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio

El estudio fue realizado en una comunidad mésica de matorral dominado por *Lithrea caustica* (Mol.) H. et A. y *Cryptocarya alba* (Mol.) Looser ubicada en las laderas de orientación S-E de la Cordillera de la Costa, a los pies del Cerro La Campana (V Región), a 110 Km al norte de Santiago, en la Reserva Ecológica Oasis de La Campana (32° 59' S y 71° 01' O) y a una altitud de 684 m sobre el nivel del mar.

La región presenta un clima de tipo Mediterráneo, caracterizado por un déficit hídrico de 6 a 9 meses durante el año. Las precipitaciones se producen en forma de lluvia, con una media anual de 387,2 mm, concentradas en los meses más fríos. La temperatura máxima media del mes más cálido es de 29,1 °C y la temperatura mínima media del mes más frío es de 2,9 °C (di Castri y Hajek, 1976).

Las variables climáticas de la región en donde se realizó la investigación, durante el período de estudio se presentan en las Figuras 1, 2 y 3.

En este lugar ocurrió un incendio de gran intensidad, el día 23 de diciembre de 1998, el cual abarcó una superficie de 800 ha y tuvo una duración de 2 días. Según antecedentes proporcionados por el administrador de la reserva, no se han producido incendios en el sitio de estudio, por lo menos durante los últimos 40 años.

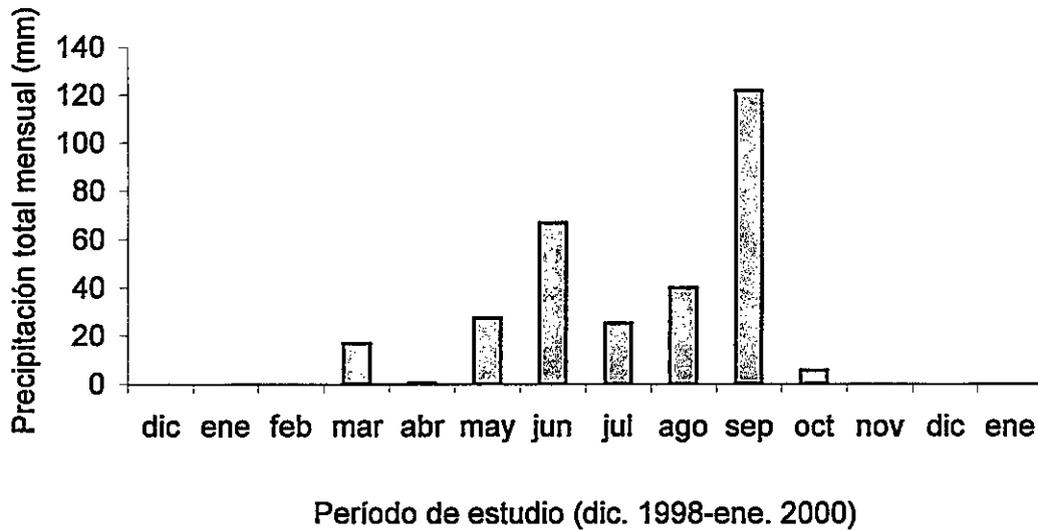


Figura 1

Precipitación total mensual de Valparaíso desde diciembre de 1998 a enero de 2000 (Laboratorio de Evaluación Solar, Universidad Técnica Federico Santa María, UTFSM).

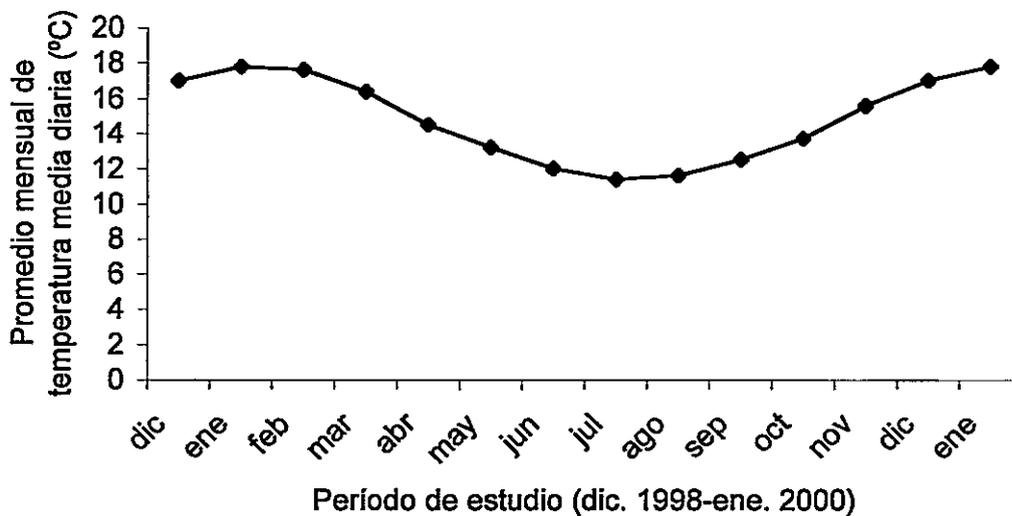


Figura 2

Promedio mensual de temperatura media diaria de Valparaíso, durante el período de estudio (Laboratorio de Evaluación Solar, UTFSM).

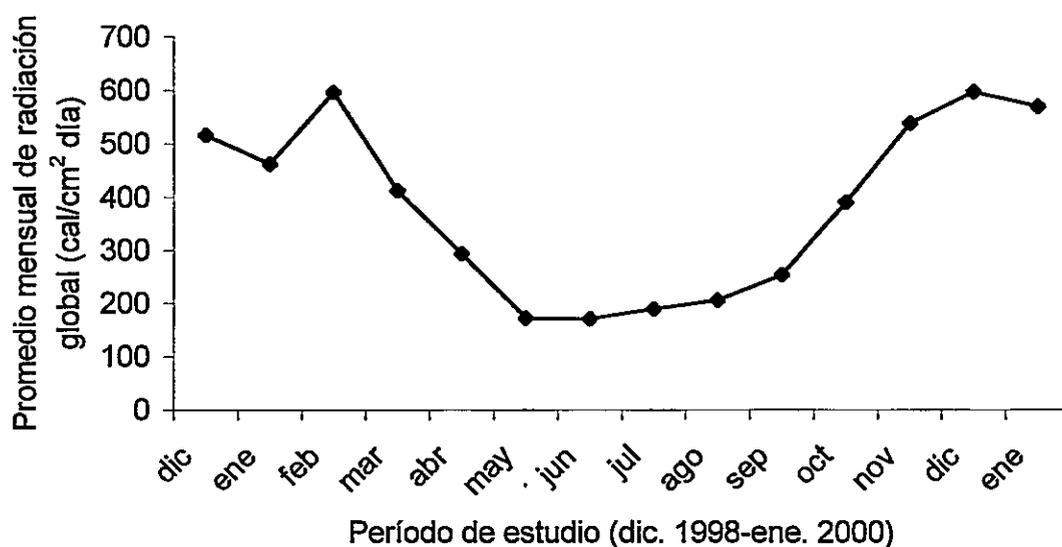


Figura 3 Promedio mensual de radiación global de Valparaíso desde diciembre de 1998 a enero de 2000 (Laboratorio de Evaluación Solar, UTFSM).

En el sitio de estudio se estableció dos sectores de estudio: uno de ellos ubicado en la zona afectada por el incendio (sector incendiado) y el otro, separado aproximadamente por 2,5 Km, en una zona no afectada por el incendio (sector no incendiado), de similar topografía, exposición y vegetación.

Especie estudiada

La especie estudiada fue *Cryptocarya alba* (Mol.) Looser. Se eligió individuos que presentaran una edad similar (entre 26 y 31 años), determinada mediante el conteo de anillos de crecimiento en muestras de madera obtenidas mediante un taladro de incremento, desde el tronco de los árboles, a la altura del pecho.

Metodología

Luego de ocurrido el incendio, se comenzó a visitar el sector incendiado cada 15 días con el propósito de estudiar la zona y visualizar los primeros signos de regeneración, los cuales comenzaron a aparecer a mediados de febrero (14 de febrero de 1999, primer muestreo). A partir de esta fecha, mensualmente, se realizó los siguientes muestreos: segundo muestreo, marzo; tercer muestreo, abril; cuarto muestreo, mayo; quinto muestreo, junio. Para los parámetros morfológicos se comenzó a muestrear en marzo (primer muestreo) y se prosiguió, mensualmente, por el resto del período (segundo muestreo, abril; tercer muestreo, mayo; cuarto muestreo, junio). La razón para comenzar en marzo con el estudio de los parámetros morfológicos fue que se deseaba seguir el desarrollo de hojas con características promedio y no de hojas basales de los rebrotes, ya que éstas generalmente no se desarrollan adecuadamente y quedan ocultas, en la base de los tallos, por gran número de ramas y hojas.

En el sector no incendiado, se siguió un procedimiento similar. A finales de septiembre (25 de septiembre de 1999), comenzaron a desarrollarse las primeras yemas, correspondiendo esta fecha al primer muestreo, continuando, mensualmente, hasta enero de 2000 (segundo muestreo, octubre; tercer muestreo, noviembre, cuarto muestreo, diciembre; quinto muestreo, enero). Por la misma razón anterior, los muestreos para los parámetros morfológicos se comenzaron en octubre (primer muestreo) y se prosiguió mensualmente, hasta el final del período (segundo muestreo, noviembre; tercer muestreo, diciembre; cuarto muestreo, enero).

1. Incremento de área foliar (dinámica de crecimiento)

Con la finalidad de determinar la dinámica de crecimiento de los rebrotes post-fuego y de los tallos de los árboles no quemados, durante su período normal de crecimiento, se midió el incremento de área foliar.

En febrero de 1999 se eligió 10 árboles del sector incendiado, que presentaban signos de regeneración visualizada por la formación de brotes a partir del lignotuber. Se marcaron 5 de estos brotes, en cada árbol, seleccionados por su vigor y luego de un mes de crecimiento, se eligió aquel que representaba el promedio de desarrollo de los 5 brotes, para continuar las mediciones.

Mensualmente, se midió la longitud del tallo principal, de los tallos laterales y de cada hoja de todos los tallos.

En mayo, se colectó al azar, desde los 10 árboles, 150 hojas de ramas principales y 150 hojas de ramas laterales a las cuales se les determinó su longitud y área foliar con un planímetro digital (Lasico).

Para obtener el incremento de área foliar, los datos de longitud foliar obtenidos en terreno, fueron extrapolados a una curva de longitud versus área, obtenida de las 150 hojas colectadas de ramas principales o a una curva de longitud versus área obtenida de las 150 hojas de ramas laterales, dependiendo del tipo de rama (principal o lateral) al cual pertenecieran.

