

UCH-FC  
DOC-EBE  
Ch431  
C.1

¿Reducen las defensas carbonadas el daño foliar?: implicancias sobre  
el desempeño de plántulas en la especie arbórea *Drimys winteri* (Winteraceae)

Tesis  
entregada a la  
Universidad de Chile  
en cumplimiento parcial de los requisitos  
para optar al grado de  
Doctor en Ciencias Biológicas con Mención en  
Ecología y Biología Evolutiva

Facultad de Ciencias



por

PAULINA CHACON FERNANDEZ

Noviembre de 2004

Director de Tesis: Dr. Juan J. Armesto

FACULTAD DE CIENCIAS  
UNIVERSIDAD DE CHILE

INORME DE APROBACION  
TESIS DE DOCTORADO

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Doctorado presentada por la candidata

PAULINA CHACON FERNANDEZ

Ha sido aprobada por la Comisión de Evaluación de la Tesis como requisito para optar al grado de Doctor en Ciencias Biológicas con mención en Ecología y Biología Evolutiva, en el examen de Defensa de Tesis rendido el día 30 de Agosto de 2004.

Director de Tesis:

Dr. Juan José Armesto Z

Comisión de evaluación de la Tesis

Dr. Rodrigo Medel (Presidente)

Dr. Ramiro O. Bustamante

Dr. Chris Lusk



The image shows two handwritten signatures in black ink. The first signature is at the top right, above a dotted line. The second signature is below it, also above a dotted line. To the right of the second signature is a circular stamp with the text "FACULTAD DE CIENCIAS", "BIBLIOTECA CENTRAL", and "U. DE CHILE" around the perimeter.

*A Gabito y a mi ángel de la guarda...*



## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a mi tutor Juan Armesto, quien me dejó ser parte del laboratorio de Ecología Forestal y siempre me permitió desarrollar mis ideas libremente. Tampoco puedo dejar de mencionar a los miembros del laboratorio de Ecología Terrestre, profesores y compañeros, quienes influyeron en mí positivamente en mi formación de postgrado, desde que llegué a la facultad allá por el año 1996.

Un reconocimiento especial, merecen mis compañeros de laboratorio Martín, Iván, Wally, Claudia Papic y Pancha, y en este último tiempo, Rocío, Feña, Juan Luis. También, a los chicos "paleo", Felipe y Mono, quienes hicieron de los almuerzos, ratos de diversión y discusión. Como no mencionar a mis amigos Claudia y Toño, que siempre estuvieron allí para subirme el ánimo en momentos difíciles y también para reírnos en momentos de esparcimiento. Gracias también a Ek por compartir conmigo muchas conversaciones, conocimientos y experiencias sobre este duro quehacer. Finalmente, un saludo para Don Juan, alias John Valencia, quien con su particular estilo, siempre tuvo algo que aportar.



También quiero agradecer en forma muy particular a mi mamá, que gracias a su incondicional ayuda, me dio la tranquilidad para que yo pudiera terminar mi doctorado, preocupándose del cuidado de Gabriel por intermedio de la Sra. Gladys, quien ha sido una gran compañera y amiga durante este último año.

Por su ayuda en terreno, agradezco a los scouts de Ancud, Patricio Nayan, Jonathan Bahamondes y Marco Lefinir. También a Héctor Yáñez, Viviana de Vidal y Emer Mancilla. A Juan Vidal por su asistencia en el vivero de la Estación Biológica "Senda Darwin", y por sus entretenidas pláticas. Por su asistencia en el laboratorio, le doy las gracias a Marly López, Marcia Montero y Víctor Sagredo.

También quiero agradecer a Alejandro Muñoz, en primer lugar, por regalarme un hijo maravilloso y en segundo término, por su ayuda en terreno, en la escritura de manuscritos y en prácticamente todo el desarrollo de esta tesis. Gracias por enseñarme sobre el rigor científico, la perseverancia y la lucha para alcanzar objetivos. Espero que llegues a ser mejor científico del que ya eres, que consigas todas tus metas, y que combines este difícil y duro quehacer, con el también difícil pero hermoso camino de ser padre.

El doctorado y esta tesis no habrían sido posibles sin el apoyo económico de Conicyt a través de su beca para alumnos de doctorado, de Fondecyt a través del proyecto N° 2010008 y al Núcleo Milenio "Centro para Estudios Avanzados en Ecología y de Investigación en Biodiversidad" (CMEB) P02-051-F, por el apoyo a través de su beca durante los meses de mayo, junio y julio de



2004. También agradezco al proyecto Biocores y al "Centro Avanzado de Estudios en Ecología y Biodiversidad", Fondap-Fondecyt 1501-0001. A la Estación Biológica "Senda Darwin" por el uso de toda su infraestructura y a los dueños de "Aguila Cárcamo", por permitirme acceder al sitio de estudio. A los miembros de mi comisión integrada por Rodrigo Medel, Ramiro Bustamante y Chris Lusk por sus valiosos comentarios.



# INDICE DE MATERIAS



LISTA DE TABLAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	xi
RESUMEN.....	xvi
ABSTRACT.....	xxiv
INTRODUCCION.....	1
Hipótesis de trabajo.....	17
Objetivos específicos.....	18
MATERIALES Y METODOS.....	20
1. Sitio de estudio.....	20
2. Historia natural de la especie en estudio.....	23
3. Hábitats estudiados.....	24
4. Diseño experimental.....	33

5. Mediciones en terreno.....	43
5.1. Daño foliar.....	43
5.2. Crecimiento de plántulas.....	47
5.3. Supervivencia de plántulas.....	49
6. Determinación de metabolitos secundarios carbonados.....	49
7. Prueba de "cafetería".....	52
8. Biomasa de insectos herbívoros.....	53
RESULTADOS.....	54
1. Efecto del hábitat sobre la concentración de MSC.....	54
2. Efecto del hábitat y de la exclusión de insectos herbívoros sobre el daño foliar.....	57
2.1. Porcentaje de hojas dañadas por plántula en el tiempo.....	57
2.2. Porcentaje total de hojas dañadas por plántula.....	57
3. Efecto del hábitat y de la exclusión de insectos herbívoros sobre el crecimiento de plántulas.....	62
3.1. Incremento en longitud de los tallos en el tiempo.....	62
3.2. Tasa de crecimiento relativa de los tallos.....	62
4. Efecto del hábitat y de la exclusión de insectos herbívoros sobre la supervivencia de plántulas.....	67
5. Prueba de "cafetería".....	71
6. Biomasa de insectos herbívoros.....	72





DISCUSION.....	74
1. Presencia de MSC en plántulas y su potencial papel defensivo.....	75
2. Efectos de la apertura del dosel y del daño foliar sobre el crecimiento y sobrevivencia de plántulas de <i>Drimys</i> .....	86
2.1. Efecto de la apertura del dosel.....	88
2.2. Efecto del daño foliar.....	90
3. Limitaciones de la aproximación experimental.....	95
CONCLUSIONES.....	98
BIBLIOGRAFIA.....	100
ANEXOS.....	123
1. Hábitat de borde.....	123
2. Mediciones en <i>Gevuina avellana</i> .....	127
3. Asignación a biomasa y área foliar específica.....	131



## LISTA DE TABLAS

**Tabla 1.** Importancia Relativa de individuos adultos y abundancia de plántulas estimada como porcentaje (%) y densidad (individuos / m<sup>2</sup>) de *D. winteri* y otras especies arbóreas en cada uno de los dos hábitats estudiados en un fragmento de bosque ubicado en el sector norte de la isla de Chiloé, X Región. La importancia relativa de los adultos fue obtenida de Armesto y col. (2001) y la abundancia de plántulas fue determinada en este estudio durante la estación de verano 2003 a través de 20 cuadrantes (10 por hábitat) de 50 x 50 cm. Los cuadrantes fueron ubicados a un costado de los puntos en los cuales se encontraban las plántulas experimentales. Se muestran las medias  $\pm$  1 EE.

**Tabla 2.** Análisis de Varianza con medidas repetidas evaluando el efecto del hábitat (% de apertura del dosel) sobre el porcentaje de humedad del suelo de los maceteros ubicados en el interior del bosque y en un claro del dosel en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región. En cada estación, se tomaron 10 muestras por hábitat.

**Tabla 3.** Porcentaje de humedad del suelo de los maceteros ubicados en el interior del bosque y en un claro del dosel en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región durante las distintas estaciones del año. Para cada hábitat, se muestra además, el promedio obtenido entre las cuatro estaciones del año. Las medias se muestran con  $\pm$  1 EE.

**Tabla 4.** Análisis de Varianza de dos vías evaluando el efecto del hábitat (% de apertura del dosel) y del tiempo de muestreo sobre la cantidad de nitrógeno inorgánico disponible (amonio + nitrato) en el suelo de los maceteros ubicados en el interior del bosque y en un claro del dosel en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región.

**Tabla 5.** Porcentaje de fenoles totales y taninos condensados obtenido de muestras de hojas de plántulas de *D. winteri* con y sin insecticida crecidas en el interior del bosque y en un claro del dosel en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región. Las medias se muestran con  $\pm 1$  EE.

**Tabla 6.** Análisis de Varianza con medidas repetidas evaluando el efecto del hábitat (% de apertura del dosel) sobre la concentración de fenoles totales en hojas de plántulas de *D. winteri* crecidas en el interior del bosque y en un claro del dosel en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región.

**Tabla 7.** Análisis de Varianza con medidas repetidas evaluando el efecto del hábitat (% de apertura del dosel) sobre la concentración de taninos condensados en hojas de plántulas de *D. winteri* crecidas en el interior del bosque y en un claro del dosel en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región.

**Tabla 8.** Análisis de Varianza de dos vías con medidas repetidas evaluando el efecto del hábitat (% de apertura del dosel) y de la exclusión de insectos herbívoros sobre el porcentaje de hojas dañadas por plántula de *D. winteri* crecidas bajo los distintos tratamientos.

**Tabla 9.** Análisis de Varianza de dos vías evaluando el efecto del hábitat (% de apertura del dosel) y de la exclusión de insectos herbívoros sobre el porcentaje total de hojas dañadas por plántula de *D. winteri* crecidas bajo los distintos tratamientos.

**Tabla 10.** Análisis de Varianza de dos vías con medidas repetidas evaluando el efecto del hábitat (% de apertura del dosel) y de la exclusión de insectos herbívoros sobre el crecimiento en longitud de los tallos en plántulas de *D. winteri* crecidas bajo los distintos tratamientos.

**Tabla 11.** Análisis de Varianza de dos vías evaluando el efecto del hábitat (% de apertura del dosel) y de la exclusión de insectos herbívoros sobre la tasa de crecimiento relativa de los tallos (TCR<sub>t</sub>) en plántulas de *D. winteri* crecidas bajo los distintos tratamientos.

**Tabla 12.** Modelo Binomial Lineal con Logit evaluando el efecto del hábitat (% de apertura del dosel), de la exclusión de insectos herbívoros y del tiempo de muestreo sobre el porcentaje de sobrevivencia en plántulas de *D. winteri* bajo los distintos tratamientos.

**Tabla 13.** Porcentaje de área foliar comida por individuos del caracol terrestre *Helix aspersa*, y concentración de fenoles totales y taninos condensados expresados como el porcentaje de un equivalente en los dos hábitats estudiados. Se muestran las medias con un error estándar. Medias con letras diferentes difieren significativamente ( $p < 0,05$ ).

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Diagrama que resume las relaciones de causalidad entre las variables luz, MSC, daño foliar y desempeño de plántulas. Las líneas continuas representan efectos positivos mientras que las líneas discontinuas indican efectos negativos.

**Figura 2.** Representación gráfica de los resultados esperados según las Hipótesis 2 (a) y la Hipótesis 3 (b).

**Figura 3.** Mapa de ubicación del sitio de estudio. La flecha indica la posición geográfica de la estación Biológica "Senda Darwin". El fragmento de bosque estudiado se encuentra a 13 kilómetros al SE de la estación. En el mapa inserto se muestra también la distribución geográfica de los bosques templados lluviosos de Sudamérica (área sombreada).

**Figura 4.** Foto de un individuo juvenil de *Drimys winteri* (Winteraceae) creciendo en el borde de un fragmento de bosque ubicado en la Estación Biológica "Senda Darwin", X Región.

**Figura 5.** Dos visiones del hábitat de interior en un fragmento de bosque tipo Valdiviano en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región, Chile.

**Figura 6.** Visión de la apertura del dosel producida por la caída natural de uno o más árboles (arriba) y del piso del claro (abajo) en un fragmento de bosque

tipo Valdiviano en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región, Chile. Nótese los numerosos juveniles de *D. winteri* que se encuentran creciendo en el claro.

**Figura 7.** Porcentaje de apertura del dosel arbóreo medido en los distintos puntos seleccionados en un claro del dosel (cuadrados blancos, puntos del 1-10) y en el interior del bosque (cuadrados grises, puntos del 11-20) en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región. Las medidas se hicieron a 50 cm sobre el nivel del suelo utilizando un analizador del dosel LAI-2000.

**Figura 8.** Porcentaje promedio de apertura del dosel arbóreo medido en el interior del bosque y en un claro del dosel en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región. Las barras muestran las medias + 1 EE. Se detectaron diferencias significativas (Prueba t de Student,  $p < 0,05$ ).

**Figura 9.** Esquema del diseño factorial de 2 x 2 utilizado para poner a prueba las hipótesis planteadas en esta tesis.

**Figura 10.** Plántulas de *D. winteri* ubicadas en el interior del bosque (arriba) y en el claro del dosel (abajo) en un fragmento de bosque tipo Valdiviano en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región, Chile. Las escalas entre ambas fotos no son iguales.

**Figura 11.** Foto del insecticida sistémico y de contacto de amplio espectro y del pulverizador utilizado para excluir a los insectos herbívoros en los dos hábitats estudiados en un fragmento de bosque tipo Valdiviano en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región, Chile.

**Figura 12.** Cantidad de nitrógeno inorgánico disponible (amonio + nitrato) en el suelo de los maceteros ubicados en el interior del bosque y en un claro del

dosel en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región. Las muestras de suelo fueron obtenidas al inicio del experimento, 6 y 14 meses después de iniciado éste. Las barras muestran las medias + 1 EE. Barras con letras diferentes difieren significativamente (prueba *a posteriori* de Tukey,  $p < 0,05$ ).

**Figura 13.** Categorías de daño foliar asignadas a cada una de las hojas de las plántulas durante cada evento de muestreo.

**Figura 14.** Porcentaje total de hojas analizadas en los dos hábitats y clasificadas en cada una de las siguientes categorías de daño: Categoría 0: sin daño, Categoría 1: < 15% del área foliar perdido, Categoría 2: 15,1 - 50% del área foliar perdido, y Categoría 3: > 50,1% del área foliar perdido.

**Figura 15.** Correlación entre la longitud promedio de los tallos y el número promedio de hojas en plántulas de *D. winteri* crecidas en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región.

**Figura 16.** Porcentaje de fenoles totales (a) y taninos condensados (b) por peso seco de hoja obtenido de muestras de hojas de plántulas de *D. winteri* crecidas en el interior del bosque y en un claro del dosel en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región. Las barras muestran las medias + 1 EE. Los asteriscos indican diferencias significativas entre los hábitats en ambas estaciones (prueba *a posteriori* de Newman-Keuls,  $p < 0,05$ ). Las estaciones invierno y verano son medidas repetidas.

**Figura 17.** Porcentaje de hojas dañadas por plántula de *D. winteri* en el tiempo en el hábitat de interior y en el claro del dosel. CI = con insecticida (sin herbívoros) y SI = sin insecticida (con herbívoros). Las barras muestran las medias + 1 EE. Medición inicial febrero de 2002 y medición final abril de 2003.

**Figura 18.** Porcentaje total de hojas dañadas por plántula de *D. winteri* bajo los distintos tratamientos. CI = con insecticida (sin herbívoros) y SI = sin insecticida (con herbívoros). Las barras muestran las medias + 1 EE. Barras que comparten letras no difieren significativamente (prueba *a posteriori* de Tukey,  $p < 0,05$ ).

**Figura 19.** Visión de dos plántulas de *D. winteri* con signos de daño foliar en el interior del bosque (arriba) y en el claro del dosel (abajo) en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región. Las imágenes corresponden a diciembre de 2002.

**Figura 20.** Crecimiento en longitud de los tallos en plántulas de *D. winteri* en el tiempo en el interior y en el claro del dosel. CI = con insecticida (sin herbívoros) y SI = sin insecticida (con herbívoros). Las barras muestran las medias + 1 EE. Medición inicial diciembre de 2001 y medición final abril de 2003.

**Figura 21.** Tasa de crecimiento relativa de los tallos ( $TCR_t$ ) en plántulas de *D. winteri* bajo los distintos tratamientos. CI = con insecticida (sin herbívoros) y SI = sin insecticida (con herbívoros). Las barras muestran las medias + 1 EE. Barras que comparten letras no difieren significativamente (prueba *a posteriori* de Tukey,  $p < 0,05$ ).

**Figura 22.** Diferencias en la longitud del tallo y en el número de hojas en dos plántulas de *D. winteri*, una creciendo en el interior del bosque (arriba) y la otra en el claro del dosel (abajo). Las imágenes corresponden al mes de diciembre de 2002.



**Figura 23.** Porcentaje de plántulas vivas de *D. winteri* en el tiempo en el interior y en el claro del dosel. CI = con insecticida (sin herbívoros) y SI = sin insecticida (con herbívoros).

**Figura 24.** Porcentaje final de plántulas vivas de *D. winteri* bajo los distintos tratamientos. CI = con insecticida (sin herbívoros) y SI = sin insecticida (con herbívoros). Barras que comparten letras no difieren significativamente (prueba *a posteriori* de Tukey para comparaciones múltiples entre proporciones,  $p < 0,05$ ).

**Figura 25.** Porcentaje de biomasa de insectos herbívoros recolectados a través de trampas Barber (a) y de "apaleo" de juveniles de canelo (b) en los hábitats de interior del bosque y en un claro del dosel en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región. Las barras muestran las medias + 1 EE.

**Figura 26.** Representación gráfica de los resultados esperados (a) y observados (b) según la Hipótesis 2.

**Figura 27.** Representación gráfica de los resultados esperados (a) y observados (b) según la Hipótesis 3.

## RESUMEN

Después de la etapa de semilla, la plántula representa la fase más sensible en el ciclo de vida de las plantas, porque es durante este periodo donde ocurren las mayores tasas de mortalidad. Las plántulas presentan un sistema radicular y foliar poco desarrollado, por lo que son sensibles a diversos factores abióticos y bióticos que varían con la heterogeneidad del hábitat. El factor abiótico más estudiado por su variación espacial y su importante efecto sobre el crecimiento y sobrevivencia de plántulas arbóreas, es la luz, y sería un factor mucho más limitante que los nutrientes en la mayoría de los bosques lluviosos de dosel cerrado. Un fenómeno bien conocido, es la "supresión del crecimiento" en plántulas y estados juveniles de especies arbóreas sombra tolerantes, que puede ser interpretado como un mecanismo que les permite sobrevivir durante largos periodos de tiempo en el sotobosque en condiciones de luminosidad deficientes. Las plántulas que se encuentran suprimidas en crecimiento constituyen el potencial regenerativo del bosque una vez que se produce una apertura del dosel.

Las perturbaciones que generan aperturas del dosel constituyen eventos frecuentes en muchos tipos de bosques, y son determinantes en su composición y estructura. Los claros del dosel (*sensu* Watt 1947) abarcan un

amplio rango de tamaños que va desde aperturas creadas por la simple muerte de ramas a áreas de cientos o miles de hectáreas. La formación de claros habría jugado un papel selectivo importante para definir los atributos de ciclos de vida de las especies arbóreas. En síntesis, el crecimiento y sobrevivencia de las especies arbóreas en los bosques está estrechamente relacionado a cambios en la disponibilidad de luz asociada a la apertura del dosel.

Entre los factores bióticos, la herbivoría puede ser un factor crítico para el crecimiento y sobrevivencia de plántulas o juveniles recién establecidos. Puede ser definida como una interacción antagónica entre las plantas y los herbívoros, donde estos últimos consumen tejido foliar para satisfacer sus requerimientos nutricionales, y las plantas pierden tejido foliar con el riesgo de reducir su crecimiento y sobrevivencia y por ende, su adecuación biológica. Durante el periodo en el cual el crecimiento de las plántulas se encuentra suprimido, éstas serían altamente vulnerables al ataque de herbívoros y patógenos, quienes actuarían como una presión de selección importante, reduciendo las poblaciones de plántulas. Se ha postulado que el impacto de la herbivoría sobre el crecimiento y sobrevivencia de plántulas sería mayor bajo el dosel cerrado, ya que reemplazar el tejido foliar perdido por herbivoría es más costoso en el sotobosque que en los claros, debido a que las tasas fotosintéticas son más bajas en los hábitats cerrados y poco iluminados. Por lo tanto, los efectos de la herbivoría serían mayores cuando se combinan con el estrés lumínico. La presencia de compuestos químicos como mecanismos de defensa constituiría una estrategia efectiva para reducir los niveles de daño

foliar en las hojas de las plántulas que se encuentran suprimidas en crecimiento, porque es durante este periodo donde las plántulas tienen la mayor parte de su biomasa foliar expuesta a los herbívoros.

La evolución de los insectos fitófagos impuso presiones de selección sobre sus plantas hospederas, las que desarrollaron distintos tipos de defensas. La gran diversidad de metabolitos secundarios presentes en las plantas habría evolucionado en respuesta al ataque de los herbívoros, particularmente insectos, y muchos caracteres de los insectos habrían evolucionado en respuesta a los cambios químicos ocurridos en sus plantas hospederas.

Desde la década de los setenta, los metabolitos secundarios carbonados (MSC), como los fenoles y los taninos, han sido considerados como una de las barreras químicas más importantes de las plantas leñosas contra la herbivoría. Numerosas hipótesis explican los patrones de asignación de recursos a defensas químicas en plantas. Una de las hipótesis más populares, es la "Hipótesis del Balance Carbono-Nitrógeno" (HBCN) (Bryant y col 1983), que postula que las variaciones fenotípicas en la concentración de MSC dentro de una especie estarían determinadas por la relación entre disponibilidad de carbono (relacionada directamente con la disponibilidad de luz) y de nutrientes (particularmente nitrógeno) existentes en el ambiente. Esta hipótesis predice que en hábitats sombríos, donde las plantas presentan una baja relación C/N, la baja tasa fotosintética causaría una disminución en la concentración de carbohidratos, y por ende, en la concentración de MSC. Lo contrario sucedería

en hábitats abiertos e iluminados. Estas diferencias en asignación a compuestos secundarios afectarían la susceptibilidad de las plantas a los herbívoros.

Los estudios en terreno que han examinado las relaciones entre disponibilidad de luz, metabolitos secundarios carbonados, herbivoría y desempeño de plántulas arbóreas han dejado dos aspectos aún sin clarificar. Primero, si los menores niveles de daño foliar en hábitats con más luz (e.g. claros del dosel) están realmente mediados por la mayor cantidad de MSC presentes en las hojas y su posible papel defensivo, o si son consecuencia de diferencias en otras variables del hábitat que pueden afectar a los herbívoros y consecuentemente los niveles de daño foliar causado por éstos. Segundo, tampoco es claro si las mayores tasas de crecimiento y sobrevivencia en zonas abiertas del dosel son resultado de la mayor luminosidad, del menor daño foliar o de ambos factores en conjunto.

Los bosques maduros de la Isla de Chiloé presentan un banco de plántulas abundante en el sotobosque. Estas plántulas serían capaces de sobrevivir largos períodos en ambientes con baja luminosidad, pero también deberían presentar tolerancia al impacto de insectos herbívoros a través de la posesión de defensas químicas. El efecto de insectos defoliadores sobre la formación y persistencia de este abundante banco de plántulas ha sido escasamente estudiado en nuestros bosques.

En esta tesis, se propuso un diseño experimental que considera la exclusión de insectos herbívoros para determinar si los niveles de daño foliar

que caracterizan a las plántulas en los hábitats abiertos y ricos en luz (e.g. claros del dosel) son diferentes a los de plántulas de hábitats cerrados y pobres en luz, y si están mediados por las mayores concentraciones de MSC presentes en las hojas. De esta manera, se evaluó el supuesto rol defensivo de estos compuestos. En segundo lugar, se determinó si la apertura del dosel, el daño foliar y la interacción entre ambos factores afectan el crecimiento y sobrevivencia de plántulas arbóreas. En consecuencia, el objetivo principal de esta tesis fue investigar los efectos de la apertura del dosel y del daño foliar causado por insectos herbívoros sobre el crecimiento y sobrevivencia de plántulas arbóreas, y evaluar el rol defensivo de los MSC, particularmente fenoles totales y taninos condensados. Como modelo de estudio, se usaron plántulas de 3 meses de edad de la especie nómada o intolerante a la sombra (*sensu* Martínez-Ramos 1985) *Drimys winteri* (Winteraceae) en dos hábitats del bosque con disponibilidad de luz contrastante: interior de bosque bajo dosel cerrado y claro del dosel. Para cumplir con este objetivo, se diseñó un experimento factorial de dos vías considerando la apertura del dosel (interior del bosque bajo dosel cerrado vs. claro del dosel) y la exclusión de insectos herbívoros (con y sin aplicación de insecticida) como factores, cuyo efecto fue evaluado sobre plántulas coetáneas de la especie *D. winteri* plantadas en un fragmento de bosque templado-lluvioso en el extremo norte de la Isla de Chiloé, Chile. Las variables respuestas medidas fueron concentración de MSC (fenoles totales y taninos condensados), daño foliar, crecimiento y sobrevivencia de plántulas durante un periodo de 16 meses.

El porcentaje promedio de apertura del dosel difirió significativamente entre hábitats, siendo más de un orden de magnitud mayor en el claro del dosel que en el interior del bosque (12% vs. 2% respectivamente). No se observaron diferencias significativas entre hábitats ni en la humedad ni el contenido de nitrógeno inorgánico del suelo en el interior de los maceteros. En consecuencia, ninguna de estas dos variables habría afectado las variables respuestas de interés.

La concentración de fenoles totales y taninos condensados en las hojas de las plántulas de *D. winteri* fue afectada significativamente por el hábitat. Para ambos tipos de metabolitos secundarios, se encontró una mayor concentración en el claro del dosel, la cual se expresó como el porcentaje de un equivalente por miligramo de hoja seca. En el hábitat de interior, el porcentaje de fenoles varió entre 6,3 y 8,6, mientras que en el claro, la concentración prácticamente se duplicó entre una estación y otra, fluctuando entre 10,9 y 21,4%. Por su parte, la concentración de taninos condensados fluctuó entre ambos hábitats entre 3,2 y 13,6%.

Se encontró que el daño foliar fue variable temporal y espacialmente. El porcentaje total de hojas dañadas por plántula fue afectado significativamente por el hábitat, observándose un mayor daño foliar por insectos en el claro del dosel. Sin embargo, la exclusión de insectos herbívoros no tuvo un efecto significativo sobre el daño foliar. Los niveles de daño foliar evaluado como el porcentaje de hojas dañadas por plántula, oscilaron entre 4,6% (interior - con insecticida) y 11,2% (claro - sin insecticida).

La apertura del dosel y la exclusión de insectos herbívoros tuvieron un efecto significativo sobre el crecimiento de las plántulas estimado a través de la tasa de crecimiento relativa de los tallos. Las plántulas situadas en el interior crecieron en promedio entre 1,5 y 2,5 cm, mientras que aquellas situadas en el claro del dosel crecieron entre 8,7 y 13,6 cm. Finalmente, se detectaron efectos significativos del hábitat, de la exclusión de insectos herbívoros y del tiempo sobre la sobrevivencia de plántulas. Al cabo de los 16 meses de monitoreo, el porcentaje de plántulas vivas en el interior del bosque en plántulas que no recibieron insecticida fue de un 40%, mientras que en aquellas situadas en el claro y que si recibieron insecticida, fue de un 100%.

En resumen, la producción de MSC se comportó de acuerdo a las predicciones de la Hipótesis del Balance Carbono-Nitrógeno, pues las plántulas de *D. winteri* situadas en el claro del dosel presentaron una mayor cantidad de fenoles y taninos condensados en sus hojas que aquellas situadas en el interior del bosque bajo dosel cerrado. La mayor cantidad de MSC presentes en las plántulas de *Drimys* en el hábitat rico en luz, es decir, en el claro del dosel, no resultó en una reducción en los niveles de daño foliar producidos por los insectos herbívoros. En este hábitat, las plántulas presentaron un mayor porcentaje de hojas dañadas que bajo dosel cerrado, lo que sugiere que aparentemente, los MSC no estarían actuando como compuestos defensivos en las plántulas de *D. winteri*. El por qué los niveles de daño foliar observados tendieron a ser mayores en el claro del dosel y no el hábitat de interior podría ser explicado en parte, por las condiciones abióticas y bióticas más favorables



existentes en el hábitat de claro, cuya dinámica sucesional parece ser mucho más compleja y variable que la del interior del bosque.

La apertura del dosel y el daño foliar afectaron en forma positiva y negativa respectivamente, el crecimiento y la sobrevivencia de plántulas de *D. winteri* en ambos hábitats (interior del bosque y claro del dosel). La disminución del crecimiento y sobrevivencia en las plántulas no tratadas con insecticida es uno de los principales resultados de esta tesis, considerando que existen escasos estudios que documentan el efecto negativo de la herbivoría sobre el desempeño de plántulas.

Finalmente, aunque el crecimiento y sobrevivencia de plántulas de *D. winteri* fue mayor en el claro del dosel que en el interior del bosque bajo dosel cerrado, en este último hábitat se observó una sobrevivencia de un 40% al cabo de los 16 meses de experimento en aquellas plántulas que no recibieron insecticida (condición más desfavorable). En consecuencia, *D. winteri* sería capaz de persistir en el tiempo bajo sombra y formar un banco de plántulas que promueva su regeneración luego de la apertura del dosel.

