



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
Departamento de Botánica
Programa de Magíster en Ciencias con mención en Botánica

Luz y Herbivoría: Factores a considerar en la distribución de especies leñosas del bosque templado lluvioso del sur de Chile

ANA KARINA MADRIAZA MATURANA
CONCEPCIÓN-CHILE
2017

Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias con mención en Botánica

Profesor Guía 1: Ernesto Mario Gianoli Molla
Profesor Guía 2: Alfredo Oliver Saldaña Mendoza
Departamento de Botánica
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
Universidad de Concepción



Luz y Herbivoría: Factores a considerar en la distribución de especies leñosas del bosque templado lluvioso del sur de Chile

Ana Karina Madriaza Maturana

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
Dirección de Postgrado
Programa de Magíster en Ciencias con mención en Botánica

Esta tesis ha sido realizada en el Departamento de Botánica de la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas.

Ha sido Aprobada por la siguiente comisión evaluadora:

Profesor Guía



Dr. Ernesto Gianoli

Profesor Co-Guía

Dr. Alfredo Saldaña

Evaluador Externo

Dr. Rodrigo Ríos

Directora de Programa

Dra. Fabiola Cruces

Directora Dirección de Postgrado

Dra. Ximena García

TABLA DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	xi
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Disponibilidad lumínica y distribución de especies.....	1
1.2 Interacción Planta-animal: Herbivoría.....	2
1.3 Defensas de las plantas ante los herbívoros	2
1.4 Fluorescencia de la clorofila	3
1.5 Tolerancia y resistencia a la herbivoría	3
1.6 Tolerancia a la herbivoría y tolerancia a la sombra	5
1.7 Bosques templados: variabilidad lumínica y patrones de defensa contra la herbivoría	6
1.8 Preguntas, hipótesis y objetivos	8
2. METODOLOGÍA.....	10
2.1 Experimento de invernadero. Fluorescencia de la clorofila.....	10
2.2 Estudio de Campo. Compromisos	11
2.2.1 Área de estudio.....	11
2.2.2 Especies de estudio.....	12
2.2.3 Tolerancia a la herbivoría.....	12
2.2.4 Resistencia a la herbivoría.....	13
2.2.5 Tolerancia a la sombra	14
2.3 Análisis estadísticos	16
3. RESULTADOS	17
3.1 Fluorescencia de la clorofila	17

3.2 Tolerancia y resistencia a la herbivoría	20
3.3 Tolerancia a la herbivoría y tolerancia a la sombra	22
4. DISCUSIÓN.....	25
4.1 Fluorescencia de la clorofila	25
4.2 Tolerancia y resistencia a la herbivoría	26
4.3 Tolerancia a la herbivoría y tolerancia a la sombra	28
5. CONCLUSIONES.....	29
6. REFERENCIAS	30



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Especies leñosas de estudio en el Parque Nacional Puyehue. Fuente: Elaboración propia.....	12
Tabla 2. Resumen de los valores promedios obtenidos para evaluar las hipótesis de trabajo. Fuente: Elaboración propia.....	20



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representación del modelo de optimización para la evolución de las estrategias de resistencia y tolerancia en plantas respecto a su adecuación biológica. (Fuente: Fornoni <i>et al.</i> 2004).....	4
Figura 2. Efecto de la inversión en defensa en la tasa de crecimiento realizada. Cada curva representa una especie con una tasa de crecimiento inherente máximo diferente. Fuente: Coley <i>et al.</i> (1985).....	6
Figura 3. a) Resultado esperado para la hipótesis [2]. b) Resultado esperado para la hipótesis [3]. Para ambos casos los puntos representan especies con distintos requerimientos lumínicos. Fuente: Elaboración propia.....	9
Figura 4: Relación lineal entre Fv/Fm (eficiencia fotosintética) y la tasa de crecimiento relativa (estimador de la tolerancia a la herbivoría) en plántulas de <i>A. punctatum</i> después de tres horas de realizar el tratamiento de herbivoría ($r^2 = 0,29$; $p = 0,005$; $n = 25$). Fuente: Elaboración propia.....	17
Figura 5: Relación lineal entre Fv/Fm (eficiencia fotosintética) y la tasa de crecimiento relativa (estimador de la tolerancia a la herbivoría) en plántulas de <i>A. punctatum</i> después de un mes del tratamiento de herbivoría ($r^2 = 0,45$; $p = 0,0002$). Fuente: Elaboración propia.	18
Figura 6: Relación lineal entre Fv/Fm (eficiencia fotosintética) y la tasa de crecimiento relativa (estimador de la tolerancia a la herbivoría) en plántulas de <i>A. punctatum</i> antes del tratamiento de herbivoría ($r^2 = 0,02$; $p = 0,56$). Fuente: Elaboración propia.....	18
Figura 7: Relación lineal entre Fv/Fm (eficiencia fotosintética) y la tasa de crecimiento relativa (estimador de la tolerancia a la herbivoría) en plántulas de <i>A. punctatum</i> en la primera medición del grupo control ($r^2 = 0,15$; $p = 0,07$). Fuente: Elaboración propia.....	19
Figura 8: Relación lineal entre Fv/Fm (eficiencia fotosintética) y la tasa de crecimiento relativa (estimador de la tolerancia a la herbivoría) en plántulas de <i>A. punctatum</i> en la segunda medición del grupo control ($r^2 = 0,01$; $p = 0,59$). Fuente: Elaboración propia.	19
Figura 9. Regresión lineal entre la tasa de crecimiento relativa (estimador de la tolerancia a la herbivoría) y el contenido de flavonoides (estimador de la resistencia a la herbivoría) ($r^2 = 0,05$; $p = 0,52$). Fuente: Elaboración propia.....	21

Figura 10. Regresión lineal entre la tasa de crecimiento relativa (estimador de la tolerancia a la herbivoría) y la dureza foliar (estimador de la resistencia a la herbivoría) ($r^2 = 0,41$; $p = 0,05$). Fuente: Elaboración propia. 21

Figura 11. Regresión lineal entre la tasa de crecimiento relativa (estimador de la tolerancia a la herbivoría) y el índice de herbivoría corregido (estimador de la resistencia a la herbivoría). Los valores del índice del IHC son graficados de manera inversa para una mejor visualización del aumento de la resistencia a la herbivoría en relación al eje vertical ($r^2 = 0,59$; $p = 0,009$). Fuente: Elaboración propia. 22

Figura 12. Relación entre la tasa de crecimiento relativa (estimador de la tolerancia a la herbivoría) y el requerimiento lumínico mínimo (estimador de la sombra-tolerancia). Los valores del mínimo de luz requerido (MLR) son graficados de manera inversa para una mejor visualización del aumento de la sombra-tolerancia en relación al eje vertical ($r^2 = 0,32$; $p = 0,09$). Fuente: Elaboración propia. 23

Figura 13. Relación obtenida entre la tasa de crecimiento relativa (estimador de la tolerancia a la herbivoría) y la longevidad foliar (estimador de la sombra-tolerancia) ($r^2 = 0,64$; $p = 0,005$). Fuente: Elaboración propia. 23

Figura 14. Relación obtenida entre el porcentaje de apertura del dosel de cada parcela y el índice de herbivoría corregido de cada parcela. Cada punto es el valor promedio de cada parcela ($r^2 = 0,22$; $p = 0,0007$). Fuente: Elaboración propia. 24