En septiembre 1999 se seleccionaron 10 árboles del sector no incendiado, se marcaron, al azar, 5 yemas en desarrollo en cada árbol y luego de un mes de crecimiento, se eligió el vástago que representaba el promedio de desarrollo de los 5,

para continuar las mediciones, procediendo de manera similar a lo realizado en el sector incendiado y colectando en diciembre las 150 hojas, formadas durante la estación de crecimiento, que servirían para extrapolar los datos obtenidos en terreno.

2. Contenido de almidón y azúcares solubles en el lignotuber

Los mismos árboles utilizados para medir el incremento de área foliar, en los dos sectores de estudio, se usaron para cuantificar el contenido de almidón y azúcares solubles en el lignotuber.

En cada muestreo se extrajo, con un tornillo de incremento de 0,5 cm de diámetro, una muestra de lignotuber de cada árbol, procurando llegar en cada perforación, hasta el parénquima medular.

Un gramo de peso seco de cada muestra de lignotuber, se maceró en un mortero con 2 ml de etanol de 70% y 0,2 g de cuarzo. El macerado resultante se diluyó en 10 ml de etanol de 70% y se llevó a una estufa a 60 °C durante 2 horas, para extraer los azúcares solubles.

Se extrajo 1 ml del sobrenadante de cada extracto y se centrifugó durante 2 minutos a 5.000 revoluciones por minuto. Luego, se extrajo 20 µl de cada solución para medir el contenido de azúcares solubles de cada muestra de lignotuber, según el procedimiento basado en la reacción del furfural producido por la glucosa en presencia de ácido sulfúrico, calor y antrona (Ashwell, 1957). La intensidad de la coloración verde se midió cuantificando la absorbancia a 620 nm en un espectrofotómetro Shimadzu.

Para la extracción del almidón, se eliminó el alcohol de cada extracto anterior y los pellets fueron lavados, y centrifugados, separadamente, dos veces, con agua destilada y a 3.000 revoluciones por minuto durante 2 minutos. Los pellets lavados fueron puestos en matraces de 50 ml, se les agregó 10 ml de agua destilada y en constante agitación fueron calentados hasta casi alcanzar el punto de ebullición. Del sobrenadante de cada extracto, se extrajo 1 ml, para ser centrifugados durante el mismo tiempo y a la misma velocidad anterior.

Se extrajo 25 μ l de cada solución para medir el contenido de almidón de cada muestra de lignotuber utilizando la prueba de lugol (Jones y Vamer, 1967), basada en la reacción específica del lugol con las moléculas de almidón. La intensidad de la coloración azul se midió cuantificando la absorbancia a 585 nm en un espectrofotómetro Shimadzu.

3. Medición de caracteres morfológicos

Los caracteres morfológicos que se midieron fueron los siguientes:

- a) Grosor de la cutícula de la epidermis superior
- b) Grosor de la hoja
- c) Grosor del parénquima en empalizada
- d) Frecuencia estomática de la epidermis inferior

Todos los caracteres se midieron en dos hojas por árbol, en cada muestreo, en el sector incendiado y en el sector no incendiado y en los mismos árboles utilizados en las experiencias 1. y 2. En el sector no incendiado, las hojas se extrajeron de ramas

escogidas al azar y se eligieron aquellas hojas ubicadas a 50 cm desde la base de las ramas, para poder seguir su desarrollo. En el sector no incendiado, se obtuvieron a los 5 cm desde la base de los tallos en crecimiento. Inmediatamente extraídas se fijaron en FAA (formaldehído 5%, ácido acético 5%, etanol de 70°, 90%).

Para medir los caracteres a), b) y c) se hizo cortes transversales, perpendiculares al nervio medio y a la mitad de la longitud de la hoja. Para esto, las hojas se deshidrataron, se incluyeron en parafina, se cortaron en un micrótopo (Jung) a un grosor de 20 μm y se tiñeron con los colorantes safranina y verde rápido, siguiendo la metodología clásica para microscopía óptica (Jensen, 1962). Las mediciones se realizaron utilizando un microscopio óptico (Nikon) y un micrómetro (Leitz) y las observaciones se hicieron utilizando un aumento de 400x para el carácter a) y un aumento de 200x para los caracteres b) y c).

Para medir el carácter d), se aplicó sobre la epidermis superior de las hojas un medio de montaje para microscopía óptica (Eukitt) y una vez seco se retiró y se dispuso sobre un portaobjetos, quedando una delgada película con la impresión en negativo de la epidermis foliar. En esta película, se contó, utilizando un microscopio óptico (Nikon) y a un aumento de 400x, el número de estomas presentes en un campo visual. Se midió el diámetro del campo visual mediante un milímetro graduado para determinar el área del campo visual y el número de estomas por mm^2 .

Análisis estadístico

Para comparar el contenido de azúcar soluble y de almidón en el lignotuber de árboles en el sector incendiado y no incendiado, se utilizó ANDEVA de medidas repetidas. Se analizó previamente la normalidad (Test de Shapiro-Wilkins) y la homogeneidad de varianza (Test de Bartlett) de los datos.

Las variables morfológicas medidas en el cuarto muestreo (hojas adultas) fueron comparadas entre los sectores de estudio (incendiado y no incendiado) utilizando el Test de Student. Previamente se analizó la normalidad de los datos (Test de Shapiro-Wilkins) y la homogeneidad de las varianzas (Test de Levene).

Cuando fue necesario, los datos fueron transformados utilizando el cuadrado o el logaritmo en base diez, antes de aplicar los tests correspondientes.

Todas las pruebas estadísticas se realizaron usando el software STATISTICA.

RESULTADOS

1. Incremento de área foliar (dinámica de crecimiento)

1.1. Incremento de área foliar de rebrotes post-fuego

Durante todo el período de muestreo hubo un incremento de área foliar. La aparición de los primeros signos de regeneración a partir del lignotuber ocurrió a 53 días de ocurrido el incendio (primer muestreo, febrero de 1999). El mayor incremento de área foliar se produjo entre los meses de marzo y mayo. Hacia el final del período de muestreo, la tasa de incremento foliar disminuyó (Figura 4).

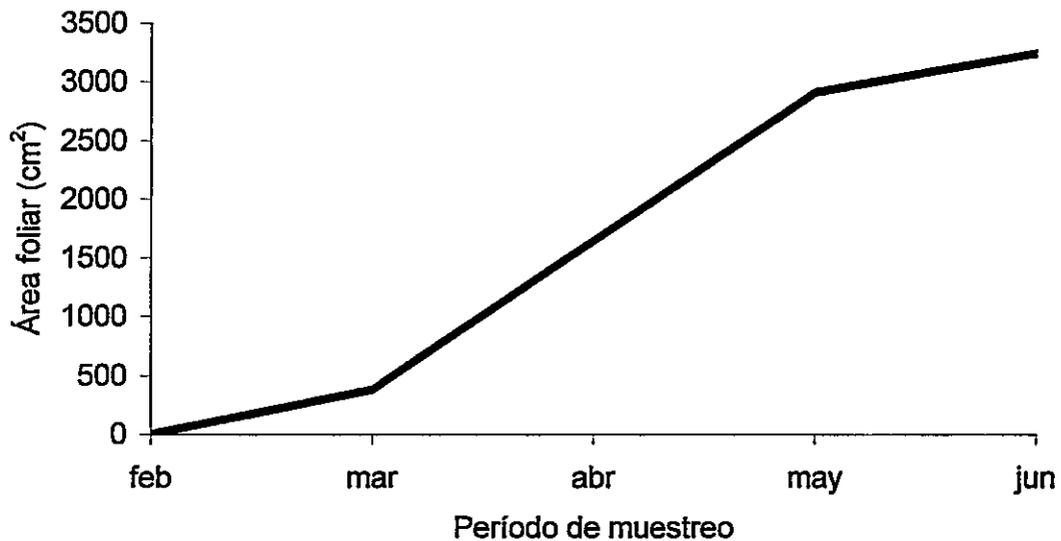


Figura 4 Incremento promedio de área foliar total (n=10) de rebrotes post-fuego. La curva muestra el área foliar acumulada de un tallo representativo.

A partir de marzo, comenzaron a aparecer, desde los tallos principales, tallos laterales. Se comenzó a observar hojas adultas (cesaron su expansión y adquirieron

consistencia esclerófila) en el mes de mayo, a tres meses de iniciado su crecimiento. El área foliar promedio de una hoja adulta, proveniente de los tallos principales fue mayor ($13,4 \text{ cm}^2 \pm 6,26 \text{ cm}^2$) que el de aquellas provenientes de ramas laterales ($7,4 \text{ cm}^2 \pm 2,79 \text{ cm}^2$).

Durante todo el período de muestreo hubo formación de nuevas hojas tanto en el tallo principal como en los tallos laterales, aunque el número de éstas fue disminuyendo hacia el mes de junio.

1.2 Incremento de área foliar de tallos de árboles no quemados, durante su período normal de crecimiento

El desarrollo de las primeras yemas en estos árboles, comenzó hacia fines de septiembre (primer muestreo, septiembre de 1999). El mayor incremento de área foliar se produjo entre los meses de octubre y noviembre, la tasa de incremento de área foliar disminuyó entre noviembre y diciembre y fue nula entre diciembre y enero (Figura 5).

Los tallos formados durante la estación de crecimiento, presentaron un número promedio de hojas similar entre el comienzo de su desarrollo (septiembre) y el final del mismo (enero de 2000), es decir, durante el período normal de crecimiento, no hubo formación de nuevas hojas sino sólo desarrollo de las mismas.

Las hojas se demoraron más en madurar (fin de expansión foliar y adquisición de consistencia esclerófila) que aquellas de los rebrotes post-fuego, ya que estuvieron totalmente desarrolladas en el mes de enero, a 4 meses del inicio de su desarrollo y presentaron un área foliar individual promedio de $7,8 \text{ cm}^2 \pm 2,98 \text{ cm}^2$, similar al de las hojas de los tallos laterales de los rebrotes post-fuego.