## ABSTRACT

Following seed germination, the seedling stage constitutes the most critical phase in the life cycle of a rainforest tree given that, during this relatively long period, spanning up to several years, individuals are subjected to the greatest rates of mortality. Due to their undeveloped root systems and possession of few leaves, tree seedlings and saplings are very sensitive to the heterogeneous abiotic and biotic conditions occurring through space and time. Light is the abiotic factor that has been most thoroughly studied with regards to its effects on growth and survival of seedlings in forests given its wide variation in space within forests. In addition, light is likely to be more limiting than nutrients in most closed canopy rainforests. In fact, "growth suppression" is a well-known phenomenon among seedlings and juveniles of shade-tolerant tree species. Growth suppression may be interpreted as a mechanism allowing seedlings to survive in the understory under poor light conditions and over long periods of time resulting in "seedling banks" and that constitute a forest's regenerative potential following canopy disturbance.

Disturbances that produce canopy openness are frequent events in many forest types, and are determinants of the composition and structure of forests.

Tree-fall gaps (*sensu* Watt 1947) range in size from light gaps created after the death and fall of single branches to large areas encompassing hundreds or even thousands of hectares. The formation of tree-fall gap has been proposed to have played an important selective role in defining life cycle traits of tree species. In summary growth and survival of tree seedlings in forests is closely related to changes in light availability associated with canopy openness.

Among the biotic factors, herbivory may be critical for the growth and survival of newly established seedlings or juveniles. It can be defined as an antagonistic interaction between plants and herbivores in which animals consume plant tissue to satisfy their nutritional requirements while plants lose tissue with the resultant risk of suffering a reduction in their growth and survival and hence their fitness. During the long periods of seedling suppression, these are highly vulnerable to herbivores and pathogens, which may act as important agents of selection, resulting in a reduction of seedling populations. Herbivory would be expected to exert a greater impact on seedling growth and survival in the shaded understory than under tree-fall gaps because the replacement of foliar tissue is more expensive in the understory, where photosynthetic rates are limited. Consequently, the effects of herbivory should be greater when they are combined with light stress. The presence of secondary metabolites as defence mechanisms against a wide array of herbivores should be a primary strategy for reducing foliar damage in growth-suppressed seedlings, because these have a great part of their foliar biomass exposed to herbivores for long periods.

The evolution of phytofagous insects imposed selection pressures on their host plants, which in turn had to develop different types of defences. The greatest diversity of secondary metabolites possessed by plants would have evolved in response to the attack of herbivores, particularly insects, while many insect traits would have evolved in response to chemical changes in their host plants.

For more than 30 years, carbon-based secondary compounds (CBSCs), such as phenols or tannins, have been considered among the most important and general chemical barriers of woody plants against herbivory. Several hypotheses have been advanced to account for resource allocation to defensive compounds among plants. One of the most popular ones, the "Carbon-Nutrient Balance Hypothesis" (CNBH) (Bryant et al. 1983), proposes that the carbon-nutrient status of plants, as determined by habitat-related differences in light or nitrogen availability, directly controls the allocation to secondary metabolites. Under this scenario, plants in high-light or nutrient-poor environments should allocate excess photosynthates to carbon-based defences, reducing their susceptibility to herbivores.

However, field studies evaluating the interactions among light availability, CBSCs, foliar damage and tree seedling performance have left two aspects unclarified. First, if the lower levels of foliar damage in light-rich habitats (e.g. tree-fall gaps) are really mediated by greater concentrations of CBSCs contained in the leaves and their possible defensive role, or they can be ascribed to differences in other variables that may affect herbivores and consequently

foliar damage levels. Second, it is also unclear if the reported greater growth and survival rates of seedlings in open areas are due to greater access to light, from reduced foliar damage, or from both factors acting jointly.

Evergreen forests of Chiloé Island hold abundant seedling banks in their understories. These seedlings would be able to survive under poor light conditions for long periods of time, but they should also be able to tolerate the impacts of herbivore damage through the possession of chemical defences. However, the effect of insect herbivores on the growth and persistence of the abundant seedling bank in our forests is poorly understood.

In this thesis, I conducted an experiment that involved the exclusion of insect herbivores to determine whether the levels of foliar damage characteristic of seedlings in open and light-rich habitats (e.g. tree-fall gaps) are different from those experienced by seedlings in closed and light-poor habitats, and if these differences are mediated by greater leaf concentrations of CBSCs. This way, the possible defensive role of these compounds was evaluated. Secondly, I determined if canopy openness, foliar damage and the interaction between them affect growth and survival of tree seedlings. Consequently, the main objective of this thesis was to investigate the effects of canopy openness and herbivory caused by insect herbivores on the growth and survival of tree seedlings, and to evaluate the possible role of CBSCs, particularly total phenols and condensed tannins. Three-month-old seedlings of the nomad or shade intolerant species *Drimys winteri* (Winteraceae) were used as study subjects in two habitats with contrasting light availability: forest interior and a tree-fall gap. I

designed a two-way factorial experiment considering canopy openness (forest interior under closed canopy and a tree-fall gap) and exclusion of insect herbivores (with and without insecticide application) as factors using coetaneous seedlings of *D. winteri* in a temperate rainforest fragment in northern Chiloé Island, Chile. The response variables measured were CBSCs concentration, foliar damage, growth and survival over a period of 16 months.

Mean percentage of canopy openness differed significantly between habitats, being six-fold greater in the tree-fall gap compared to that in the forest interior (12% vs. 2%, respectively). Non-significant differences were found between habitats in percentage soil moisture and total inorganic nitrogen of soils within pots. Therefore, neither of these two variables affected the response variables.

The concentration of total phenols and condensed tannins produced by seedlings of *D. winteri* was affected by habitat type. A greater concentration of both types of secondary metabolites was found in the tree-fall gap, which was expressed as the percentage of one equivalent per milligram of dry leaf. The percentage of phenols ranged between 6.3 and 8.6 in the forest interior, while in the tree-fall gap, the concentration almost doubled between seasons, ranging between 10.9 and 21.4%. Concentrations of condensed tannins also varied between both habitats, ranging from 3.2 to 13.6%.

Foliar damage was also spatially and temporally variable. Total percentage of damaged leaves per seedling was affected significantly by habitat, with greater foliar damage occurring in the tree-fall gap. However, insect herbivore

exclusion did not have a significant effect on foliar damage. Levels of foliar damage evaluated as the percentage of damaged leaves per seedling ranged between 4.6 (forest interior – with insecticide) and 11.2% (tree-fall gap – without insecticide).

Canopy openness and insect herbivore exclusion had a significant effect on seedling growth estimated through the relative growth rate of shoots. Seedlings located in the forest interior grew on average between 1.5 and 2.5 cm, while those located in the tree-fall gap grew between 8.7 and 13.6 cm. Finally, seedling survival was significantly affected by habitat, insect herbivore exclusion and time. At the end of the sixteen months, percentage survival of seedlings located in the forest interior and not treated with insecticide was 40%, while that of those located in the tree-fall gap and treated with insecticide was 100%.

In summary, the production of CBSCs supported the predictions of the Carbon-Nitrogen Balance Hypothesis as seedlings of *D. winteri* produced greater leaf concentrations of phenols and tannins when grown in the tree-fall gap. However, the greater amounts of CBSCs produced by *Drimys* seedlings in the light-rich habitat (tree-fall gap) did not result in a significant reduction in the levels of foliar damage due to insect herbivores, compared to seedlings grown in the forest interior. In fact, seedlings growing under light gap suffered more leaf damage than seedlings in the shade. These results did not support the role of CBSCs as plant defences in the seedlings of *D. winteri*. The finding that the levels of foliar damage observed in the tree-fall gap were greater compared to

those experienced in the forest interior may be explained in part, by the more favourable abiotic and biotic conditions occurring in the gap. The successional dynamic of this habitat seems to be more complex and variable in comparison to the forest interior.

Canopy openness and foliar damage had positive and negative effects, respectively, on growth rates and survival on seedlings of *D. winteri* in both habitats (forest interior and tree-fall gap). The decrease in growth and survival in untreated seedlings is one of the main results of this thesis considering that there are few studies documenting the negative effect of herbivory on seedling performance.

Finally, although seedling growth and survival were greater in the tree-fall gap in comparison to the forest interior, in this latter habitat, seedling survival reached 40% in those that had not received insecticide (most unfavourable condition) at the end of the 16 month experiment. Consequently, *D. winteri* would be able to persist through time and to form a seedling bank that promotes its regeneration when canopy openness occurs.



## INTRODUCCION

Las diferentes fases en el ciclo de vida de una planta arbórea proporcionan intervalos útiles en los cuales se pueden analizar los cambios en crecimiento y sobrevivencia a través del tiempo (Harper 1977). Después de la etapa de semilla, la plántula representa la fase más sensible en el ciclo de vida de las plantas (Fenner 1985, Osunkoya y col. 1993, Kitajima y Fenner 2000), porque es durante este periodo donde ocurren las mayores tasas de mortalidad (Nava y del Amo 1985, Chambers y McMahon 1994). Las plántulas presentan un sistema radicular y foliar poco desarrollado, por lo que son sensibles a diversos factores abióticos y bióticos que varían con la heterogeneidad del hábitat (Brokaw 1987, Crawley 1997a).

### **Factores abióticos - Luz**

El factor abiótico más estudiado por su variación espacial y su importante efecto sobre el crecimiento y sobrevivencia de plántulas arbóreas, es la luz (Whitmore 1975, 1978, Denslow y Hartshorn 1994). El acceso a la luz sería un recurso mucho más limitante que los nutrientes en la mayoría de los bosques lluviosos de dosel cerrado (Denslow y col. 1998). De hecho, un fenómeno bien conocido,

es la "supresión del crecimiento" en plántulas y estados juveniles de especies arbóreas sombra tolerantes, que puede ser interpretado como un mecanismo que les permite sobrevivir durante largos periodos de tiempo en el sotobosque en condiciones de luminosidad deficientes (Nava y del Amo 1985). Las plántulas establecidas y que se encuentran suprimidas en crecimiento, constituyen el potencial regenerativo del bosque una vez que se produce una apertura del dosel (Gómez-Pompa y Vázquez-Yanes 1985). Estas plántulas corresponden a especies adaptadas a sobrevivir en condiciones precarias de luminosidad. Su crecimiento en estas condiciones es muy lento, y en algunos casos casi inestimable, pero son capaces de responder positivamente frente a aumentos en la disponibilidad de luz. Por ejemplo, *Nectandra ambigens*, árbol emergente de la región de Los Tuxtlas, México, muestra este comportamiento. Cada año, las plántulas de esta especie se encuentran en forma abundante en el piso de la selva, pero es notoria la ausencia de individuos juveniles si no se producen aperturas del dosel (Córdova 1985). En un bosque de la amazonía venezolana, Uhl y col. (1988) encontraron también, que casi todos los juveniles presentes después de cuatro años de la formación de un claro, correspondían a regeneración avanzada, y no a plántulas establecidas a partir de semillas. En los bosques lluviosos del sur de Chile, la regeneración de varias especies también depende de la liberación de las plántulas y juveniles suprimidos en crecimiento (Armesto y Fuentes 1988, Gutiérrez y col. 2004). Estas evidencias sugieren fuertemente la importancia de la existencia de los bancos de plántulas.

Las perturbaciones que generan aperturas del dosel y que por lo tanto incrementan los niveles de luminosidad (Denslow 1987), constituyen eventos frecuentes en muchos tipos de bosques (Martínez-Ramos 1985, Armesto y Fuentes 1988), y son determinantes en su composición y estructura (Brokaw 1984). Los claros del dosel (*sensu* Watt 1947) abarcan un amplio rango de tamaños que va desde aperturas creadas por la simple muerte de ramas o el roce entre copas de árboles vecinos, a áreas de cientos o miles de hectáreas creadas por eventos catastróficos, tales como deslizamientos de tierras, erupciones volcánicas, huracanes o incendios (Veblen y col. 1977, Spies y Franklin 1989). La formación de claros habría jugado un papel selectivo importante para definir los atributos de ciclos de vida de las especies arbóreas. De acuerdo a Martínez-Ramos (1985), pueden reconocerse tres grandes grupos de especies arbóreas: 1) pioneras: aquellas que sólo pueden regenerar en claros grandes ( $> 300 \text{ m}^2$ ), desarrollándose en estos sitios a partir del estado de semilla; 2) nómades o intolerantes a la sombra: aquellas que no pueden regenerar en ausencia de claros medianos o pequeños ( $< 200 \text{ m}^2$ ); y 3) tolerantes a la sombra: aquellas que no requieren necesariamente de los claros para alcanzar el dosel (ver también Clark 1994). Sin embargo, desde una visión de gradientes, las especies pioneras simplemente representan un extremo de un continuo de requerimientos lumínicos entre las distintas especies arbóreas, desde aquellas con una baja tolerancia a la sombra a las que regeneran sólo en áreas abiertas (Brokaw 1980, Denslow 1987).

Actualmente, se define operacionalmente como especies tolerantes a la sombra a aquellas que sobreviven en estado suprimido en ambientes con baja luminosidad bajo dosel cerrado (Augspurger 1984, Kitajima 1994, Kobe y col. 1995). Algunos caracteres fenotípicos que presentan las plántulas tolerantes para sobrevivir en condiciones de luminosidad deficientes son: mayor proporción de masa foliar, hojas más delgadas, es decir, mayor área foliar específica, y menor punto de compensación lumínico (Bazzaz 1979, Lusk 2002). Estas tres características permiten aumentar la ganancia neta de carbono a nivel foliar y de la planta entera, aprovechando de manera eficiente los rayos solares que atraviesan el dosel (Chazdon 1988). Por ejemplo, *Piper hispidum* es una de las especies dominantes del estrato arbustivo de la selva tropical húmeda de la región de Los Tuxtlas, ampliamente distribuida en zonas variadas en cuanto a condiciones de luminosidad (Tinoco y Vázquez-Yanes 1985). Las poblaciones de *P. hispidum* que crecen en condiciones de luminosidad contrastantes, muestran diferencias en su tasa de crecimiento, relacionadas con adaptaciones para hacer un uso eficiente de la luz disponible. No obstante, algunos autores (e.g. Kitajima 1994, Walters y Reich 1999) han argumentado que aquellas características que maximizan la ganancia de carbono y el potencial de crecimiento (e.g. mayor área foliar específica), pueden comprometer la sobrevivencia de las plántulas a través de un aumento de su vulnerabilidad a herbívoros, patógenos o daños mecánicos. En síntesis, el crecimiento de las especies arbóreas en los bosques está estrechamente relacionado a cambios en la disponibilidad de la luz asociada a la apertura del

dosel (Clark y Clark 1987). La mayoría de las plantas crecen rápido y experimentan bajas tasas de mortalidad en zonas del dosel más abiertas que directamente bajo el dosel intacto (e.g. Chazdon 1985, Denslow y col. 1990, Popma y Bongers 1991). Este patrón sería explicado principalmente por el balance de carbono más favorable que ocurre en los ambientes más iluminados (Augsburger 1984).

### **Factores bióticos - Herbivoría**

La herbivoría puede ser un factor crítico para el crecimiento y sobrevivencia de plántulas o juveniles recién establecidos (Connell 1971, Armstrong y Westoby 1993, Crawley 1997b). Puede determinar el patrón de distribución espacial y composición de las especies arbóreas en un paisaje forestal (Ostfeld y col. 1997), influyendo en la estructura y dinámica de las comunidades, así como en la riqueza y abundancia de las especies (Núñez-Farfán y Dirzo 1985, Crawley 1993). Es definida como una interacción antagónica entre las plantas y los herbívoros, donde estos últimos consumen tejido foliar para satisfacer sus requerimientos nutricionales, y las plantas pierden tejido foliar con el riesgo de reducir su crecimiento y sobrevivencia, y por ende su adecuación biológica (Harper 1977, Domínguez y Dirzo 1994, Crawley 1997a).

Los herbívoros remueven en promedio anualmente, entre un 10 y un 20% de la producción primaria neta en los ecosistemas terrestres (Hartley y Jones 1997). Se han documentado valores que varían entre 7,1% en los bosques templados hasta 14,8% en los bosques tropicales (Coley y Barone 1996).

Aunque esta diferencia es significativa, no es enorme y puede ser consecuencia de diferencias entre los métodos usados para cuantificar la herbivoría. Aunque una pérdida foliar anual promedio de un 10% no parece ser extrema, es suficiente en algunos casos, para reducir la adecuación biológica de las plantas, particularmente de juveniles y plántulas (Dirzo 1984). Por ejemplo, Clark y Clark (1985) encontraron que la sobrevivencia anual de plántulas de *Dypterix panamensis* fue de un 85% en plántulas no dañadas y de 0% en plántulas con un 8% de su área foliar removida.

Durante el periodo en el cual el crecimiento de las plántulas se encuentra suprimido, éstas serían altamente vulnerables al ataque de herbívoros y patógenos, quienes actuarían como una presión de selección importante, reduciendo las poblaciones de plántulas (Crankshaw y Langenheim 1981). En particular, el daño por insectos herbívoros puede causar la muerte de plántulas arbóreas o afectar su crecimiento, disminuyendo por ejemplo, la producción de hojas (Coley 1983) o su habilidad competitiva (Crawley 1989). Por lo tanto, la herbivoría por insectos constituiría una de las causas más significativas de mortalidad de plántulas arbóreas en muchos tipos de bosques, jugando un papel fundamental en el proceso de regeneración natural (Crawley 1997b). Se ha postulado que el impacto de la herbivoría sobre el crecimiento y sobrevivencia de plántulas sería mayor bajo el dosel cerrado ya que reemplazar el tejido foliar perdido por herbivoría es más costoso en el sotobosque que en los claros, debido a que las tasas fotosintéticas son más bajas en los hábitats cerrados y poco iluminados (Denslow 1987, Denslow y Hartshorn 1994). Por lo

tanto, los efectos de la herbivoría serían mayores cuando se combinan con el estrés lumínico (Coley y col. 1985, Núñez-Farfán y Dirzo 1985). Por ejemplo, plántulas de *Nectandra ambigens*, *Omphalea oleifera* y *Brosimum alicastrum*, sufren severa mortandad y reducción en el crecimiento en condiciones que combinan el estrés lumínico y la herbivoría (Dirzo 1984). Al colocar las plántulas en un sitio abierto y expuesto al sol, bajo las mismas condiciones de herbivoría, tanto el crecimiento como la sobrevivencia aumentan fuertemente. En consecuencia, aún cuando las plántulas que crecen en claros del dosel experimentarían tasas de herbivoría similares a las que se encuentran bajo el dosel arbóreo, el costo de la pérdida de tejido fotosintético sería considerablemente menor en los claros (Coley y col. 1985). La presencia de compuestos químicos como mecanismos de defensas constituiría una estrategia efectiva para reducir los niveles de daño foliar en las hojas de las plántulas que se encuentran suprimidas en crecimiento, porque es durante este periodo donde las plántulas tienen la mayor parte de su biomasa foliar expuesta a los herbívoros (Nava y del Amo 1985).

### **Metabolitos secundarios**

La evolución de los insectos fitófagos impuso presiones de selección sobre sus plantas hospederas, las que desarrollaron distintos tipos de defensas (Ehrlich y Raven 1964). En general, se acepta que la gran diversidad de metabolitos secundarios presentes en las plantas, evolucionaron en respuesta al ataque de los herbívoros, particularmente insectos, y muchos caracteres de los insectos

habrían evolucionado en respuesta a los cambios químicos ocurridos en sus plantas hospederas (Coley y Barone 1996).

Los metabolitos secundarios son sustancias químicas tóxicas, repelentes o inhibitorias de la digestión (Ehrlich y Raven 1964, Janzen 1979, Schultz 1988) y se denominan así porque en general, no son esenciales para los procesos de crecimiento y reproducción (Hartley y Jones 1997). Corresponden a productos terminales de vías metabólicas bastante largas, por lo que su producción en términos energéticos sería costosa para las plantas. El hecho que las plantas destinen parte de su energía a producir estos compuestos, sugiere que no son irrelevantes. De acuerdo a su acción bioquímica, los metabolitos secundarios se han clasificado en dos grandes grupos: 1) defensas cualitativas: corresponden a compuestos nitrogenados que son tóxicos en pequeñas cantidades (e.g. alcaloides, glucósidos cianogénicos), y 2) defensas cuantitativas: son sustancias repelentes y reductoras de la digestión que actúan en proporción a su concentración, y corresponden al grupo de defensas carbonadas (e.g. taninos y terpenoides) (Feeny 1975, 1991). Ambos tipos de defensas (cualitativas y cuantitativas) son constitutivas, es decir, constituyen parte del tejido foliar de las plantas y su producción es altamente variable y está tanto bajo control genético como ambiental (Hartley y col. 1995, Koricheva y col. 1998). La concentración al interior del tejido foliar constituye un factor crucial en determinar si el tejido foliar es consumido o no (Harborne 1997).

Desde la década de los setenta, los metabolitos secundarios carbonados (MSC), como los fenoles y los taninos, han sido considerados como una de las



barreras químicas más importantes de las plantas leñosas contra la herbivoría (Feeny 1970, Bryant y col. 1987). Hartley y Jones (1997) sugieren que “el mundo sería verde” porque la composición química de las plantas las haría un alimento pobre en calidad nutritiva para los herbívoros. Numerosas hipótesis explican los patrones de asignación de recursos a defensas químicas en plantas (Koricheva 2002). Por ejemplo, Berenbaum (1995) recopiló al menos 12 hipótesis que darían cuenta de estos patrones de asignación. Una de las hipótesis más populares, es la “Hipótesis del Balance Carbono-Nitrógeno” (HBCN) (Bryant y col 1983). Esta hipótesis postula que las variaciones fenotípicas en la concentración de MSC dentro de una especie estarían determinadas por la relación entre disponibilidad de carbono (relacionada directamente con la disponibilidad de luz) y de nutrientes (particularmente nitrógeno) existentes en el ambiente. Esta hipótesis predice que en hábitats sombríos, donde las plantas presentan una baja relación C/N, la baja tasa fotosintética causaría una disminución en la concentración de carbohidratos, y por ende, en la concentración de MSC. Por el contrario, en hábitats abiertos e iluminados, donde las plantas presentan una alta relación C/N, se acumularían carbohidratos en exceso de las demandas de crecimiento, y la concentración de MSC aumentaría. Estas diferencias en asignación a compuestos secundarios afectarían la susceptibilidad de las plantas a los herbívoros (Newbery y de Foresta 1985, Bryant y col. 1987, Harborne 1997). No obstante, es importante mencionar también, que algunos autores (e.g. Close y McArthur 2002) sugieren que los metabolitos secundarios actuarían como compuestos antioxidantes más

que defensivos, disminuyendo el daño lumínico en hábitats abiertos e iluminados.

Basándose en un total de 147 trabajos publicados entre 1975 y 1997, en donde se manipuló experimentalmente la disponibilidad de luz y/o de nitrógeno, Koricheva y col. (1998), encontraron que el efecto de la sombra sobre la concentración de algún tipo de metabolito secundario carbonado fue de casi cuatro veces mayor que el de la fertilización. Los MSC más sensibles a los cambios en estos recursos fueron aquellos productos terminales con muy bajo o nulo recambio metabólico como son los taninos condensados (ver también Reichardt y col. 1991, Herms y Mattson 1992). Sólo en un subconjunto pequeño de estos 147 trabajos recopilados, se examinaron las relaciones entre disponibilidad de luz, metabolitos secundarios carbonados, herbivoría y desempeño de plántulas arbóreas (e.g. Denslow y col. 1990, Dudt y Shure 1994, Hunter y Schultz 1995). Algunos de los aspectos menos entendidos de la interacción entre estos factores se discuten a continuación.

### **Relaciones entre luz, MSC, herbivoría y desempeño de plántulas**

Denslow y col. (1990) en un bosque tropical y Dudt y Shure (1994) en un bosque templado, encontraron que las plántulas arbóreas presentaban más MSC cuando crecían en claros del dosel (hábitats ricos en luz), en donde sufrían un menor daño foliar por herbivoría que bajo el dosel (hábitats pobres en luz). Sin embargo, los menores niveles de daño foliar en plántulas de hábitats ricos en luz podrían ser consecuencia de diferencias en otras variables del

hábitat que pueden afectar a los herbívoros. Por ejemplo, según algunos autores, la herbivoría por insectos sería mayor bajo el dosel que en los claros (Newbery y de Foresta 1985, Denslow 1987, Calvo-Irabién y Islas-Luna 1999) debido a que los factores microclimáticos de los hábitats abiertos son menos favorables para los insectos y estarían expuestos a mayor depredación (Shure y Philips 1991). En contraste, otros estudios han mostrado tendencias opuestas (e.g. Sipura y Tahvanainen 2000).

Denslow y col. (1990) y Dudt y Shure (1994) encontraron también que la tasa de crecimiento y sobrevivencia de plántulas fue mayor en claros del dosel que en el interior del bosque, en concordancia con el menor daño foliar observado en los hábitats abiertos. Sin embargo, debido a que los insectos herbívoros no fueron excluidos del estudio, no es posible concluir si las mayores tasas de crecimiento y sobrevivencia de plántulas en áreas abiertas, se deben sólo a la mayor disponibilidad de luz, a una reducción en los niveles de daño foliar, o a ambos factores en conjunto. La comparación entre hábitats contrastantes con y sin exclusión de insectos herbívoros sería importante, ya que reemplazar el tejido foliar perdido por herbivoría bajo el dosel cerrado, sería más costoso que en los claros, donde la tasa fotosintética y el crecimiento vegetativo es mayor (Denslow 1987, Denslow y Hartshorn 1994). Se puede postular entonces, que la herbivoría podría afectar el crecimiento y sobrevivencia de plántulas en el sotobosque más que en los claros (Coley y col. 1985), debido a la combinación del estrés por falta de luz y la herbivoría (Nuñez-Farfán y Dirzo 1985).

En la figura 1, se resumen las relaciones entre luz, MSC, daño foliar y desempeño de plántulas. En ella se observa que la luz y el daño foliar tienen un efecto positivo y negativo respectivamente sobre el desempeño de plántulas. También se observa, que la luz puede afectar indirectamente el desempeño de plántulas al aumentar la concentración de MSC en las hojas y reducir el daño foliar.

### **Régimen de perturbación natural del bosque templado tipo Valdiviano costero**

En contraste con la Cordillera de los Andes, los regímenes de perturbación del bosque templado tipo Valdiviano de la Cordillera de la Costa, extendido entre los 38 y 44° S, están determinados por perturbaciones generadas por la caída de uno o unos pocos árboles que forman claros que fluctúan en tamaño entre los 30 y 1000 m<sup>2</sup>, alcanzando un tamaño promedio de 200 m<sup>2</sup> (Armesto y Fuentes 1988). Este régimen de perturbación, que ocurre a escala del rodal, determina que estos bosques hayan sido descritos como bosques antiguos, próximos a una condición de estabilidad ("steady stage"), con predominio de especies sombra tolerantes de regeneración lenta tanto en el dosel como en el subdosel (Veblen y col. 1981, Bustamante y Armesto 1995). En particular, los bosques maduros de la Isla de Chiloé, presentan un banco de plántulas abundante en el sotobosque (Armesto y Figueroa 1987, Armesto y Fuentes 1988, Bustamante y Armesto 1995). Estas plántulas serían capaces de sobrevivir largos períodos en ambientes con baja luminosidad, pero también

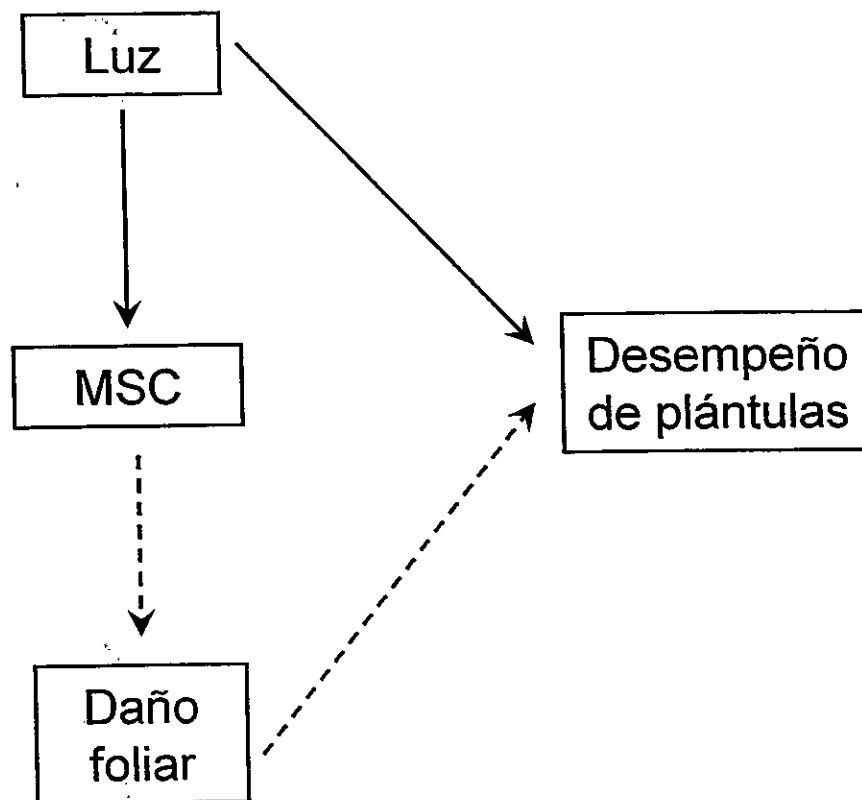
deberían presentar tolerancia al impacto de insectos herbívoros, a través de la posesión de defensas químicas. El efecto de insectos defoliadores sobre la formación y persistencia de este abundante banco de plántulas ha sido escasamente estudiado en nuestros bosques (ver Figueroa y Castro 2000).