RESUMEN

En ambientes complejos como los bosques maduros, las plantas están afectadas negativamente por factores abióticos (*e.g.* disponibilidad de luz) y bióticos (*e.g.* herbívoros). Las diferencias en la cantidad de luz que llega a las especies vegetales ha influido en el desarrollo de la sombra-tolerancia, que es la capacidad de una planta para sobrevivir y crecer a baja luz y se ha descrito como un factor importante en la distribución de las especies. En respuesta a la presión de herbívoros, las plantas han desarrollado una variedad de rasgos defensivos para reducir el daño (resistencia) y/o reducir los efectos negativos del daño en la adecuación biológica (tolerancia). Mientras que los atributos que miden resistencia son de rápida evaluación, los que miden tolerancia son de evaluación prolongada en el tiempo, y por tanto son escasas las metodologías que evalúan rápidamente la tolerancia a la herbivoría en campo. Se ha descrito que las estrategias defensivas de las plantas ante los herbívoros, al ser soluciones evolutivas a la misma presión biótica, pueden presentar un compromiso (asociación negativa), más aún cuando las especies vegetales se encuentran en un ambiente de recursos limitantes. En esta tesis se planteó que (1) la eficiencia fotosintética predecía la tolerancia a la herbivoría, esto con el objetivo de utilizarla más tarde como una herramienta metodológica, (2) existía un compromiso entre la tolerancia (medida como la tasa de crecimiento relativa) y la resistencia a la herbivoría (medida como el contenido de flavonoides, la dureza foliar y el índice de herbivoría), y (3) existía una relación inversa entre la tolerancia a la herbivoría y la tolerancia a la sombra (medido como el requerimiento lumínico mínimo, MLR, y la longevidad foliar, LLS). Se realizó un experimento en invernadero para la obtención de datos de la fluorescencia de la clorofila y la tasa de crecimiento relativa en la especie *Aextoxicon punctatum*. Además en campo, se muestrearon 50 parcelas de 25 m² en el interior del Parque Nacional Puyehue, midiendo la disponibilidad de luz, un índice de herbivoría, y el contenido de flavonoides (defensas químicas). Datos de la dureza foliar (defensas físicas), el MLR, la tasa de crecimiento relativa (RGR) y la longevidad foliar (LLS) fueron proporcionados por investigadores con estudios en el mismo sitio. La relación entre el rendimiento máximo cuántico del PSII y la tasa de crecimiento relativa de *A. punctatum* resultó en una relación positiva, por lo que se afirma que los parámetros de fluorescencia de la clorofila (Fv/Fm) son un *proxy* de rápida evaluación de la tolerancia a la herbivoría. La relación entre la

tolerancia y la resistencia a la herbivoría presentó un compromiso en las especies de estudio solo cuando se evaluó la tasa de crecimiento relativa vs la dureza foliar y la tasa de crecimiento relativa vs el índice de herbivoría. La relación obtenida entre la tolerancia a la herbivoría (RGR) y la tolerancia a la sombra (medida como MLR y LLS) se presentó como un compromiso únicamente al evaluar la RGR vs LLS. En conjunto, estos últimos resultados apoyan la idea que las estrategias de defensas de las plantas ante sus enemigos naturales se presentan como compromisos en la naturaleza.

Palabras claves: luz, herbivoría, fluorescencia de la clorofila, compromisos, bosque templado lluvioso.



ABSTRACT

In a complex environment such as mature forests, plants are affected negatively by abiotic (*e.g.* light availability) and biotic factors (*e.g.* herbivores). The differences in light quantity available to plant species have influenced the development of shade-tolerance, which is the ability of a plant to survive and grow under low light, which has been described as an important factor in the distribution of the species. In responses to the pressure by herbivores, plants have developed a variety of defensive features to reduce the damage (resistance) and/or to reduce the negative effects of the damage on fitness (tolerance). While the attributes that measure resistance are of rapid evaluation, which measures tolerance are of evaluation prolonged in the time, and therefore there are limited the methodological skills that evaluate quickly the tolerance to the herbivory in the field. It has been described that the defensive strategies of the plants before the herbivores, on having been evolutionary solutions to the same biotic pressure, it presents a trade-off (negative association), even more, when the vegetable species are in a limited resources environment. In this thesis I put forward that (1) the photosynthetic efficiency was predicting the tolerance to the herbivory (evaluated across the relative growth rate), this with the target to use it later as a methodological tool (2) there was a trade-off between the tolerance to the herbivory (measurement as the relative growth rate) and the resistance to the herbivory (measurement as the content of flavonoids, the leaf toughness and the index of the herbivory) and (3) there was an inverse relation between the tolerance to the herbivory and the shade-tolerance (measurement as the minimal light request, MLR and the leaf life span, LLS). An experiment was realized in the greenhouse for the securing of information of the fluorescence of the chlorophyll and the relative growth rate in the species *Aextoxicon punctatum*. In addition, in the field, I sampled 50 plots of 25 m² in the Puyehue National Park, measuring light availability, an index of herbivory, and the content of flavonoids (chemical defenses). Information on leaf toughness (physical defenses), the MLR, the relative growth rate (RGR) and the leaf life span (LLS) of the study species, were provided by investigators with studies on the same site. The relation between the maximum quantum yield of PSII and the relative growth rate of *A. punctatum* resulted in a positive relation, therefore one affirms that the parameters of fluorescence of the chlorophyll (Fv/Fm) are a *proxy* of rapid evaluation of the tolerance to herbivory. The relation between the tolerance

and the resistance to the herbivory reflected a trade-off in the study species only when evaluated the relative growth rate vs the leaf toughness and the relative growth rate vs the index of the herbivory. The relation obtained between the tolerance to the herbivory (RGR) and the shade-tolerance (measured as MLR and LLS) appeared as a trade-off only on having evaluated the RGR vs LLS. As a whole, the latter results support the idea that the strategies of defenses of the plants before its natural enemies present themselves as a trade-off in nature.

Keyword: light, herbivory, the fluorescence of the chlorophyll, trade-off, temperate rain forest.



1. INTRODUCCIÓN

1.1 Disponibilidad lumínica y distribución de especies

En los sistemas naturales, las especies vegetales deben sobrevivir a presiones ambientales y competir con otras plantas por agua, nutrientes y luz (Smith & Smith 2007). En el bosque, la arquitectura del dosel cambia temporal y espacialmente, dando lugar a un ambiente lumínico muy heterogéneo en el sotobosque (Denslow 1987). Es en este ambiente de condiciones lumínicas variantes donde se desarrollan especies con diferentes requerimientos, como las especies luz-demandantes y sombra-tolerantes (Donoso 1989). La sombra-tolerancia es un concepto ecológico que hace referencia a la capacidad de una planta para tolerar bajos niveles de luz (Givnish 1988, Valladares & Niinemets 2008), y se ha descrito como una condición variable entre los juveniles de los árboles que eventualmente acceden al dosel del bosque, y los juveniles que cumplen todo su ciclo vital en el sotobosque oscuro (Lusk 2004). Las especies sombra-tolerantes se caracterizan por encontrar condiciones óptimas bajo importantes reducciones de luz, y las diferencias en la longevidad, la altura y la tasa final de crecimiento entre especies de distintos niveles de sombra-tolerancia, sugieren estrategias contrastantes (Lusk 2004). Lusk *et al.* (2006) describieron y clasificaron las distribuciones de los árboles en relación con la apertura del dosel en el bosque templado lluvioso del sur de Chile, utilizándola más tarde como una aproximación de los niveles de luz más bajos tolerados por cada especie (requerimiento lumínico mínimo (MLR) (Lusk *et al.* 2008). Los autores describieron que la mayoría de las especies tienen requerimientos de luz intermedios y que las diferencias en el uso de la luz no es un requisito para la coexistencia de especies arbóreas en este ecosistema. La adaptación a la sombra-tolerancia -por lo menos en bosques siempreverdes- se relaciona con el desarrollo de una extensa superficie fotosintética mediante la acumulación de varias cohortes foliares (Lusk 2002). Otro rasgo clave parece ser la mantención de importantes reservas de carbohidratos no estructurales, posibilitando la recuperación luego del daño que pueden ejercer factores bióticos como especies herbívoras invertebradas reportadas para este ecosistema (Lusk 2004, Salgado-Luarte & Gianoli 2010, 2012).