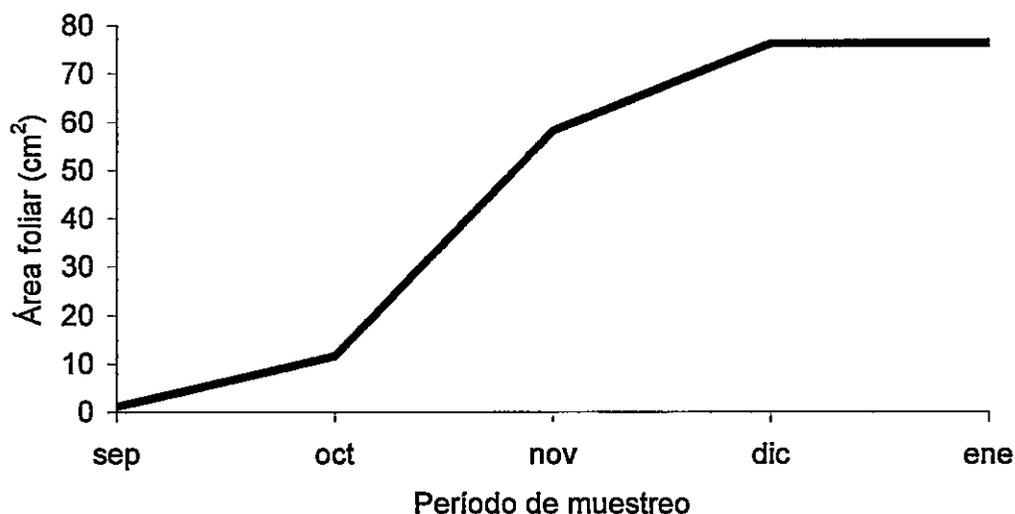


Figura 5 Incremento promedio de área foliar total (n=10) de un tallo de árboles no quemados formados durante el período normal de crecimiento. La curva muestra el área foliar acumulada de un tallo representativo.

2. Contenido de almidón y azúcares solubles del lignotuber

2.1. Contenido de almidón del lignotuber

Se encontró diferencias significativas en el contenido promedio de almidón del lignotuber de árboles quemados, durante el rebrote post-fuego y de árboles no quemados, durante su período normal de crecimiento, al comparar entre fechas, entre sectores y entre sectores x fecha (ANDEVA de medidas repetidas, Tabla 1).

Tabla 1. ANDEVA de medidas repetidas para contenido promedio (n=10) de almidón del lignotuber de árboles quemados, durante el rebrote post-fuego y de árboles no quemados, durante su período normal de crecimiento.

Efecto	C ²	g. l.	F	p
Sector	0,323	1	4,798	< 0,05
Fecha	0,594	4	61,625	< 0,05
Sector x Fecha	0,206	4	21,350	<0,05
Error	0,009	72		

El contenido promedio de almidón del lignotuber de los árboles quemados disminuyó significativamente (Tabla 1) en un 70% en marzo, a un mes del comienzo de la regeneración de los árboles quemados por el incendio, coincidiendo con el comienzo del período de incremento de área foliar (formación de tallos y hojas a partir del lignotuber). El contenido promedio de almidón del lignotuber de estos árboles, luego de la disminución registrada en marzo, no se recuperó durante el resto del período del muestreo (Figura 6).

El contenido promedio de almidón del lignotuber de los árboles no quemados, durante su período normal de crecimiento, mostró un comportamiento distinto (Figura 6). Este contenido solamente tuvo una disminución significativa en el mes de diciembre (Figura 6, Tabla 1), a tres meses de iniciado el crecimiento de nuevos tallos y cuando en los árboles había terminado el período de incremento de área foliar (Figura 5), alcanzando un valor similar al del lignotuber de los árboles quemados luego de un mes

de regeneración post-fuego (Figura 6) y representando una disminución de un 58% con respecto al contenido del mes anterior.

Es importante destacar la existencia de una interacción significativa entre los sectores y las fechas para el contenido de almidón del lignotuber, ya que esto indica que los factores no son independientes entre sí. El contenido de almidón del lignotuber depende fuertemente de la fecha y de si el sector ha sido quemado o no. El contenido promedio de almidón del lignotuber de los árboles quemados, al comienzo del rebrote post-fuego fue superior al contenido promedio de almidón del lignotuber de los árboles no quemados, al comienzo de la estación normal de crecimiento y disminuyó más marcadamente en el sector quemado en el mes de marzo que la disminución observada para esta misma variable en el sector no quemado, donde la disminución del contenido de almidón fue menor y más tardía, tendiendo a recuperarse rápidamente, a diferencia de lo que ocurre con los árboles quemados, durante su rebrote post-fuego (Figura 6).

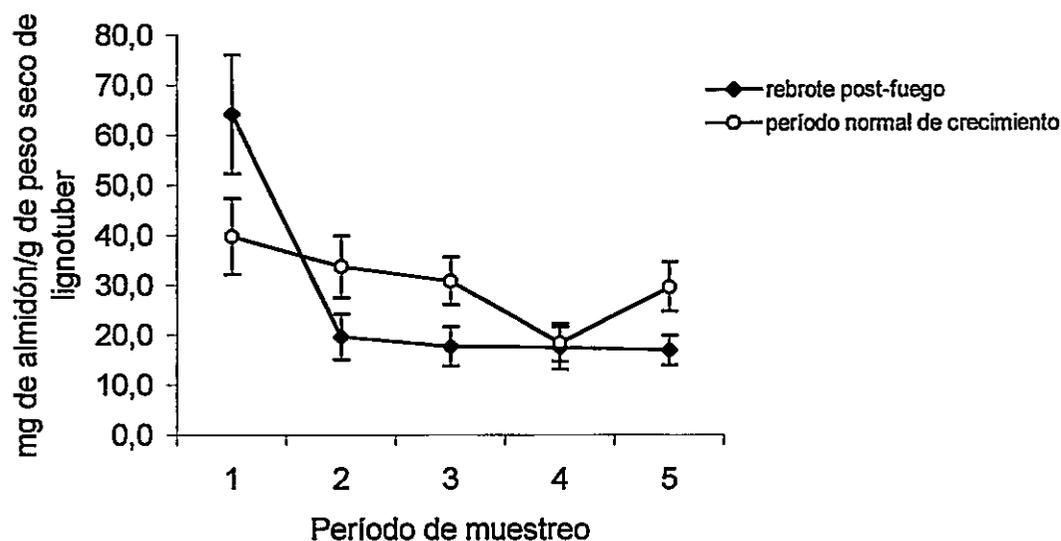


Figura 6 Variación del contenido promedio de almidón ($n=10$) del lignotuber de árboles quemados, durante el rebrote post-fuego (período de muestreo: 1=febrero, 2=marzo, 3=abril, 4=mayo, 5=junio) y de árboles no quemados, durante el período normal de crecimiento (período de muestreo: 1= septiembre, 2=octubre, 3=noviembre, 4=diciembre, 5=enero). Las barras verticales representan el error estándar.

2.2. Contenido de azúcares solubles del lignotuber

El contenido promedio de azúcares solubles del lignotuber de los árboles de ambos sectores estudiados fue similar (Tabla 2). Se constató una disminución significativa en el contenido promedio de estos azúcares, durante el primer mes de regeneración post-fuego (Figura 7, Tabla 2), mientras que los árboles no quemados no disminuyeron su contenido de azúcares solubles durante todo su período normal de crecimiento, sino que por el contrario, exhibieron una tendencia a aumentar el contenido de estos carbohidratos (Figura 7). El contenido promedio de azúcares solubles fue mayor en los árboles

quemados al comenzar su etapa de regeneración que el de los árboles no quemados al comenzar su período de crecimiento vegetativo.

Existe, también, una interacción significativa entre los sectores y las fechas para el contenido de azúcares solubles del lignotuber. El contenido de azúcar soluble fue significativamente mayor al comienzo del período de rebrote en los árboles quemados, en comparación con el contenido de azúcar al comienzo de la estación de crecimiento de los árboles del sector no quemado, y luego disminuyó a concentraciones similares a las del sector no quemado. (Figura 7).

Tabla 2. ANDEVA de medidas repetidas para contenido promedio (n=10) de azúcares solubles del lignotuber de árboles quemados, durante el rebrote post-fuego y de árboles no quemados, durante su período normal de crecimiento.

Efecto	C ²	g. l.	F	p
Sector	0,080	1	2,061	= 0,16
Fecha	0,150	4	21,577	< 0,05
Sector x Fecha	0,113	4	16,283	<0,05
Error	0,006	72		

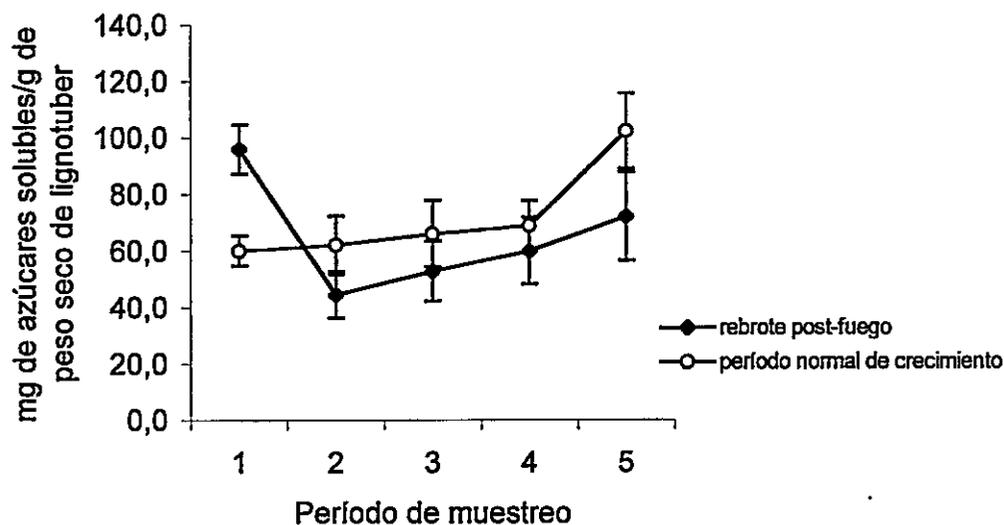


Figura 7 Variación del contenido promedio de azúcares solubles ($n=10$) del lignotuber de árboles quemados, durante el rebrote post-fuego (período de muestreo: 1=febrero, 2=marzo, 3=abril, 4=mayo, 5=junio) y de árboles no quemados, durante el período normal de crecimiento (período de muestreo: 1=septiembre, 2=octubre, 3=noviembre, 4=diciembre, 5=enero). Las barras verticales representan el error estándar.

3. Medición de caracteres morfológicos

3.1. Grosor de la cutícula superior de las hojas

El grosor promedio de la cutícula superior de las hojas provenientes de los rebrotes post-fuego presentó una tendencia a aumentar a medida que se hacían adultas y este grosor fue mayor al que presentaron las hojas provenientes de los tallos de los árboles no quemados, durante su período normal de crecimiento. Una vez que las hojas detuvieron su expansión foliar (mayo), el grosor promedio de la cutícula superior fue similar entre los dos tipos de hojas (Figura 8). Las hojas de los árboles no quemados

también aumentaron el grosor de su cutícula superior a medida que se hicieron adultas, superando, en este estado, al de las hojas provenientes de los rebrotes post-fuego (Figura 8).