Por lo tanto, una manera de determinar la medida en que las plántulas establecidas pueden persistir en diferentes etapas de la sucesión forestal, es estudiar la relación entre éstas y los herbívoros (Hartshorn 1978). Para definir la importancia real de la herbivoría en el sistema, es necesario realizar manipulaciones que permitan excluir a los herbívoros (Núñez-Farfán y Dirzo 1985). En esta tesis, se propuso un diseño experimental que considera la exclusión de insectos herbívoros para determinar si los niveles de daño foliar que caracterizan a las plántulas en los hábitats abiertos y ricos en luz (e.g. claros del dosel) son diferentes a los de plántulas de hábitats cerrados y pobres en luz, y si están mediados por las mayores concentraciones de MSC presentes en las hojas. De esta manera, se evaluó el supuesto rol defensivo de estos compuestos. En segundo lugar, se determinó si la apertura del dosel, el daño foliar y la interacción entre ambos factores afectan el crecimiento y sobrevivencia de plántulas arbóreas. En consecuencia, el objetivo principal de esta tesis fue investigar los efectos de la apertura del dosel y del daño foliar causado por insectos herbívoros sobre el crecimiento y sobrevivencia de plántulas arbóreas, y evaluar el rol defensivo de los MSC, particularmente fenoles totales y taninos condensados. Como modelo de estudio, se usaron plántulas de 3 meses de edad de la especie nómada o intolerante a la sombra

(*sensu* Martínez-Ramos 1985) *Drimys winteri* (Winteraceae) en dos hábitats del bosque con disponibilidad de luz contrastante: interior de bosque bajo dosel cerrado y claro del dosel. En particular, se abordaron las siguientes preguntas:

- (1) ¿Afecta la apertura del dosel la concentración de MSC (fenoles totales y taninos condensados) en plántulas de canelo?
- (2) ¿Mayores niveles de MSC reducen el daño foliar causado por insectos herbívoros?
- (3) ¿Cómo afecta la apertura del dosel, el daño foliar y la interacción entre ambos factores el crecimiento y sobrevivencia de plántulas de canelo en el bosque templado?

Para responder estas preguntas, se diseñó un experimento factorial de dos vías considerando la apertura del dosel (interior del bosque bajo dosel cerrado vs. claro del dosel) y la exclusión de insectos herbívoros (con y sin aplicación de insecticida) como factores, cuyo efecto fue evaluado sobre plántulas coetáneas de la especie *D. winteri* plantadas en un fragmento de bosque templado-lluvioso en el extremo norte de la Isla de Chiloé, Chile. Las variables respuestas medidas fueron concentración de MSC (fenoles totales y taninos condensados), daño foliar, crecimiento y sobrevivencia de plántulas durante un periodo de 16 meses.



**Figura 1.** Diagrama que resume las relaciones de causalidad entre las variables luz, MSC, daño foliar y desempeño de plántulas (crecimiento y sobrevivencia). Las líneas continuas representan efectos positivos mientras que las líneas discontinuas indican efectos negativos.

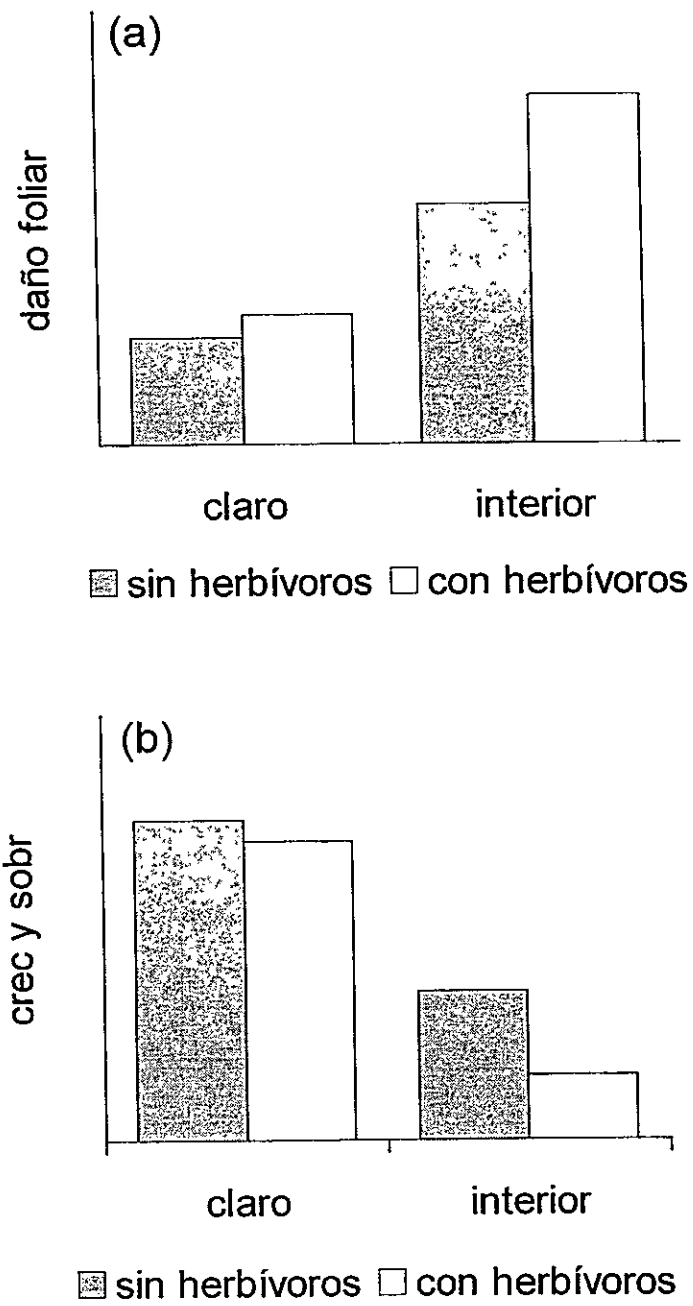
## Hipótesis de trabajo

1. Si la apertura del dosel afecta la concentración de MSC, entonces plántulas de canelo situadas en hábitats pobres en luz (interior del bosque) presentarán menos MSC que las situadas en hábitats ricos en luz (claro del dosel).

2. Si los MSC actúan como defensas químicas contra los insectos herbívoros, entonces en hábitats ricos en luz, es decir, en el claro del dosel, plántulas sin y con exclusión de herbívoros debieran sufrir un daño foliar bajo y similar. En contraste, en hábitats pobres en luz, es decir, en el interior del bosque, plántulas con herbívoros sufrirían un daño foliar mayor que las sin herbívoros (Figura 2a).

3. Si el daño foliar reduce el crecimiento y sobrevivencia de plántulas, entonces en el claro del dosel, donde habría un menor daño foliar, plántulas sin y con exclusión de herbívoros debieran tener un crecimiento y sobrevivencia alto y similar. En contraste, en el interior del bosque, plántulas con herbívoros tendrían un desempeño menor que las sin herbívoros (Figura 2b).





**Figura 2.** Representación gráfica de los resultados esperados según las Hipótesis 2 (a) y 3 (b).

## Objetivos Específicos

1. Evaluar si la concentración de MSC en plántulas de canelo varía entre hábitats que difieren en apertura del dosel.
2. Evaluar experimentalmente si la relación entre apertura del dosel y diferencias en daño foliar están mediadas por la concentración de MSC presentes en las hojas de plántulas de canelo.
3. Evaluar experimentalmente si la apertura del dosel, el daño foliar y la interacción entre ambos factores afectan el crecimiento y sobrevivencia de plántulas de canelo.

Como una forma de evaluar si los patrones de daño foliar observados en el interior del bosque y en el claro del dosel no están determinados necesariamente por la cantidad de MSC presentes en las hojas de las plántulas, sino por diferencias en otras variables del hábitat, se plantearon dos objetivos específicos complementarios, los cuales se muestran a continuación.

4. Determinar en condiciones de laboratorio a través de una prueba de "cafetería", si el herbívoro generalista *Helix aspersa* es sensible a las diferencias en la cantidad de MSC presentes en hojas crecidas en hábitats con diferente apertura del dosel.

5. Determinar si la biomasa de insectos herbívoros varía entre el interior del bosque y el claro del dosel a través de dos métodos de colecta.

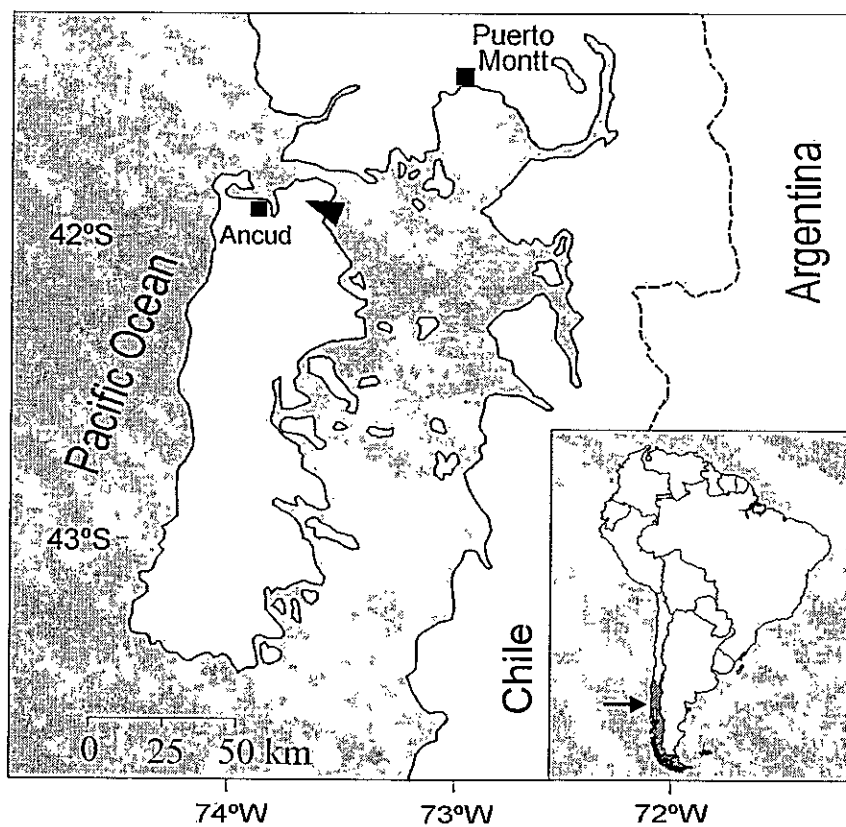
## MATERIALES Y METODOS

### 1. Sitio de estudio

El estudio se realizó en un parche remanente de bosque templado lluvioso tipo Valdiviano de 20 ha ubicado en la esquina nor-este de la Isla de Chiloé (41° 53'S), aproximadamente a 20 km de la ciudad de Ancud y a una elevación de 80 m.s.n.m (Figura 3). El fragmento de bosque estudiado se encuentra conectado a un fragmento de bosque continuo que supera las 100 ha, el cual es representativo de los bosques primarios que en el pasado cubrieron la mayoría de la isla (Willson y col. 1994, Willson y Armesto 1996). El clima del área de estudio es de tipo templado húmedo con fuerte influencia oceánica (Di Castri y Hajek 1976). Según los registros meteorológicos de la Estación Biológica "Senda Darwin" (41° 51'S), el promedio anual de temperatura y de precipitaciones es de 12° C y de 2090 mm, respectivamente (Aravena y col. 2002).

El sitio de estudio se encuentra dominado por especies arbóreas siempreverdes de hoja ancha típicas del bosque Valdiviano tales como *Laureliopsis philippiana*, *Drimys winteri*, *Amomyrtus luma*, *A. meli*, encontrándose también árboles emergentes de *Nothofagus nitida* y *Eucryphia*

*cordifolia*. El margen o borde del bosque consiste en un cinturón angosto (5 - 10 m) de árboles pioneros, dominado por juveniles de *D. winteri* de 5 - 10 m de altura combinado con vegetación arbustiva (< 5 m de altura). El dosel del parche boscoso exhibe algunos claros de tamaño mediano (110 - 210 m<sup>2</sup>), la mayoría creados por la caída natural de árboles, y en algunos casos por árboles cortados por los dueños. A diferencia de lo que se observa en la Cordillera de los Andes, la dinámica de regeneración de este tipo de bosque está determinada mayoritariamente por la formación de claros (Veblen y Alaback 1996, Veblen y col. 1996, Gutiérrez y col. 2004), y no por perturbaciones masivas como erupciones volcánicas o derrumbes (Veblen 1985, Armesto y Figueroa 1987, Armesto y Fuentes 1988, Bustamante y Armesto 1995).



**Figura 3.** Mapa de ubicación del sitio de estudio. La flecha indica la posición geográfica de la estación Biológica "Senda Darwin". El fragmento de bosque estudiado se encuentra a 13 kilómetros al SE de la estación. En el mapa inserto se muestra también la distribución geográfica de los bosques templados lluviosos de Sudamérica (área sombreada).

## 2. Historia natural de la especie en estudio

*Drimys winteri* J.R. et G. Forster (Winteraceae) es una especie leñosa muy abundante en el área de estudio en bosques primarios y secundarios. En el bosque Valdiviano estudiado alcanza una densidad relativa de 14,5% (Díaz y col. 1999), y valores mayores al 50% en sitios sucesionales tempranos (Armesto, com. pers.). Esta especie se distribuye entre el río Limarí y el Cabo de Hornos, a diferentes alturas sobre el nivel del mar, hasta 1200 m. Su zona de crecimiento óptima es precisamente en Chiloé (Hoffmann 1997), donde forma densos bosques de renovales y árboles maduros. Es un árbol de tronco recto y cilíndrico, que alcanza unos 30 m de altura y hasta 1 m de diámetro (Figura 4). La madera del tronco está constituida por traqueidas como las coníferas, lo que convierte al canelo y a las Winteráceas en general, como una de las familias más primitivas en las angiospermas. Los frutos dispersados por aves, son bayas verde/negruzcas alargadas, solitarias o reunidas en grupos estrellados de hasta ocho sobre un pedúnculo. El requerimiento lumínico promedio requerido por esta especie en una escala de 1 a 100% de apertura del dosel es de 8,8% (Figuroa y Lusk 2001), reclutando bien en claros de tamaño intermedio (200 - 400 m<sup>2</sup>) (Veblen y Alaback 1996). El hecho que se observen plántulas en el interior de los rodales siempreverdes (Armesto y Figuroa 1987); y su capacidad colonizadora después de perturbaciones (Aravena y col. 2002) indica que es una especie generalista en cuanto a su requerimiento de luz.



**Figura 4.** Foto de un individuo juvenil de *Drimys winteri* (Winteraceae) creciendo en el borde de un fragmento de bosque ubicado en la Estación Biológica “Senda Darwin”, X Región, Chile.

### 3. Hábitats estudiados

En esta tesis, se compararon plántulas en dos hábitats propios de la heterogeneidad natural de los bosques: interior del bosque bajo dosel cerrado y un claro del dosel formado por la caída de árboles. Dada la importancia que tiene la formación de claros en la dinámica de bosques en el Archipiélago de



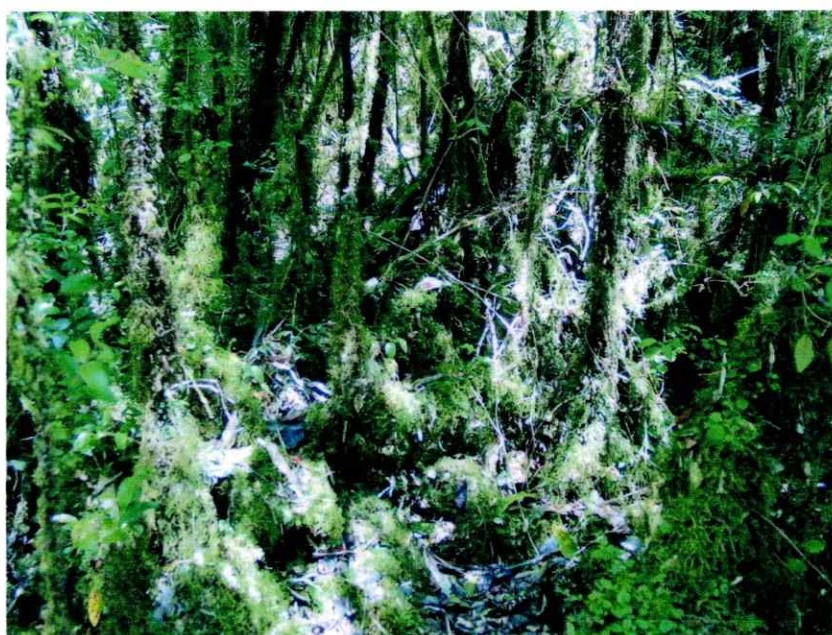
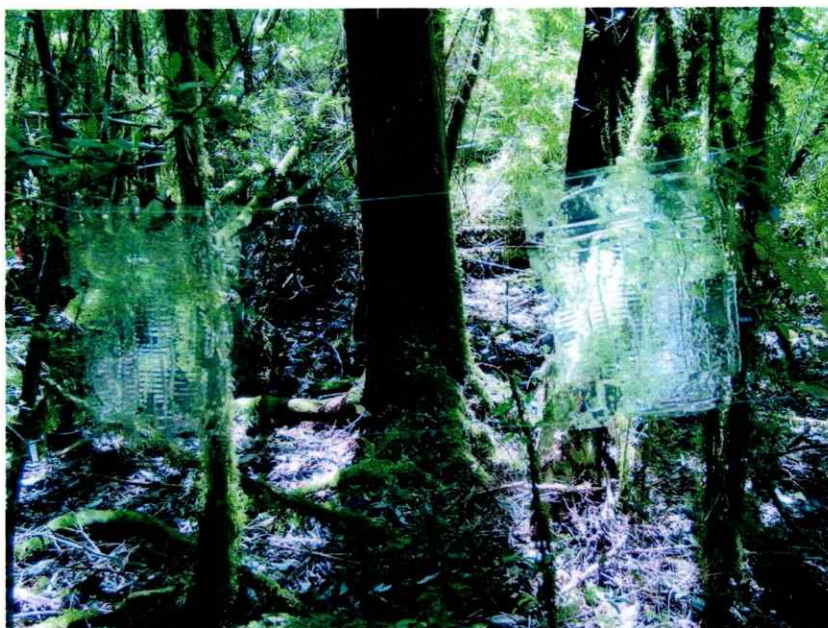
Chiloé, consideré interesante evaluar las consecuencias ecológicas de este tipo de perturbación en la dinámica poblacional de plántulas de la especie *Drimys winteri*, la cual es capaz de establecerse en un rango amplio de condiciones de hábitat y es relativamente abundante en bosques del sector. La descripción de los dos hábitats comparados es la siguiente:

- (a) **Interior del bosque bajo dosel cerrado:** zona bajo el dosel continuo, que recibe menos del 10% de luz solar directa, y que se encuentra a más de 100 m del borde más cercano (Figura 5). El dosel arbóreo está dominado por árboles de 20 a 25 m de altura, algunos de los cuales presentan un diámetro a la altura del pecho  $> 30$  cm, indicando una edad entre 100 y 300 años, lo que confirma que el fragmento es un remanente de bosque primario (Díaz y col. 1999), donde no se observan señales de perturbación a escala del rodal.
- (b) **Claros del dosel:** aperturas del dosel arbóreo que tienen un tamaño promedio de  $150 \text{ m}^2$ , que reciben luz solar directa y que han sido formados en los últimos 5 años por la caída natural de uno o más árboles (Figura 6). Este tamaño de claro puede considerarse como mediano y es un tamaño frecuente en los fragmentos de bosque del sector, el que oscila entre  $100$  y  $300 \text{ m}^2$  (Armesto y Fuentes 1988, Bustamante y Armesto 1995).

En ambos hábitats ocurre dispersión de semillas de *D. winteri*, como ha sido documentado por Armesto y col. (2001). La importancia relativa de adultos y la abundancia de plántulas estimada como porcentaje (%) y como densidad (individuos / m<sup>2</sup>) en cada uno de los dos hábitats descritos anteriormente se muestra en la Tabla 1. Ninguna de las dos medidas de abundancia difirió significativamente entre hábitats (Prueba de Proporciones,  $Z = 0,42$ ;  $p > 0,05$  y Prueba de Wilcoxon,  $U = 0,424$ ;  $p = 0,671$ , respectivamente), aunque tendió a ser levemente mayor en el claro del dosel (Tabla 1). En este hábitat, las plántulas de *D. winteri* fueron la que alcanzaron la mayor abundancia relativa (50%), mientras que en el interior de bosque alcanzaron el segundo lugar (38,1%) después de *Amomyrtus* spp. (57,2%) (Tabla 1).

**Tabla 1.** Importancia Relativa de individuos adultos y abundancia de plántulas estimada como porcentaje (%) y densidad (individuos / m<sup>2</sup>) de *D. winteri* y otras especies arbóreas en cada uno de los dos hábitats estudiados en un fragmento de bosque ubicado en el sector norte de la isla de Chiloé, X Región. La importancia relativa de los adultos fue obtenida de Armesto y col. (2001) y la abundancia de plántulas fue determinada en este estudio durante la estación de verano 2003 a través de 20 cuadrantes (10 por hábitat) de 50 x 50 cm. Los cuadrantes fueron ubicados a un costado de los puntos en los cuales se encontraban las plántulas experimentales. Se muestran las medias  $\pm$  1 EE.

Medida de Abundancia	Especie	Interior de bosque	Borde de claro
<b>Adultos</b>			
Importancia Relativa (%) (N/ha)	<i>Drimys winteri</i>	19	26
	<i>Amomyrtus</i> spp.	23	38
	<i>Laureliopsis philippiana</i>	39	36
	<i>Nothofagus nitida</i>	3	0
	Otras especies arbóreas	16	0
<b>Plántulas</b>			
Porcentaje (%)	<i>Drimys winteri</i>	38,1	50,0
	<i>Amomyrtus</i> spp.	57,2	44,4
	<i>Gevuina avellana</i>	4,8	5,6
Densidad (individuos/m <sup>2</sup> )	<i>Drimys winteri</i>	3,2 $\pm$ 2,0	3,6 $\pm$ 1,4
	<i>Amomyrtus</i> spp.	4,8 $\pm$ 2,3	3,2 $\pm$ 1,6
	<i>Gevuina avellana</i>	0,4 $\pm$ 0,4	0,4 $\pm$ 0,4



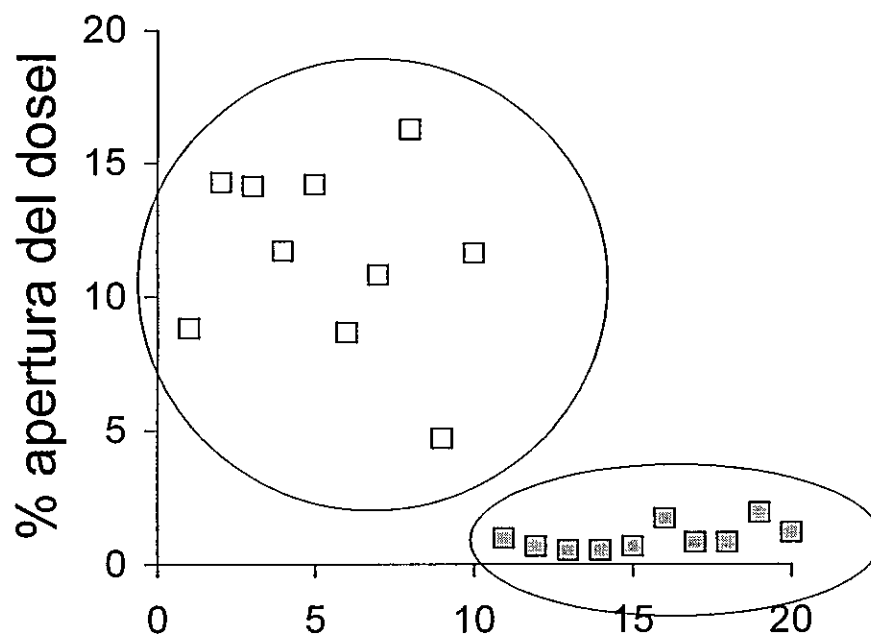
**Figura 5.** Dos visiones del hábitat de interior en un fragmento de bosque tipo Valdiviano en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región, Chile.



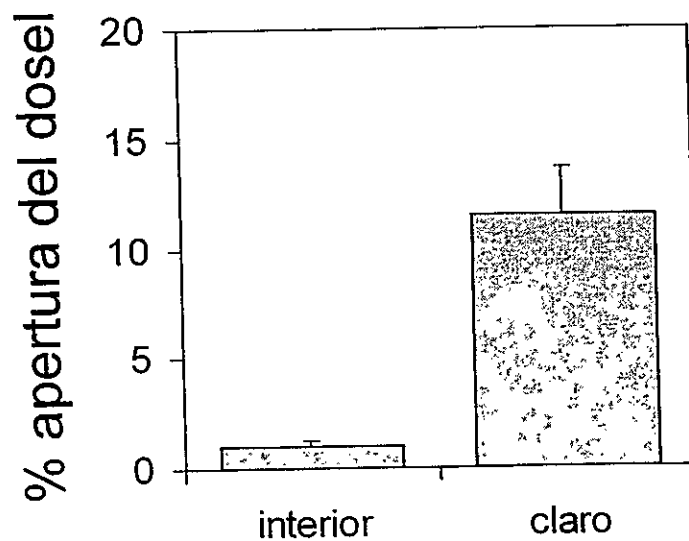


**Figura 6.** Visión de la apertura del dosel producida por la caída natural de uno o más árboles (arriba) y del piso del claro (abajo) en un fragmento de bosque tipo Valdiviano en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región, Chile. Nótese los numerosos juveniles de *D. winteri* que se encuentran creciendo en el claro.

Los dos hábitats fueron caracterizados en cuanto a su porcentaje de apertura del dosel, para lo cual se utilizaron dos Analizadores del Dosel LAI-2000 (Licor, Lincoln, Nebraska, USA). El porcentaje de apertura del dosel sobre un punto dado, se determinó comparando dos lecturas simultáneas, una dentro del bosque y la otra con el segundo analizador colocado en un lugar abierto fuera del bosque. Se ha mostrado que las medidas de apertura del dosel utilizando el analizador LAI-2000 son un buen indicador de la variación total diaria de PPF (Photosynthetic Photon Flux Density) en ambientes de interior de bosque (Machado y Reich 1999, Figueroa y Lusk 2001). En cada uno de los dos hábitats y durante la estación de verano del 2002, se tomaron 10 mediciones a una altura de 50 cm sobre el suelo, altura que corresponde a la intensidad de luz recibida por las plántulas (Brothers y Spingarn 1991). El porcentaje de apertura del dosel osciló en el hábitat de claro entre un 4,7% y un 16,3%, mientras que en el hábitat de interior, la fluctuación fue bastante menor, y osciló entre 0,5% y 1,9% (Figura 7). El porcentaje promedio de apertura del dosel difirió significativamente entre hábitats (Prueba t de Student,  $t = 12,444$ ; g.l. = 18;  $p = 0,001$ ), siendo más de un orden de magnitud mayor en el claro del dosel estudiado que en el interior del bosque bajo dosel cerrado (Figura 8). Los porcentajes de apertura del dosel reportados en esta tesis (2% en el interior vs. 12% en el claro) son prácticamente idénticos a los reportados en bosques de la Estación Biológica de La Selva en Costa Rica, donde se ha determinado un porcentaje de luz incidente entre 1-2% bajo el dosel y de un 9% en el centro de un claro de 200 m<sup>2</sup> (Denslow y col. 1990).



**Figura 7.** Porcentaje de apertura del dosel arbóreo medido en los distintos puntos seleccionados en un claro del dosel (cuadrados blancos: puntos del 1-10) y en el interior del bosque (cuadrados grises: puntos del 11-20) en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región. Las medidas se hicieron a 50 cm sobre el nivel del suelo utilizando un analizador del dosel LAI-2000.

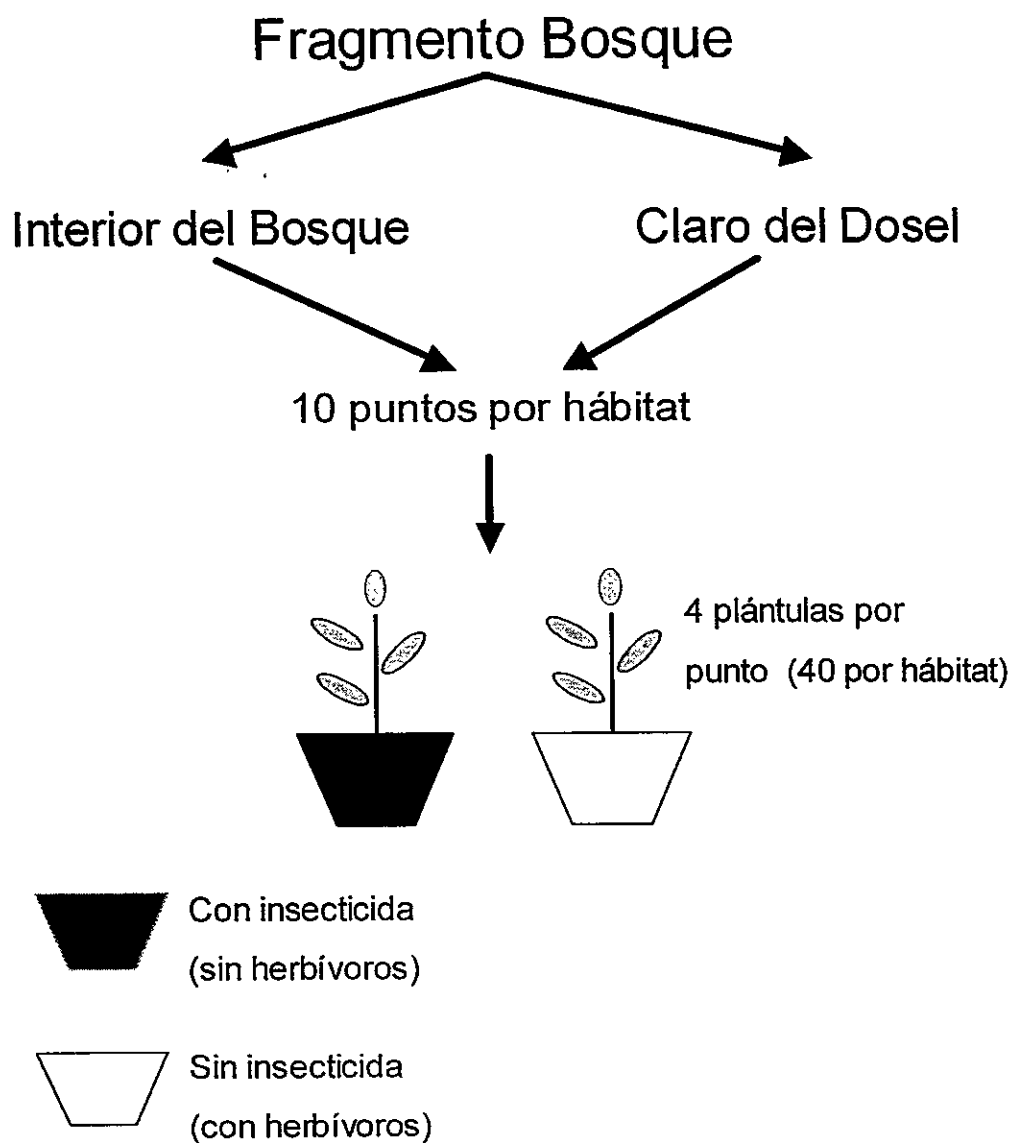


**Figura 8.** Porcentaje promedio de apertura del dosel arbóreo medido en el interior del bosque y en un claro del dosel en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región. Las barras muestran las medias + 1 EE. Se detectaron diferencias significativas (Prueba t de Student,  $p < 0,05$ ).