1.2 Interacción Planta-animal: Herbivoría

La herbivoría es la interacción entre plantas y animales donde los animales consumen alguna parte del tejido de las plantas (hojas, tallos, flores, frutos, raíces, etc.) (del Val & Boege 2012), lo que trae repercusiones negativas o fatales para su desempeño y su adecuación biológica (Coley & Barone 1996). El impacto de esta interacción planta-animal es muy variable. La mayoría de las plantas no son palatables para la mayoría de los herbívoros, sin embargo, todas las especies de plantas son atacadas por una o más especies de animales (Crawley 1997). Las plantas han desarrollado numerosas estrategias para defenderse de los herbívoros y esto hace que las poblaciones vegetales no se vean reducidas completamente (Hartley & Jones 1996). Otros factores que regulan las poblaciones de herbívoros incluyen el tercer nivel trófico (depredadores, parásitos, parasitoides) (Crawley 1997), así como los micro-ambientes generados por la disponibilidad de luz, en vista de la condición ectoterma de los herbívoros (Heinrich 2013).

1.3 Defensas de las plantas ante los herbívoros

Desde el punto de vista evolutivo, los herbívoros ejercen una fuerza selectiva sobre las especies vegetales al aumentar su mortalidad y remover biomasa que podría ser utilizada para el crecimiento o la reproducción, lo que ha resultado en variadas estrategias de defensas (del Val & Boege 2012). Una defensa es cualquier característica que mejora la adecuación biológica de las plantas en presencia (pero no en ausencia) de herbívoros (Karban & Baldwin 1997). Las plantas, ante la presión de herbivoría responden principalmente empleando dos estrategias de defensa: resistencia y tolerancia (del Val & Boege 2012). La resistencia a la herbivoría se define como cualquier característica de las plantas que reduce la preferencia o el desempeño de los herbívoros, por ejemplo, defensas químicas, morfológicas, y/o una baja calidad nutricional (Fritz & Simms 1992).. Por otra parte, la tolerancia a la herbivoría es la capacidad de las plantas para sobrevivir, regenerarse y/o reproducirse después de sufrir daño por herbívoros (Strauss & Agrawal 1999). Algunos de los mecanismos de tolerancia de las plantas a la herbivoría son el aumento de la tasa fotosintética, una alta tasa de crecimiento relativo y la capacidad de desviar depósitos de carbono desde la raíz después de sufrir daños (Strauss & Agrawal 1999, Thompson *et al.* 2003). Mientras que los atributos que indican resistencia a la herbivoría son de rápida

evaluación (Salgado-Luarte & Gianoli 2010), atributos que miden tolerancia a la herbivoría, requieren de una evaluación más prolongada en el tiempo, como en el caso de la tasa de crecimiento relativa (Salgado-Luarte & Gianoli 2017), aún más cuando las especies son leñosas de crecimiento lento.

1.4 Fluorescencia de la clorofila

Entre los mecanismos mencionados con anterioridad, detrás de la tolerancia de las plantas a la herbivoría está el aumento de la tasa de fotosintética (Strauss & Agrawal 1999, Thomson *et al.* 2003, Gonzáles *et al.* 2008). Por otro lado, parámetros de fluorescencia de clorofila se han utilizado para obtener información cualitativa y cuantitativa sobre el desempeño fotosintético de la planta (Lambers *et al.* 2008). Específicamente, el parámetro de fluorescencia de la clorofila *a*, F_v/F_m , refleja la eficiencia cuántica máxima del fotosistema II (PSII) (Maxwell & Johnson 2000) y puede ser usado para caracterizar los efectos del estrés ambiental sobre las plantas (Figuroa *et al.* 1997, Maxwell & Johnson 2000). También se ha usado este parámetro de eficiencia fotosintética como indicador del daño causado por herbívoros u otros agentes bióticos (Thomson *et al.* 2003, Nability *et al.* 2009, Molina-Montenegro *et al.* 2013). En esta tesis evaluamos si la medición de la eficiencia fotosintética (F_v/F_m) en plantas intactas es un buen predictor de su tolerancia a la herbivoría. De verificarse esta relación, se contaría con un método rápido, no destructivo y sensible (Maxwell & Johnson 2000, Lambers *et al.* 2008) para evaluar en condiciones de terreno la tolerancia a la herbivoría.

1.5 Tolerancia y resistencia a la herbivoría

Originalmente, van der Meijden *et al.* (1988) indicaron que la tolerancia y la resistencia podrían ser estrategias alternativas de las plantas para hacer frente a los daños de herbívoros, porque la selección para la resistencia debería favorecer a las plantas que reciben menos ataque, por tanto las plantas resistentes no experimentarían la selección para la tolerancia. Por otro lado, si los mecanismos de resistencia de la planta son relativamente más costosos y/o ineficaces (como es el caso al enfrentar a herbívoros especializados), las plantas podrían dar lugar a la selección para la tolerancia debido a que la resistencia sería una estrategia menos viable (Strauss & Agrawal 1999). De manera general, los recursos de los que disponen las plantas en su medio natural son limitados, y maximizar una función

supone dejar menos recursos disponibles para otras; por tanto, bajo la escasez de recursos que puede presentar un hábitat determinado, debe existir una combinación de inversión entre las funciones tal que se minimice el balance de costos vs. beneficios. Estas problemáticas en la asignación de un pool de recursos dado, se conocen como compromisos o trade-offs (Stearns 1989), los que se expresan como asociaciones negativas entre las funciones o rasgos que compiten por los recursos. Debido a que la expresión de los rasgos de resistencia y tolerancia son costosos para las plantas y son soluciones evolutivas a la misma presión, se han propuesto modelos que minimizan la relación costo: beneficio, lo cual supone una relación negativa entre las dos estrategias. Esta relación se basa en que las plantas al ser más tolerantes, disminuyen los beneficios de ser más resistentes, y viceversa (Boege *et al.* 2007). La expectativa de esta exclusión mutua surge de la suposición de que tener ambas estrategias sería redundante y costoso, por tanto, la selección natural no favorecería al mismo tiempo un aumento de la tolerancia y de resistencia (Figura 1) (Fornoni *et al.* 2004, Simms & Triplett 1994). En un meta-análisis realizado por Leimu y Koricheva (2006) se da a conocer como resultado principal que existe una tendencia (aunque no significativa) hacia un compromiso entre la tolerancia y la resistencia a la herbivoría, particularmente cuando son evaluados en sistemas naturales. Se ha sugerido también que un compromiso entre ambas estrategias defensivas es más probable que se encuentre bajo una fuerte limitación de recursos (Valverde *et al.* 2003).

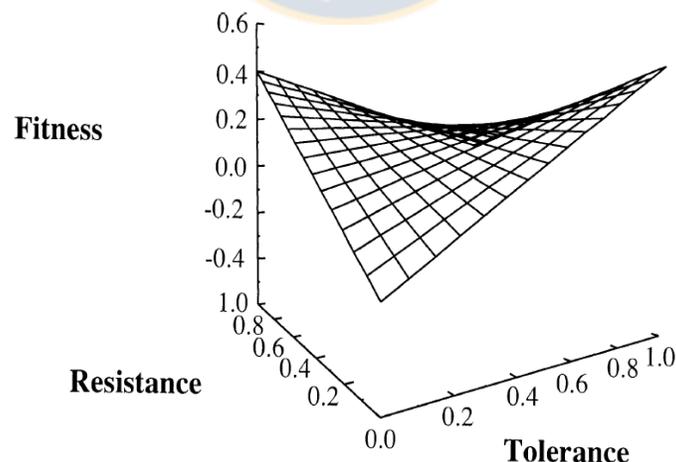


Figura 1. Representación del modelo de optimización para la evolución de las estrategias de resistencia y tolerancia en plantas respecto a su adecuación biológica. (Fuente: Fornoni *et al.* 2004).