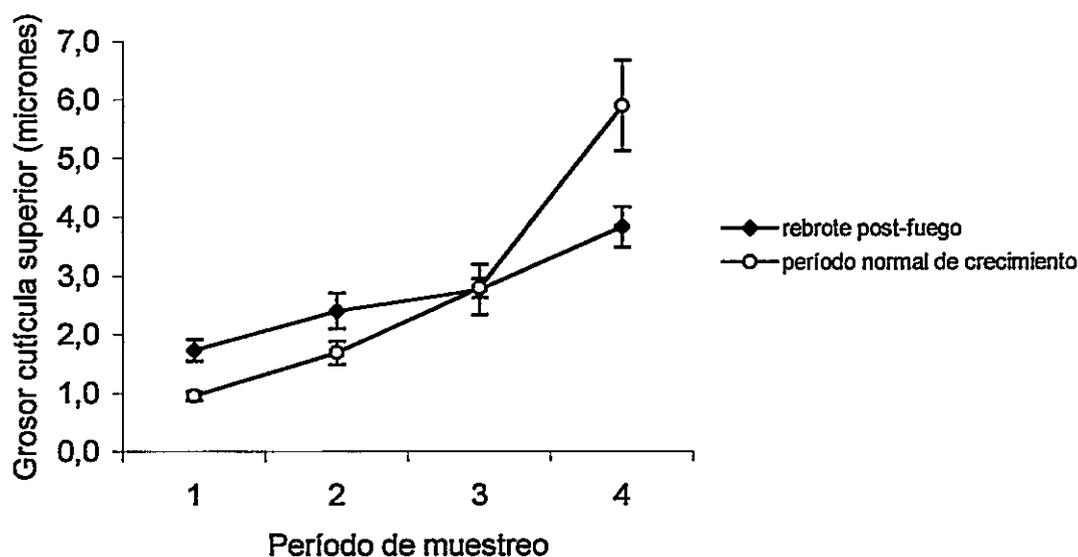


Figura 8 Grosor promedio ($n=10$) de la cutícula de la epidermis superior de hojas provenientes de árboles quemados, durante el rebrote post-fuego (período de muestreo: 1=marzo, 2=abril, 3=mayo, 4=junio) y de las hojas provenientes de tallos de árboles no quemados, durante su período normal de crecimiento (período de muestreo: 1=octubre, 2=noviembre, 3=diciembre, 4=enero). Las barras verticales representan el error estándar.

3.2. Grosor de las hojas de

El grosor promedio de las hojas de los rebrotes post-fuego aumentó durante el rebrote post-fuego. Las hojas provenientes de árboles no quemados, durante su período normal de crecimiento, presentaron un comportamiento similar. Las primeras, siempre presentaron hojas más gruesas que las segundas (Figura 9).

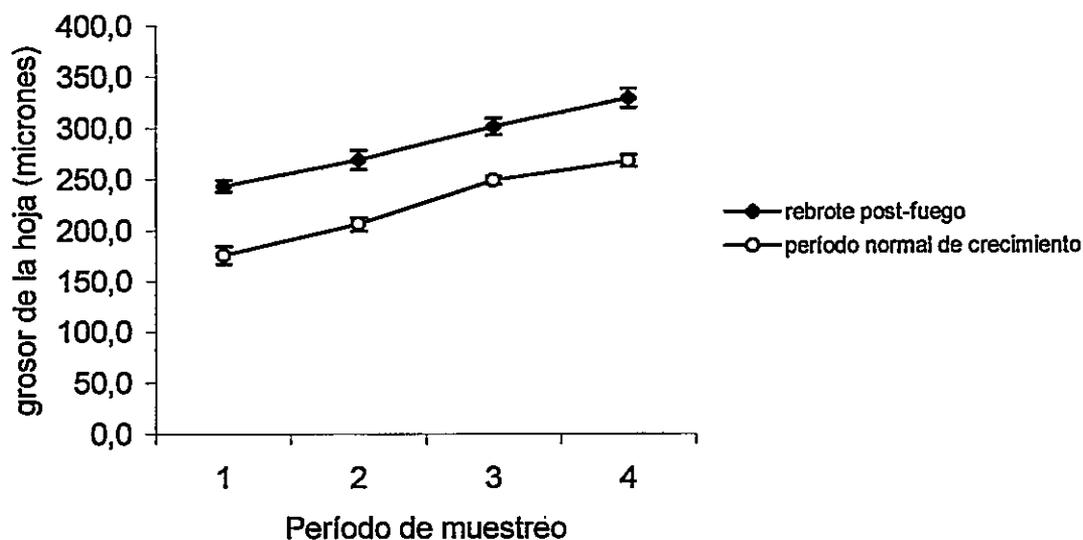


Figura 9 Grosor promedio ($n=10$) de las hojas provenientes de árboles quemados, durante el rebrote post-fuego (período de muestreo: 1=marzo, 2=abril, 3=mayo, 4=junio) y de las hojas provenientes de tallos de árboles no quemados, durante su período normal de crecimiento (período de muestreo: 1=octubre, 2=noviembre, 3=diciembre, 4=enero). Las barras verticales representan el error estándar.

Grosor del parénquima en empalizada

Las hojas provenientes de los rebrotes post-fuego siempre presentaron un parénquima en empalizada bien desarrollado y de mayor grosor promedio que el de las hojas provenientes de árboles no quemados, durante su período normal de crecimiento. El parénquima en empalizada de estas últimas, presentó un aumento en su grosor promedio, más manifiesto durante su desarrollo que el de las hojas provenientes de rebrote post-fuego (Figura 10).

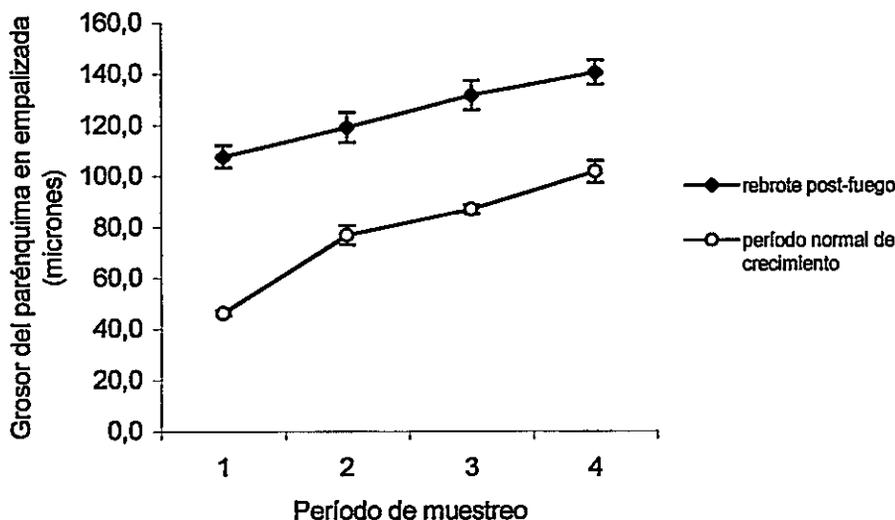


Figura 10 Grosor promedio ($n=10$) del parénquima en empalizada de las hojas provenientes de árboles quemados, durante el rebrote post-fuego (período de muestreo: 1=marzo, 2=abril, 3=mayo, 4=junio) y de las hojas provenientes de tallos de árboles no quemados, durante su período normal de crecimiento (período de muestreo: 1=octubre, 2=noviembre, 3=diciembre, 4=enero). Las barras verticales representan el error estándar.

3.3. Número de estomas por mm^2 de la epidermis inferior

El número promedio de estomas por mm^2 de la epidermis inferior en las hojas de los rebrotes post-fuego fue mucho más homogéneo y mayor, durante su desarrollo que el de las hojas de los tallos de los árboles no quemados. En las hojas de estos últimos árboles, el número promedio de estomas aumentó drásticamente durante el período en el cual las hojas estaban incrementando su área foliar y luego, cuando las hojas fueron adultas, el número promedio de estomas fue similar al mes anterior (Figura 11).

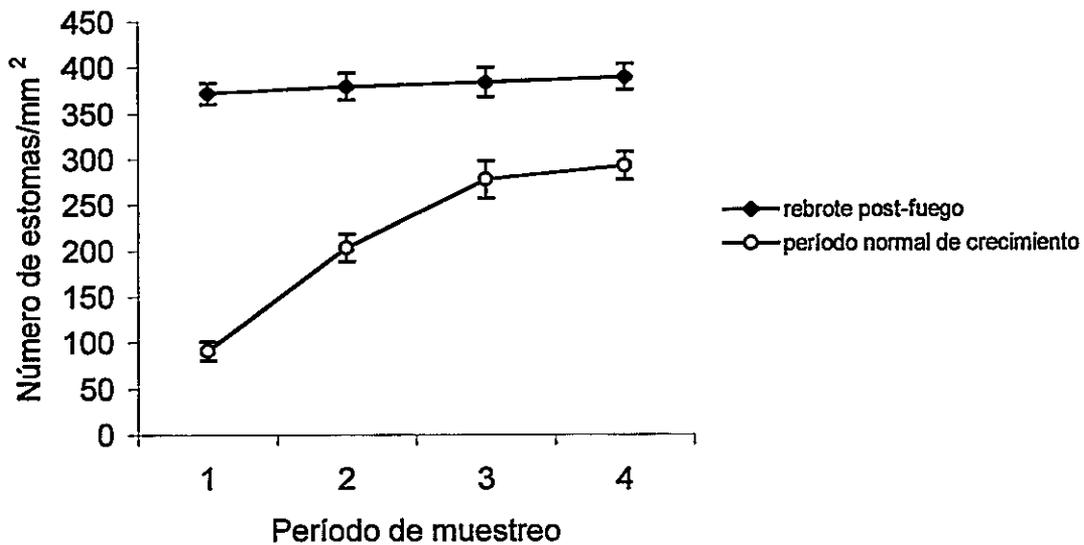


Figura 11 Número promedio ($n=10$) de estomas por mm^2 , de la epidermis inferior de las hojas provenientes de árboles quemados, durante el rebrote post-fuego (período de muestreo: 1=marzo, 2=abril, 3=mayo, 4=junio) y de las hojas provenientes de tallos de árboles no quemados, durante su período normal de crecimiento (período de muestreo: 1=octubre, 2=noviembre, 3=diciembre, 4=enero). Las barras verticales representan el error estándar.

3.5. Comparación de los caracteres morfológicos entre las hojas adultas de los rebrotes post-fuego (junio de 1999) y las hojas adultas de los nuevos tallos formados durante el período normal de crecimiento (enero de 2000)

Las hojas muestreadas para los caracteres morfológicos (a 50 cm de la base del tallo principal en rebrotes post-fuego y a 5 cm de la base del tallo en árboles no quemados, durante su período normal de crecimiento) fueron adultas (habían cesado su expansión foliar y tenían consistencia esclerófila) en junio, en los rebrotes del área quemada y en enero, en los tallos de los árboles no quemados, durante su período normal de crecimiento. Al comparar estas hojas, entre ambas áreas, se encontró diferencias significativas (Tabla 3) en todos los caracteres morfológicos. Las hojas provenientes de

los rebrotes post-fuego, fueron más gruesas, desarrollaron un parénquima en empalizada de mayor grosor y presentaron mayor número de estomas por mm^2 con respecto a las hojas provenientes de los tallos desarrollados durante el período normal de crecimiento (Tabla 3). Estas últimas, presentaron cutículas superiores más gruesas que las hojas provenientes de los rebrotes post-fuego (Tabla 3).