#### 4. Diseño experimental

En cada uno de los dos tipos de hábitats descritos, se eligieron 10 puntos al azar, en los cuales se colocaron cuatro plántulas de aproximadamente 3 meses de edad, las que tenían una altura inicial de  $3,0 \pm 0,1$  cm (promedio  $\pm$  1 EE) (Figura 9). Las plántulas fueron obtenidas en un invernadero a partir de semillas. Para ello, se recolectaron semillas sanas durante el periodo de dispersión (marzo-abril) a partir de árboles de tamaño similar y sujetos a condiciones ambientales equivalentes en el mismo bosque en el cual se trabajó. Las semillas fueron sembradas en un invernadero en cajas de germinación conteniendo una mezcla de suelo y arena, y luego se transplantaron a maceteros individuales de 20 x 20 cm conteniendo suelo homogeneizado previamente. La utilización de maceteros individuales los cuales contaban con orificios de drenaje en su parte inferior, se hizo principalmente con tres propósitos: primero, controlar el efecto que podría tener el nitrógeno disponible en el suelo, el cual de acuerdo a la Hipótesis del Balance C/N, puede afectar también la concentración de MSC; segundo, disminuir la competencia con plántulas vecinas; y tercero, estandarizar las condiciones de suelo entre los dos hábitats. Una vez que las plántulas alcanzaron los dos meses de edad, fueron aclimatadas por un mes en el exterior del invernadero, y luego transportadas al sitio de estudio en diciembre de 2001. En cada uno de los hábitats, los maceteros fueron enterrados en el suelo a una profundidad de 10 cm (Figura 10).



**Figura 9.** Esquema del diseño factorial de 2 x 2 utilizado para poner a prueba las hipótesis planteadas en esta tesis.

Con el propósito de excluir a los insectos herbívoros, a la mitad de las plántulas, se les aplicó mensualmente, el insecticida de uso comercial Dimetoato *plus* + Piretrina ® (Agrícola Nacional, Santiago, Chile), que es tanto un insecticida sistémico que es absorbido por la planta a través de las raíces y movilizado hacia las hojas, y también un insecticida de contacto o repelencia de amplio espectro, con lo cual se logra el control de una amplia gama de insectos chupadores y masticadores (Figura 11). El tiempo de traslocación del insecticida desde las raíces hacia las hojas es de aproximadamente 24 a 48 h y tiene un efecto residual de 20 a 25 días en el tejido foliar de la planta (ANASAC, comunicación personal). Se utilizó una dilución de 10 ml de insecticida por litro de agua y se aplicó mediante un pulverizador. La otra mitad de las plántulas se utilizó como control y se le aplicó agua solamente. La aplicación siempre fue realizada en días soleados o nublados, y no en días lluviosos. Si llovía al día siguiente de la aplicación, el producto se volvía a aplicar. Lambdon y Hassal (2001) han sugerido que los insecticidas actuarían de una manera similar al de los metabolitos secundarios presentes en las plantas.



**Figura 10.** Plántulas de *D. winteri* ubicadas en el interior del bosque (arriba) y en el claro del dosel (abajo) en un fragmento de bosque tipo Valdiviano en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región, Chile. Las escalas entre ambas fotos no son iguales.



**Figura 11.** Foto del insecticida sistémico y de contacto de amplio espectro y del pulverizador utilizado para excluir a los insectos herbívoros en los dos hábitats estudiados en un fragmento de bosque tipo Valdiviano en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región, Chile.

Con el fin de evaluar si la disponibilidad de agua del suelo al interior de los maceteros varía entre hábitats debido a las diferencias en exposición a la luz, se determinó a través del método gravimétrico, el porcentaje de humedad del suelo en muestras de suelo (10 por hábitat) tomadas desde los mismos maceteros sin perturbar a las plántulas durante las cuatro estaciones del año (verano = enero 2002, otoño = abril 2002, invierno = junio 2002, y primavera = octubre 2002). Diferencias en la humedad del suelo podrían afectar también, las variables respuestas de interés tales como daño foliar, crecimiento y sobrevivencia. Se realizó un análisis de varianza con medidas repetidas, que arrojó como resultado que el porcentaje de humedad del suelo no fue afectado significativamente por el hábitat (Tabla 2), pero sí por la estación del año que fue considerada como medida repetida y por la interacción hábitat - estación (Tabla 2). En la Tabla 3, se muestran los porcentajes de humedad promedio obtenidos en cada una de las cuatro estaciones en los hábitats de interior y claro. Al considerar el promedio entre las cuatro estaciones, tampoco se observaron diferencias significativas entre hábitats (Prueba t de Student,  $t = 1,863$ ; g.l. = 18;  $p = 0,078$ ) (Tabla 3).

**Tabla 2.** Análisis de Varianza con medidas repetidas evaluando el efecto del hábitat (% de apertura del dosel) sobre el porcentaje de humedad del suelo de los maceteros ubicados en el interior del bosque y en un claro del dosel en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región. En cada estación, se tomaron 10 muestras por hábitat.

<b>Fuente</b>	<b>g.l.</b>	<b>C.M.</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Entre tratamientos</b>				
Hábitat (HA)	1	0,0073	3,60	0,007
Error	18	0,0020		
<b>Dentro tratamientos</b>				
Estación (ES)	3	0,0222	11,79	0,001
HA x ES	3	0,0262	13,94	0,001
Error	54	0,0018		

**Tabla 3.** Porcentaje de humedad del suelo de los maceteros ubicados en el interior del bosque y en un claro del dosel en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región durante las distintas estaciones del año. Para cada hábitat, se muestra además, el promedio obtenido entre las cuatro estaciones del año. Las medias se muestran con  $\pm 1$  EE.

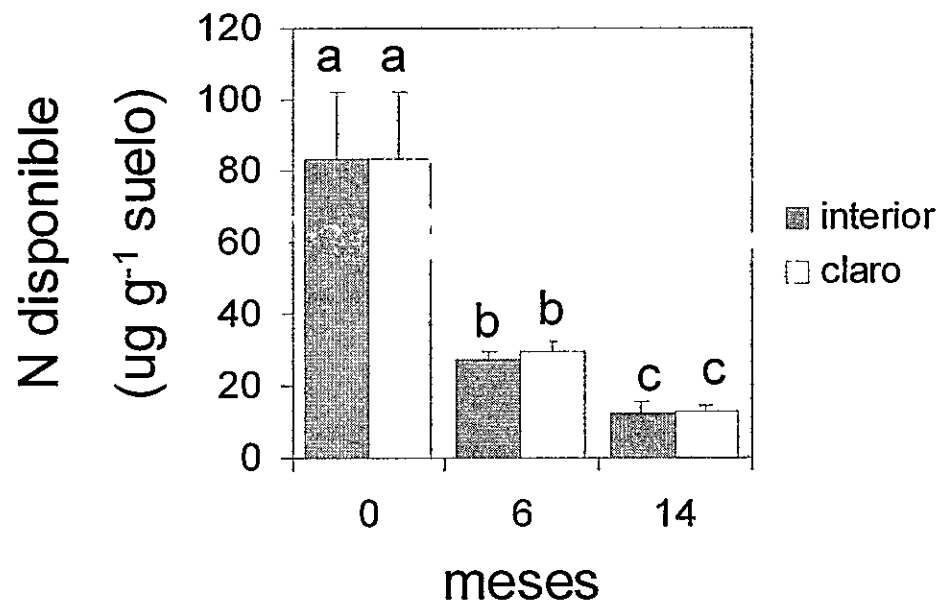
<b>Hábitat</b>	<b>Verano</b>	<b>Otoño</b>	<b>Invierno</b>	<b>Primavera</b>	<b>Promedio</b>
Interior	54,7 $\pm$ 1,5	51,0 $\pm$ 0,7	50,8 $\pm$ 0,6	53,7 $\pm$ 0,6	52,6 $\pm$ 0,4
Claro	53,8 $\pm$ 1,0	63,4 $\pm$ 3,0	47,7 $\pm$ 0,9	52,7 $\pm$ 0,9	54,4 $\pm$ 0,9

Por otra parte, si bien al inicio del experimento las plántulas situadas en cada uno de los hábitats fueron plantadas en maceteros individuales utilizando un suelo homogéneo, la cantidad de nitrógeno inorgánico (amonio + nitrato) podría variar en el transcurso del experimento por ejemplo, debido a diferencias en la cantidad de hojarasca depositada entre hábitats o a tasas de mineralización diferenciales entre el claro y el interior del bosque. Para evaluar si la cantidad de nitrógeno inorgánico varió a lo largo del tiempo, se tomaron 10 muestras de suelo por hábitat al inicio del experimento, 6 y 14 meses después de iniciado éste. Las muestras se extrajeron con una solución de  $KAl(SO_4)_2$  al 1% y determinada a través de micro destilación fraccionada. La cantidad de nitrógeno inorgánico disponible en el suelo de los maceteros varió significativamente entre una estación y otra (Tabla 4), variando entre  $83,3 \text{ ug g}^{-1}$  de suelo seco al inicio del experimento y  $12,3 \text{ ug g}^{-1}$  de suelo seco después de transcurridos 14 meses (Figura 12). Sin embargo, en cada una de las fechas en que se evaluó la disponibilidad de nitrógeno inorgánico, no se detectaron diferencias significativas entre hábitats (Tabla 4 y Figura 12).



**Tabla 4.** Análisis de Varianza de dos vías evaluando el efecto del hábitat (% de apertura del dosel) y del tiempo de muestreo sobre la cantidad de nitrógeno inorgánico disponible (amonio + nitrato) en el suelo de los maceteros ubicados en el interior del bosque y en un claro del dosel en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región.

Fuente	g.l.	C.M.	F	P
Hábitat (HA)	1	0,0062	0,176	0,676
Tiempo (TI)	2	3,3743	95,855	0,001
HA x TI	2	0,0018	0,053	0,948
Error	54	0,0352		



**Figura 12.** Cantidad de nitrógeno inorgánico disponible (amonio + nitrato) en el suelo de los maceteros ubicados en el interior del bosque y en un claro del dosel en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región. Las muestras de suelo fueron obtenidas al inicio del experimento, 6 y 14 meses después de iniciado éste. Las barras muestran las medias + 1 EE. Barras con letras diferentes difieren significativamente (prueba *a posteriori* de Tukey,  $p < 0,05$ ).





## 5. Mediciones en terreno

Cada dos meses y durante 16 meses consecutivos (diciembre 2001 – abril 2003), se verificó el daño foliar atribuible a insectos herbívoros, el crecimiento (incremento en altura del tallo y en el número de hojas) y la sobrevivencia en cada una de las plántulas en los distintos hábitats.

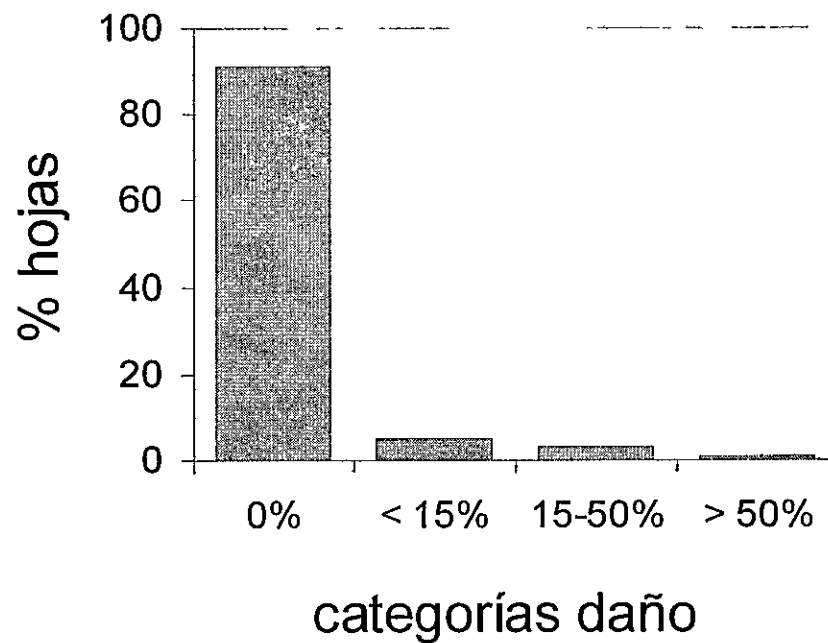
### 5.1. Daño foliar

Para estimar el daño foliar, durante cada evento de muestreo, se contó en cada una de las plántulas, el número total de hojas, asignando a cada una de ellas, una categoría de daño foliar: categoría 0 (sin daño), categoría 1 (< 15% daño), categoría 2 (15,1 – 50% daño), y categoría 3 (> 50,1% de daño) (Figura 13). Estas categorías son una simplificación de aquellas propuestas por Núñez-Farfán y Dirzo (1985). Se consideró como daño, la remoción de biomasa de hojas atribuible a invertebrados defoliadores (principalmente insectos), y no se consideró como daño por herbívoros, las manchas necróticas y cloróticas, que sugieren ataque de microorganismos patógenos (Nava y del Amo 1985). Durante los 16 meses de monitoreo, las hojas de las plántulas que no presentaron daño, fue mucho mayor que el porcentaje de hojas que presentó algún tipo de daño foliar (Figura 14). La categoría 0 de daño, es decir, aquellas hojas que no presentaron ningún daño foliar, representaron el 95% de la variación total entre los dos hábitat (Análisis de Componentes Principales), mientras que el resto de las categorías representaron solamente el 5% de la

variación, es decir, sólo el 5% de las hojas fueron dañadas. Por lo tanto, para el análisis final de la información, se consideró a las hojas como “dañadas” o “no dañadas”, determinándose el porcentaje de hojas dañadas por plántula durante cada una de las fechas de muestreo, para lo cual se utilizó un Análisis de Varianza de dos Vías con Medidas Repetidas (Zar 1996), luego de probar los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas utilizando las pruebas de Shapiro-Wilks y de Bartlett, respectivamente. Los datos fueron transformados según correspondió cuando la condición de normalidad no se cumplió, como fue en este caso, en el cual se utilizó la transformación del arcoseno por tratarse de frecuencias (Zar 1996). Finalmente, se llevaron a cabo comparaciones múltiples utilizando la prueba *a posteriori* de Newman-Keuls. Por otra parte, se determinó el porcentaje total de hojas dañadas por plántula, variable respuesta que fue analizada usando un Análisis de Varianza de dos Vías y una prueba *a posteriori* de Tukey.

Categoría de daño foliar	Foto
Categoría 0 Sin daño	
Categoría 1 < 15 %	
Categoría 2 15,1 – 50%	
Categoría 3 > 50,1%	

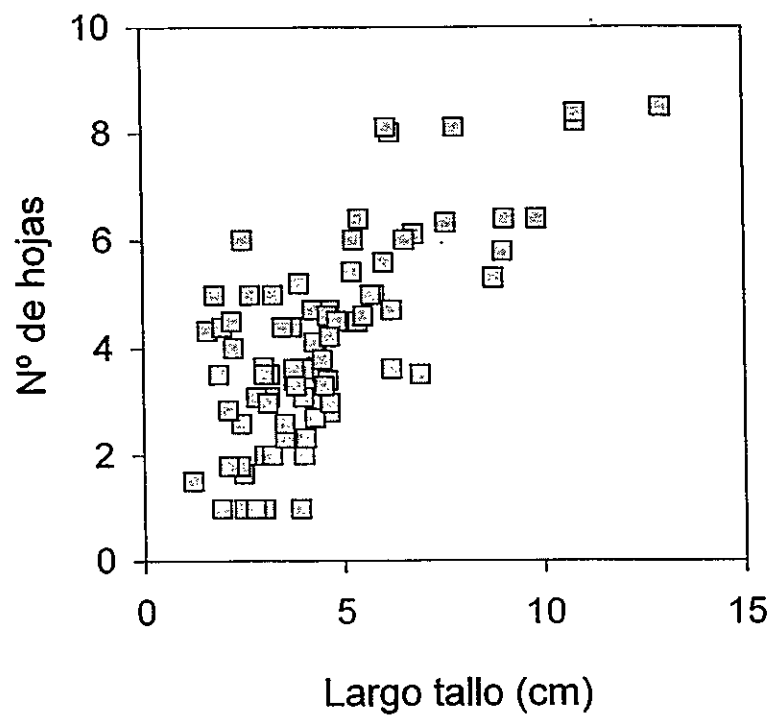
**Figura 13.** Categorías de daño foliar asignadas a cada una de las hojas de las plántulas durante cada evento de muestreo.



**Figura 14.** Porcentaje total de hojas analizadas en los dos hábitats y clasificadas en cada una de las siguientes categorías de daño: Categoría 0: sin daño, Categoría 1: < 15% del área foliar perdido, Categoría 2: 15,1 - 50% del área foliar perdido, y Categoría 3: > 50,1% del área foliar perdido.

## 5.2. Crecimiento de plántulas

El crecimiento de las plántulas se evaluó a través del incremento en altura de los tallos y en el incremento en el número de hojas. Para ello, durante cada muestreo, se midió la longitud del tallo y se contó el número de hojas. Dado que se observó una correlación positiva y significativa entre la longitud promedio de los tallos y el número promedio de hojas (Correlación de Pearson,  $r = 0,75$ ;  $p < 0,05$ ) (Figura 15), el crecimiento se evaluó sólo a través del incremento en altura, pues como se verá más adelante, se recolectaron hojas de las plántulas a lo largo del transcurso del experimento, lo que podría afectar la estimación del número de hojas nuevas producidas. El incremento en altura de los tallos fue evaluado a lo largo del tiempo, para lo cual se utilizó un Análisis de Varianza de dos Vías con Medidas Repetidas y a través de la determinación de la tasa de crecimiento relativa de los tallos ( $TCR_t$ ) (Hunt 1982), que se calculó utilizando la siguiente ecuación (Hutchings 1997):  $TCR_t = \ln(\text{longitud final}) - \ln(\text{longitud inicial}) / \Delta_t$  (meses) y que asume que el crecimiento es lineal. La  $TCR_t$  fue evaluada a través de un Análisis de Varianza de dos Vías y una prueba *a posteriori* de Tukey.



**Figura 15.** Correlación entre la longitud promedio de los tallos y el número promedio de hojas en plántulas de *D. winteri* crecidas en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región.



### 5.3. Supervivencia de plántulas

La supervivencia de plántulas fue estimada como una variable respuesta dicotómica (plántula muerta = 0 ó plántula viva = 1) y se analizó utilizando un "Modelo Lineal Binomial con Logit" (Statistica StatSoft Inc. 1998), el cual consiste en una regresión logística que permite ver el efecto de dos o más factores y su interacción sobre una variable binomial o dicotómica. Los factores considerados fueron los siguientes: hábitat (interior o claro), exclusión o libre acceso de insectos herbívoros (con y sin insecticida), y tiempo (meses de muestreo). Una plántula se consideró muerta cuando se observó la senescencia de sus hojas y en muchos casos la caída de éstas. Finalmente, para analizar el porcentaje final de plántulas vivas, se hizo una prueba para comparaciones múltiples entre proporciones y prueba *a posteriori* de Tukey (Zar 1996).

## 6. Determinación de metabolitos secundarios carbonados (MSC)

Para analizar la relación entre los niveles de daño foliar producido por insectos herbívoros y las concentraciones de MSC (fenoles totales y taninos condensados) de las hojas, se recolectaron hojas de las plántulas situadas en el interior del bosque y en el claro del dosel en dos estaciones del año (invierno = junio 2002 y verano = febrero 2003). En cada uno de estos dos periodos de tiempo, se recolectó un máximo de 20 hojas por hábitat (una hoja por plántula). Sin embargo, nunca se llegó a este máximo debido a la muerte de algunas plántulas durante el transcurso del experimento o a que había algunas plántulas

que sólo tenían una hoja. Se tuvo especial cuidado en tomar hojas de apariencia, edad y posición semejantes con el propósito de reducir al máximo la variación microespacial. Las hojas fueron puestas en bolsas plásticas y guardadas en el refrigerador hasta realizar las mediciones correspondientes. Se colectaron indistintamente hojas de plántulas tratadas y no tratadas con insecticida. No se encontraron diferencias significativas en la concentración de fenoles totales y taninos condensados entre hojas con y sin insecticida en ninguna de las dos estaciones y hábitats considerados (Tabla 5), por lo que es posible concluir que el insecticida no habría tenido un efecto sobre la concentración de estos compuestos.

**Tabla 5.** Porcentaje de fenoles totales y taninos condensados obtenido de muestras de hojas de plántulas de *D. winteri* con y sin insecticida crecidas en el interior del bosque y en un claro del dosel en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región. Las medias se muestran con  $\pm 1$  EE.

		% Fenoles invierno	% Fenoles verano	% Taninos invierno	% Taninos verano
<b>Interior</b>	<b>CI</b>	5.6 $\pm$ 0.8	10.1 $\pm$ 1.5	2.8 $\pm$ 0.9	3.0 $\pm$ 0.9
	<b>SI</b>	6.6 $\pm$ 1.2	8.1 $\pm$ 1.4	5.0 $\pm$ 1.6	4.1 $\pm$ 1.8
	<b>prueba de t</b>	-0.406	1.080	-0.973	-0.246
	<b>P</b>	0.689	0.294	0.343	0.807
<b>Claro</b>	<b>CI</b>	11.6 $\pm$ 2.0	19.1 $\pm$ 2.9	5.8 $\pm$ 2.6	9.4 $\pm$ 2.0
	<b>SI</b>	10.1 $\pm$ 1.4	19.7 $\pm$ 3.0	9.3 $\pm$ 2.2	5.9 $\pm$ 1.9
	<b>prueba de t</b>	0.591	-0.164	-1.210	1.276
	<b>P</b>	0.561	0.871	0.241	0.218

Para la determinación de fenoles totales y taninos condensados, se utilizaron los métodos de Folin-Denis (Swain y Hillis 1959) y de Proantocianidina (Bate-Smith 1977) respectivamente, siguiendo los protocolos descritos en Martin y Martin (1982) y Mole y Waterman (1987). Ambos métodos son colorimétricos y se basan en la formación de una solución coloreada a la cual se le mide la absorbancia con un espectrofotómetro a una determinada longitud de onda.

Para llevar a cabo la determinación de ambos tipos de MSC, las hojas fueron secadas individualmente a 35° C por 48 horas, y luego fueron molidas. Esta baja temperatura de secado previene la denaturización de los MSC (Swain 1979, Hagerman 1988). Se tomaron 50 mg de hoja molida seca y se realizaron 2 extracciones consecutivas de 10 minutos cada una en 20 ml de metanol al 50% (v/v) a 95° C en un baño termo-regulado.

#### ***Método de Folin-Denis***

- 1 ml extracto
- 5 ml Reactivo Folin
- 10 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2 M
- Absorbancia 760 nm

#### ***Método de Proantocianidina***

- 1 ml extracto
- 5 ml Reactivo Butanol-HCl 1 h a 95° C

- Absorbancia 550 nm

Finalmente, la concentración de ambos MSC (fenoles totales y taninos condensados) se expresó respectivamente como el porcentaje de equivalentes de ácido tánico (% TAE) (SIGMA N° AC-0163) o de quebracho (% WTE) (Van Dyke's Supply Company N° 108025) por mg de hoja seca. Para ello, se construyeron curvas de calibración utilizando ambos estándares los cuales fueron obtenidos comercialmente. Ambos tipos de MSC se ajustan bien a las predicciones de la HBCN pues tanto los fenoles como los taninos condensados son sintetizados a partir de la vía del ácido shiquímico (Lerdau 2002) y comparten un precursor común con la síntesis de proteínas, el aminoácido fenilalanina (Koricheva y col. 1998).

## 7. Prueba de “cafetería”

Con el objetivo de determinar si en condiciones de laboratorio, el herbívoro generalista *Helix aspersa* (caracol terrestre) es sensible a las diferencias en la cantidad de MSC presentes en hojas de plántulas de canelo crecidas en el interior y en el claro del dosel, se realizó una prueba de “cafetería” durante 48 h. Para ello, se utilizaron 10 hojas de plántulas crecidas en el interior del bosque, y 10 crecidas en el claro, y cada una de ellas fue ofrecida en forma independiente a uno de 20 individuos. Antes de iniciar el ensayo, se tomó una fotografía digital a cada una de las hojas y se pesó cada uno de los caracoles. Una vez

transcurridas 48 h, las hojas fueron retiradas y fotografiadas nuevamente. A través del programa Sigma Scan para Windows, se calculó el área inicial y final de cada una de las hojas, determinándose en consecuencia, el porcentaje de tejido foliar perdido por hoja. Además, se determinaron la cantidad de fenoles totales y taninos condensados utilizando los protocolos descritos recientemente.

## 8. Biomasa de insectos herbívoros

Con el propósito de determinar si la biomasa de insectos herbívoros varía entre el interior del bosque y el claro del dosel, durante el mes de diciembre de 2002, se realizó una colecta de insectos utilizando dos métodos: trampas Barber y "apaleo" de individuos juveniles de canelo (< 2 m de altura). En cada uno de los 10 puntos establecidos por hábitat, se dispuso una trampa Barber que consistió en un pote plástico de aproximadamente 500 cc, el cual contenía formalina y un poco de detergente y que fue enterrado a ras de suelo. Estos potes fueron dejados por 48 horas en el fragmento de bosque y luego se procedió a coleccionar las muestras. El segundo método de muestreo, consistió en sacudir juveniles de canelo sobre un paraguas blanco para posteriormente aspirar los insectos que cayeron sobre él. En ambos casos, los insectos colectados fueron separados en herbívoros y no herbívoros (carnívoros), secados en una estufa a 75° C por 72 horas y pesados con una precisión de 0,1 mg.

## RESULTADOS

### 1. Efecto del hábitat sobre la concentración de MSC

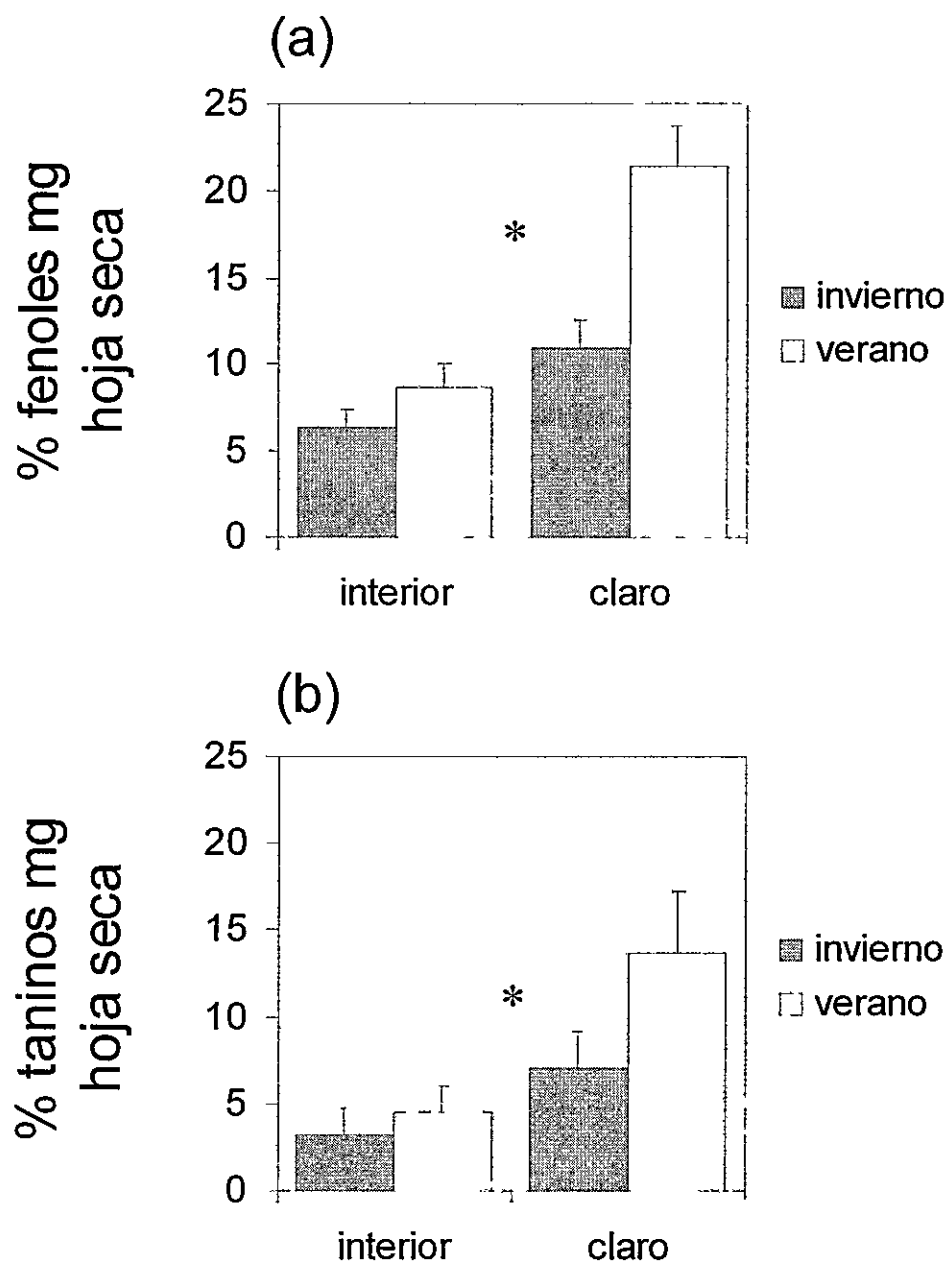
La concentración de fenoles totales en las hojas de *D. winteri*, expresada como el porcentaje de un equivalente (ácido tánico) por mg de hoja seca, fue afectada significativamente por el hábitat y por la estación de muestreo (Tabla 6). En el hábitat de interior, el porcentaje de fenoles varió entre 6,3 y 8,6 (Figura 14a), mientras que en el claro, la concentración de estos compuestos prácticamente se duplicó entre una estación y otra (10,9% vs. 21,4%) (Figura 16a). Por su parte, la concentración de taninos condensados, expresada como el porcentaje de un equivalente (quebracho) por mg de hoja seca, sólo fue afectada significativamente por el hábitat (interior de bosque vs. claro del dosel), pero no por la estación (Tabla 7), aunque en ambos hábitats, la concentración de taninos condensados tendió a aumentar entre una medición y otra (Figura 16b). Los valores de concentración obtenidos fueron menores que para el caso de los fenoles totales por tratarse de un subconjunto de éstos, y fluctuaron entre 3,2% y 13,6%, siendo siempre mayores en el claro del dosel (Figura 16b).