1.6 Tolerancia a la herbivoría y tolerancia a la sombra

La heterogeneidad lumínica puede explicar en parte la variación en las tasas de herbivoría. Los patrones de herbivoría en general no son uniformes, se ha evidenciado mayor daño por herbivoría en ambientes sombríos (Molina-Montenegro *et al.* 2006, Muth *et al.* 2008, Guerra *et al.* 2010) aunque patrones contrapuestos han sido reportados (Louda & Rodman 1996, Chacón & Armesto 2006, Salgado-Luarte & Gianoli 2010-2011). Coley *et al.* (1985) mostraron que en aquellos hábitats donde hay restricciones considerables a las tasas de ganancia de carbono, la selección natural ha favorecido la conservación de los recursos mediante el desarrollo de defensas contra la herbivoría (Figura 2). Por lo tanto, plantas que crecen en ambientes productivos, *e.g.* con mayor disponibilidad lumínica, es decir, especies con menor tolerancia a la sombra y altas tasas de crecimiento, están en condiciones de reponer rápidamente la biomasa perdida tras la destrucción de una parte importante de su superficie foliar: mayor tolerancia a la herbivoría. Además, dada la facilidad de reponer sus tejidos, invertir recursos en protegerlos (alta resistencia) no sería ventajoso. Por otro lado, para plantas que crezcan en ambientes desfavorables (especies con mayor tolerancia a la sombra y bajas tasas de crecimiento), un daño similar podría ser muy negativo y hasta letal: menor tolerancia a la herbivoría. En consecuencia, en este escenario sí convendría invertir en recursos que protejan los tejidos (resistencia). Pocos estudios han abordado si los herbívoros pueden restringir la distribución en los límites de disponibilidad de luz en el que se establecen las plantas (Louda & Rodman 1996, Salgado-Luarte & Gianoli 2010, 2011, 2012).

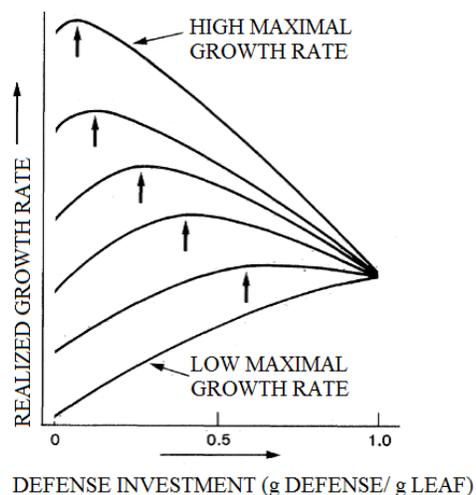


Figura 2. Efecto de la inversión en defensa en la tasa de crecimiento realizada. Cada curva representa una especie con una tasa de crecimiento inherente máximo diferente. Fuente: Coley *et al.* (1985).

1.7 Bosques templados: variabilidad lumínica y patrones de defensa contra la herbivoría

Los bosques templados son biomas localizados en las regiones entre los trópicos y los polos, su clima es lluvioso y húmedo durante todo el año y poseen una gran diversidad de especies (DellaSala 2011). Una consecuencia ecológica de este clima único es la perturbación frecuente por el viento, y la falta de fuego como un factor importante en la dinámica del bosque (Alaback 1991). En Chile, el bosque templado se extiende a lo largo de una estrecha, pero latitudinalmente amplia faja de tierra entre los 35° y 55° S del centro-sur de Chile (Armesto *et al.* 1998). Este bosque destaca por su variedad de especies arbóreas, casi todas de hojas perenne, y por su riqueza vegetal que cubre su piso en forma de arbustos, helechos enredaderas, musgos, epífitas, y otras plantas (Huyghe & Wenborne 2012). El bosque valdiviano andino es una distinción del bosque templado del sur de Chile y su formación vegetal posee gran variabilidad estructural y riqueza florística (Huyghe & Wenborne 2012). En términos lumínicos, Lusk *et al.* (2006) describieron que el gradiente de disponibilidad de luz dado por la apertura de dosel es determinante para la distribución de individuos juveniles de especies arbóreas. Saldaña y Lusk (2003) también establecieron que para estos bosques el factor determinante de la composición y abundancia de especies que regeneran en el sotobosque es la disponibilidad de luz, mientras que la disponibilidad de

otros recursos (*e.g.* nutrientes) tiene un efecto ponderado mucho menor. La mayoría de las plantas de este bosque presentan algún tipo de daño por herbívoros, y los principales registrados son insectos y moluscos gastrópodos (Figueroa & Castro 2000, Chacón & Armesto 2006, Salgado-Luarte & Gianoli 2010).

Patrones de resistencia a la herbivoría en este bosque han sido algo contradictorios. Mientras que el contenido de defensas químicas es mayor en ambientes con mayor disponibilidad de luz (Chacón & Armesto 2006), también lo es el índice de herbivoría (Salgado-Luarte & Gianoli 2010-2001, Chacón & Armesto 2006). En el caso de variables asociadas a la tolerancia a la herbivoría, Lusk y del Pozo (2002) dieron a conocer que la tasa de crecimiento relativa para 12 especies representativas de este bosque es más alta cuando se encuentran en sitios con alta disponibilidad de luz. También se ha encontrado una asociación positiva y estadísticamente significativa entre la tolerancia a la herbivoría simulada (supervivencia de plántulas) y la tasa de crecimiento de las especies (Gianoli & Salgado-Luarte 2017).

Considerando que son altos los costos de asignar recursos en múltiples estrategias defensivas, ser altamente tolerante y resistente a la herbivoría a la vez no sería viable para la optimización de los recursos, tal como se discutió anteriormente. Los antecedentes generales estarían indicando que la relación entre estas dos estrategias de defensa en el sistema de estudio debiera reflejar un compromiso a la escala inter-específica a lo largo de un gradiente lumínico.

Especies arbóreas juveniles presentes en ambientes con mayor disponibilidad de luz (baja sombra-tolerancia) tienen una mayor disponibilidad de recursos, y por ende una mayor tasa de crecimiento relativa (alta tolerancia a la herbivoría) que especies presentes en ambientes con baja disponibilidad de luz y con bajas tasas de crecimiento. Por tanto, se presume que la tolerancia a la sombra y la tolerancia a la herbivoría se relacionan de manera negativa. Los estudios que han abordado esta pregunta se han centrado en una sola especie vegetal (Hakes & Cronin 2011), en un solo patrón (tolerancia a la sombra o tolerancia a la herbivoría) (Lusk 2002, Salgado-Luarte & Gianoli 2010) o se han evaluado para ecosistemas tropicales (Crawley 1983, Coley 1988, Coley & Aide 1991). Por lo tanto, son

escasos los reportes de visiones generales de los compromisos que involucran a los herbívoros como actores principales en ecosistemas templados.

1.8 Preguntas, hipótesis y objetivos

Preguntas de investigación

1. ¿Predice la eficiencia fotosintética la tolerancia a la herbivoría?

En las especies leñosas juveniles del bosque templado lluvioso del sur de Chile:

2. ¿Existe un compromiso entre la tolerancia y la resistencia a la herbivoría?

3. ¿Existe una relación inversa entre la tolerancia a la herbivoría y la tolerancia a la sombra?

Hipótesis

[1] Se propone que, si en plántulas de una especie leñosas del bosque templado lluvioso se asocia positivamente la tasa de crecimiento con la eficiencia fotosintética, esta sería un buen predictor de la tolerancia a la herbivoría en condiciones de campo.

[2] Si, debido a la limitación de recursos que presenta el sistema de estudio, existe un compromiso entre atributos de resistencia y tolerancia a la herbivoría, se espera encontrar una asociación negativa entre los atributos que expresan resistencia (defensas químicas y físicas, y daño por herbivoría), y tolerancia (tasa de crecimiento relativa) en plántulas de especies leñosas del bosque templado lluvioso (Figura 3 a).