Tabla 3 Caracteres morfológicos promedio ($n=10$) de hojas adultas provenientes de rebrotes post-fuego y de tallos de árboles no quemados formados durante el período normal de crecimiento. Test de Student (valores t y p) para cada carácter.

Carácter morfológico	Árboles quemados, rebrotes post-fuego	Árboles no quemados, período normal de crecimiento	t	g. l.	p
Grosor cutícula superior (micrones)	$3,8 \pm 0,55$	$5,8 \pm 1,24$	-6,75	38	< 0,01
Grosor hoja (micrones)	$327,8 \pm 15,32$	$267,1 \pm 9,02$	15,29	38	< 0,01
Grosor p. empalizada (micrones)	$139,8 \pm 7,67$	$101,16 \pm 7,05$	16,58	38	< 0,01
Estomas (n°/mm^2)	388 ± 23	292 ± 24	16,58	38	< 0,01

DISCUSION

La disminución significativa del contenido de almidón del lignotuber de los árboles quemados durante este primer mes de rebrote post-fuego coincidió con el primer mes de vigorosa regeneración vegetativa post-fuego. Los árboles luego del incendio, perdieron toda su biomasa aérea y su única fuente de carbono para la generación de nuevas estructuras vegetativas debería ser los carbohidratos de reserva almacenados durante su desarrollo. El lignotuber ha sido descrito como un órgano de reserva (Montenegro y col., 1983; Cruz y Moreno, 2001) y la disminución drástica en el contenido de carbohidratos contenidos en él, podría ser atribuida a la utilización de los mismos en la respuesta de rebrote.

Esta respuesta contrasta con la de los árboles no quemados durante su proceso normal de formación de nuevas ramas, en primavera. En este caso, el contenido de almidón del lignotuber no disminuyó durante el primer mes de incremento de área foliar, cuando la planta está fotosintetizando activamente.

La disminución del contenido de almidón durante el primer mes de rebrote post-fuego fue acompañada de una disminución similar en el contenido de azúcares solubles, lo que estaría señalando que las reservas de almidón, convertidas en monosacáridos fueron rápidamente movilizadas desde el lignotuber hacia las zonas de activo crecimiento

El contenido de almidón del lignotuber de los árboles quemados no se recuperó luego de transcurridos 6 meses después del incendio, sin embargo, el contenido de azúcares solubles tendió a recuperarse durante este período. Esta recuperación coincidió

con el aumento paulatino de la superficie fotosintetizadora y podría ser el resultado de una ganancia neta de carbono o corresponder a azúcares solubles provenientes de otros órganos almacenadores no dañados por el fuego, como es el caso de la raíz. El aumento en esta fracción de los carbohidratos del lignotuber de los árboles quemados coincide con el periodo en que *C. alba* presenta potenciales hídricos altamente negativos (Montenegro y col., 1980) lo que sugiere su posible rol en la respuesta de ajuste osmótico.

En el lignotuber de los árboles no quemados, la disminución significativa del contenido promedio de almidón, durante el mes de diciembre, no estaría relacionada con su utilización como fuente de carbono para la formación de nuevos tallos y hojas, ya que ésta ocurrió cuando había cesado la expansión foliar y el crecimiento de los tallos. En este mes comenzó el crecimiento de las yemas florales y es probable que las reservas de almidón del lignotuber hayan sido ocupadas en el desarrollo de órganos reproductivos. El contenido promedio de azúcares solubles en el lignotuber de estos árboles no varió significativamente con respecto a los meses anteriores, lo que estaría revelando su rápida movilización hacia estos órganos en desarrollo.

El contenido promedio de almidón del lignotuber de los árboles quemados, en el mes de diciembre de 1998, cuando ocurrió el incendio, debió haber sido similar al del mes de febrero, cuando comenzó el rebrote post-fuego, o algo superior. Comparando este contenido con el que presentaban los árboles no quemados, en el mes de diciembre de 1999 se podría deducir que el contenido de almidón puede variar entre años y/o entre árboles de similares características. La disminución del contenido de almidón del

lignotuber de los árboles no quemados ocurre justamente en el verano, cuando el riesgo de incendio aumenta, lo que podría afectar la respuesta de rebrote de los árboles.

Cruz y Moreno (2001), también encontraron fluctuaciones estacionales en la concentración almidón y azúcares solubles en el lignotuber de *Erica australis*, una especie nativa del área mediterránea española, disminuyendo durante el verano cuando las yemas florales estaban en crecimiento, señalando que las reservas de carbohidratos del lignotuber pueden ser usadas con diferentes propósitos por parte de la planta.

Si bien los resultados de este trabajo muestran que los carbohidratos del lignotuber son utilizados durante la primera etapa de la respuesta de rebrote post-fuego, también muestran que estas reservas, al igual que en *E. australis*, pueden ser usadas con otros fines (posiblemente balance hídrico, crecimiento reproductivo) por los árboles no quemados durante su etapa de crecimiento normal, lo que pone en duda su rol exclusivo como órgano de regeneración post-fuego.

Las hojas de los árboles quemados, formadas durante el rebrote post-fuego presentaron un área foliar promedio mayor que el de aquellas formadas durante el período normal de crecimiento. Ambos tipos de hojas aumentaron el grosor de sus cutículas a medida que expandieron su área foliar, siendo el grosor de la cutícula de las hojas de los rebrotes post-fuego, superior al de las formadas en el periodo normal de crecimiento. Cuando las hojas de ambos tipos de árboles alcanzaron su consistencia esclerófila (habían cesado de elongarse), siguieron engrosando sus cutículas. En estas hojas adultas, el grosor promedio de la cutícula de las hojas provenientes de los árboles no quemados, fue significativamente mayor que el de las hojas provenientes de los rebrotes post-fuego.

El grosor de la hoja y del parénquima en empalizada y la frecuencia estomática de las hojas provenientes de rebrotes post-fuego fue siempre mayor en comparación a los mismos caracteres morfológicos presentados por las hojas desarrolladas por los árboles no quemados, durante el período normal de crecimiento.

Las predicciones de la Hipótesis II se cumplieron para estos últimos tres caracteres morfológicos, pero no totalmente para el carácter grosor de la cutícula

Las condiciones mediambientales bajo las cuales los tallos y hojas nuevas se desarrollaron y maduraron, en ambos períodos, fueron distintas. Las hojas de los rebrotes post-fuego comenzaron su desarrollo en el mes de febrero, cuando la radiación global mensual promedio y la temperatura presentaron los valores más altos y cuando se acumulaban seis meses sin precipitaciones. Por el contrario, las hojas de los tallos producidos en los árboles no quemados, durante el período normal de crecimiento, comenzaron su desarrollo en el mes de septiembre cuando la radiación global mensual promedio y la temperatura alcanzaron los valores más bajos y luego de un período de siete meses con precipitaciones.

La mayor área foliar promedio producida por los rebrotes post-fuego permite una rápida recuperación de la estructura fotosintética de la planta, la cual fue eliminada por completo luego de producido el incendio. Estos importantes cambios en el tamaño de las hojas generadas después del fuego, al ser comparadas con las hojas normales en arbustos adultos no afectados por el fuego coinciden con resultados similares obtenidos en arbustos del matorral de Chile Central (Araya y Ávila, 1981; Ávila y col., 1988; Villaseñor y Sáiz, 1993; Montenegro y col., 2002).

El mayor grosor de la cutícula superior que presentaron las hojas provenientes de los rebrotes post-fuego, durante su período de expansión foliar les permitiría una mayor protección contra los factores ambientales adversos para su crecimiento (alta radiación solar y déficit hídrico). Durante este período, los tallos y hojas de los rebrotes post-fuego crecieron sin la protección natural que provee el follaje del mismo árbol y de los árboles contiguos (*C. alba* es considerado un árbol tolerante a la sombra, Chacón y col., 1998), mientras que los tallos y hojas de los árboles del área no quemada, producidos durante el período normal de crecimiento estuvieron protegidos por el follaje de la copa de los árboles. El mayor grosor de la cutícula superior de estas últimas hojas, una vez adultas, fue contrario a lo esperado y puede ser el resultado de una adecuación necesaria para sobrellevar el período de sequía de los cuatro meses siguientes, correspondientes al verano. Las hojas provenientes de los rebrotes post-fuego una vez adultas no se ven enfrentadas a este estrés, ya que se han formado en la estación previa al invierno.

El grosor de la cutícula y las características químicas de las ceras que la conforman han sido invocados por varios trabajos como un carácter importante en la atenuación de la radiación mediante su reflexión (Jansen y col., 1998; Chalker-Scott, 1999; Silva y col., 2001) y en la evitación de la pérdida excesiva de agua (Montenegro y col., 1981; Poblete y col., 1991; Chalker-Scott, 1999).

La cutícula puede atenuar la penetración de la radiación UV-B mediante la reflexión o a través de la absorción por flavonoides solubles localizados en la capa cerosa o por el ácido ferúlico co-polimerizado con cutina (Jansen y col., 1998).

Después de los estomas, el sitio secundario de pérdida de agua por transpiración es la cutícula. La permeabilidad hidráulica de la cutícula está dada por las ceras

embebidas en su matriz y por las ceras depositadas sobre la cutícula, el aumento de estas ceras disminuye la transpiración cuticular (Silva y col., 2001).

El mayor grosor promedio de las hojas de los rebrotes post-fuego es el resultado, principalmente, del mayor grosor de su tejido fotosintético (parénquima en empalizada), incrementando el área interna por unidad de área externa (Montenegro y col., 1981; Jansen y col., 1998), conduciendo a una disminución de la resistencia del mesófilo a la captación de CO₂ y permitiendo un aumento de la fotosíntesis por unidad de área fotosintética (Chalker-Scott, 1999; Silva y col. 2001). La mayor frecuencia estomática exhibida por estas hojas, con respecto a las nuevas hojas formadas por los árboles no quemados, durante su período normal de crecimiento, también estaría relacionada con el aumento en la actividad fotosintética. A altas temperaturas la mayoría de las plantas disminuyen sus tasas fotosintéticas, esta disminución estaría influenciada en parte, porque la tasa de transpiración supera a la tasa de absorción con lo cual se reduce el potencial hídrico interno, disminuyendo el turgor de las células de guarda, cerrándose los estomas (Cornic, 2000; Keith y Buckley, 2000). Generalmente, las plantas que crecen a mayores intensidades lumínicas presentan un aumento en su número de estomas en sus órganos fotosintéticos, con respecto a las mismas, creciendo en lugares más sombríos (Fahn, 1985). Este mayor número de estomas mejoraría la actividad fotosintética con suministro hídrico favorable (Montenegro y col., 1980). Algunas especies del matorral de Chile Central reducen considerablemente el período de transpiración en época de sequía, ocurriendo la mayor pérdida de agua diaria durante la mañana (Mooney y Kummerow, 1971) cuando las condiciones de humedad, temperatura y radiación son menos extremas, condicionando el período de fotosíntesis a este lapso

de tiempo, logrando generar un balance positivo en la economía hídrica y una elevada producción de biomasa.