**Tabla 6.** Análisis de Varianza con medidas repetidas evaluando el efecto del hábitat (% de apertura del dosel) sobre la concentración de fenoles totales en hojas de plántulas de *D. winteri* crecidas en el interior del bosque y en un claro del dosel en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región.

Fuente	g.l.	C.M.	F	p
<b>Entre tratamientos</b>				
Hábitat (HA)	1	0,2437	21,673	0,001
Error	25	0,0112		
<b>Dentro tratamientos</b>				
Estación (ES)	1	0,1174	11,380	0,002
ES x HA	1	0,0325	3,155	0,087
Error	25	0,0112		

**Tabla 7.** Análisis de Varianza con medidas repetidas evaluando el efecto del hábitat (% de apertura del dosel) sobre la concentración de taninos condensados en hojas de plántulas de *D. winteri* crecidas en el interior del bosque y en un claro del dosel en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región.

Fuente	g.l.	C.M.	F	P
<b>Entre tratamientos</b>				
Hábitat (HA)	1	0,2093	8,794	0,006
Error	25	0,0238		
<b>Dentro tratamientos</b>				
Estación (ES)	1	0,0723	2,408	0,133
ES x HA	1	0,0264	0,880	0,356
Error	25	0,0238		



**Figura 16.** Porcentaje de fenoles totales (a) y taninos condensados (b) por peso seco de hoja obtenido de muestras de hojas de plántulas de *D. winteri* crecidas en el interior del bosque y en un claro del dosel en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región. Las barras muestran las medias + 1 EE. Los asteriscos indican diferencias significativas entre los hábitats en ambas estaciones (prueba *a posteriori* de Newman-Keuls,  $p < 0,05$ ). Las estaciones invierno y verano son medidas repetidas.



## 2. Efecto del hábitat y de la exclusión de insectos herbívoros sobre el daño foliar

### 2.1. Porcentaje de hojas dañadas por plántula en el tiempo

El porcentaje de hojas dañadas por plántula fue afectado significativamente sólo por el tiempo de muestreo (Tabla 8). En general, se observó que las plántulas sin insecticida sufrieron un mayor daño foliar que aquellas con insecticida en ambos hábitats (Figura 17). Este daño tendió a ser un poco más intenso en el hábitat de interior entre los meses de enero y abril (Figura 17a), mientras que entre los meses de octubre y diciembre, tendió a ser mayor en el hábitat de claro (Figura 17b). En síntesis, se observó que el daño foliar fue variable temporal y espacialmente y que las plántulas presentaron como máximo, un 25% de sus hojas con daño foliar.

### 2.2. Porcentaje total de hojas dañadas por plántula

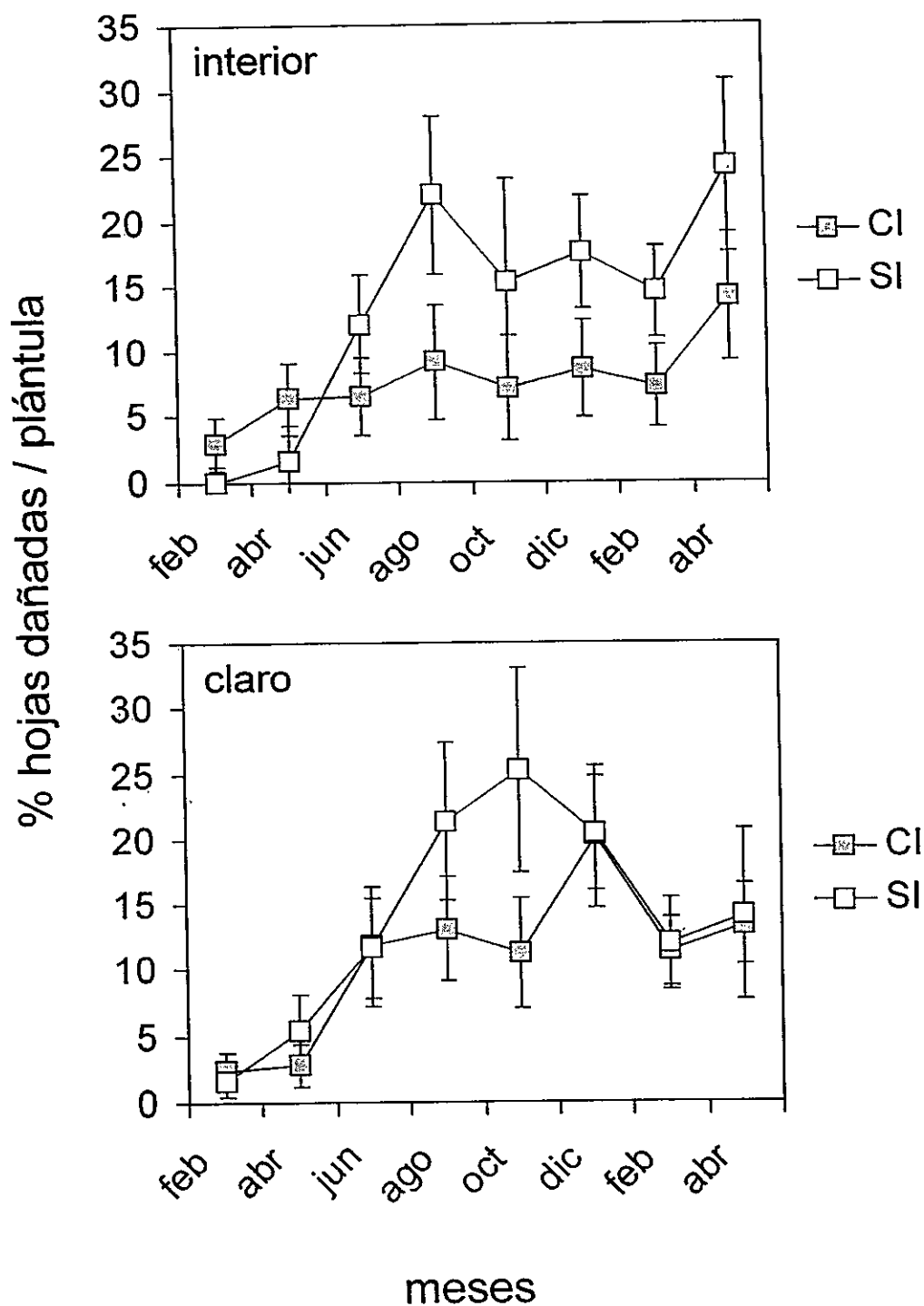
Sólo el hábitat tuvo un efecto significativo sobre el porcentaje total de hojas dañadas por plántula luego de transcurridos los 16 meses de experimento (Tabla 9). Los valores de daño foliar oscilaron entre 4,6% (interior - con insecticida) y 11,2% (claro - sin insecticida) (Figura 18), detectándose diferencias significativas sólo entre estos valores extremos (prueba *a posteriori* de Tukey,  $p < 0,05$ ) (ver también Figura 19).

**Tabla 8.** Análisis de Varianza de dos vías con medidas repetidas evaluando el efecto del hábitat (% de apertura del dosel) y de la exclusión de insectos herbívoros sobre el porcentaje de hojas dañadas por plántula de *D. winteri* crecidas bajo los distintos tratamientos.

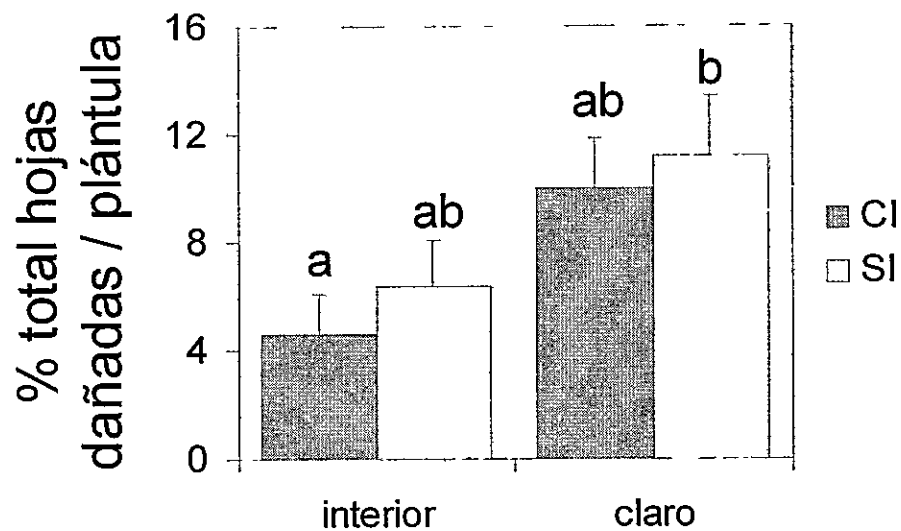
Fuente	g.l.	C.M.	F	p
<b>Entre tratamientos</b>				
Hábitat (HA)	1	0,0710	0,378	0,541
Insecticida (IN)	1	0,6461	3,443	0,069
HA x IN	1	0,0380	0,202	0,654
Error	52	0,1876		
<b>Dentro tratamientos</b>				
Tiempo (TI)	8	0,8703	14,304	0,001
TI x HA	8	0,0364	0,599	0,778
TI x IN	8	0,1312	2,156	0,029
TI x HA x IN	8	0,0551	0,907	0,510
Error	416	0,0608		

**Tabla 9.** Análisis de Varianza de dos vías evaluando el efecto del hábitat (% de apertura del dosel) y de la exclusión de insectos herbívoros sobre el porcentaje total de hojas dañadas por plántula de *D. winteri* crecidas bajo los distintos tratamientos.

Fuente	g.l.	C.M.	F	p
Hábitat (HA)	1	500,2365	7,715	0,006
Insecticida (IN)	1	40,6657	0,627	0,430
HA x IN	1	1,5292	0,023	0,878
Error	73	64,8373		



**Figura 17.** Porcentaje de hojas dañadas por plántula de *D. winteri* en el tiempo en el hábitat de interior y en el claro del dosel. CI = con insecticida (sin herbívoros) y SI = sin insecticida (con herbívoros). Las barras muestran las medias + 1 EE. Medición inicial febrero de 2002 y medición final abril de 2003.



**Figura 18.** Porcentaje total de hojas dañadas por plántula de *D. winteri* bajo los distintos tratamientos luego de 16 meses. CI = con insecticida (sin herbívoros) y SI = sin insecticida (con herbívoros). Las barras muestran las medias + 1 EE. Barras que comparten letras no difieren significativamente (prueba *a posteriori* de Tukey,  $p < 0,05$ ).



**Figura 19.** Visión de dos plántulas de *D. winteri* con signos de daño foliar en el interior del bosque (arriba) y en el claro del dosel (abajo) en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región. Las imágenes corresponden a diciembre de 2002.

### 3. Efecto del hábitat y de la exclusión de insectos herbívoros sobre el crecimiento de plántulas

#### 3.1. Incremento en longitud de los tallos en el tiempo

El crecimiento en longitud de los tallos fue afectado significativamente por el hábitat, por el tiempo de muestreo y por las interacciones tiempo de muestreo - hábitat y tiempo de muestreo - insecticida, no así por la exclusión de insectos herbívoros (Tabla 10). Las plántulas situadas en el claro del dosel siempre crecieron más que aquellas situadas en el interior del bosque (Prueba *a posteriori* de Newman-Keuls,  $p < 0,05$ ), siendo esta diferencia más del doble a partir del mes de octubre y hacia el verano (Figura 20). El incremento total en longitud en el interior fluctuó entre 1,5 y 2,5 cm, mientras que en el claro osciló entre 8,7 y 13,6 cm. Además, las plántulas con insecticida tendieron a crecer más que aquellas sin insecticida (Figura 20).

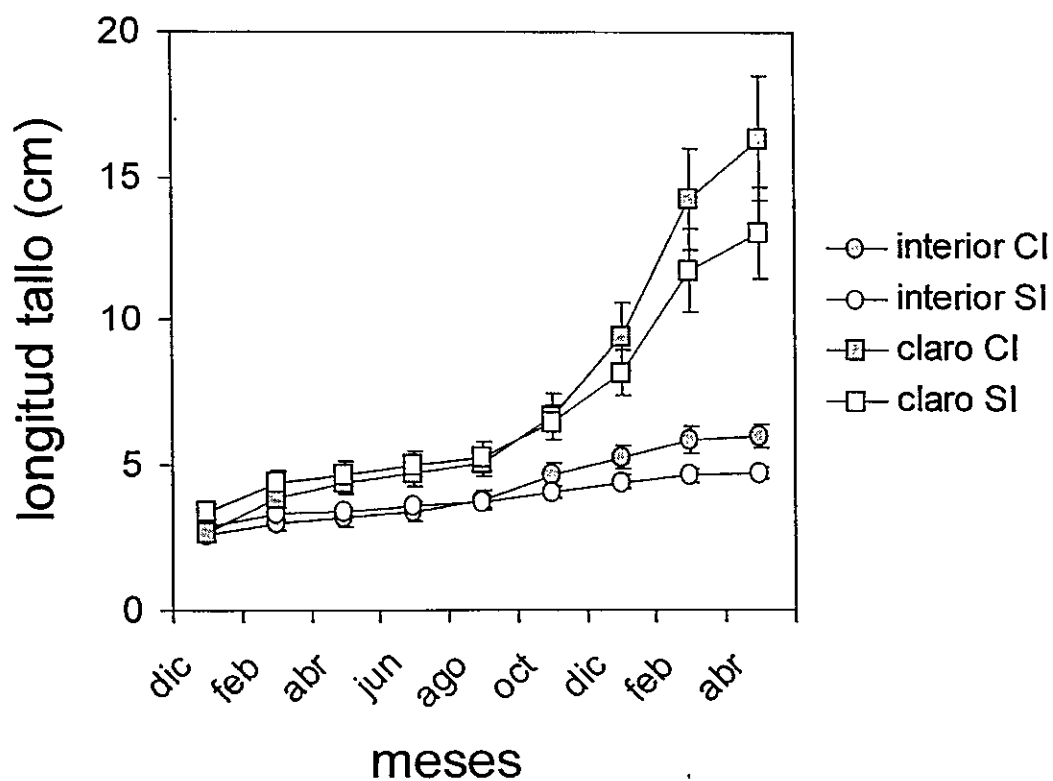
#### 3.2. Tasa de crecimiento relativa de los tallos ( $TCR_t$ )

La tasa de crecimiento relativa de los tallos ( $TCR_t$ ) fue afectada significativamente por el hábitat como por la exclusión de insectos herbívoros, no así por la interacción hábitat - insecticida (Tabla 11). Las plántulas situadas en el claro y que recibieron insecticida fueron las que presentaron la  $TCR_t$  más alta, difiriendo significativamente de aquellas plántulas situadas en el interior con o sin insecticida (prueba *a posteriori* de Tukey,  $p < 0,05$ ), pero no de

aquellas situadas en el claro y que no recibieron insecticida ( $p > 0,05$ ) (Figura 21) (ver también Figura 22).

**Tabla 10.** Análisis de Varianza de dos vías con medidas repetidas evaluando el efecto del hábitat (% de apertura del dosel) y de la exclusión de insectos herbívoros sobre el crecimiento en longitud de los tallos en plántulas de *D. winteri* crecidas bajo los distintos tratamientos.

<b>Fuente</b>	<b>g.l.</b>	<b>C.M.</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Entre tratamientos</b>				
Hábitat (HA)	1	2,7365	14,757	0,001
Insecticida (IN)	1	0,0152	0,082	0,775
HA x IN	1	0,0477	0,257	0,613
Error	52	0,1854		
<b>Dentro tratamientos</b>				
Tiempo de muestreo (TI)	8	0,8686	121,944	0,001
TI x HA	8	0,1550	21,762	0,001
TI x IN	8	0,0169	2,382	0,016
TI x HA x IN	8	0,0032	0,463	0,881
Error	416	0,0071		

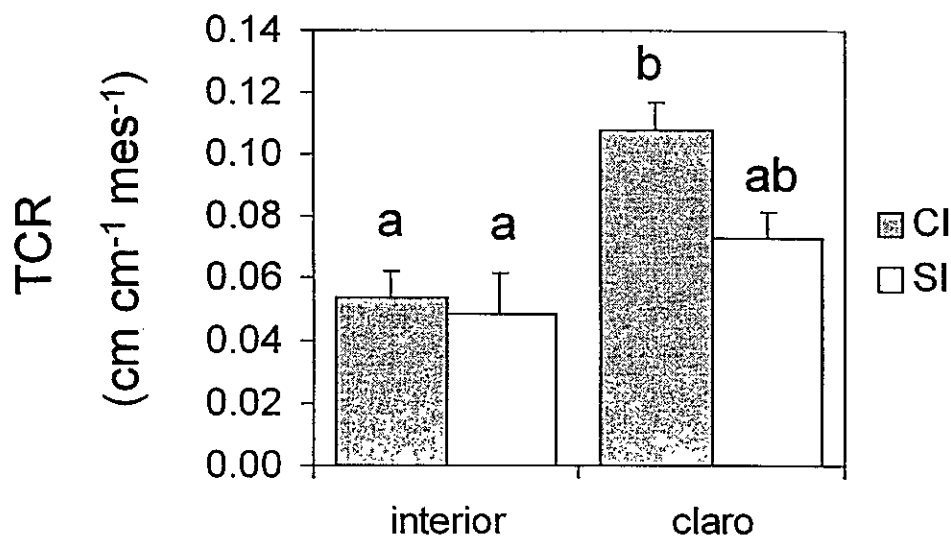


**Figura 20.** Crecimiento en longitud de los tallos en el tiempo en plántulas de *D. winteri* en el interior y en el claro del dosel. CI = con insecticida (sin herbívoros) y SI = sin insecticida (con herbívoros). Las barras muestran las medias + 1 EE. Medición inicial diciembre de 2001 y medición final abril de 2003.



**Tabla 11.** Análisis de Varianza de dos vías evaluando el efecto del hábitat (% de apertura del dosel) y de la exclusión de insectos herbívoros sobre la tasa de crecimiento relativa de los tallos ( $TCR_t$ ) en plántulas de *D. winteri* crecidas bajo los distintos tratamientos.

Fuente	g.l.	C.M.	F	P
Hábitat (HA)	1	0,0260	16,267	0,001
Insecticida (IN)	1	0,0069	4,345	0,040
HA x IN	1	0,0038	2,432	0,123
Error	66	0,0016		



**Figura 21.** Tasa de crecimiento relativa de los tallos ( $TCR_t$ ) en plántulas de *D. winteri* bajo los distintos tratamientos. CI = con insecticida (sin herbívoros) y SI = sin insecticida (con herbívoros). Las barras muestran las medias + 1 EE. Barras que comparten letras no difieren significativamente (prueba *a posteriori* de Tukey,  $p < 0,05$ ).



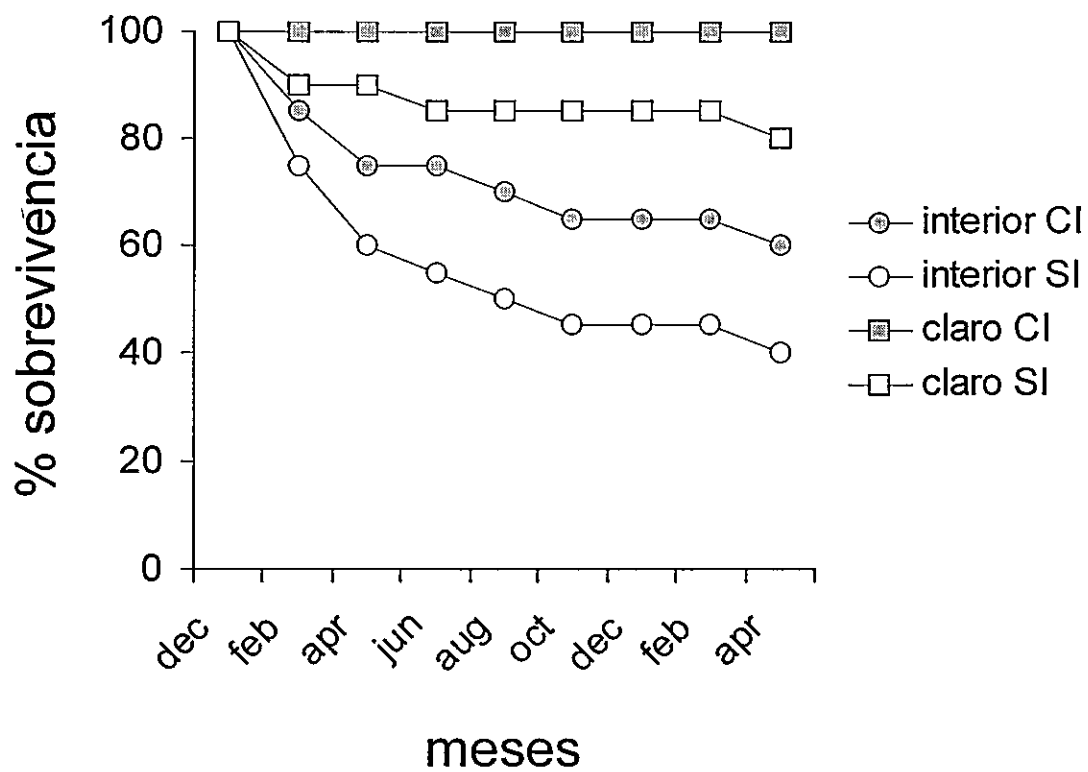
**Figura 22.** Diferencias en la longitud del tallo y en el número de hojas en dos plántulas de *D. winteri*, una creciendo en el interior del bosque (arriba) y la otra en el claro del dosel (abajo). Las imágenes corresponden al mes de diciembre de 2002.

#### 4. Efecto del hábitat y de la exclusión de insectos herbívoros sobre la sobrevivencia de plántulas

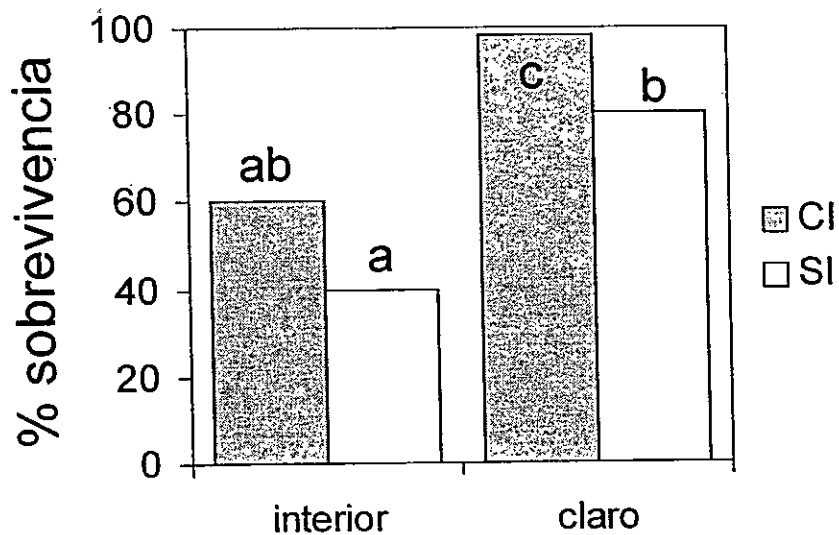
La sobrevivencia de plántulas fue afectada significativamente por el hábitat (% de apertura del dosel), por la exclusión de insectos herbívoros (con y sin insecticida) y por el tiempo de muestreo (Tabla 12). La sobrevivencia de plántulas disminuyó en el tiempo, especialmente en aquellas plántulas situadas en el interior y que no recibieron insecticida (Figura 23). Al cabo de los 16 meses de experimento, el porcentaje de plántulas vivas en el interior del bosque en plántulas que no recibieron insecticida fue de un 40%, mientras que en aquellas situadas en el claro y que si recibieron insecticida, fue de un 100% (Figura 24), detectándose diferencias significativas por ejemplo, entre plántulas situadas en el interior sin insecticida y aquellas situadas en el claro con o sin insecticida (Pruebas *a posteriori* de Tukey para proporciones múltiples,  $p < 0,05$ ) (Figura 24).

**Tabla 12.** Modelo Binomial Lineal con Logit evaluando el efecto del hábitat (% de apertura del dosel), de la exclusión de insectos herbívoros y del tiempo de muestreo sobre el porcentaje de sobrevivencia en plántulas de *D. winteri* bajo los distintos tratamientos.

<b>Efecto</b>	<b>g.l.</b>	<b>Máxima verosimilitud</b>	$\chi^2$	<b>P</b>
Intercepto	1	-381,388		
Hábitat (HA)	1	-343,989	74,798	0,001
Insecticida (IN)	1	-335,262	17,455	0,001
Meses (ME)	8	-318,458	33,607	0,001
HA x IN	1	-318,213	0,490	0,483
HA x ME	8	-316,124	4,178	0,840
IN x ME	8	-315,574	1,098	0,997
HA x IN x ME	8	-315,479	0,190	0,999



**Figura 23.** Porcentaje de plántulas vivas de *D. winteri* en el tiempo en el interior y en el claro del dosel. CI = con insecticida (sin herbívoros) y SI = sin insecticida (con herbívoros).



**Figura 24.** Porcentaje final de plántulas vivas de *D. winteri* bajo los distintos tratamientos. CI = con insecticida (sin herbívoros) y SI = sin insecticida (con herbívoros). Barras que comparten letras no difieren significativamente (prueba *a posteriori* de Tukey para comparaciones múltiples entre proporciones  $p < 0,05$ ).

## 5. Prueba de “cafetería”

Los individuos del caracol terrestre *Helix aspersa* utilizados en la prueba de “cafetería” tendieron a comer una mayor cantidad de tejido foliar de las hojas de las plántulas crecidas en el interior del bosque que de aquellas crecidas en el claro del dosel. Sin embargo, estas diferencias no alcanzaron a ser significativas (Ancova,  $F_{\text{Hábitat}} = 2,327$ ;  $p = 0,146$ ). La tendencia observada (Tabla 16) concuerda con la mayor cantidad de MSC (particularmente taninos condensados) reportados en las hojas de plántulas provenientes del claro (prueba de t de Student,  $t_{\text{Fenoles}} = -0,973$ ;  $p = 0,344$  y  $t_{\text{Taninos}} = -2,135$ ;  $p = 0,047$ ) (Tabla 16).

**Tabla 13.** Porcentaje de área foliar comida por individuos del caracol terrestre *Helix aspersa*, y concentración de fenoles totales y taninos condensados expresados como el porcentaje de un equivalente en los dos hábitats estudiados. Se muestran las medias con un error estándar. Medias con letras diferentes difieren significativamente ( $p < 0,05$ ).

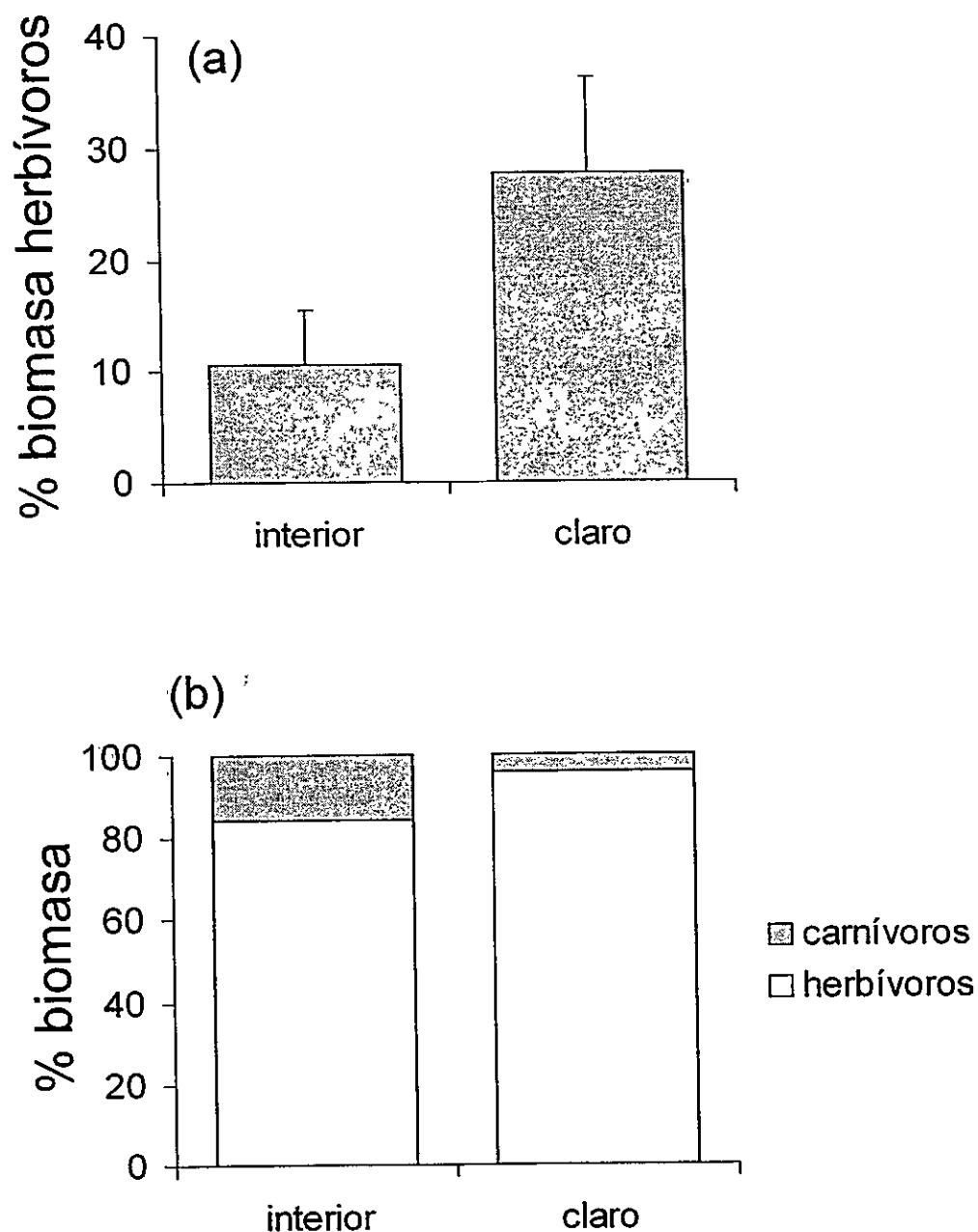
Hábitat	% área foliar perdida	% fenoles	% taninos
Interior del bosque	$36,6 \pm 14,7^a$	$25,1 \pm 4,5^a$	$4,0 \pm 2,3^a$
Claro del dosel	$15,1 \pm 10,6^a$	$30,2 \pm 2,6^a$	$11,1 \pm 2,4^b$

## 6. Biomasa de insectos herbívoros

La biomasa de insectos herbívoros recolectados a través de las trampas Barber y que se expresó como porcentaje, osciló entre  $10,5\% \pm 5,0$  (media  $\pm 1$  EE) en el interior del bosque y  $27,8\% \pm 8,4$  en el claro del dosel, siendo estas diferencias estadísticamente significativas (prueba t de Student,  $t = -2,04$ ; g.l. = 18;  $p = 0,05$ ) (Figura 25a). Los principales insectos herbívoros que cayeron en las trampas Barber pertenecían al Orden Orthoptera, específicamente a las familias Acrididae (saltamontes) y Tettigoniidae.