[3] Si, debido a los distintos requerimientos lumínicos de las especies, existe un compromiso entre atributos de tolerancia a la herbivoría y tolerancia a la sombra, se espera encontrar una relación inversa entre los atributos que reflejan tolerancia a la herbivoría (tasa de crecimiento relativa) y tolerancia a la sombra (requerimiento lumínico mínimo y longevidad foliar) en plántulas de especies leñosas del bosque templado lluvioso (Figura 3 b).

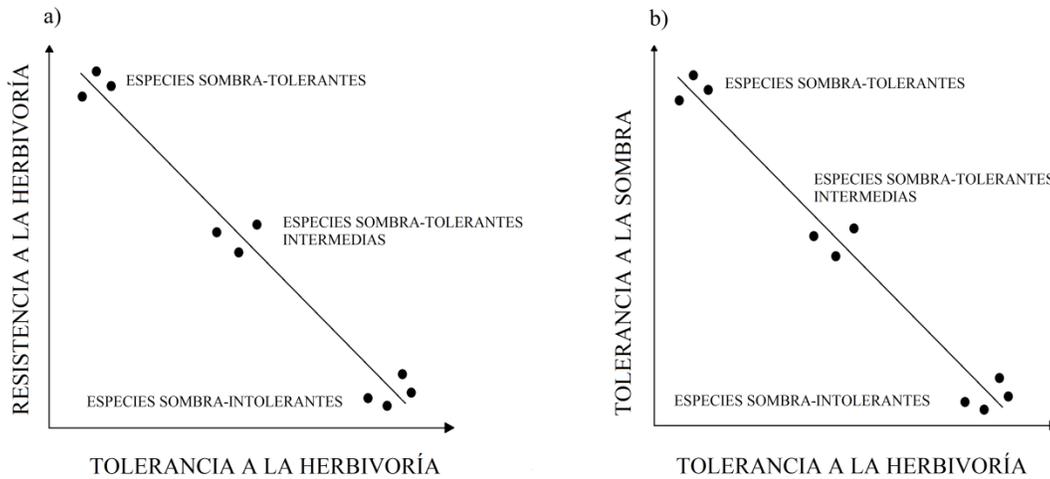


Figura 3. a) Resultado esperado para la hipótesis [2]. b) Resultado esperado para la hipótesis [3]. Para ambos casos los puntos representan especies con distintos requerimientos lumínicos. Fuente: Elaboración propia.

Objetivos

1. Evaluar si la eficiencia fotosintética predice la tolerancia a la herbivoría en una especie del bosque templado lluvioso.
2. Evaluar si existe un compromiso entre los atributos asociados a la tolerancia a la herbivoría (tasa de crecimiento relativa) y aquellos asociados a la resistencia a la herbivoría (defensas químicas y físicas, e índice de daño por herbivoría) en las especies de estudio.
3. Evaluar si existe una relación inversa entre la tolerancia a la herbivoría (representada por la tasa de crecimiento relativa) y la tolerancia a la sombra (representada por el requerimiento lumínico mínimo y la longevidad foliar) en las especies de estudio.

2. METODOLOGÍA

2.1 Experimento de invernadero. Fluorescencia de la clorofila

Para evaluar si la fluorescencia de la clorofila es un buen predictor de la tolerancia a la herbivoría se realizó un experimento de invernadero con la especie *Aextoxicon punctatum* Ruiz & Pav. (Olivillo), árbol endémico del bosque templado lluvioso de Chile y único representante de la familia Aextoxicaceae (Donoso 2006), cuyas plántulas y juveniles se desarrollan en ambientes de baja disponibilidad lumínica (Donoso 2006, Lusk *et al.* 2006). Las plántulas de *A. punctatum* sufren una presión de herbivoría intermedia en relación a las otras especies dominantes de este ecosistema (Madriaza *et al.*, manuscrito en preparación). Sin embargo, *A. punctatum* posee la menor tasa de crecimiento y la menor tolerancia a la herbivoría entre las diez especies de árboles más comunes del bosque (Gianoli & Salgado-Luarte 2017). Por lo tanto, la susceptibilidad al daño por herbívoros es alta para esta especie arbórea, cuyo valor en biodiversidad es muy alto, y por lo tanto la relevancia ecológica de evaluarlo experimentalmente de manera rápida es alta también.

El experimento de invernadero fue realizado en el campus de la Universidad de Concepción (36°49'S, 73°01'O) en 50 plántulas de *A. punctatum* adquiridas de un vivero en las cercanías de la comuna de Concepción. A fines de mayo del 2016, las plántulas fueron trasplantadas en bolsas plásticas con tierra de hoja comercial, distribuidas luego cada 15 cm. de distancia bajo la misma condición lumínica. Durante seis meses permanecieron las plántulas en el invernadero antes de iniciar el experimento, el cual se realizó a fines de octubre y a fines de noviembre del 2016. Dos grupos experimentales fueron asignados (control y herbivoría) (n = 25 por tratamiento). Las plántulas fueron asignadas aleatoriamente a cada grupo y no difirieron inicialmente en su altura (promedio 22,2 cm) o número de hojas (promedio 34 hojas) y fueron regadas a capacidad de campo cada tres días. La temperatura promedio durante el tiempo que transcurrió el experimento fue de 25,4 ° C. Antes de realizar el tratamiento de herbivoría, se midió la altura inicial (cm) y el Fv/Fm en cada individuo con un fluorímetro portátil OptiSciences 30p+ (tres mediciones por individuo). El tratamiento de herbivoría simulada consistió en cortar con tijeras el 50% de cada hoja, cortando así, el 50% de la superficie foliar total, un procedimiento estándar para evaluaciones de tolerancia a la herbivoría (*e.g.*, Salgado-Luarte & Gianoli 2010) y que

además refleja niveles de daño que pueden ser observados en terreno para plántulas de la especie de estudio. Pasadas tres horas de realizado el corte, se midió nuevamente el Fv/Fm. Luego de un mes transcurrido de este evento, nuevamente se efectuaron mediciones de la altura final (cm) y de la eficiencia fotosintética en los mismos individuos. La tasa de crecimiento relativa se obtuvo de la siguiente ecuación: $RGR = \frac{\text{Altura final} - \text{Altura inicial}}{\text{Altura inicial}}$.

2.2 Estudio de Campo. Compromisos

2.2.1 Área de estudio

Para evaluar dos de tres objetivos de la presente tesis, se realizó un estudio en el Parque Nacional Puyehue, localizado en la zona sur de Chile (40°30' - 41°10' S y 71°50' - 72°32' O, Muñoz-Schick 1980). Presenta un clima marítimo templado, con una precipitación anual media de 2800 mm y una temperatura media entre 22 °C y 5 °C (Huyghe & Wenborne 2012). El Parque corresponde al piso vegetacional caracterizado como bosque templado interior de *Nothofagus dombeyi* (Fagaceae) y *Eucryphia cordifolia* (Cunoniaceae) según Luebert & Pliscoff (2006). La vegetación de este bosque templado lluvioso maduro está constituida principalmente por árboles siempreverdes, incluyendo *Laureliopsis philippiana* (Atherospermataceae), *Aextoxicon punctatum* (Aextoxicaceae), *Nothofagus dombeyi* (Fagaceae) y *Eucryphia cordifolia* (Cunoniaceae). La regeneración avanzada en el sotobosque está compuesta por las especies mencionadas, además de *Amomyrtus luma* (Myrtaceae), *Azara serrata* (Flacourtiaceae), *Caldcluvia paniculata* (Cunoniaceae), *Gevuina avellana* (Proteaceae), *Myrceugenia planipes* (Myrtaceae) y *Rhaphithamnus spinosus* (Verbenaceae) (Saldaña & Lusk 2003).

Con el propósito de obtener una visión algo general de los sitios representativos del Parque Nacional Puyehue, el estudio se realizó en las localidades de Anticura (40°39'4.42" S, 72°8'55.09" O) y Aguas Calientes (40°43'43.75" S, 72°18'42.92" O) con una distancia de 14 km entre ambos sitios.