Las modificaciones morfológicas constatadas en las hojas formadas durante el rebrote post-fuego permitiría a los árboles de *C. alba* aumentar rápidamente su biomasa aérea, a una alta tasa de crecimiento vegetativo que logre asegurar su sobrevivencia, en un período con condiciones climáticas adversas, maximizando la fotosíntesis y adecuando su morfología y fisiología a las limitaciones impuestas por el medio ambiente físico, de manera tal que permitan establecer un equilibrio satisfactorio entre la pérdida de agua y la ganancia de CO₂, para lograr un activo crecimiento.

CONCLUSIONES

Las reservas de carbohidratos (azúcares solubles y almidón) del lignotuber de árboles quemados disminuyen durante el primer período de rebrote post-fuego, las que serían utilizadas en la respuesta de rebrote (formación de tallos y hojas), cuando los árboles quemados no disponen de órganos fotosintetizadores y deben recurrir a las reservas de carbono acumuladas antes del incendio para iniciar la formación de biomasa aérea que le permita su regeneración post-fuego

Las reservas de carbohidratos del lignotuber son también utilizadas en otros procesos del desarrollo de la planta, como queda de manifiesto en el uso que hacen de ellos los árboles no quemados, durante su período normal de crecimiento, en el mes de diciembre, posiblemente utilizados en la generación de estructuras reproductivas

El contenido de carbohidratos del lignotuber varía estacionalmente y entre individuos de la misma especie, disminuyendo en el verano, el cual corresponde a la estación del año con más riesgo de incendios, lo que podría poner en peligro la capacidad de rebrote de la especie después de un incendio

Las hojas adultas provenientes de los rebrotes post-fuego son morfológicamente distintas de aquellas provenientes de los tallos de los árboles no quemados, formadas durante el período normal de crecimiento. Las hojas provenientes de los rebrotes post-fuego son más gruesas, desarrollan un parénquima en empalizada de mayor grosor y su

epidermis inferior presenta un mayor número de estomas por unidad de superficie. Las modificaciones de estos caracteres morfológicos con respecto a las hojas formadas durante el período normal de crecimiento, por árboles no quemados serían respuestas a condiciones medioambientales y biológicas distintas.

El único carácter morfológico más desarrollado en las hojas adultas provenientes de árboles no quemados, durante el período normal de crecimiento es el grosor de la cutícula superior. Sin embargo, este carácter presenta mayor espesor en las hojas provenientes de rebrotes post-fuego, durante su período de crecimiento, cuando estas hojas necesitan una mayor protección. El mayor grosor de la cutícula superior de las hojas adultas formadas durante el período normal de crecimiento, podría ser una respuesta a las condiciones de sequía y estrés hídrico del verano. Las hojas provenientes de los rebrotes post-fuego maduran a comienzos del invierno, sin condiciones de sequía ni estrés hídrico.

BIBLIOGRAFÍA

- Aljaro, M. y Montenegro, G. 1981. Growth of dominant Chilean shrubs in the Andean Cordillera. *Mountain Research and Development* 1:287-291
- Araya, S. y Ávila, G. 1981. Rebrote de arbustos afectados por fuego en el matorral chileno. *Anales Museo Historia Natural Valparaíso* 14:107-113
- Armesto, J., Vidiella, P. and Jiménez, H. 1995. Evaluating causes and mechanisms of sucesion in the mediterranean regions in Chile and California. En: *Ecology and biogeography of mediterranean ecosystems in Chile, California and Australia*, Arroyo, M., Zedler, P and Fox, M. (editores). Springer-Verlag. Páginas 418-434.
- Arroyo, M., Cavieres, L., Marticorena, C. and Muñoz, M. 1995. Convergence in de mediterranean floras in central Chile and California: insights from comparative biogeography. En: *Ecology and biogeography of mediterranean ecosystems in Chile, California and Australia*, Arroyo, M., Zedler, P and Fox, M. (editores). Springer-Verlag. Páginas 43-88.
- Arroyo, M. and Cavieres, L. 1997. The mediterranean type-climate flora of central Chile - What do we know and how can we assure its protection?. *Noticiero de Biología de la Sociedad de Biología de Chile*. 5(2):48-56.
- Aschmann, H. Y Bahre, C. 1977. Man's impact on the wild landscape. En: *Convergent evolutio of Chile and California Mediterranean climate ecosystems*. Mooney, H. (ed.). pp 73-84. Dowden, Hutchinson and Ross, Pennsylvania
- Aschmann, H. 1991. Human impact on the biota of Mediterranean-climate regions of Chile and California. En: *Biogeography of Mediterranean invasions*. Groves, R. y di Castri, F. (ed.). pp 33-42. Cambridge University Press. New York
- Ashwell, G. 1957. Colorimetric analysis of sugars. En: *Colowick, S. y Kaplan, N. (eds.) Methods of Enzymology*, vol. 3, pp. 74-105
- Ávila, G., Aljaro, M.E. y Silva, B. 1981. Observaciones en el estrato herbáceo del matorral después del fuego. *Anales Museo Histora Natural Valparaíso*. 14: 99-105
- Ávila, G., Montenegro, G. y Aljaro, M.E. 1988. Incendios en la vegetación mediterránea. En: *Ecología del paisaje de Chile Central*. Fuentes, E. y Prenafreta, S. (editores). Ediciones de la Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. Páginas 81-89.
- Chacón, P., Bustamante, R. Y Henríquez, C. 1998. Seed size, germination and seedling growth of *Cryptocarya alba* in Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 71(2):189-198

- Chalker-Scott, L. 1999. Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. *Photochemistry and Photobiology* 70(1):19-26
- Cody, M. y Mooney, H. 1978. Convergence versus nonconvergence in Mediterranean-type ecosystems. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 9:265-321
- Cornic, G. 2000. Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture – not by affecting ATP synthesis. *Trends in Plant Science* 5(8): 187-188
- Cruz, A. y Moreno, J. 1997a. Fire intensity effects on plants of *Erica australis* with modified lignotuber TNC content. Conference on Mediterranean Type Ecosystems. Proceedings, 20.
- Cruz, A. y Moreno, J. 1997b. Seasonal course of TNC in *Erica australis*, a lignotuberous plant from western Spain. Conference on Mediterranean Type Ecosystems. Proceedings, 21.
- Cruz, A. y Moreno, J. 1997c. Resprouting of *Erica australis* along a resource availability gradient: relationship to plant TNC reserves. Conference on Mediterranean Type Ecosystems. Proceedings, 21.
- Cruz, A. y Moreno, J. 2001. Seasonal course of total non-structural carbohydrates in the lignotuberous Mediterranean-type shrub *Erica australis*. *Oecologia* 128:343-350
- Di Castri, F. 1968. Esquisse ecologique du Chili. En: *Biologie de l'Amérique Australe*, C. Oclamore et E. Rapaport (editores), Centre National de la Recherche Scientifique 4:7-52
- Di Castri, F. y Hajek, E. 1976. *Bioclimatología de Chile*. Ediciones de la Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. 107 pp.
- Evans, L., Mackenna, C., Ginocchio, R., Montenegro, G. and Kiesling, R. 1994. Surficial injuries of several cacti of South America. *Environ. Exp. Bot.* 34:285-292.
- Fahn, A. 1985. Plant anatomy. pp 229-231 Ediciones Pirámide S. A. Madrid
- Fuentes, E., Avilés, R. Y Segura, A. 1990. The natural vegetation of a heavily-man transformed landscape: the savanna of central Chile. *Interciencia* 15:293-295
- Fuentes, E. and Muñoz, M. 1995. The human role in changing landscapes in central Chile: implications for intercontinental comparisons. En: *Ecology and biogeography of mediterranean ecosystems in Chile, California and Australia*, Arroyo, M., Zedler, P and Fox, M. (editores). Springer-Verlag. Páginas 401-417.

Ginocchio, R., Holmgren, M. and Montenegro, G. 1994. Effect of fire on plant architecture in Chilean shrubs. *Revista Chilena de Historia Natural*. 67:177-182.

Hanes, T. 1971. Sucession after fire in the chaparral of southern California. *Ecological Monographs* 41:27-52

Hideg, E. y Vass, I. 1996. UV-B induced free radical production in plant leaves and isolated thylakoid membranes. *Plant Science* 115:251-260

Hobbs, R., Richardson, D., and Davis, G. 1995. Mediterranean-Type Ecosystems: Opportunities and Constraints for Studying the Function of Biodiversity. En: *Mediterranean-Type Ecosystems, The Function of Biodiversity*, Davis, G. and Richardson, D. (eds.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany. Páginas 1-32.

Jansen, M., Gaba, V. Y Greenberg, B. 1998. Higher plants and UV-B radiation: balancing damage, repair and acclimation. *Trends in Plant Science* 3:131-135

Jensen, A. 1962. *Botanical Histochemistry*, pp. 74-105. Academic, New York

Jones, R. Y Varner, J. 1967. The bioassay of gibberellins. *Planta* 72:155-161

Keeley, S.C. and Johnson, A.W. 1977. A comparison of the pattern of herb and shrub growth in comparable sites in Chile and California. *An. Mid. Nat.* 97:120-132

Keeley, J. 1986. Resilience of mediterranean shrub communities to fire. *Resilience in Mediterranean-type ecosystems*. Dell, B., Hopkins, A. and Lamont, B. (eds.). Dr. W. Junk, Dordrecht, The Netherlands. Pp 95-112.

Keeley, J. 1995. Seed-germination patterns in fire-prone mediterranean-climate regions. En: *Ecology and biogeography of mediterranean ecosystems in Chile, California and Australia*, Arroyo, M., Zedler, P and Fox, M. (editores). Springer-Verlag. Páginas 239-273.

Keith, A. y Buckley, T. 2000. Patchy stomatal conductance: emergent collective behaviour of stomata. *Trends in Plant Science* 5(8): 258-262

Lavola, A. 1998. Accumulation of flavonoids and related compounds in birch induced by UV-B irradiance. *Tree Physiology* 18:53-58

Liu, L., Gitz, D. Y McClure, J. 1995. Effects of UV-B on flavonoids, ferulic acid, growth and photosynthesis in barley primary leaves. *Physiol. Plant.* 93:725-733

Lloret, F., Verdú, M., Flores, N. y Valiente, A. 1999. FIRE and resprouting in Mediterranean ecosystems: insights from an external biogeographical region, the Mexical shrubland. *American Journal of Botany* 86(12):1655-1661

Miller, P. 1981. Resource use by chaparral and matorral. A comparison of vegetation function in two mediterranean-type ecosystems. Springer, Berlin-Heidelberg-New York. 455 pp.