Por su parte, la biomasa de herbívoros obtenida a través del "apaleo" de juveniles de canelo fue mucho mayor que a través de las trampas Barber, y osciló entre 84,3% en el hábitat de interior y 96% en el hábitat de claro (Figura 25b). A diferencia del método anterior, los principales herbívoros recolectados a través de este método, fueron larvas de lepidópteros, incluidas algunas de la familia Geometridae.





**Figura 25.** Porcentaje de biomasa de insectos herbívoros recolectados a través de trampas Barber (a) y de "apaleo" de juveniles de canelo (b) en los hábitats de interior del bosque y en un claro del dosel en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región. Las barras muestran las medias + 1 EE.

## DISCUSION

A través de esta tesis, se investigaron dos preguntas principales. Primero, si la apertura del dosel afecta la concentración de MSC en plántulas de la especie arbórea *D. winteri* y si estos compuestos juegan un papel defensivo contra los insectos herbívoros. Segundo, cuál es la respuesta en crecimiento y sobrevivencia de plántulas de corta edad a diferencias en disponibilidad de luz y daño foliar en distintos microhábitats del bosque. Se exploraron estas preguntas en la especie arbórea *Drimys winteri* (Winteraceae), una especie capaz de mantener poblaciones de plántulas en hábitats con disponibilidad de luz variable, desde condiciones pioneras a bosques con dosel cerrado (Aravena y col. 2002). Se realizó un estudio experimental en un fragmento de bosque antiguo en el sector norte de la Isla de Chiloé, Chile. Estas preguntas surgen de la necesidad de contar con experimentos controlados que permitan poner a prueba la relaciones de causalidad entre concentración de MSC, daño foliar debido a herbivoría por insectos y desempeño de plántulas arbóreas bajo condiciones contrastantes de luminosidad. Aunque estos efectos se han descrito en trabajos publicados previamente, existe poca claridad sobre las interacciones entre estos factores. Además, es necesario considerar otros

factores, tales como condiciones microclimáticas particulares o la presencia de enemigos naturales de los herbívoros, cuyos efectos podrían ser lo suficientemente importantes como para contrarrestar las relaciones esperadas entre los niveles de herbivoría y las potenciales defensas químicas de las plántulas. En un sentido más amplio, estas preguntas intentan indagar también, sobre la capacidad de las plántulas para constituir un banco de plántulas persistente, capaz de sobrevivir en ambientes con baja luminosidad. El crecimiento de las plántulas en el interior del bosque, se mantiene suprimido, pero puede ser acelerado por la apertura de un claro en el dosel, y las plantas del banco tienen ventajas sobre la colonización a partir de semillas para ocupar el espacio liberado (Córdova 1985, Uhl y col. 1988). Para tener oportunidad de acceder al dosel, las plántulas del banco deben sobrevivir en la sombra y tolerar la presencia de insectos herbívoros a través de la posesión de defensas químicas, aspecto escasamente estudiado en nuestros bosques.

### **1. Presencia de MSC en plántulas y su potencial papel defensivo**

Se encontró que la concentración de MSC en plántulas de *Drimys* fue concordante con las predicciones de la Hipótesis del Balance Carbono-Nitrógeno (HBCN) (Bryant y col. 1983), una hipótesis que relaciona los niveles de MSC con el ambiente lumínico en que se desarrollan las plantas. Además, los resultados concuerdan con la Hipótesis 1 planteada en esta tesis, pues las plántulas de *D. winteri* situadas en el claro del dosel (hábitat con mayor disponibilidad de luz) presentaron una mayor cantidad de fenoles y taninos

condensados en sus hojas que las plántulas del interior del bosque bajo dosel cerrado (hábitat con menor disponibilidad de luz). Esta reducción en la concentración de MSC foliares en plántulas que crecen en el hábitat de baja disponibilidad de luz, es consistente con resultados de otros estudios que han mostrado una correlación positiva entre disponibilidad a la luz y contenido de MSC en plantas leñosas (Waterman y col. 1984, Waring y col 1985, Larsson y col. 1986, Bryant y col. 1987, Mole y col. 1988, Tuomi y col. 1988, Nichols-Orians 1991).

Sin embargo, la mayor cantidad de MSC presentes en las plántulas de *D. winteri* en el hábitat rico en luz, es decir, en el claro del dosel, no resultó en una reducción en los niveles de daño foliar causados por los insectos herbívoros en ese hábitat. De acuerdo a la Hipótesis 2 de esta tesis, se esperaba que en el hábitat pobre en luz, es decir, en el interior del bosque, las plántulas sufrieran un mayor daño foliar y que las diferencias entre plántulas tratadas con insecticida (sin herbívoros) y las control (con herbívoros) fuesen mayores que en el claro del dosel donde las plántulas no se encuentran suprimidas (Figura 26a). Sin embargo, se encontraron mayores niveles de daño foliar en las plántulas de *Drimys* en el claro del dosel, en oposición con lo esperado (Figura 26b). En el claro, un el porcentaje de hojas dañadas por plántula fue de un 10,6%, vs. un 5,5% en las plántulas situadas bajo el dosel del bosque. Este último resultado concuerda parcialmente con datos de otros estudios (Denslow y col. 1990, Shure y Wilson 1993, Dudt y Shure 1994). Por ejemplo, Denslow y col. (1990) encontraron que la cantidad de fenoles fue mayor en las plántulas de

la especie arbustiva *Miconia barbinervis* (Melastomataceae) en el interior de los claros del dosel. Estas concentraciones redujeron los niveles de daño foliar por herbívoros en comparación con las plántulas situadas bajo el dosel arbóreo. Sin embargo, las plántulas *Piper culebranun* y *P. urostachyum* (Piperaceae) fueron más dañadas en los claros que bajo el dosel, a pesar de la mayor concentración de MSC que presentaban (Denslow y col. 1990). Finalmente, estos autores no encontraron una relación significativa entre la cantidad de fenoles en las hojas y el daño foliar en plántulas de *Miconia nervosa*, *M. gracilis*, *Piper sancti-felicis* y *P. arieianum*. Por su parte, Dudt y Shure (1994) encontraron que juveniles de la especie decidua *Cornus florida* (especie sombra tolerante de crecimiento lento) presentaban altos niveles de fenoles en los hábitats abiertos, conjuntamente con bajos niveles de herbivoría por insectos, en comparación con aquellas que crecían a la sombra. No obstante, otra especie arbórea estudiada por estos autores, *Liriodendron tulipifera*, una especie sombra-intolerante de crecimiento rápido, presentó mayor cantidad de fenoles en los hábitats de mayor disponibilidad de luz, pero estos compuestos no tuvieron relación con los niveles de herbivoría foliar.

Shure y Wilson (1993), por otro lado, señalan que en las especies de crecimiento rápido (atributo relacionado con la sombra intolerancia), los niveles de herbivoría no tendrían una relación negativa con el contenido fenólico y que estos compuestos al encontrarse en menor proporción que en las especies de crecimiento más lento, sombra-tolerantes, serían contrarrestados más fácilmente por los insectos. Es probable que este sea el caso de *D. winteri* por

tratarse más bien de una especie sombra-intolerante de crecimiento rápido. En síntesis, mis resultados y los trabajos recién citados, documentan una menor asignación de productos de la fotosíntesis a MSC en plántulas presentes en los hábitats bajo dosel, pero estos compuestos no necesariamente muestran una correlación inversa con los niveles de daño foliar, es decir, su efecto sobre el daño causado por los herbívoros no es significativo. La falta de correlación entre la cantidad de MSC y los niveles de daño foliar en estos estudios, podría ser explicada también, por diferencias en otras variables de los hábitats comparados como por ejemplo temperatura, que pueden afectar las abundancias de herbívoros y, consecuentemente, los niveles de daño foliar entre los claros y el interior del bosque (Weis y col. 1998, Sipura y Tahvanainen 2000).

El efecto del ambiente sobre los patrones de búsqueda y colonización de los insectos herbívoros en una determinada especie de planta es complejo, pues estos pueden ser afectados, por ejemplo, por la composición y abundancia de otras especies de plantas vecinas (Root 1973, Stanton 1983), así como por condiciones abióticas existentes (Moore y col. 1988). Sipura y Tahvanainen (2000) investigaron experimentalmente el efecto de la sombra del dosel sobre el comportamiento de dos especies de escarabajos herbívoros sobre las especies de sauces *Salix phylicifolia* y *Salix myrsinifolia*. Ambas especies de escarabajos fueron más abundantes en los sauces crecidos en hábitats abiertos que en sus contrapartes ubicados bajo el dosel. Sin embargo, en el laboratorio, estos autores encontraron que las larvas y los adultos preferían individuos crecidos a

la sombra, sugiriendo que las condiciones de los hábitats abiertos (temperatura diaria más alta y más variable a lo largo del día) podrían favorecer a los herbívoros y contrarrestar las diferencias en la calidad química de las hojas (hojas más nutritivas y menos defendidas) propias de los hábitats sombríos. Otros autores han sugerido que la sombra puede afectar las preferencias alimenticias de los insectos, a través de alteraciones en las condiciones micro-climáticas, las cuales influyen en la conducta de orientación y crecimiento de los insectos herbívoros (Weis y col. 1998, Louda y Rodman 1996). En la prueba de "cafetería", complementaria a los ensayos de campo de esta tesis, realizada con el propósito de evaluar posibles diferencias en daño foliar causado por el herbívoro generalista *Helix aspersa* (caracol terrestre) en hojas de plántulas crecidas en el claro del dosel vs. aquellas crecidas en el interior de bosque, se encontró que los caracoles consumieron más tejido foliar de hojas de *D. winteri* provenientes del hábitat sombrío (interior del bosque) en comparación con aquellas provenientes del claro del dosel, lo que podría responder a la menor cantidad de MSC medidos en hojas de plántulas de *Drimys* del interior del bosque. Este resultado de laboratorio obtenido bajo condiciones ambientales homogéneas, es también consistente con las predicciones de la HBCN, pero contrasta con los datos de terreno que muestran mayor daño foliar por insectos en las plántulas ubicadas en el claro. Por lo tanto, es posible que los insectos herbívoros efectivamente prefieran o sean más activos en hábitats abiertos, micro-climáticamente más favorables, independiente de la cantidad de MSC presentes en las hojas de las plantas que le sirven de alimento, o que usen

estos compuestos secundarios en mayor concentración como señales para alimentarse o reproducirse. Se ha encontrado que algunos tipos de MSC (e.g. silicatos) pueden servir a los insectos como señales de una condición favorable para alimentación u ovoposición (Tahvanainen y col. 1985).

Por otra parte, también es importante notar que, aunque se detectaron diferencias significativas en la concentración de fenoles totales y taninos condensados entre las hojas de las plántulas de *D. winteri* ubicadas en el interior del bosque vs. las ubicadas en el claro del dosel, es probable que dentro del ensamble total de insectos herbívoros existentes en el claro, sólo algunos sean capaces de percibir estas diferencias. Sin embargo, tales diferencias entre los distintos tipos de herbívoros quedarían enmascaradas dentro de la variable respuesta daño foliar, la que está determinada por el conjunto o ensamble completo de herbívoros. Es posible también, que los insectos herbívoros de los claros estén adaptados a la presencia de estos compuestos, y que por lo tanto no sean sensibles a ellos, al contrario de lo que sucede al exponer las mismas hojas a un herbívoro generalista ajeno al sistema, como el caracol *Helix aspersa*.

Por otra parte, que el daño foliar causado por insectos herbívoros a las hojas de plántulas de *D. winteri* haya sido sólo ocasionalmente mayor en el claro que bajo el dosel cerrado no puede considerarse evidencia de que los MSC no son importantes en la prevención de niveles potencialmente más altos de herbivoría sobre plántulas situadas en sitios abiertos. Por ejemplo, Nichols-Orians (1991) encontró que la concentración de taninos condensados fue mayor



en las plántulas de *Inga oerstediana* (Leguminosae) crecidas en los claros que en aquellas crecidas a la sombra. Sin embargo, las plántulas crecidas al sol fueron más consumidas por la hormiga corta hojas *Atta cephalotes* debido a la mayor concentración de nutrientes que presentaron estas plántulas. De acuerdo a este resultado, el incremento en la concentración de taninos condensados no contrarrestaría la atracción de las hormigas, debido a la alta concentración de nutrientes de las hojas. Los taninos repelerían a las hormigas sólo cuando se encuentren en mayores concentraciones, como las documentadas en plántulas creciendo en ambientes con alta luminosidad y muy pobres en nutrientes (Nichols-Orians 1991), o alternativamente, los niveles de MSC en las hojas podrían reducir el nivel daño que potencialmente podría causar una mayor densidad de insectos herbívoros en los claros. En otras palabras, si las plántulas de claros tuvieran menores concentraciones de MSC sufrirían daños aún mayores a los observados.

En esta tesis también se encontró, que la relación C/N foliar en plántulas de *D. winteri* en el claro del dosel fue menor que en el interior del bosque, por lo que la calidad nutritiva de las plántulas sería más alta en el hábitat con mayor disponibilidad de luz. Este sería un factor que atraería mayor número de herbívoros a las plántulas de este hábitat. Finalmente, otras propiedades de las hojas tales como pubescencia, dureza o contenido hídrico podrían explicar también, las diferencias en las tasas de herbivoría entre el claro e interior del bosque. Por ejemplo, la dureza de las hojas es la variable que explica mejor las diferentes tasas de herbivoría observadas en brinzales de 46 especies del

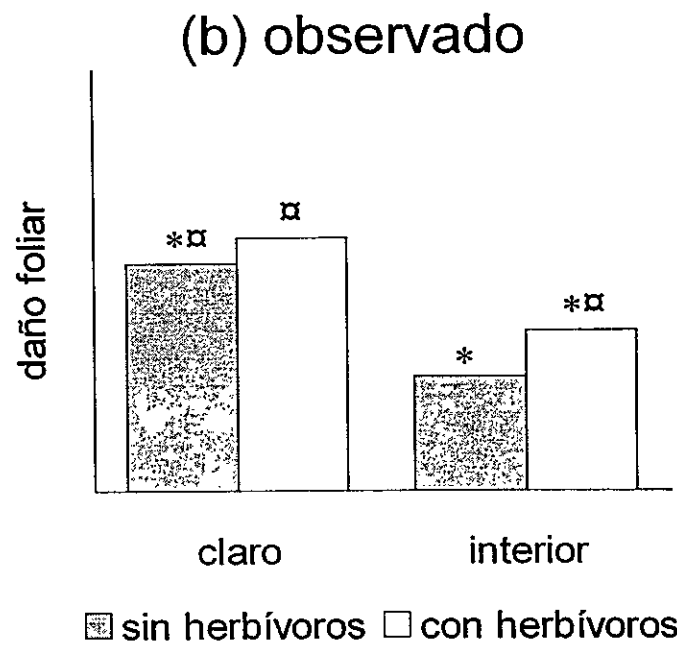
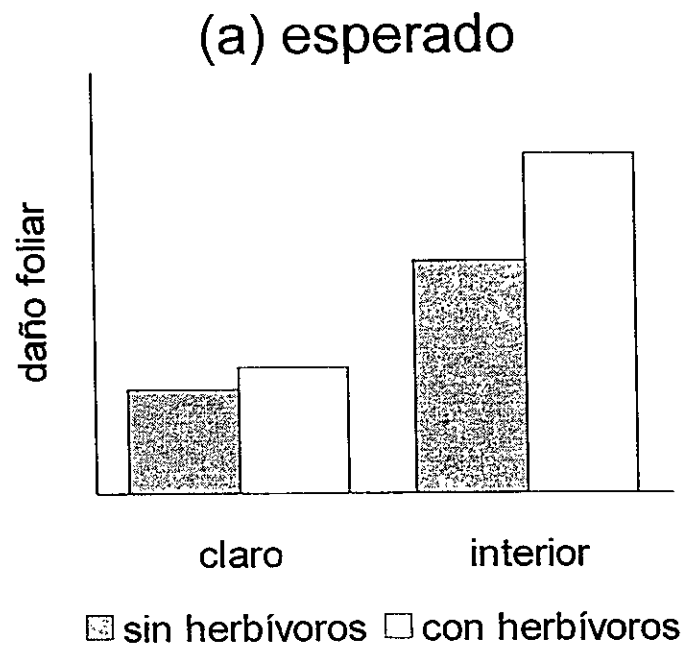
bosque lluvioso tropical en Panamá, además del contenido de fibras y el valor nutritivo (Coley 1983).

Por otra parte, la dinámica sucesional del hábitat de claro, que podría hacer variar la intensidad de luz producto del crecimiento de la vegetación circundante y del rebrote de tallos en el centro del claro, podría determinar que la distribución de la luz en este hábitat, sea mucho más compleja y variable que la del interior del bosque, y podría afectar de manera importante la abundancia y composición de herbívoros, las características de las plántulas, y por ende los niveles de daño foliar. Por ejemplo, Maleret y col. (1978) encontraron que la abundancia de insectos era mayor en los claros recién formados, intermedia en los claros de edad avanzada (claros en "building stage", *sensu* Whitmore 1984) y menor bajo dosel cerrado. Aún no se conoce en que medida estos patrones afectan las condiciones abióticas (Marquis y Braker 1994). Por otra parte, es bastante probable que los claros no sólo provean de mejores condiciones microclimáticas de temperatura a los insectos, sino también de refugios contra los depredadores a través de la cobertura de vegetación circundante (Reid y col. 2004). La evidencia sugiere que los claros proporcionarían a los insectos de condiciones abióticas y bióticas más favorables que el interior del bosque. De hecho en esta tesis, se encontró una mayor biomasa de insectos herbívoros en el claro del dosel que en el interior (Figura 25). Por lo tanto, el conjunto de antecedentes expuestos podrían explicar por qué los niveles de daño foliar son mayores en el claro del dosel que en el hábitat sombrío de interior, en oposición con lo esperado según la Hipótesis 2.

Finalmente, es discutible el papel defensivo que tendrían las concentraciones de MSC en las plántulas, un supuesto subyacente a las hipótesis planteadas. Close y McArthur (2002) propusieron que el principal papel primario de los fenoles en las hojas de sol sería protegerlas del daño lumínico ("photodamage") y no su efectividad en la defensa contra los herbívoros. En este escenario, los MSC actuarían como moléculas antioxidantes, y sus niveles podrían variar con las condiciones ambientales para contrarrestar el potencial daño lumínico. Existe amplia evidencia de que una fracción importante de los fenoles foliares tienen capacidad antioxidante y pueden proteger a las plantas del daño por exceso lumínico. Se ha demostrado actividad antioxidante *in vitro* para flavonoides (Gardner y col. 1998), antocianinas (Wang y col. 1997) y también para taninos condensados e hidrolisables (Hagerman y col. 1998). Consecuentemente, Close y McArthur (2002) sugieren que la baja concentración de muchos tipos de fenoles en determinadas condiciones ambientales, no se debe a que los recursos para producirlos sean limitados, sino simplemente a que el riesgo de daño por exceso lumínico es bajo y su síntesis sería facultativa. Si el papel principal de muchos fenoles se relaciona con la protección de las plantas contra la radiación ultravioleta (ver también Waterman y col. 1984) y no con la herbivoría, nuestro entendimiento actual de la teoría de defensas químicas en plantas debería ser repensado y reformulado.

En esta tesis se documenta una mayor concentración de MSC en hojas de *D. winteri* en el hábitat abierto, claro de dosel, lo que sería consistente con esta

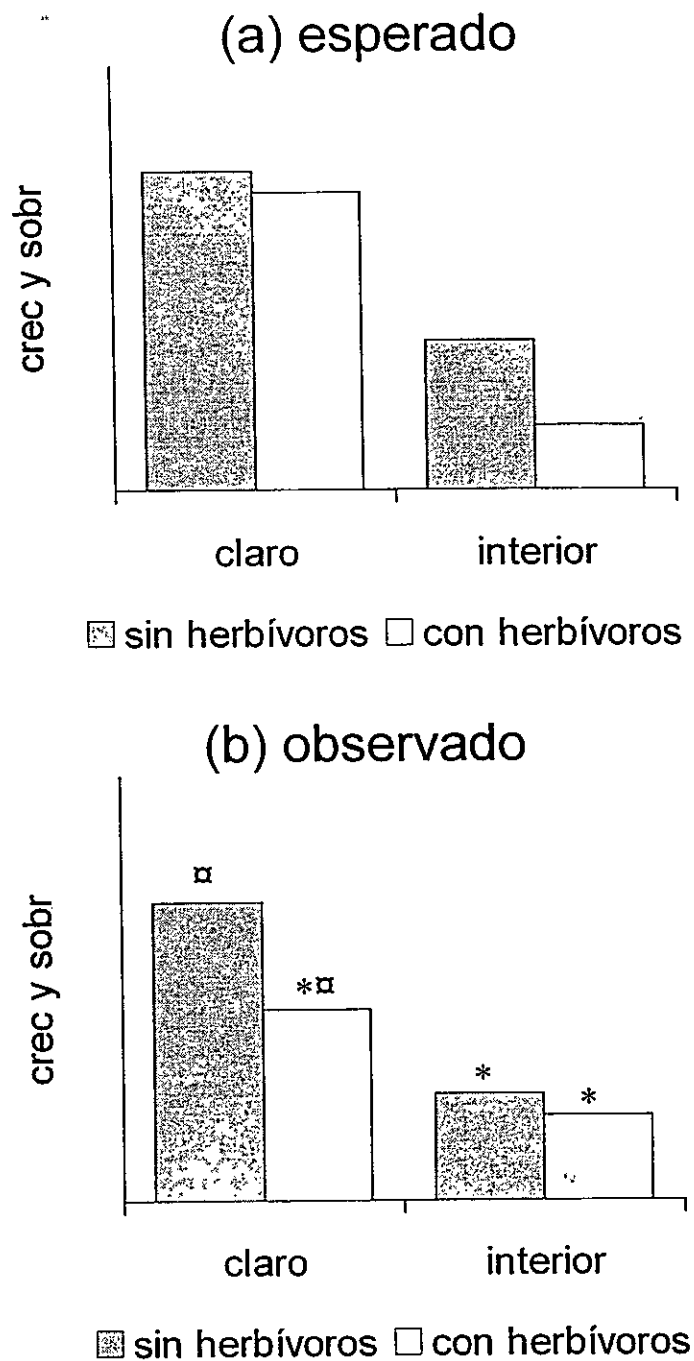
hipótesis, denominada "Hipótesis de Presión Oxidativa". Esta hipótesis debería ser puesta a prueba comparando por ejemplo, los niveles de fenoles en plantas crecidas bajo luz UV vs. plantas crecidas sin radiación UV. La diferencia en apertura del dosel entre el claro y la situación bajo dosel (Figura 8) es de 8%, y aparentemente esta diferencia es lo suficientemente grande para causar diferencias significativas en la concentración de fenoles y taninos.



**Figura 26.** Representación gráfica de los resultados esperados (a) y observados (b) según la Hipótesis 2. Símbolos diferentes indican diferencias significativas.

## **2. Efectos de la apertura del dosel y daño foliar sobre el crecimiento y sobrevivencia de plántulas de *Drimys***

A través de la exclusión experimental de los insectos herbívoros en dos hábitats con disponibilidad de luz contrastantes, en esta tesis también se evaluó, el efecto de apertura del dosel y de la herbivoría por insectos sobre el crecimiento y sobrevivencia de las plántulas de *D. winteri*. De acuerdo a la Hipótesis 3, se esperaba que en plántulas del interior del bosque, donde los niveles de daño foliar deberían aumentar, ocurriese un menor crecimiento y sobrevivencia de plántulas y que las diferencias entre plántulas sin y con exclusión de herbívoros fuesen mayores que bajo el claro del dosel (Figura 27a). Se encontró que la apertura del dosel y el daño foliar tuvieron efectos positivos y negativos, respectivamente, sobre el crecimiento y sobrevivencia de las plántulas de *Drimys*. Sin embargo, las mayores diferencias en crecimiento y sobrevivencia entre plántulas tratadas con insecticida y control (sin y con herbívoros respectivamente) ocurrieron en el claro del dosel, en contra de lo esperado (Figura 27b). Aunque la aplicación de insecticida causó una pequeña reducción en el daño foliar en ambos hábitats, en comparación a las plántulas control (sin insecticida), esta diferencia fue suficiente para aumentar el crecimiento (longitud del tallo y número de hojas) y la sobrevivencia en las plántulas de *Drimys* tratadas con insecticida (Figuras 21 y 24).



**Figura 27.** Representación gráfica de los resultados esperados (a) y observados (b) según la Hipótesis 3. Símbolos diferentes indican diferencias significativas.

## 2.1. Efecto de la apertura del dosel

El crecimiento y sobrevivencia de plántulas de *D. winteri* siempre fue mayor en el hábitat abierto y menor en el interior del bosque bajo dosel cerrado, aún cuando se observó que los niveles de daño foliar en las plántulas crecidas en el claro fueron significativamente más altos. Se postuló que el impacto de la herbivoría sobre el crecimiento y sobrevivencia de plántulas debería ser menor en hábitats iluminados (claro del dosel) en comparación a hábitats sombríos (bajo dosel cerrado), pues el tejido foliar perdido por herbivoría en los claros sería menos costoso de reemplazar, debido a que las tasas fotosintéticas son más altas (Denslow 1987, Denslow y Hartshorn 1994). En este estudio, las plántulas de *D. winteri* situadas en el claro del dosel mostraron un incremento promedio en el número de hojas cercano a seis en un periodo de 16 meses, mientras que en el interior del bosque, el incremento no alcanzó a dos hojas. Clark y Clark (1984) encontraron que plántulas del árbol neotropical *Dipteryx panamensis* (Leguminosae: Papilionoideae) ubicadas bajo el dosel no fueron capaces de formar hojas nuevas durante los primeros siete meses de vida, dependiendo exclusivamente del par de cotiledones presentes desde la germinación. En consecuencia, la herbivoría podría tener un impacto más fuerte sobre plántulas cuyo crecimiento se mantiene suprimido bajo el dosel que en los claros (Coley y col. 1985), es decir, la mortalidad y/o reducción en el crecimiento de las plantas por efecto de herbivoría serían mayores cuando este efecto se combina con el estrés lumínico (Núñez-Farfán y Dirzo 1985). Además,



en el claro, los niveles de herbivoría podrían ser reducidos por las mayores concentraciones de MSC presentes en las hojas de las plántulas.

El resultado más predecible de este estudio fueron las mayores tasas de crecimiento y sobrevivencia de plántulas de *D. winteri* en el claro del dosel. Estudios desde hace un par de décadas, han documentado la importancia de la formación de claros por la caída de árboles como fuente de heterogeneidad ambiental y sitios favorables para la regeneración arbórea (Denslow 1980, Brokaw 1985), asociados al aumento en los niveles de luz incidente (Chazdon y Fetcher 1984, Denslow 1987). Por ejemplo, en bosques de la Estación Biológica de "La Selva" en Costa Rica, más de un 75% de las especies leñosas dependen de los claros para su regeneración exitosa, estando además la reproducción de varias de ellas limitada a estos ambientes (Denslow y Hartshorn 1994). En los bosques deciduos del este de Norteamérica, donde los niveles de luz bajo el dosel no sobrepasan el 1% de la luz solar directa, la formación de claros también es fundamental para que la mayoría de las especies leñosas pueda alcanzar el dosel (Poulson y Platt 1989). Una situación similar, se observa en los bosques lluviosos del sur de Chile, donde varias especies (e.g. *Myrceugenia planipes*, *Amomyrtus meli* y *D. winteri*) dependen de la formación de claros para su regeneración (Armesto y Fuentes 1988). Por lo tanto, la mayoría de las especies arbóreas responde positivamente a la apertura del dosel, siendo posible encontrar en los claros, tanto especies intolerantes como tolerantes a la sombra (Brokaw 1980, Clark 1994, Gutiérrez y col. 2004). Sin embargo, numerosas especies, incluido *Drimys*, forman bancos de plántulas bajo el dosel,

como una estrategia de espera, dado que la formación de claros es un proceso impredecible en el espacio (Hubbell y Foster 1986). La sobrevivencia de las plántulas bajo la sombra del dosel por tiempos prolongados es importante para aprovechar las oportunidades que provee la formación de claros, los cuales no cubren más allá del 10% de la superficie total del bosque (Brokaw 1984).