2.2.2 Especies de estudio

Se estudiaron diez especies leñosas para examinar las hipótesis trabajo. Las especies de estudio fueron seleccionadas por sus requerimientos de luz según Donoso (1989) y Lusk *et al.* (2006) (Tabla 1).

Tabla 1. Especies leñosas de estudio en el Parque Nacional Puyehue. Fuente: Elaboración propia.

Especie	Requerimiento de luz
<i>Amomyrtus luma</i> (Molina) D. Legrand & Kausel	Sombra-tolerante
<i>Aristotelia chilensis</i> (Molina) Stuntz	Demandante de luz
<i>Caldcluvia paniculata</i> (Cav.) D. Don	Sombra-tolerante intermedia
<i>Embothrium coccineum</i> J. R. Forst. & G. Forst.	Demandante de luz
<i>Eucryphia cordifolia</i> Cav.	Sombra-tolerante intermedia
<i>Gevuina avellana</i> Molina	Sombra-tolerante intermedia
<i>Laureliopsis philippiana</i> (Looser) Schodde	Sombra-tolerante
<i>Luma apiculata</i> (DC.) Burret	Demandante de luz
<i>Myrceugenia planipes</i> (Hook. & Arn.) O. Berg	Sombra-tolerante
<i>Nothofagus dombeyi</i> (Mirb.) Oerst.	Demandante de luz

2.2.3 Tolerancia a la herbivoría

Tasa de Crecimiento Relativa (RGR): Los datos de la tasa de crecimiento relativa de las especies de estudio fueron obtenidos de la literatura (Salgado-Luarte & Gianoli 2017). Este parámetro se utilizó para estimar la tolerancia a la herbivoría. Ellos trabajaron con plántulas pequeñas (< 50 cm de altura) de las especies de estudio. El muestreo se realizó en 12 parcelas de 10 x 10 m ubicadas dentro del mismo parche forestal (~ 15 ha). La distancia media entre las parcelas fue de 0,73 km. Las plántulas seleccionadas se distanciaron por lo menos a 0,5 m. En 50 plántulas por especie se estimó RGR ($\text{g g}^{-1} \text{año}^{-1}$). Variación en las dimensiones del tallo y la biomasa del follaje durante 15 meses se utilizaron para estimar RGR de acuerdo con Lusk (2002, 2004). El eje principal de cada planta fue modelado como un cono truncado con el fin de estimar el aumento en el volumen de tallo durante el período

de 15 meses. La masa inicial del follaje se estimó a partir del número inicial de hojas por la masa media de las hojas (ver Lusk 2002, Lusk 2004).

2.2.4 Resistencia a la herbivoría

Defensas físicas: Como obtención de un primer parámetro de resistencia, se utilizaron valores de la dureza foliar de las especies de estudio proporcionados por el Dr. Cristian Salgado (datos sin publicar). Las mediciones se realizaron en plántulas pequeñas (< 50 cm de altura) de las diez especies de estudio. El muestreo se realizó en 12 parcelas de 10 x 10 m ubicadas dentro del mismo parche forestal (~ 15 ha). La distancia media entre las parcelas fue de 0,73 km. Las plántulas seleccionadas se distanciaron por lo menos a 0,5 m. Se recogieron cuatro hojas de cada planta. Las hojas seleccionadas fueron del segundo al cuarto par comenzando desde la parte superior de la rama. Los valores promedios de las mediciones se utilizaron para representar a los individuos. En 50 plántulas por especie se estimaron los valores de la dureza foliar utilizando un penetrómetro de fabricación artesanal, el cual indica la fuerza necesaria ejercida por una pesola –expresada en gramos– para perforar la lámina foliar o la del folíolo en el caso de hojas compuestas. Los valores en g fueron luego transformados a kN/m. Las mediciones se realizaron en hojas maduras, en la zona media ubicada entre el borde de la lámina y la nervadura central, en condiciones similares para todas las especies. Valores altos de dureza foliar indican mayor resistencia a la herbivoría, mientras que valores más bajos indican lo contrario (del Val & Boege 2012).

Para las mediciones de defensas químicas y del índice de herbivoría, se realizaron 50 parcelas de 5 x 5 m cada una, abarcando aperturas del dosel que van desde 1,6% hasta el 23,36%. La distancia media entre las parcelas en el sector de Anticura fue de 0,32 km y en el sector de Aguas calientes de 0,14 km. Se trabajó con plántulas pequeñas (< 50 cm de altura) de las diez especies de estudio.

Defensas químicas: Se midió el contenido de flavonoides en las hojas para 222 individuos ubicados a lo largo de numerosos transectos en la zona de estudio determinados de manera aleatoria (los valores son promedio de tres mediciones realizadas por individuo de un total de 22 individuos por especie). Se obtuvieron tres mediciones por plántula, y los valores promedios de las mediciones se utilizaron para representar a los individuos. Los flavonoides se cuantificaron de manera no-destructiva en el campo mediante un sensor

óptico (Dualex Scientific + 5). Valores altos del contenido de flavonoides (índice) indican mayor resistencia a la herbivoría, mientras que valores más bajos indican lo contrario (del Val & Boege 2012).

Índice de Herbivoría Corregido (IHC): El tercer parámetro para calcular la resistencia de las especies de estudio, se obtuvo como la proporción media de los daños sufridos por herbívoros (Salgado-Luarte & Gianoli, 2010). Se cuantificó visualmente el porcentaje de herbivoría de cada hoja utilizando las siguientes cinco categorías: 0, sin daño; 1, daño menor al 25%; 2, daño desde el 25% hasta el 50%; 3, daño desde el 50% hasta el 75%; y 4, daño mayor al 75%. Con estas categorías se calculó el índice de herbivoría (IH) para cada especie mediante la siguiente ecuación: $IH = \sum nC_{0-4} N^{-1}$. Donde C = categoría del daño, n = número de hojas con la Cth categoría y N = total de hojas por especie. Un índice similar ha sido utilizado por Salgado-Luarte y Gianoli (2010). Se midió la herbivoría sobre plántulas y juveniles entre 1 y 50 cm de altura para 677 individuos de diez especies en los sitios de estudio. Luego, se realizaron correcciones a los valores calculados de índice de herbivoría. Esto, con el fin de no sobreestimar la cuantificación visual del daño sobre la superficie foliar por insectos herbívoros. La importancia de esta corrección radica en que la probabilidad de que una planta sea atacada aumenta con la edad y el tiempo de exposición a los herbívoros. Los nuevos valores de índice de herbivoría corregido (IHC) a escala de especie, se obtuvieron dividiendo el valor del Índice de Herbivoría (IH) por la longevidad foliar promediada en años según: *A. luma* (3,3), *A. chilensis* (0,8), *C. paniculata* (2,9), *E. coccineum* (1,1), *E. cordifolia* (2,8), *G. avellana*. (5,2), *L. philippiana* (4,7), *L. apiculata* (3,8), *M. planipes* (5,0), *N. dombeyi* (3,5) (datos de longevidad foliar tomados de Hevia *et al.* 1999, Lusk & Contreras 1999, Lusk *et al.* 2008).

2.2.5 Tolerancia a la sombra

Requerimiento lumínico mínimo: Lusk *et al.* (2006) describieron que el gradiente de disponibilidad de luz es determinante para la distribución de individuos juveniles de especies arbóreas en el bosque templado lluvioso del sur de Chile. Ellos utilizaron el percentil 10 de la distribución de cada especie en relación con la disponibilidad de luz (porcentaje de apertura del dosel) como aproximación de los niveles de luz más bajos tolerados por cada especie. Este parámetro, denominado en lo sucesivo Requerimiento

lumínico mínimo (MLR), fue utilizado como una medida de clasificación de la sombra-tolerancia de las especies de estudio (plántulas < 50 cm de altura) (Lusk *et al.* 2008). Los datos de MLR de las especies de estudio, fueron proporcionados Lusk *et al.* (2008) y por Salgado-Luarte & Gianoli (2017). Es importante destacar que valores altos de MLR indican una baja sombra-tolerancia.