Middleton, E. y Teramura, A. 1993. The role of flavonol glycosides and carotenoids in protecting soybean from ultraviolet-B damage. *Plant Physiology* 103:741-752

Montecino, V., Molina, X., Martínez, G., Olmedo, I., Retamal, L., Hannach, G. y Orellana, V. 2001. Ecophysiological strategies in response to UV-B radiation stress in cultures of temperate microalgae isolated from the Pacific coast of South America. *Revista Chilena de Historia Natural* 74(2):293-312

Montenegro, G., Aljaro, M.E. and Kummerow, J. 1979. Growth vegetation in the Chilean matorral shrubs. *Bot. Gaz.* 140:114-119.

Montenegro, G., Riveros, F. y Alcalde, C. 1980. Morphological structure and water balance of four Chilean shrub species. *Flora* 170:554-564.

Montenegro, G., Segura, B., Saenger, R. Y Mujica, A. 1981. Xeromorfismo en especies arbustivas del Matorral chileno. *Anales del Museo de Historia Natural de Valparaíso* 14:71-81

Montenegro, G., Ávila, G. and Schatte, P. 1983. Presence and development of lignotubers in shrubs of the Chilean matorral. *Canadian Journal of Botany.* 61:1804-1808

Montenegro, G. 1986. Potencial de uso, capacidad y velocidad de regeneración de especies vegetales de ecosistemas áridos-andinos de Chile. *Ambiente y Desarrollo* 2:147-153.

Montenegro, G. 1987. Quantification of Mediterranean plant phenology and growth. In Tenhunen, J.D., Catario, O., Lange, L. and Oechel, W.C. (eds.). *Plant Response to Stress: Functional Analysis in Mediterranean Ecosystems.* Vol 15G NATO ASI Series. Springer, Berlin. Páginas 469-488.

Montenegro, G. Aljaro, M.E., Ávila, G. y Mujica, A.M. 1988. Las formas de las plantas y su potencial como recursos. En: *Ecología del paisaje de Chile central.* Fuentes, E. y Prenafreta, S. (editores). Ediciones de la Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. Páginas 65-80.

Montenegro, G., Ávila, G., Aljaro, M.E., Osorio, R. and Gómez, M. 1989. Chile. In: *Plant phenomorfological studies in mediterranean-type ecosystems,* Kluwer Academic Publishers, The Netherlands. Páginas 347-387

- Montenegro, G. y Ginocchio, R. 1995. Ecomorphological characters as a resource for illustrating growth-form convergence in matorral, chaparral and malle. En: Ecology and biogeography of Mediterranean ecosystems in Chile, California and Australia. Arroyo, M. K., Zedler, P. y Fox, M. (ed.). pp 160-176. Springer-Verlag, New York
- Montenegro, G., Ginocchio, R. and Segura, A. 1996. Effect of global change on natural ecosystems: matorral of central Chile as a case study of global change through effect of fire and UV-B radiation. IAI Fire Workshop. Oregon, September 9-13, 1996.
- Montenegro, G., Gómez, M., Díaz, F. Y Ginocchio, R. 2002. Regeneration potential of Chilean matorral after FIRE: an updated view. En: Fire and Climatic Change in Temperate Ecosystems of the Western Americas Veblen, T., Baker, W., Montenegro, G. y Swetnam, T (eds.). pp. 375-393. Ecological Studies 160. Springer, New York
- Muñoz, M. and Fuentes, E. 1989. Does fire induce shrub germination in the Chilean matorral? OIKOS 56:117-181.
- Mooney, H. y Kummerow, J. 1971. The comparative water economy of representative evergreen sclerophyll and drought deciduous shrubs of Chile. Botanical Gazette 132 (3):245-252
- Olsson, L., Veit, M., Weissenböck, G. y Bornman, F. 1998. Phytochemistry 49(4):1021-1028
- Olsson, L., Frayse, L. y Bornman, J. 2000. Influence of high and UV-B radiation on photosynthesis and D1 turnover in atrazine-tolerant and -sensitive cultivars of *Brassica napus*. Journal of Experimental Botany 51(343):265-274
- Poblete, V., Campos, V., Gonzalez, L. and Montenegro, G. 1991. Anatomical leaf adaptations in vascular plants of a salt marsh in the Atacama Desert (Chile). Revista Chilena de Historia Natural, 64:65-75.
- Rodriguez, R., Matthei, O. y Quezada, M. 1983. Flora Arborea de Chile. Editorial de la Universidad de Concepcion, primera edicion, Concepcion. 408 paginas.
- Rundel, P., Baker, G., Parsons, D. y Stohlgren, T. 1987. Postfire demography of resprouting and seedling establishment by *Adenostoma fasciculatum* in the California chaparral. En: Plant response to stress. Functional analysis in Mediterranean ecosystems. Tenhunen, J., Catarino, F., Lange, O. Y Oechel, W (ed.). pp 575-596. Springer-Verlag, Berlin
- Silva, H., Acevedo, E. y Silva, P. 2001. Anatomía del tejido fotosintético de diez taxa de *Opuntia* establecidos en el secano árido mediterráneo de Chile. Revista Chilena de Historia Natural 74(2):341-352

Timmermann, B., Valcic, S., Liu, Y. y Montenegro, G. 1995. Flavonols from *Cryptocarya alba*. *Z. Naturforsch.* 50c:898-899

Villaseñor, R. y Sáiz, F. 1993. Incendios forestales en el Parque Nacional La Campana, sector Ocoa, V región de Chile. Efectos sobre el estrato arbustivo-arbóreo. *Anales Museo Historia Natural Valparaíso.* 21:15-26.

Walters, R., Rogers, J. y Horton, P. 1999. Acclimation of *Arabidopsis thaliana* to the light environment: the role of photoreceptors *Planta* 209:517-527

Wells, P. 1969. The relation between mode of reproduction and extent of speciation in woody genera of the California chaparral. *Evolution* 23:264-267

ANEXO

Contenido de flavonoides y ácidos fenólicos en las hojas de *Cryptocarya alba*

Las plantas han desarrollado numerosos mecanismos de protección tendientes a evitar o disminuir los efectos de la absorción excesiva de luz, ya sea disminuyendo la intercepción de ella por medio del movimiento de hojas y cloroplastos, disipando como calor la energía absorbida en exceso y/o aumentando la producción de compuestos que absorben la luz ultravioleta como son los flavonoides, protegiendo así, los tejidos fotosintéticos (Middleton y Teramura, 1993; Jansen y col., 1998; Walters y col., 1999; Olsson y col., 1998, 2000; Montecino y col., 2001).

Los flavonoides tendrían, además, la habilidad para sustraer radicales libres ya que se ha demostrado un aumento selectivo después de irradiación con UV-B, de aquellos flavonoides que poseen grupo hidroxilo adicional en el anillo beta del esqueleto del flavonoide (Hideg y Vass, 1996; Jansen y col., 1998).

También se les ha atribuido un rol en la resistencia al estrés osmótico (flavonoides glicosídicos, solubles en agua) sobre todo en hojas en crecimiento que no pueden inducir resistencia a nivel de pared celular, recurriendo a sustancias vacuolares para atenuar la radiación y modificar las relaciones hídricas (Chalker-Scot, 1999). Y se ha sugerido, que algunos compuestos fenólicos y terpenoides constituyen metabolitos defensivos contra herbívoros y patógenos (Lavola, 1998).

Existen evidencias preliminares que indican que el aumento de radiación ultravioleta puede afectar la vegetación del matorral de Chile Central, induciendo

algunos mecanismos que permiten evitar el daño que pueda producir esta radiación, tal es el caso de la formación anormal de peridermis en varias especies de cactus (Evans y col., 1994), o el color rojo intenso que adquieren los rebrotes de algunas especies de habitats méxicos (*Cryptocarya alba*, *Luma apiculata*, *Azara petiolaris*), formados en pleno verano luego de producido un incendio, durante un período de alta radiación solar.

Como una manera de complementar los resultados obtenidos en las experiencias anteriores y dados los antecedentes de terreno y de la bibliografía consultada, se consideró interesante cuantificar el contenido de flavonoides presentes en las hojas de *Cryptocarya alba* formadas durante el rebrote post-fuego y en condiciones normales de crecimiento.

En marzo y octubre de 1999 se eligió 6 árboles en el área incendiada y 6 árboles en el área no incendiada, respectivamente. Los árboles elegidos no fueron los mismos a los utilizados en las experiencias 1., 2. y 3. de esta tesis, pero presentaron similares características. La razón por la cual se eligió árboles distintos radica en que se debía extraer cierta cantidad de biomasa aérea, periódicamente, lo que podría haber influido en el resultado de algunos de los estudios realizados. El menor número de muestras se debió principalmente a la escasez de más individuos de las mismas características. Finalmente, el material colectado se debió reunir en dos grupos para lograr una biomasa seca adecuada para la extracción de los compuestos.

En cada muestreo se extrajo hojas de varios rebrotes desde el lignotuber, a 50 cm de la base de los tallos en el área incendiada y desde los tallos nuevos en el área no incendiada a 5 cm de la base de los nuevos vástagos.

Las muestras se secaron a la sombra a temperatura ambiente y se pulverizaron en un molino (Lab. Construction Co.) a un tamaño de partículas de 5 mm. Se pesó 20 g de cada muestra y se maceró, separadamente, durante 24 horas con 250 ml de metanol de 95%. Se filtró por papel Whatmann N° 1 en un embudo de Büchner al vacío y los residuos insolubles se retroextrajeron de la misma manera, empleando 100 ml de metanol 95%. Los extractos se secaron en una campana de tiro forzado hasta una consistencia pastosa.

La composición de ácidos fenólicos y flavonoides se determinó mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC) utilizando una columna C 18 5 μ (150,0 x 4,6 mm), a una presión máxima de 200 atm, a una tasa de flujo de 1 ml/min y a una absorbancia de 254 nm durante un tiempo de 40 minutos.

La mezcla de solvente utilizada fue de ácido fórmico 0,15% (A) y metanol (B), según la siguiente composición: 60% A, 40% B 20 min; 40% A, 60% B 30 min; 0% A, 100% B 40 min.

Se pesó 10 mg de cada extracto y se disolvió en 0,5 ml de una solución de ácido fórmico 0,15% y metanol (60:40) y se inyectó 30 μ l de cada muestra, usando biocanina (5 μ l) como estándar interno.

Los tiempos de retención se obtuvieron por cromatografía de los marcadores obtenidos con anterioridad (Timmermann y col. 1995).