## 2.2. Efecto del daño foliar

Sin duda, el principal resultado de esta tesis es la demostración experimental de que el daño foliar causado por los insectos herbívoros reducen el crecimiento y la sobrevivencia de plántulas tanto en claros como bajo el dosel (Figuras 21 y 24). Por ejemplo, un tercio de la mortalidad de plántulas de *D. winteri* en el interior del bosque sería atribuible al daño causado por los insectos herbívoros. Esta podría ser una subestimación, si se tiene en cuenta que el tratamiento con insecticida no fue completamente exitoso en evitar el daño por los insectos, lo que sugiere que la herbivoría podría ser un factor aún más importante para la persistencia del banco de plántulas bajo el dosel. En el fragmento de bosque estudiado, la herbivoría se debió mayoritariamente al ataque de insectos (larvas del Orden Lepidoptera principalmente), pues no se detectaron plántulas con daño atribuible al ciervo *Pudu pudu* o a roedores herbívoros. Esta situación difiere de la que se presenta en bosques boreales y templados de Norteamérica, donde una alta proporción de plántulas son dañadas por ciervos y roedores (e.g. Mc Innes y col. 1992, Ostfeld y Canham 1993, Ostfeld y col. 1997).

Aunque la pérdida foliar anual promedio de los bosques a nivel mundial es de un 10%, y es un valor que no parece ser extremo (Coley y Barone 1996), este nivel de daño es suficiente, en algunos casos, para reducir la adecuación biológica de las plantas, especialmente bajo el dosel (Dirzo 1984). Por ejemplo, Clark y Clark (1985) encontraron que la sobrevivencia anual de plántulas no dañadas de *Dypterix panamensis* fue 85%, comparado con 0% de sobrevivencia de plántulas que presentaron un 8% de su área foliar removida. Por su parte, las plántulas de *Nectandra ambigens*, *Omphalea oleifera* y *Brosimum alicastrum*, sufren una alta mortalidad y reducción en el crecimiento cuando están sujetas herbivoría bajo el dosel cerrado (Dirzo 1984). En bosques tropicales, donde los niveles de herbivoría serían mayores que en los bosques templados (Coley y Barone 1996), no siempre el daño por herbívoros tiene consecuencias sobre el crecimiento y sobrevivencia de plántulas. Por ejemplo, la defoliación experimental de plántulas de las especies *Shorea leprosula* y *S. maxwelliana* no afectó la sobrevivencia de plántulas (Becker 1983) sin embargo, estas especies presentan semillas grandes, las cuales serían capaces de tolerar mejor la defoliación que las especies con semillas pequeñas (Armstrong y Westoby 1993). Aide y Zimmerman (1990) investigaron la importancia relativa de la apertura del dosel y de la herbivoría sobre el crecimiento de individuos juveniles de la liana *Connarus turczaninowii* (Connaraceae) en Panamá durante tres años consecutivos. El crecimiento aumentó con la disponibilidad de luz en los tres años y disminuyó significativamente debido a la herbivoría por insectos sólo en un año. Recientemente, Pearson y col. (2003) encontraron que si bien

la exclusión de herbívoros redujo el daño foliar en las tres especies de bosques tropicales estudiadas, la herbivoría sólo afectó la sobrevivencia de la especie *Trema micrantha*, donde un 63% de las plántulas dañadas murieron dentro de un periodo de dos meses. La exclusión de los herbívoros también aumentó la tasa de crecimiento relativa de las hojas en las plántulas de *T. micrantha* y *Miconia argentea* (Pearson y col. 2003). A pesar de estos ejemplos, Jackson y Bach (1999) señalan que aún son pocos los estudios que han demostrado experimentalmente que, por si sola, la herbivoría por insectos cause mortalidad de plántulas en especies de bosques tropicales. Además, niveles equivalentes de herbivoría pueden tener diferentes consecuencias dependiendo de la influencia de otros factores bióticos (Dirzo 1984, Parker y Salzman 1985) y abióticos (Augspurger 1983), y de respuestas especie-específicas (Marquis 1992).

A pesar de su importancia para entender la regeneración del bosque, la información sobre el efecto de los herbívoros nativos, tanto vertebrados como invertebrados, en bosques templados chilenos es notablemente escasa, especialmente a nivel de plántulas (Veblen y col. 1996). Por su sistema radicular y foliar poco desarrollado, y su bajo crecimiento en condiciones deficientes de luz, las plántulas serían más sensibles al daño foliar que otras fases del ciclo de vida (Crawley 1997a). En los bosques de la Isla de Chiloé, sólo tres estudios han evaluado el impacto de herbívoros sobre el desempeño de plántulas arbóreas, y sólo uno ha sido publicado hasta la fecha (Figueroa y Castro 2000). Estos autores estimaron la proporción de plántulas sombra-

tolerantes dañadas por herbívoros y patógenos bajo el dosel, y sus efectos sobre el crecimiento y sobrevivencia en un fragmento de bosque (< 1 ha) del extremo norte de la Isla. Luego de 11 meses, dos tercios de las plántulas marcadas inicialmente (N = 179), presentaron algún tipo de daño por herbívoros. Los daños se debieron principalmente a insectos defoliadores y patógenos y no se observó depredación de plántulas enteras. Sin embargo, los efectos de los defoliadores no afectaron ni el crecimiento ni la sobrevivencia de las plántulas de las especies estudiadas. El segundo estudio, lo constituiría esta tesis, que a diferencia del trabajo de Figueroa y Castro (2000), fue realizado en un fragmento de bosque de mayor tamaño (> 20 ha), comparando plántulas de edad conocida en claros y bajo dosel. Este punto es importante, pues en el estudio de Figueroa y Castro (2000) la edad de las plántulas, aunque no es establecida cuantitativamente, fue relevante en términos del daño que éstas sufren. Otros trabajos han mostrado que la herbivoría por insectos incrementó significativamente la mortalidad de plántulas de dos meses de edad en la especie *Alphitonia whitei* (Rhamnaceae) en Queensland - Australia, mientras que en plántulas de cuatro meses de edad, la sobrevivencia fue ocho veces mayor (Jackson y Bach 1999). Finalmente, un tercer estudio, actualmente en curso, ha evaluado el efecto de la herbivoría por vertebrados (particularmente roedores) sobre la sobrevivencia de plántulas de *Aextoxicon punctatum* (Aextoxicaceae), encontrando que la herbivoría tiene un efecto importante sobre la sobrevivencia de plántulas bajo el dosel (Del Val y Armesto, datos no publicados).

Por lo tanto, no es posible generalizar los impactos de la herbivoría sobre el crecimiento y sobrevivencia de plántulas en el bosque templado de Chiloé a partir de la información existente. No obstante, un estudio realizado en el Bosque Maulino (Celis-Diez y Simonetti, datos no publicados) ha mostrado que el tratamiento con insecticida redujo efectivamente el daño foliar causado por insectos herbívoros y que la tasa de crecimiento relativa de los tallos de las plántulas de las especies *Aristotelia chilensis* (Elaeocarpaceae) y *Cryptocarya alba* (Lauraceae) fue menor en el tratamiento control donde los insectos no fueron excluidos. Lusk (2002) también reportó que las plántulas de la especie pionera *Embothrium coccineum* (Proteaceae) que sufrieron una elevada mortalidad a la sombra, fueron severamente dañadas por insectos herbívoros en el Parque Nacional Puyehue (40° 39', 72° 11' W). Las evidencias presentadas en esta tesis, sugieren que la herbivoría puede ser un factor relevante de mortalidad para el banco de plántulas que se mantienen suprimidas bajo el dosel. En el bosque de Chiloé, numerosas especies emplean esta estrategia, debiendo sobrevivir largos períodos suprimidas (Gutiérrez y col. 2004) y, por tanto, expuestas a los herbívoros, y también a patógenos o a daño mecánico.

Desde el punto de vista de la regeneración de *D. winteri*, algunos resultados interesantes emergen de esta tesis. Como se esperaba, el crecimiento y sobrevivencia de las plántulas *D. winteri* fue claramente mayor en el claro y menor en el interior del bosque bajo dosel cerrado. Sin embargo, la condición bajo dosel parece no ser tan desfavorable para el establecimiento de

esta especie, a pesar de que *D. winteri* ha sido descrita por algunos autores como una especie pionera o sombra-intolerante (e.g. Veblen y col. 1980). De acuerdo a mis datos, el porcentaje de sobrevivencia de las plántulas control de *D. winteri* en el interior del bosque (condición más desfavorable) fue de un 40% al cabo de 16 meses de monitoreo. Este resultado es relevante porque en muchos bosques, incluyendo el bosque templado lluvioso del sur de Chile, la regeneración depende de manera importante de la formación y persistencia del banco de plántulas tolerantes, el cual constituye el mayor potencial regenerativo del bosque cuando se producen aperturas del dosel de escala mediana o pequeña, es decir, por caída de uno o unos pocos árboles (Armesto y Fuentes 1988, Bustamante y Armesto 1995, Gutiérrez y col. 2004).

### **3. Limitaciones de la aproximación experimental**

A mi juicio, la principal novedad de esta tesis, en comparación a otros estudios publicados sobre herbivoría en plántulas, la constituye el uso de un insecticida sistémico y de contacto como una herramienta experimental para excluir a los insectos herbívoros y así poner a prueba posibles relaciones de causalidad cruzadas entre disponibilidad de luz, MSC, y herbivoría foliar sobre el desempeño de plántulas arbóreas. A través de esta aproximación, sería posible evaluar si existen otros factores que podrían contrarrestar la respuesta de la herbivoría a la presencia de defensas químicas constitutivas. Sin embargo, como todas las aproximaciones experimentales, el uso del insecticida sistémico probablemente no estuvo exento de problemas. Como se observa en las figuras

17 y 18, en las plántulas tratadas con insecticida, el daño causado por los insectos herbívoros no fue cero. Es decir, los herbívoros consumieron hojas de plantas con insecticida. Más aún, el daño foliar en las plántulas tratadas fue sólo levemente menor que en las plántulas control (sin insecticida). Sin embargo, esta pequeña reducción del daño foliar fue suficiente para aumentar significativamente el crecimiento y sobrevivencia en las plántulas tratadas con insecticida en comparación al control en ambos hábitats. Es posible que, en un ambiente lluvioso (> 2000 mm anuales) como el de Chiloé, el insecticida, aún siendo del tipo sistémico, que se espera sea rápidamente incorporado por las raíces y transportado a las hojas, sea lavado o infiltrado en el suelo por la lluvia con mayor facilidad que en otros ecosistemas, donde las precipitaciones son menores. Por esta razón, se tomó la precaución de no aplicar el tratamiento en días lluviosos, con el fin de reducir el lavado del compuesto. En trabajos a futuro, sería recomendable comprobar que el insecticida se encuentra en el tejido foliar de las plantas, usando por ejemplo, compuestos marcados. También sería recomendable chequear en un ambiente homogéneo, como por ejemplo, en el invernadero, si la aplicación del insecticida tiene, por si sola, algún efecto sobre el crecimiento y sobrevivencia de plántulas, comparando dos grupos; uno tratado y uno no tratado. En cuanto al diseño del experimento en terreno, probablemente sería necesario controlar las condiciones de luminosidad del claro durante el experimento, a través de la corta de la vegetación circundante, cuyo crecimiento puede hacer variar, en un año, las condiciones ambientales para las plántulas. Por otra parte, sería deseable



contar con más información acerca de la identidad de los principales insectos herbívoros presentes en ambos hábitats y poder realizar pruebas de "cafetería" usando también algunos de estos herbívoros naturales.

No obstante estas limitaciones, este estudio constituye uno de los pocos que han excluido a los insectos del banco de plántulas, a través del uso de insecticida. Además se empleó una cohorte de plántulas provenientes de semillas y se estimó su crecimiento y sobrevivencia durante una estación de crecimiento completa, eliminando la heterogeneidad etaria del banco de plántulas natural. Esto permitió evaluar los efectos de la apertura del dosel y de la herbivoría en el crecimiento y sobrevivencia de plántulas arbóreas, y determinar así, en qué medida estos factores abióticos y bióticos influyen en la formación y persistencia del banco de plántulas, que es fundamental para entender la dinámica de las poblaciones de especies arbóreas.

## CONCLUSIONES

1. La producción foliar de MSC en plántulas de *Drimys* se comportó de acuerdo a las predicciones de la Hipótesis del Balance Carbono-Nitrógeno, es decir, las plántulas situadas en el claro del dosel (hábitat rico en luz) presentaron mayores concentraciones de fenoles y taninos condensados que plántulas situadas bajo dosel (hábitat donde la luz sería limitante). Las diferencias en concentración fueron significativas para ambos tipos de compuestos.

2. Las mayores concentraciones de MSC reportadas en las plántulas de *D. winteri* situadas en el claro del dosel, no tuvieron efectos significativos sobre los niveles de daño foliar atribuibles a insectos herbívoros, los cuales fluctuaron entre 5% y 11%. En este hábitat, las plántulas presentaron un mayor porcentaje de hojas dañadas por plántula que bajo dosel cerrado.

3. Aparentemente, los MSC no estarían actuando como compuestos defensivos en las plántulas de *Drimys*. Es probable que dentro del ensamble completo de insectos herbívoros, sólo haya algunos capaces de percibir los mayores niveles de estos compuestos en el claro del dosel. Es posible también, que los insectos herbívoros estén adaptados a la presencia de estos compuestos, y que por lo tanto no sean sensibles a ellos, al contrario de lo que sucede al exponer las mismas hojas a un herbívoro generalista ajeno al sistema, como fue el caso de

*Helix*. Finalmente, es probable también, que los claros provean de mejores condiciones microclimáticas de temperatura a los insectos.

4. A pesar del bajo porcentaje de hojas dañadas por plántula y que la aplicación del insecticida sólo produjo una pequeña reducción en el daño foliar en comparación a las plántulas control (sin insecticida), esta reducción fue suficiente para aumentar significativamente el crecimiento y la sobrevivencia de plántulas de *D. winteri*. Este es uno de los principales resultados de esta tesis, considerando que existen escasos estudios que documentan el efecto negativo de la herbivoría sobre el desempeño de plántulas. Estos efectos se documentaron especialmente bajo dosel.

5. Aunque el crecimiento y sobrevivencia de plántulas de *D. winteri* fue mayor en el claro del dosel que en el interior del bosque bajo dosel cerrado, en este último hábitat se observó una sobrevivencia de un 40% al cabo de los 16 meses de experimento en aquellas plántulas que no recibieron insecticida (condición más desfavorable). En consecuencia, *D. winteri* sería capaz de persistir en el tiempo bajo sombra y formar un banco de plántulas que promueva su regeneración luego de la apertura del dosel.

## BIBLIOGRAFIA

Aide, T.M. y Zimmerman, J.K. 1990. Patterns of insect herbivory, growth, and survivorship in juveniles of a neotropical liana. *Ecology* 71: 1412-1421.

Aravena, J.C., Carmona, M., Pérez, C. y Armesto, J.J. 2002. Changes in tree species richness stand structure and soil properties in a successional chronosequence of forest fragments in northern Chiloé Island, Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 75: 339-360.

Armesto, J.J. y Figueroa, J. 1987. Stand structure and dynamics in the temperate rain forests of Chiloé Archipelago, Chile. *Journal of Biogeography* 14: 367-376.

Armesto, J.J. y Fuentes, E.R. 1988. Tree species regeneration in a mid-elevation, temperate rain forest in Isla de Chiloé, Chile. *Vegetatio* 74: 151-159.



Armesto, J.J., Díaz, I. y Papic, C. 2001. Seed rain of fleshy and dry propagules in different habitats in the temperate rainforests of Chiloé Island, Chile. *Austral Ecology* 26: 311-320.

Armstrong, D.P. y Westoby, M. 1993. Seedlings from large seeds tolerate defoliation better: a test using phylogenetically independent contrasts. *Ecology* 74: 1092-1100.

Augspurger, C.K. 1983. Offspring recruitment around tropical trees: changes in cohort distance with time. *Oikos* 40: 189-196.

Augspurger, C.K. 1984. Light requirements of neotropical tree seedlings: A comparative study of growth and survival. *Journal of Ecology* 72: 777-795.

Bate-Smith, E.C. 1977. Astringent tannins of *Acer* species. *Phytochemistry* 16: 1421-1426.

Bazzaz, F.A. 1979. Physiological ecology of plant succession. *Annual Review in Ecology and Systematics* 10: 287-310.

Becker, P. 1983. Effect of insect herbivory and artificial defoliation on survival of *Shorea* seedlings. En: S.L. Sutton, T.C. Whitmore y A.C. Chadwick (eds.),

Tropical rain forest: ecology and management. Blackwell Scientific, Oxford, England.

Berenbaum, M.R. 1995. The chemistry of defence: theory and practice. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92: 2-8.

Brokaw, N. 1980. Early stages of gap-phase regeneration in tropical forest. Dissertation. University of Chicago, Chicago, Illinois, USA.

Brokaw, N.V.L. 1984. Treefalls, regrowth and community structure in tropical forests. En: S.T.A Pickett y P.S. White (eds.), *Natural disturbance and evolutionary perspective*. Academic Press, Nueva York, USA.

Brokaw, N. 1985. Treefalls, regrowth and community structure in tropical forests. En: S.T.A Pickett y P.S. White (eds.), *The ecology of natural disturbance and patch dynamics*. Academic Press, Orlando, Florida, USA.

Brokaw, N. 1987. Gap-phase regeneration of three pioneer tree species in a tropical forest. *Journal of Ecology* 75: 9-20.

Bryant, J.P., Chapin, F.S. III y Klein, D.R. 1983. Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. *Oikos* 40: 357-368.

Bryant, J.P., Clausen, T.P., Reichardt, P.B., McCarthy, M.C. y Werener, R.A. 1987. Effects of nitrogen fertilisation upon the secondary chemistry and nutritional value of quaking aspen (*Populus tremuloides* Michx.) leaves for the large aspen tortrix (*Choristoneura conflicta* (Walker)). *Oecologia* 73: 513-517.

Bustamante, R.O. y Armesto, J.J. 1995. Regeneration dynamics in canopy gaps of a montane forest of Chiloé Island, Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 68: 391-398.

Calvo-Irabién, L.M. y Islas-Luna, A. 1999. Predispersal predation of an understory rainforest herb *Aphelandra aurantiaca* (Acanthaceae) in gaps and mature forest. *American Journal of Botany* 86: 1108-1113.

Chambers, J.C. y McMahon, J.A. 1994. A day in the life of a seed: movements and fates of seeds and their implications for natural and managed systems. *Annual Review of Ecology and Systematics* 25: 263-292.

Chazdon, R.L. 1985. Leaf display, canopy structure, and light interception of two understory palm species. *American Journal of Botany* 72: 1493-1502.

Chazdon, R.L. 1988. Sunflecks in the forest understory. *Advances in Ecological Research* 18: 1-63.



Chazdon, R.L. y Fetcher, N. 1984. Photosynthetic light environments in a lowland tropical rain forest in Costa Rica. *Journal of Ecology* 72: 553-564.

Clark, D.A. 1994. Plant demography. En: L.A. McDade, K.S. Bawa, H.A. Hespenheide y G.S. Hartshorn (eds.), *La Selva: Ecology and Natural History of Neotropical Rainforest*. pp. 90-105. University of Chicago Press.

Clark, D.A. y Clark, D.B. 1984. Spacing dynamics of a tropical rain forest tree: evaluation of the Janzen-Connell Model. *American Naturalist* 124: 769-788.

Clark, D.B. y Clark, D.A. 1985. Seedling dynamics of a tropical tree: impacts of herbivory and meristem damage. *Ecology* 66: 1884-1892.

Clark, D.B. y Clark, D.A. 1987. Population ecology and microhabitat distribution of *Dypteryx panamensis*, a Neotropical rain forest emergent tree. *Biotropica* 19: 236-244.

Close, D.C. y McArthur, C. 2002. Rethinking the role of many plant phenolics – protection from photodamage not herbivores? *Oikos* 99: 166-172.

Coley, P.D. 1983. Herbivory and defensive characteristics of tree species in a lowland tropical forest. *Ecological Monographs* 53: 209-233.

Coley, P.D. y Barone, J.A. 1996. Herbivory and plant defences in tropical forests. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27: 305-335.

Coley, P.D., Bryant, J.P. y Chapin, F.S. III. 1985. Resource availability and plant anti-herbivore defence. *Science* 230: 895-899.

Connell, J.H. 1971. On the role of natural enemies in preventing competitive exclusion in some marine animals and in rain forest trees. En: B.J. den Boer y G.R. Gradwell (eds.), *Dynamics of Populations*. pp. 298-310. Centre of Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen.

Córdova, B. 1985. Demografía de árboles tropicales. En: A. Gómez-Pompa y S. del Amo (eds.), *Investigaciones sobre la regeneración de selvas altas en Veracruz, México*. Vol. II. pp. 103-128. Editorial Alhambra Mexicana, S.A. de C.V. Xalapa, Veracruz, México.

Crankshaw, R. S. y Langenheim, J.H. 1981. Variation in terpenes and phenolics through leaf development in *Hymenaea* and its possible significance to herbivory. *Biochemical Systematics and Ecology* 9: 115-125.

Crawley, M.J. 1989. The relative importance of vertebrate and invertebrate herbivores in plant population dynamics. En: E.A. Bernays (ed.), *Insect-Plant Interactions*. pp. 45-71. CRC Press, Boca Raton.

Crawley, M.J. 1993. On the consequences of herbivory. *Evolutionary Ecology* 7: 124-125.

Crawley, M.J. 1997a. *Plant Ecology*. Blackwell Science Ltd., London.

Crawley, M.J. 1997b. Plant-herbivore dynamics. En: M.J. Crawley (ed.), *Plant Ecology*. pp. 401-474. Second Edition. Blackwell Science Ltd.

Denslow, J.S. 1980. Gap partitioning among tropical rain forest trees. *Biotropica* 12: 47-55.

Denslow, J.S. 1987. Tropical rainforest gaps and tree species diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 431-451.

Denslow, J.S. y Hartshorn, G.S. 1994. Tree-fall gap environments and forest dynamic process. En: L.A. McDade, K.S. Bawa, H.A. Hespenheide y G.S. Hartshorn (eds.), *La Selva: Ecology and Natural History of Neotropical Rainforest*. pp. 120-127. University of Chicago Press.

Denslow, J.S., Schultz, J.C., Vitousek, P.M. y Strain, B.R. 1990. Growth responses of tropical shrubs to treefall gap environments. *Ecology* 71: 165-179.

Denslow, J.S, Ellison, A.M. y Sanford, R.E. 1998. Treefall gap size effects on above- and below-ground processes in a tropical wet forest. *Journal of Ecology* 86: 597-609.

Di Castri, F. y Hajek, E.R. 1976. *Bioclimatología de Chile*. Editorial de la Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

Díaz, I., Papic, C. y Armesto, J.J. 1999. An assessment of post-dispersal seed predation in temperate rain forest fragments in Chiloé Island, Chile. *Oikos* 87: 228-238.

Dirzo, R. 1984. Herbivory: a phytocentric overview. En: R. Dirzo y J. Sarukhán (eds.), *Perspectives on Plant Population Ecology*. pp. 141-165. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, USA.

Domínguez, C.A. y Dirzo, R. 1994. Effects of defoliation on *Erythroxylum havanense*, a tropical proleptic tree. *Ecology* 75: 1896-1902.

Dudt, J.F. y Shure, D.J. 1994. The influence of light and nutrients on foliar phenolics and insect herbivory. *Ecology* 75: 86-95.

Ehrlich, P.R. y Raven, P.H. 1964. Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution* 18: 586-608.

Feeny, P. 1970. Seasonal changes in oak leaf tannins and nutrients as a cause of spring feeding by winter moth caterpillars. *Ecology* 55: 565-581.

Feeny, P. 1975. Biochemical coevolution between plants and their insect herbivores. En: L.E. Gilbert y P.H. Raven (eds.), *Coevolution of Animals and Plants*. pp. 3-19. University of Texas Press, Austin and London.

Feeny, P. 1991. The evolution of chemical ecology: contributions from the study of herbivorous insects. En: G.A. Rosenthal y M.R. Berenbaum (eds.), *Herbivores. Their Interactions with Secondary Plant Metabolites*. pp. 1-44. Volume II. Second Edition. Academic Press.

Fenner, M. 1985. *Seed Ecology*. Chapman & Hall.

Figueroa, J.A. y Castro, S.A. 2000. Efecto de herbívoros y patógenos en la sobrevivencia y crecimiento de plántulas en un fragmento del bosque templado de Chiloé, Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 73: 163-173.

Figueroa, J.A. y Lusk, C.H. 2001. Germination requirements and seedling shade tolerance are not correlated in a Chilean temperate rain forest. *New Phytologist* 152: 483-489.

Gardner, P.T., McPhail, D.B. y Duthie, G.G. 1998. Electron spin resonance assessment of the antioxidant potential of teas in aqueous and organic media. *Journal of Science and Food Agriculture* 76: 257-262.

Gómez-Pompa, A y Vázquez-Yanes, C. 1985. Estudios sobre la regeneración de selvas en regiones cálido-húmedas de México. En: A. Gómez-Pompa y S. del Amo (eds.), *Investigaciones sobre la regeneración de selvas altas en Veracruz, México*. Vol. II. pp. 1-25. Editorial Alhambra Mexicana, S.A. de C.V. Xalapa, Veracruz, México.

Gutiérrez, A.G., Armesto, J.J. y Aravena, J.C. 2004. Disturbance and regeneration dynamics of an old-growth North Patagonian rain forest in Chiloé Island, Chile. *Journal of Ecology* 92: 598-608.

Hagerman, A.E. 1988. Extraction of tannin from fresh and preserved leaves. *Journal of Chemical Ecology* 14: 453-461.

Hagerman, A.E., Riedl, K.M. y Jones, G.A. 1998. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 46: 1887-1892.

Harper, J.L. 1977. *Population Biology of Plants*. Academic Press, London.

Hartley, S.E. y Jones, C.G. 1997. Plant chemistry and herbivory, or why the world is green. En: M.J. Crawley (ed.), Plant Ecology. pp. 284-324. Second Edition. Blackwell Science Ltd.

Hartley, S.E., Nelson, K. y Gorman, M. 1995. The effect of fertilizer and shading on plant chemical composition and palatability to Orkney voles, *Microtus arvalis orcadensis*. *Oikos* 72: 79-87.

Harborne, J.B. 1997. Plant secondary metabolism. En: M.J. Crawley (ed.), Plant Ecology. pp. 132-155. Second Edition. Blackwell Science Ltd.

Hartshorn, G.S. 1978. Tree falls and tropical forest dynamics. En: P.B. Tomlinson y M.H. Zimmermann (eds.), Tropical trees as living systems. pp. 617-638. Cambridge University Press.

Herms, D.A. y Mattson, W.J. 1992. The dilemma of plants-to grow or defend? *Quarterly Review of Biology* 67: 283-335.

Hoffmann, A.E. 1997. Flora silvestre de Chile. Zona Araucana. Cuarta Edición. Fundación Claudio Gay.

Hubbell, S.P. y Foster, R.B. 1986. Canopy gaps and the dynamics of a neotropical forest. En M.J. Carwley (ed.), *Plant Ecology*. pp. 77-96. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

Hunt, R. 1982. *Plant Growth Curves*. Edward Arnold, London.

Hunter, M.D. y Schultz, J.C. 1995. Fertilisation mitigates chemical induction and herbivore responses within damage oak trees. *Ecology* 76: 1226-1232.

Hutchings, M.J. 1997. The structure of plant populations. En: M.J. Crawley (ed.), *Plant Ecology*. pp. 325-358. Second Edition. Blackwell Science Ltd.

Jackson, R.V. y Bach, C.E. 1999. Effects of herbivory on growth and survival of seedlings of a rainforest tree, *Alphitonia whitei* (Rhamnaceae). *Australian Journal of Ecology* 24: 278-286.

Janzen, D.H. 1979. New horizons in the biology of plant defences. En: *Herbivores. Their Interactions with Secondary Plant Metabolites*.

Kitajima, K. 1994. Relative importance of photosynthetic traits and allocation patterns as correlates of seedling shade tolerance of 13 tropical trees. *Oecologia* 98: 419-428.



Kitajima, K. y Fenner, M. 2000. Ecology of seedling regeneration. En: M. Fenner (ed.), *Seeds, The Ecology of Regeneration in Plants Communities*. pp. 331-359. Cab International, Oxon, UK.

Kobe, R.K., Pacala, S.W., Silander, J.A. y Canham, C.D. 1995. Juvenile tree survivorship as a component of shade tolerance. *Ecological Applications* 3: 517-532.

Koricheva, J., Larsson, S., Haukioja, E. y Keinänen, M. 1998. Regulation of woody plant secondary metabolism by resource availability: hypothesis testing by means of meta-analysis. *Oikos* 83: 212-226.

Koricheva, J. 2002. The Carbon-Nutrient Balance Hypothesis is dead; long live the carbon-nutrient balance hypothesis? *Oikos* 98: 537-539.

Lambdon, P.W. y Hassal, M. 2001. Do plant toxins impose constraints on herbivores? An investigation using compartmental analysis. *Oikos* 93: 168-176.

Larsson, S., Wiren, A., Lundgren, L. y Ericsson, T. 1986. Effect of light and nutrients stress on leaf phenolic chemistry in *Salix dasyclados* and susceptibility to *Galerucella lineola* (Coleoptera). *Oikos* 47: 205-210.

Lerdau, M. 2002. Benefits of the Carbon-Nutrient Balance Hypothesis. *Oikos* 98: 534-536.

Louda, S.M. y Rodman, J.E. 1996. Insect herbivory as a major factor in the shade distribution of a native crucifer (*Cardamine cordifolia*, A. Grey, bittercress). *Journal of Ecology* 84: 229-238.

Lusk, C.H. 2002. Leaf area accumulation helps juvenile evergreen trees tolerate shade in a temperate rainforest. *Oecologia* 132: 188-196.

Machado, J.L. y Reich, P.B. 1999. Evaluation of several measures of canopy openness predictors of photosynthetic photon flux density in forest understory. *Canadian Journal of Forest Research* 29: 1438-1444.

Maleret, L., Breden, F., Garling, L., Rowell, H., Kennedy, D. y Uhl, C. 1978. Is there any difference in the insect fauna of mature, building, and/or gap areas of a tropical forest of La Selva? Report, OTS 78-1: 85-87.

Marquis, R.J. 1992. A bite is a bite is a bite? Constraints on response to folivory in *Piper arieianum* (Piperaceae). *Ecology* 73: 143-152.

Marquis, R.J. y Braker, H.E. 1994. Plant-herbivore interactions: Diversity, specificity, and impact. En: L.A. McDade, K.S. Bawa, H.A. Hespeneide y G.S.

Hartshorn (eds.), *La Selva: Ecology and Natural History of Neotropical Rainforest*. pp. 261-281. University of Chicago Press.