Longevidad Foliar: Para la obtención de los datos de la longevidad foliar, se recurrió a los trabajos de Hevia *et al.* 1999, Lusk & Contreras 1999 y de Lusk *et al.* 2008. Ellos estimaron el tiempo de vida de las hojas mediante el seguimiento de la supervivencia foliar durante 12 meses. Todas las hojas fueron marcadas en el tallo principal con un n = 5-6 plántulas de 100-200 cm de altura por especie, creciendo en micrositios con un 2% -5% de apertura del dosel. Las plantas fueron reubicadas 12 meses después, y la mortalidad foliar durante este período se usó para estimar la vida media de la hoja. Como la longevidad de las hojas fue < 1 año en la mayoría de los individuos de *A. chilensis*, las cicatrices de abscisión se contaron para determinar la mortalidad de las nuevas hojas iniciadas después del inicio del período de estudio. La longevidad de la hoja (año) se estimó como: $n_i / (n_i - n_f) + m_n$. Donde n_i = número inicial de hojas, n_f = número final que sobrevive de n_i , y m_n = mortalidad de nuevas hojas iniciadas desde el primer censo. Ellos utilizaron métodos demográficos estáticos para estimar la vida útil de las hojas de *Eucryphia cordifolia*. El final de la estación de crecimiento en esta especie está marcado por catáfilos persistentes, permitiendo la reconstrucción de la historia de crecimiento reciente y la delimitación de las cohortes de follaje. Se estimó el promedio de vida de las hojas de esta especie mediante la inspección de 10 árboles jóvenes que crecen en micrositios con 2% -5% de apertura del dosel, y determinación de la edad de la cohorte de follaje más joven que había sufrido un 50% de mortalidad.

Adicionalmente se registró la cantidad de luz que llegó a cada parcela. Para esto se tomaron fotografías hemisféricas bajo condiciones de cielo homogéneos (nublados) utilizando una cámara digital con una lente de ojo de pez con 180°. Cada fotografía hemisférica se analizó con el software HemiView, obteniendo así el porcentaje de apertura del dosel y la fracción de la radiación total que llegó a los sitios de estudio.

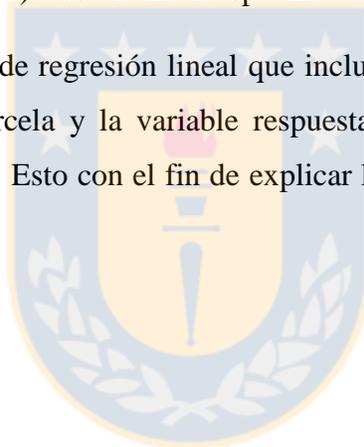
2.3 Análisis estadísticos

Hipótesis 1: Se utilizó un análisis de regresión lineal simple para determinar la existencia de una relación positiva entre la variable predictora (F_v/F_m) y la variable respuesta (tolerancia a la herbivoría, evaluada como la tasa de crecimiento relativa).

Hipótesis 2: Se realizó un análisis de regresión lineal simple, evaluando la existencia de una relación negativa entre los componentes de la variable explicativa (tolerancia a la herbivoría) y los componentes de la variable respuesta (resistencia a la herbivoría) a escala inter-específica.

Hipótesis 3: Se realizó un análisis de regresión lineal simple, evaluando la existencia de una relación inversa entre la variable explicativa (tolerancia a la herbivoría) y la variable respuesta (tolerancia a la sombra) a escala inter-específica.

Además se realizó un análisis de regresión lineal que incluye como variable explicativa el porcentaje de luz de cada parcela y la variable respuesta como el índice de herbivoría corregido en cada una de ellas. Esto con el fin de explicar las variaciones de los resultados encontrados en campo.



3. RESULTADOS

3.1 Fluorescencia de la clorofila

En el tratamiento de herbivoría, a las tres horas de realizar el corte del 50% de su superficie foliar, las plántulas de *A. punctatum* mostraron una relación positiva entre la máxima eficiencia cuántica del PSII (Fv/Fm) y la tasa de crecimiento relativa ($r^2 = 0,29$; $p = 0,005$) (Figura 4). Transcurrido un mes de realizado el tratamiento de herbivoría simulada, los resultados fueron similares ($r^2 = 0,45$; $p < 0,001$) (Figura 5). No se observó una relación significativa entre la máxima eficiencia cuántica del PSII (Fv/Fm) antes de realizado el corte y la tasa de crecimiento relativa para el grupo asignado a tratamiento ($r^2 = 0,02$; $p = 0,56$) (Figura 6). En el caso del grupo control, las mediciones realizadas en paralelo no arrojaron una relación significativa entre las variables de estudio, tanto antes del tratamiento de herbivoría como al mes transcurrido ($r^2 = 0,15$; $p = 0,07$; $r^2 = 0,01$; $p = 0,59$) (Figuras 7 y 8).

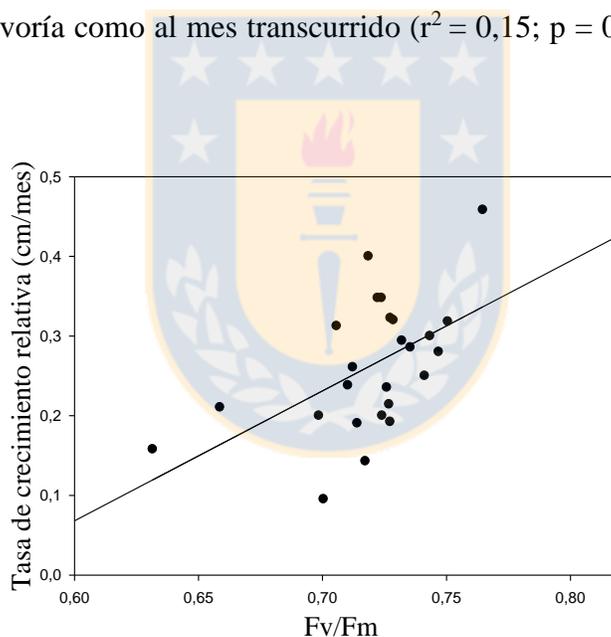


Figura 4: Relación lineal entre Fv/Fm (eficiencia fotosintética) y la tasa de crecimiento relativa (estimador de la tolerancia a la herbivoría) en plántulas de *A. punctatum* después de tres horas de realizar el tratamiento de herbivoría ($r^2 = 0,29$; $p = 0,005$; $n = 25$). Fuente: Elaboración propia.

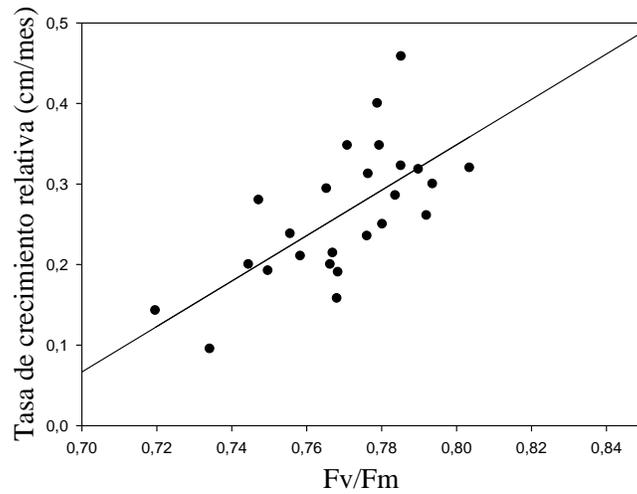


Figura 5: Relación lineal entre Fv/Fm (eficiencia fotosintética) y la tasa de crecimiento relativa (estimador de la tolerancia a la herbivoría) en plántulas de *A. punctatum* después de un mes del tratamiento de herbivoría ($r^2 = 0,45$; $p = 0,0002$). Fuente: Elaboración propia.