Los cromatogramas (HPLC a 254 nm) de los extractos metanólicos de hojas provenientes de rebrotes post-fuego y de tallos formados en la estación normal de

crecimiento en árboles no quemados mostraron entre 24 y 34 peaks y entre 18 y 29 peaks, respectivamente, de naturaleza flavonoidea.

Sólo 5 compuestos presentaron concentraciones superiores al 2% en las muestras. El resto de los compuestos presentó concentraciones inferiores al 1%.

Los 5 compuestos con mayor concentración fueron: quercetina-3-O-glucósido (isoquercitrina), isoramnetina-3-O-galactósido, ácido clorogénico y 2 compuestos no identificados: X₁ con un tiempo de retención de 1,7 min (posible ácido fenólico) y X₂ con un tiempo de retención de 28,5 min (posible flavonoide). La concentración total de todos estos compuestos, en las muestras, fue superior al 80% y aparecieron siempre en todos los muestreos, tanto en los extractos metanólicos de hojas provenientes de rebrotes post-fuego, como en los extractos de hojas de tallos formados en la estación normal de crecimiento.

El contenido total promedio de los principales ácidos fenólicos y flavonoides de ambos grupos de árboles tuvo una tendencia a variar en el tiempo. Además el contenido promedio de estos compuestos fue mayor en las hojas provenientes de rebrotes post-fuego, aunque cuando las hojas fueron adultas (junio y enero), el contenido tendió a igualarse (Figura 1).

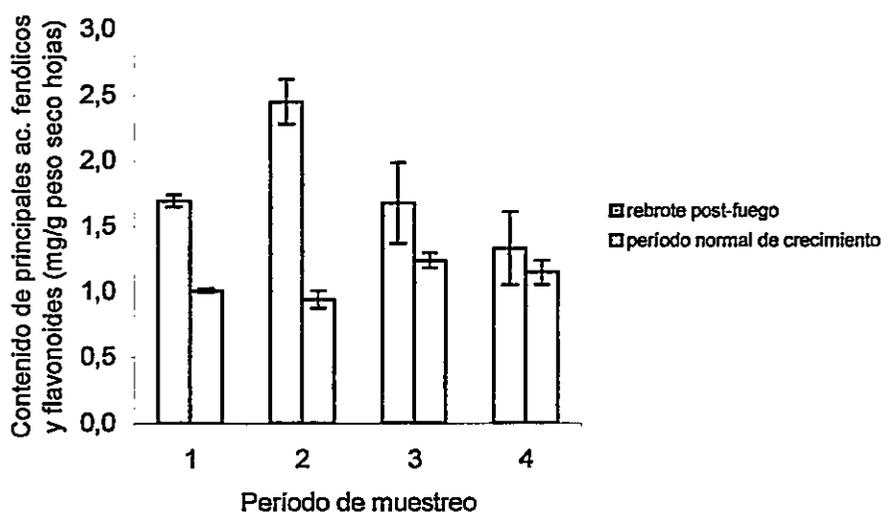


Figura 1 Contenido promedio ($n=2$) de ácidos fenólicos y flavonoides de las hojas provenientes de árboles quemados, durante el rebrote post-fuego (período de muestreo: 1=marzo, 2=abril, 3=mayo, 4=junio) y de las hojas provenientes de tallos de árboles no quemados, durante su período normal de crecimiento (período de muestreo: 1=octubre, 2=noviembre, 3=diciembre, 4=enero). Las barras verticales representan el error estándar.

En las hojas provenientes de rebrotes post-fuego, la concentración de ácido clorogénico y del compuesto X_1 , disminuyó en el tiempo (a medida que las hojas se hicieron adultas), el compuesto X_2 y la isoramnetina aumentaron levemente su concentración y la isoquercitrina mantuvo su concentración constante (Figura 2).

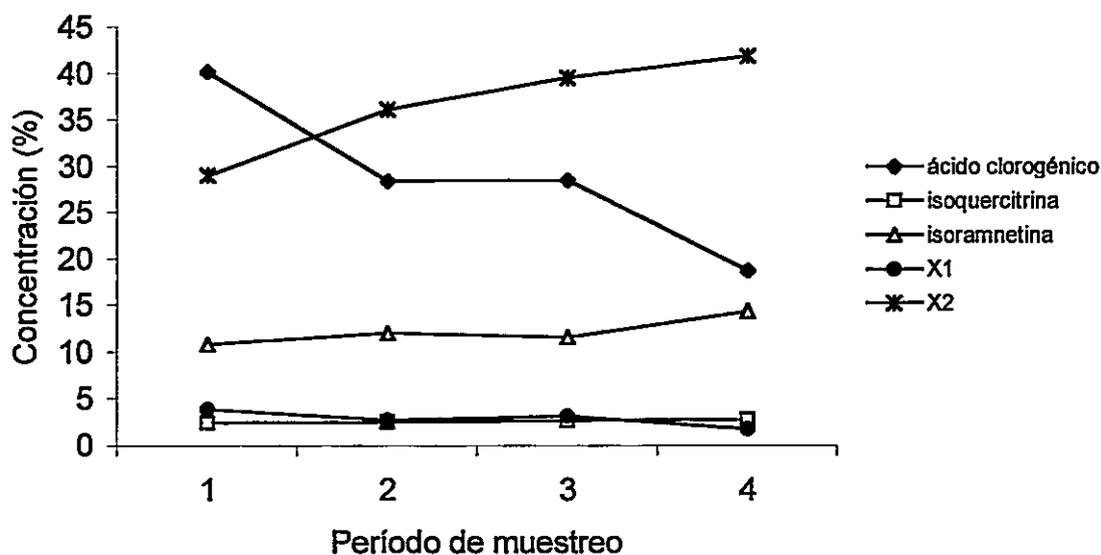


Figura 2 Concentración promedio ($n=2$) de ácidos fenólicos y flavonoides de las hojas provenientes de árboles quemados, durante el rebrote post-fuego (período de muestreo: 1=marzo, 2=abril, 3=mayo, 4=junio).

En las hojas provenientes de tallos formados en el período normal de crecimiento, el ácido clorogénico tendió a aumentar su concentración en el tiempo, la isoquercitrina y la isoramnetina la disminuyeron levemente, el compuesto X_1 mantuvo su concentración casi constante y el compuesto X_2 aumentó su concentración hacia el mes de diciembre, para luego disminuirla nuevamente, en el último mes de muestreo (Figura 3).

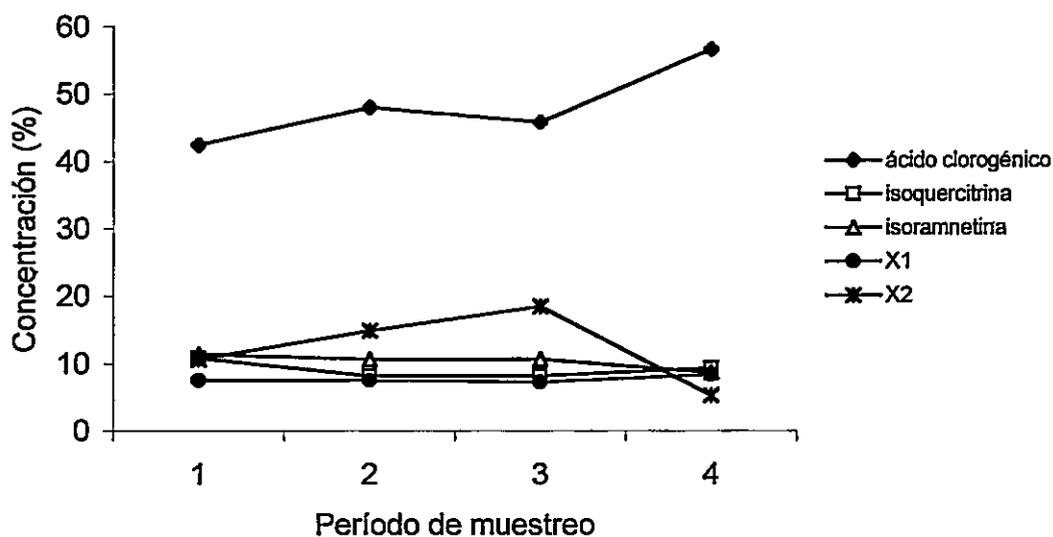


Figura 3 Concentración promedio ($n=2$) de ácidos fenólicos y flavonoides de las hojas provenientes de tallos de árboles no quemados, durante su período normal de crecimiento (período de muestreo: 1=octubre, 2=noviembre, 3=diciembre, 4=enero).

Las diferencias encontradas en el contenido promedio de los principales ácidos fenólicos y flavonoides en las hojas de los dos tipos de árboles podrían estar relacionadas con la radiación que recibieron las nuevas hojas en condiciones ambientales distintas. El contenido de estos compuestos, en las hojas provenientes de los rebrotes post-fuego tuvo una tendencia a disminuir (desde abril a junio) a medida que las hojas se hicieron adultas. Esta tendencia podría relacionarse con la disminución de la radiación global mensual promedio que ocurrió durante este mismo período (excluyendo la diferencia de esta tendencia encontrada en marzo con respecto al resto del período). El contenido de los principales ácidos fenólicos y flavonoides de las hojas provenientes de árboles durante su período normal de crecimiento, presentó una leve tendencia a aumentar desde que las hojas comenzaron a desarrollarse hasta que se hicieron adultas.

Si bien es cierto que la radiación global mensual promedio fue aumentando durante el periodo y fue mayor que la radiación durante el periodo de rebrote post-fuego, no es menos cierto que estas hojas presentaron una protección extra contra la radiación otorgada por el follaje de la copa de ellos mismos y de los árboles vecinos.

El ácido clorogénico presentó un comportamiento similar en las hojas de los árboles provenientes de ambas áreas. Su concentración fue disminuyendo (durante el rebrote post-fuego) o aumentando (durante el período normal de crecimiento) a medida que la radiación global mensual promedio fue disminuyendo o aumentando respectivamente. Ha sido encontrado un aumento en la concentración de ácido cinámico y ácido clorogénico en respuesta a radiación UV-B en las hojas de plantas de cebada (Liu y col., 1995). El comportamiento similar de este compuesto en las hojas de *C. alba* en ambos tipos de árboles podría señalar una función análoga.

El aumento progresivo de la concentración de un compuesto no identificado X_2 (posible flavonoide con un tiempo de retención de 28,5 minutos) en las hojas de los rebrotes post-fuego durante su desarrollo y maduración, podría tener una posible explicación en un rol protector contra temperaturas frías del otoño e invierno. Se ha demostrado que bajas temperaturas inducen síntesis de antocianinas en varias plantas (Chalker-Scott, 1999) protegiéndolas de estas temperaturas que pueden destruir la capacidad biosintética de las hojas, aunque el mecanismo de inducción por frío de las antocianinas y el rol que cumple la luz en este proceso no ha sido totalmente comprendido.