Martin, J.S. y Martin, M.M. 1982. Tannin assays in ecological studies: lack of correlation between phenolics, proanthocyanidins and protein-precipitating constituents in mature foliage of six oak species. *Oecologia* 54: 205-211.

Martínez-Ramos, M. 1985. Claros, ciclos vitales de los árboles tropicales y regeneración natural de las selvas altas perennifolias. En: A. Gómez-Pompa y S. del Amo (eds.), *Investigaciones sobre la regeneración de selvas altas en Veracruz, México*. Vol. II. pp. 191-223. Editorial Alhambra Mexicana, S.A. de C.V. Xalapa, Veracruz, México.

Mc Innes, P.F. Naiman, R.J., Pastor, J. y Cohen, Y. 1992. Effects of moose browsing on vegetation and litter of the boreal forest, Isla Royale, Michigan, USA. *Ecology* 73: 2059-2075.

Mole, S. y Waterman, P.G. 1987. A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies. *Oecologia* 72: 137-147.

Mole, S., Ross, J.A.M. y Waterman, P.G. 1988. Light induced variation in phenolic levels in foliage of rain-forest plants. I. Chemical changes. *Journal of Chemical Ecology* 14: 1-21.

Moore, L.V., Myers, J.H. y Eng, R. 1988. Western tent caterpillars prefer the sunny side of the tree, but why? *Oikos* 51: 321-326.

Nava, V. y Del Amo, S. 1985. Variación del grado de daño en las hojas de estados juveniles de tres especies primarias. En: A. Gómez-Pompa y S. del Amo (eds.), *Investigaciones sobre la regeneración de selvas altas en Veracruz, México*. Vol. II. pp. 299-312. Editorial Alhambra Mexicana, S.A. de C.V. Xalapa, Veracruz, México.

Newbery, D.M. y de Foresta, H. 1985. Herbivory and fence in pioneer gap and understory trees in tropical rain forests in French Guiana. *Biotropica* 17: 238-244.

Nichols-Orians, C.M. 1991. The effects of light on foliar chemistry, growth and susceptibility of seedlings of a canopy tree to an attine ant. *Oecologia* 86: 552-560.

Núñez-Farfán, J. y Dirzo, R. 1985. Herbivoría y sucesión en una selva alta perennifolia. En: A. Gómez-Pompa y S. del Amo (eds.), *Investigaciones sobre la regeneración de selvas altas en Veracruz, México*. Vol. II. pp. 313-332. Editorial Alhambra Mexicana, S.A. de C.V. Xalapa, Veracruz, México.

Ostfeld, R.S. y Canham, C.D. 1993. Effects of meadow vole population density on tree survival in old field. *Ecology* 74: 1792-1801.

Ostfeld, R.S., Manson, R.H. y Canham, C.D. 1997. Effects of rodents on survival of tree seeds and seedlings invading old fields. *Ecology* 78: 1531-1542.

Osunkoya, O.O. Ash, J.E., Graham, A.W. y Hopkins, M.S. 1993. Growth of tree seedlings in tropical rain forests of North Queensland, Australia. *Journal of Tropical Ecology* 9: 1-18.

Parker, M.A. y Salzman, A.G. 1985. Herbivore exclosure and competitor removal: effects on juvenile survivorship and growth in the shrub *Gutierrezia microcephala*. *Journal of Ecology* 73: 909-913.

Pearson, T.R.H., Burslem, D.F.R., Goeriz, R.E. y Dalling, J.W. 2003. Interactions of gap size and herbivory on establishment, growth and survival of three species of neotropical pioneer trees. *Journal of Ecology* 91: 785-796.

Popma, J. y Bongers, F. 1991. Acclimation of seedlings of three Mexican tropical rain forest tree species to a change in light availability. *Journal of Tropical Ecology* 7: 85-97.

Poulson, T.L. y Platt, W.J. 1989. Gap light regimes influence canopy tree diversity. *Ecology* 70: 553-555.

Reichardt, P.B., Chapin, F.S. III, Bryant, J.P. Mattes, B.R. y Clausen, T.P. 1991. Carbon/nutrient balance as a predictor of plant defence in Alaskan balsam poplar: potential importance of metabolic turnover. *Oecologia* 88: 401-406.

Reid, S., Diaz, I.A., Armesto, J.J. y Willson, M.F. 2004. Importance of native bamboo for understory birds in Chilean temperate forests. *Auk* 121: 515-525.

Root, R.B. 1973. Organisation of a plant-arthropod association in simple and diverse habitats: the fauna of Collards (*Brassica oleracea*). *Ecological Monographs* 37: 317-350.

Schultz, J.C. 1988. Many factors influence the evolution of herbivores diet, but plant chemistry is central. *Ecology* 69: 896-897.

Shure, D.J. y Phillips, D.L. 1991. Patch size of forest openings and arthropod populations. *Oecologia* 86: 325-334.

Shure, D.J. y Wilson, L.A. 1993. Patch-size effects on plant phenolics in successional openings of the southern Apalachians. *Ecology* 74: 55-67.

Sipura, M. y Tahvanainen, J. 2000. Shading enhances the quality of willow leaves to leaf beetles – but does it matter? *Oikos* 91: 550-558.

Spies, T.A. y Franklin, J.F. 1989. Gap characteristics and vegetation response in coniferous of the pacific Northwest. *Ecology* 70: 543-545.

Stanton, M.L. 1983. Spatial patterns in the plant community and their effects upon insect search. En: S. Ahmad (ed.), *Herbivorous insects, host-seeking behavior, and mechanisms*. pp. 125-157. New York, Academic Press.

StatSoft, Inc. 1998. *STATISTICA for Windows* (computer program manual). Stat Soft, Inc., Tulsa, Okla.

Swain, T. 1979. Tannins and lignins. En: G.A. Rosenthal y D.H. Janzen (eds.), *Herbivores: their interactions with secondary plants metabolites*. pp. 657-682. Academic Press, New York, USA.

Swain, T. y Hillis, W.E. 1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of Agricultural Food Science* 10: 63-68.

Tahvanainen, J., Julkunen-Tiitto, R. y Kettunen, J. 1985. Phenolic glycosides govern the food selection pattern of willow-feeding leaf beetles. *Oecologia* 67: 52-56.

Tinoco, C. y Vázquez-Yanes, C. 1985. Diferencias en poblaciones de *Piper hispidum* bajo condiciones de luz contrastante en una selva alta perennifolia. En: A. Gómez-Pompa y S. del Amo (eds.), Investigaciones sobre la regeneración de selvas altas en Veracruz, México. Vol. II. pp. 267-281. Editorial Alhambra Mexicana, S.A. de C.V. Xalapa, Veracruz, México.

Tuomi, J., Niemela, P., Chapin, F.S., Bryant, J.P. y Sirén, S. 1988. Defensive responses of trees in relation to their carbon/nutrient balance. En: W.J. Mattson, J. Levieux y C. Bernard-Dagan (eds.), Mechanisms of woody plant defences against insects: search for pattern. Springer-Verlag, New York. pp. 57-72.

Uhl, C., Clark, K., Dezzee, N. y Maquirrino, P. 1988. Vegetation dynamics in Amazonian treefall gaps. *Ecology* 69: 751-763.

Veblen, T.T. 1985. Forest development in tree-fall gaps in the temperate rain forests of Chile. *National Geographic Research* 1: 161-184.

Veblen, T.T. y Alaback, P.B. 1996. A comparative review of forest dynamics and disturbance in the temperate rainforests of North and South America. En: R.



Lawford, P.B. Alaback y E. Fuentes (eds.), High Latitude rainforests and associated ecosystems of the west coast of the Americas. Climate, hydrology, ecology, and conservation. pp. 173-213. Springer, Berlin.

Veblen, T.T., Ashton, D.H., Schlegel, F.M. y Veblen, T.T. 1977. Plant succession in a timberline depressed by volcanism in south-central Chile. *Journal of Biogeography* 4: 275-294.

Veblen, T.T., Schlegel, F.M. y Escobar, B. 1980. Structure and dynamics of old-growth *Nothofagus* forests in the Valdivian Andes, Chile. *Journal of Ecology* 68: 1-31.

Veblen, T.T., Donoso, C., Schlegel, F.M. y Escobar, R. 1981. Forest dynamics in south-central Chile. *Journal of Biogeography* 8: 211-247.

Veblen, T.T., Kitzberger, T., Burns, B.R. y Robertus, A. 1996. Perturbaciones y dinámica de regeneración en bosques andinos del sur de Chile y Argentina. En: J.J. Armesto, C. Villagrán y M. Kalin Arroyo (eds.), *Ecología de los Bosques Nativos de Chile*. pp. 169-198. Editorial Universitaria, Santiago, Chile.

Walters, M.B. y Reich, P.B. 1999. Low-light carbon balance and shade tolerance in the seedlings of woody plants: do winter deciduous and broad-leaved evergreen species differ? *New Phytologist* 143: 143-154.

Wang, H., Cao, G. y Prior, R.L. 1997. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 45: 304-309.

Waring, R.H., McDonald, A.J.S. y Larsson, S. 1985. Differences in chemical composition of plants grown at constant relative growth rates with stable mineral nutrition. *Oecologia* 66: 157-160.

Waterman, P.G., Ross, J.A.M. y McKey, D.B. 1984. Factors affecting levels of some phenolic compounds, of digestibility, and nitrogen content of the mature leaves of *Barteria fistulosa* (Passifloraceae). *Journal of Chemical Ecology* 10: 387-401.

Watt, A.S. 1947. Pattern and process in the plant community. *Journal of Ecology* 35: 1-22.

Weis, S.B., Murphy, D.D. y White, R.R. 1988. Sun, slope and butterflies: topographic determinants of habitat quality for *Euphydryas editha*. *Ecology* 69: 1486-1496.

Whitmore, T.C. 1975. Tropical rain forests of the Far East. Clarendon, Oxford, England.

Whitmore, T.C. 1978. Gaps in the forest canopy. En: P.B. Tomlinson y M.H. Zimmermann (eds.), Tropical trees as living systems. pp. 639-655. Cambridge University Press, New York, USA.

Whitmore, T.C. 1984. Tropical rain forests of the far east. Second Edition. Oxford, Clarendon Press.

Willson, M.F. y Armesto, J.J. 1996. The natural history of Chiloé: on Darwin's trail. *Revista Chilena de Historia Natural* 69: 149-161.

Willson, M.F., de Santo. T., Sabag, C y Armesto, J.J. 1994. Avian communities of fragmented south-temperate rainforests in Chile. *Conservation Biology* 8: 508-520.

Zar, J.H. 1996. *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall, New Jersey.

## ANEXOS

En esta sección se presentarán algunos resultados adicionales como por ejemplo, aquellos obtenidos en un tercer hábitat estudiado, denominado hábitat de borde, el cual presenta una apertura del dosel intermedia entre el interior del bosque y el claro del dosel. Por otra parte, en esta sección se presentarán también, los resultados obtenidos para los hábitats de interior y claro del dosel en la especie arbórea *Gevuina avellana* (Proteaceae) para las variables MSC, daño foliar, crecimiento y sobrevivencia de plántulas. Finalmente, se presentan datos relacionados con asignación a biomasa y área foliar específica para ambas especies en los tres hábitats; interior, borde y claro.

### 1. Hábitat de borde

El borde de bosque estudiado corresponde a un cinturón angosto de árboles (aprox. 10 m) adyacente a la pradera, dominado por juveniles de 5 - 10 m de *D. winteri* combinado con vegetación arbustiva (< 5 m de alto). Las variables medidas en el hábitat de borde del fragmento de bosque estudiado, el cual presentó una apertura del dosel intermedia entre los otros dos hábitats (Anexo 1a), se comportaron de manera similar a las reportadas en el claro del dosel, y

en otras ocasiones, similares a las reportadas en el interior del bosque. Por ejemplo, el porcentaje de fenoles totales medido en el borde no difirió significativamente del reportado en el hábitat de claro, difiriendo ambos de aquel obtenido para el hábitat de interior (Anexo 2a). En contraste, el porcentaje de taninos condensados medido en el borde, no difirió significativamente ni del interior ni del claro, observándose sólo diferencias significativas entre los hábitats extremos (Anexo 2a).

En cuanto a las otras variables medidas, tales como porcentaje total de hojas dañadas por plántula, tasa de crecimiento relativa, y sobrevivencia de plántulas, las plántulas situadas en el borde con o sin insecticida, también presentaron valores que no difirieron significativamente con aquellos presentados por las plántulas situadas en el interior, y en algunos caso con aquellas situadas en el borde (Anexo 2b). De estos resultados, se desprende que las plántulas situadas en el hábitat de borde, se comportan de manera intermedia y no contribuyen a aclarar las hipótesis, razón por la cual los datos no fueron incorporados en los análisis principales.

**ANEXO 1.** Variables ambientales medidas en los hábitats de interior de bosque, borde y claro del dosel. Se muestran las medias  $\pm 1$  EE. Medias con letras diferentes difieren significativamente (prueba *a posteriori* de Tukey,  $p < 0,05$ ).

(a) Porcentaje de apertura del dosel o luz difusa.

Hábitat	% apertura dosel
Interior	$1,0 \pm 0,2^a$
Borde	$5,7 \pm 1,0^b$
Claro	$11,5 \pm 1,1^c$

(b) Porcentaje de humedad del suelo en los maceteros en cuatro estaciones del año.

Hábitat	verano	otoño	Invierno	primavera	promedio
Interior	$54,7 \pm 1,5^a$	$51,0 \pm 0,7^a$	$50,8 \pm 0,6^a$	$53,7 \pm 0,6^a$	$52,6 \pm 0,4^a$
Borde	$53,4 \pm 1,3^a$	$54,1 \pm 2,8^a$	$49,5 \pm 1,2^a$	$52,9 \pm 1,5^a$	$52,5 \pm 0,8^a$
Claro	$53,8 \pm 1,0^a$	$63,4 \pm 3,0^b$	$47,7 \pm 0,9^a$	$52,7 \pm 0,9^a$	$54,4 \pm 0,9^a$

(c) Nitrógeno total disponible en el suelo ( $\mu\text{g g}^{-1}$  suelo) al interior de los potes experimentales.

Hábitat	0 meses	6 meses	14 meses
Interior	$83,3 \pm 18,9^a$	$27,4 \pm 1,9^b$	$12,3 \pm 3,1^c$
Borde	$83,3 \pm 18,9^a$	$30,3 \pm 3,4^b$	$7,3 \pm 0,8^c$
Claro	$83,3 \pm 18,9^a$	$29,6 \pm 2,8^b$	$12,6 \pm 2,1^c$

**ANEXO 2.** Variables medidas en las plántulas bajo los distintos tratamientos. Se muestran las medias  $\pm 1$  EE.

(a) Porcentaje de fenoles totales y taninos condensados. \*  $p < 0,05$

MSC	Invierno			Verano			Andeva
	interior	borde	claro	interior	Borde	claro	
Fenoles	6,3 $\pm$ 1,1 <sup>a</sup>	9,5 $\pm$ 1,2 <sup>b</sup>	10,9 $\pm$ 1,6 <sup>b</sup>	8,6 $\pm$ 1,5 <sup>a</sup>	19,8 $\pm$ 2,2 <sup>b</sup>	21,4 $\pm$ 2,4 <sup>b</sup>	F = 13,6*
Taninos	3,2 $\pm$ 1,5 <sup>a</sup>	6,6 $\pm$ 2,1 <sup>ab</sup>	7,1 $\pm$ 2,1 <sup>b</sup>	4,5 $\pm$ 1,5 <sup>a</sup>	7,9 $\pm$ 1,7 <sup>ab</sup>	13,6 $\pm$ 3,7 <sup>b</sup>	F = 3,3*

(b) Porcentaje total de hojas dañadas por plántula, tasa de crecimiento relativa de los tallos ( $TCR_t$ ) y porcentaje de sobrevivencia de plántulas de *D. winteri*. CI = con insecticida y SI = sin insecticida. Medias que comparten letras no difieren significativamente (prueba *a posteriori* de Tukey,  $p < 0,05$ ).

Variable	Interior		Borde		Claro	
	CI	SI	CI	SI	CI	SI
% total hojas dañadas / plántula	4,6 $\pm$ 1,4 <sup>a</sup>	6,4 $\pm$ 1,7 <sup>ab</sup>	4,2 $\pm$ 1,3 <sup>a</sup>	6,7 $\pm$ 1,8 <sup>ab</sup>	10,0 $\pm$ 1,9 <sup>a</sup> b	11,2 $\pm$ 2,3 <sup>b</sup>
$TCR_t$ (cm cm <sup>-1</sup> mes <sup>-1</sup> )	0,054 $\pm$ 0,008 <sup>ab</sup>	0,049 $\pm$ 0,013 <sup>ab</sup>	0,072 $\pm$ 0,007 <sup>ab</sup>	0,058 $\pm$ 0,008 <sup>ab</sup>	0,108 $\pm$ 0,009 <sup>c</sup>	0,073 $\pm$ 0,009 <sup>b</sup>
% plántulas vivas	60 <sup>ab</sup>	40 <sup>a</sup>	90 <sup>bc</sup>	65 <sup>ab</sup>	100 <sup>c</sup>	80 <sup>ab</sup>

## 2. Mediciones en *Gevuina avellana*

Las mismas variables respuestas reportadas para *D. winteri* fueron determinadas para la especie *Gevuina avellana*, avellano (Proteaceae), la cual también es capaz de establecerse a lo largo de un gradiente de luminosidad, siendo el requerimiento lumínico promedio requerido por esta especie de 6,6% (Figueroa y Lusk 2001). *G. avellana* se distribuye desde Valparaíso, por la costa, hasta las islas Guaitecas. En general, no forma bosques puros y crece mezclado con las demás especies típicas del bosque húmedo (Hoffmann 1997). Es un árbol que alcanza hasta 20 m de altura, pero también se le puede encontrar en forma de arbusto. Sus frutos son una nuez drupácea, globosa de 1,5 a 2 cm de diámetro. La cáscara es leñosa, y su color varía de verde a negro, pasando por los tonos rojo, marrón y violeta.

La concentración de ambos MSC fue afectada significativamente por el hábitat a lo largo de las dos estaciones de muestreo (Andeva con medidas repetidas,  $F_{\text{Fenoles}} = 8,23$ ; g.l. = 1, 19;  $p = 0,009$  y  $F_{\text{Taninos}} = 17,51$ ; g.l. = 1, 39;  $p < 0,001$ ), siendo la concentración mayor en las plántulas de avellano situadas en el claro del dosel (prueba *a posteriori* de Newman-Keuls,  $p < 0,05$ ) (Anexo 3a). En comparación a las plántulas de canelo, la concentración de fenoles y taninos condensados en las plántulas de *G. avellana* fue mayor, y siempre la cantidad de fenoles fue más alta que la de taninos (Anexo 3a).

La apertura del dosel tuvo un efecto significativo sobre el porcentaje total de hojas dañadas por plántula, no así la exclusión de insectos herbívoros



(Andeva,  $F_{\text{Hábitat}} = 11,13$ ; g.l. = 1, 74;  $p < 0,001$  y  $F_{\text{Insecticida}} = 2,25$ ; g.l. = 1, 74;  $p = 0,137$ ). El porcentaje total de hojas dañadas por plántula en plántulas situadas en el interior del bosque con o sin insecticida difirió significativamente de aquellas situadas en el claro del dosel y usadas como control (sin insecticida) (prueba *a posteriori* de Tukey,  $p < 0,05$ ) (Anexo 3b). Los niveles de daño foliar oscilaron entre 2% y 8%, siendo estos valores más bajos que los observados en las plántulas de canelo.

La tasa de crecimiento relativa de los tallos fue afectada significativamente por el hábitat y por la exclusión de insectos herbívoros (Andeva,  $F_{\text{Hábitat}} = 104,97$ ; g.l. = 1, 73;  $p < 0,001$  y  $F_{\text{Insecticida}} = 30,99$ ; g.l. = 1, 73;  $p < 0,001$ ). Las plántulas situadas en el claro y que recibieron insecticida fueron las que presentaron la  $TCR_t$  más alta, difiriendo significativamente de aquellas plántulas situadas en el interior con o sin insecticida, y también de aquellas situadas en el claro y que no recibieron insecticida (pruebas *a posteriori* de Tukey,  $p < 0,05$ ) (Anexo 3b).

Finalmente, el hábitat, el insecticida y el tiempo de muestreo tuvieron un efecto significativo en la sobrevivencia de plántulas (Modelo Binomial lineal con Logit,  $\chi^2_{\text{Hábitat}} = 116,59$ ; g.l. = 1;  $p < 0,001$ ,  $\chi^2_{\text{Insecticida}} = 4,36$ ; g.l. = 1;  $p < 0,001$  y  $\chi^2_{\text{Tiempo}} = 198,79$ ; g.l. = 8;  $p < 0,001$ ). La sobrevivencia de plántulas disminuyó fuertemente en el tiempo, especialmente en aquellas plántulas situadas en el interior y que no recibieron insecticida. Al cabo de los 16 meses de experimento, el porcentaje de plántulas vivas en el interior del bosque en

plántulas que no recibieron insecticida fue de un 5%, mientras que en aquellas situadas en el claro y que si recibieron insecticida, fue de un 95% (Anexo 3b), detectándose diferencias significativas por ejemplo, entre plántulas situadas en el interior con o sin insecticida y aquellas situadas en el claro con o sin exclusión de insectos herbívoros (Pruebas *a posteriori* de Tukey para proporciones múltiples,  $p < 0,05$ ) (Anexo 3b).

**ANEXO 3.** Variables medidas en las plántulas de *Gevuina avellana* (Proteaceae) bajo los distintos tratamientos. Se muestran las medias  $\pm$  1 EE.

(a) Porcentaje de fenoles totales y taninos condensados. \*  $p < 0,05$

MSC	Invierno		Verano		Andeva
	interior	claro	interior	claro	
Fenoles	8,9 $\pm$ 2,6	21,6 $\pm$ 2,3	12,0 $\pm$ 3,2	20,4 $\pm$ 2,4	F = 8,238*
Taninos	2,5 $\pm$ 1,2	20,5 $\pm$ 3,9	4,6 $\pm$ 2,4	15,1 $\pm$ 3,1	F = 17,509*

(b) Porcentaje total de hojas dañadas por plántula, tasa de crecimiento relativa de los tallos ( $TCR_t$ ) y porcentaje de sobrevivencia de plántulas de *G. avellana*. CI = con insecticida y SI = sin insecticida. Medias que comparten letras no difieren significativamente (prueba *a posteriori* de Tukey,  $p < 0,05$ ).

Variable	Interior		Claro	
	CI	SI	CI	SI
% total hojas dañadas / plántula	2,4 $\pm$ 1,1 <sup>a</sup>	2,8 $\pm$ 1,3 <sup>a</sup>	2,9 $\pm$ 0,7 <sup>ab</sup>	7,3 $\pm$ 1,6 <sup>b</sup>
$TCR_t$ (cm cm <sup>-1</sup> mes <sup>-1</sup> )	0,013 $\pm$ 0,010 <sup>a</sup>	0,007 $\pm$ 0,005 <sup>a</sup>	0,086 $\pm$ 0,004 <sup>c</sup>	0,056 $\pm$ 0,008 <sup>b</sup>
% plántulas vivas	15 <sup>ab</sup>	5 <sup>a</sup>	95 <sup>c</sup>	35 <sup>b</sup>

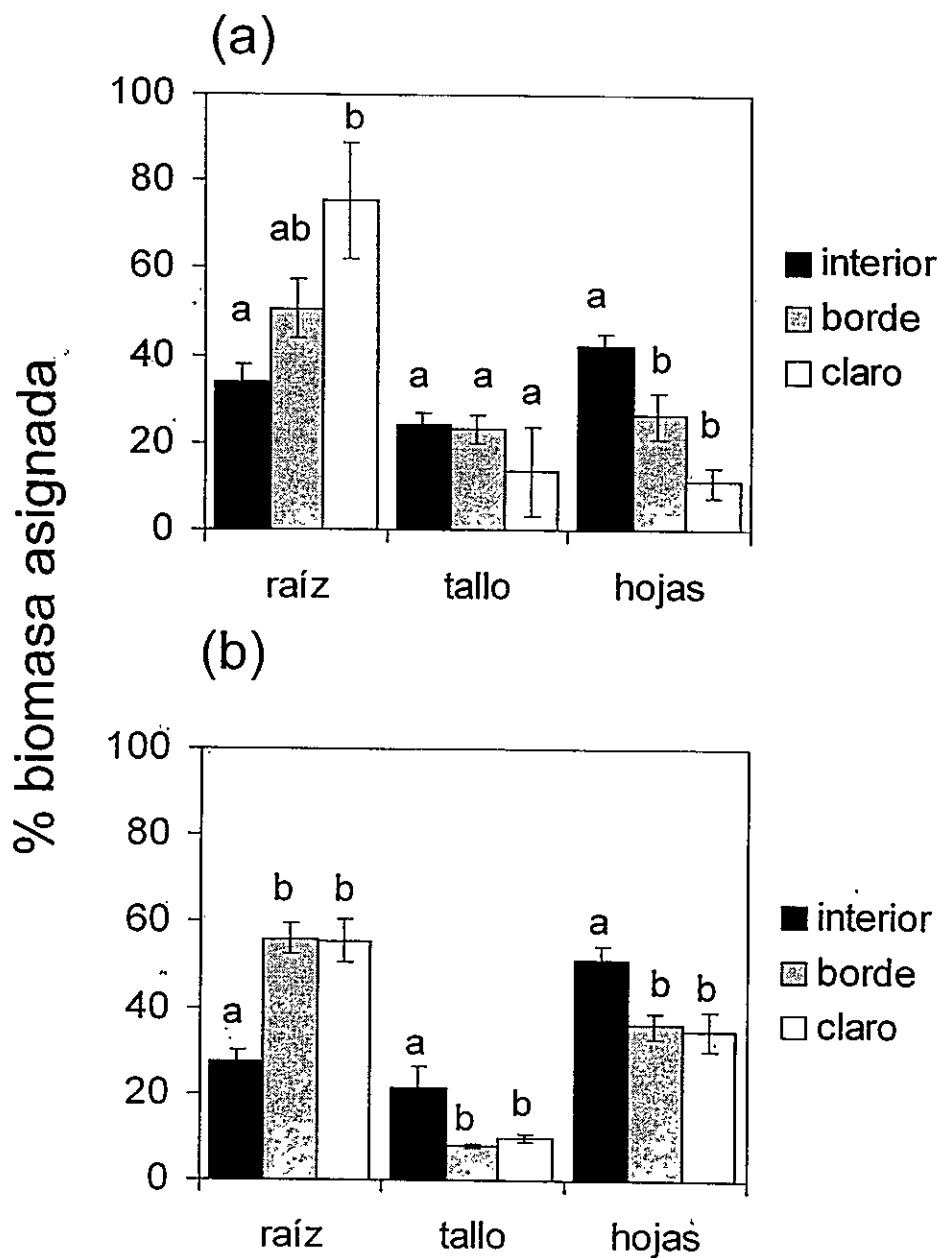
### 3. Asignación a biomasa y área foliar específica

El porcentaje de biomasa asignada a raíces y hojas fue afectada significativamente por la apertura del dosel en las plántulas de canelo (Andeva,  $F_{\text{Raíces}} = 5,639$ ; g.l. = 2, 12;  $p = 0,018$  y  $F_{\text{Hojas}} = 15,305$ ; g.l. = 2, 12;  $p = 0,001$ ) (Anexo 4a). Por el contrario, el porcentaje de biomasa asignado a tallos no fue afectado por el hábitat ( $F_{\text{Tallos}} = 1,906$ ; g.l. = 2, 12;  $p = 0,191$ ) (Anexo 4a). La apertura del dosel afectó en forma significativa la asignación de biomasa a raíces, hojas y tallos en *G. avellana* (Andeva,  $F_{\text{Raíces}} = 19,221$ ; g.l. = 2, 12;  $p = 0,001$ ,  $F_{\text{Tallos}} = 7,039$ ; g.l. = 2, 12;  $p = 0,009$  y  $F_{\text{Hojas}} = 5,779$ ; g.l. = 2, 12;  $p = 0,017$ ) (Anexo 4b). Ambas especies asignaron más biomasa a hojas en el hábitat de interior del bosque que en el claro del dosel, y lo contrario se observó con respecto a la asignación a raíces (Anexo 4).

El área foliar específica (AFE) fue afectada marginalmente por la apertura del dosel en *D. winteri* (Andeva,  $F = 2,992$ ; g.l. = 2, 24;  $p = 0,069$ ) y significativamente en *G. avellana* (Andeva,  $F = 3,874$ ; g.l. = 2, 24;  $p = 0,034$ ), mientras que la estación del año no tuvo un efecto significativo en ninguna de las dos especies. El AFE de las plántulas de canelo fue mayor en el interior, intermedia en el borde y menor en el claro del dosel (Anexo 5a), difiriendo marginalmente entre los hábitats de interior y claro (prueba *a posteriori* de Tukey,  $p = 0,063$ ) (Anexo 5a). Las plántulas de avellano mostraron una tendencia similar en la misma dirección (Anexo 5b), difiriendo significativamente sólo entre el interior del bosque y el claro del dosel (prueba *a posteriori* de

Tukey,  $p = 0,027$ ) (Anexo 5b). Además, el AFE de las plántulas de *G. avellana* siempre fue menor que las de *D. winteri* en los tres hábitats (Anexo 5).

**ANEXO 4.** Proporción de biomasa asignada a raíz, tallo y hojas en plántulas de *Drimys winteri* (a) y *Gevuina avellana* (b) crecidas en los hábitats de interior, borde y claro del dosel en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región. Se muestran las medias  $\pm$  1 EE. Barras que comparten letras no difieren significativamente (prueba *a posteriori* de Tukey,  $p > 0,05$ ).



**ANEXO 5.** Área foliar específica (AFE) en plántulas de *Drimys winteri* (a) y *Gevuina avellana* (b) crecidas en los hábitats de interior, borde y claro del dosel en un fragmento de bosque en el sector norte de la Isla de Chiloé, X Región. Se muestran las medias  $\pm 1$  EE. Barras que comparten letras no difieren significativamente (prueba *a posteriori* de Tukey,  $p > 0,05$ ). Las muestras de hojas fueron tomadas de las mismas plántulas en ambas estaciones, por lo que éstas constituyen medidas repetidas.