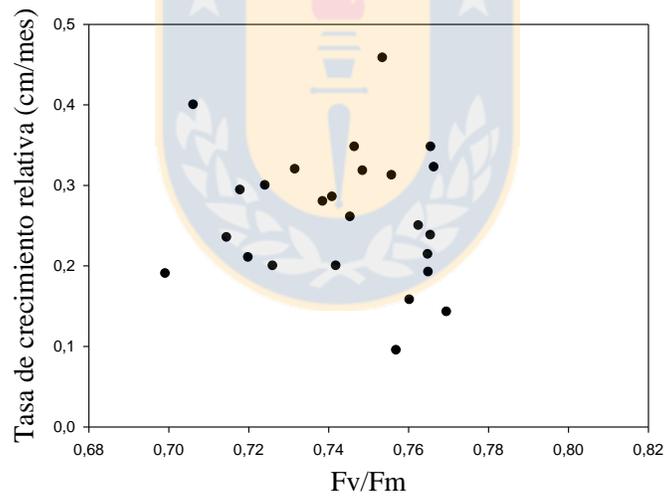


Figura 6: Relación lineal entre Fv/Fm (eficiencia fotosintética) y la tasa de crecimiento relativa (estimador de la tolerancia a la herbivoría) en plántulas de *A. punctatum* antes del tratamiento de herbivoría ($r^2 = 0,02$; $p = 0,56$). Fuente: Elaboración propia.

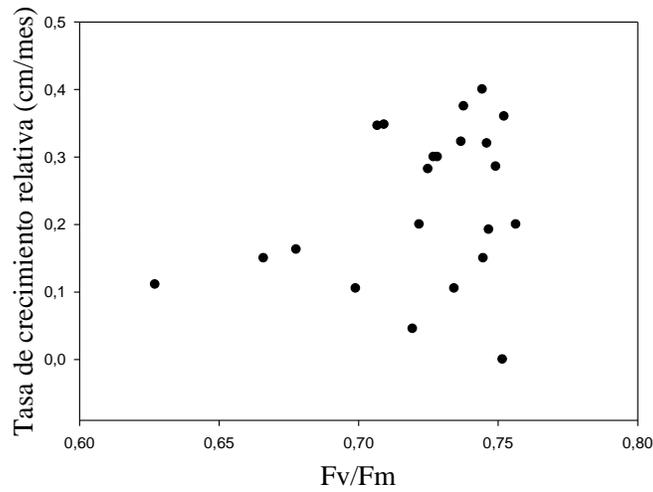


Figura 7: Relación lineal entre Fv/Fm (eficiencia fotosintética) y la tasa de crecimiento relativa (estimador de la tolerancia a la herbivoría) en plántulas de *A. punctatum* en la primera medición del grupo control ($r^2= 0,15$; $p= 0,07$). Fuente: Elaboración propia.

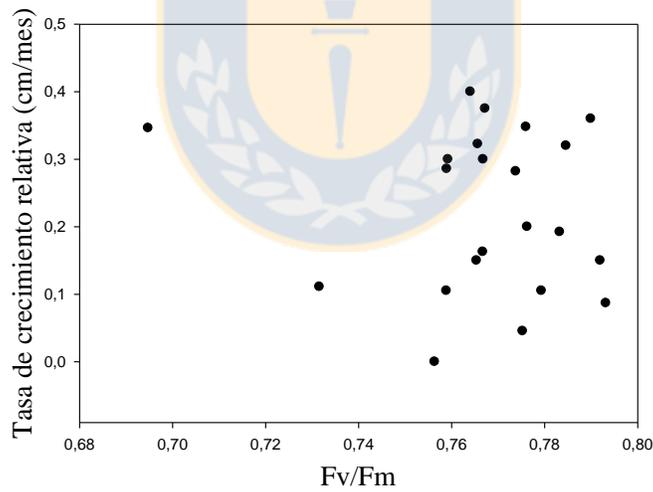


Figura 8: Relación lineal entre Fv/Fm (eficiencia fotosintética) y la tasa de crecimiento relativa (estimador de la tolerancia a la herbivoría) en plántulas de *A. punctatum* en la segunda medición del grupo control ($r^2= 0,01$; $p= 0,59$). Fuente: Elaboración propia.

3.2 Tolerancia y resistencia a la herbivoría

Con los valores y datos promedio de cada parámetro requerido, tanto para la tolerancia como para la resistencia a la herbivoría (Tabla 2), se obtuvo que la relación que surgió entre la tolerancia a la herbivoría y resistencia a la misma, no presentó una relación significativa al evaluar la tasa de crecimiento relativa vs el contenido de flavonoides ($r^2= 0,05$; $p= 0,52$) (Figura 9), mientras que se detectó asociaciones negativas estadísticamente significativas al evaluar la tasa de crecimiento relativa vs la dureza foliar ($r^2=0,41$; $p=0,05$) y vs el índice de herbivoría corregido ($r^2=0,59$; $p=0,009$) (Figuras 10 y 11). En las siguientes figuras, cada punto es el valor promedio de las especies, las cuales son representadas con las tres primeras letras de su género.

Tabla 2. Resumen de los valores promedios obtenidos para evaluar las hipótesis de trabajo.

Fuente: Elaboración propia.

Especie	Flavonoides	Dureza Foliar (kN/m)	IHC	RGR (g/g año)	MLR (porcentaje de apertura del dosel)	Longevidad foliar (años)
<i>Amomyrtus luma</i>	1,1387	0,31	0,2569	0,91	1,10	3,3
<i>Aristotelia chilensis</i>	0,9199	0,15	1,4194	1,33	3,50	0,8
<i>Caldcluvia paniculata</i>	1,9537	0,19	0,4659	0,97	1,50	2,9
<i>Embothrium coccineum</i>	1,0187	0,20	0,9489	1,00	3,45	1,1
<i>Eucryphia cordifolia</i>	0,9096	0,40	0,2773	1,00	2,00	2,8
<i>Gevuina avellana</i>	0,7926	0,65	0,1250	0,74	1,80	5,2
<i>Laureliopsis philippiana</i>	0,7678	0,41	0,1280	0,51	1,10	4,7
<i>Luma apiculata</i>	0,9161	0,30	0,1527	0,90	1,30	3,8
<i>Myrceugenia planipes</i>	0,8766	0,44	0,1697	0,90	0,70	5,0
<i>Nothofagus dombeyi</i>	0,9441	0,32	0,1241	0,87	3,20	3,5

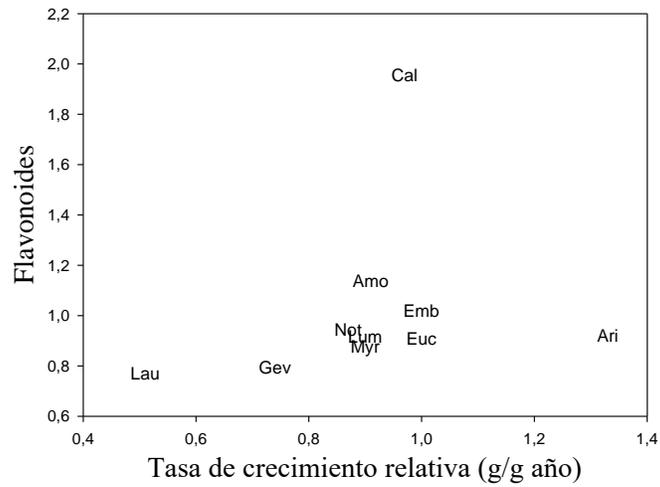


Figura 9. Regresión lineal entre la tasa de crecimiento relativa (estimador de la tolerancia a la herbivoría) y el contenido de flavonoides (estimador de la resistencia a la herbivoría) ($r^2 = 0,05$; $p = 0,52$). Fuente: Elaboración propia.

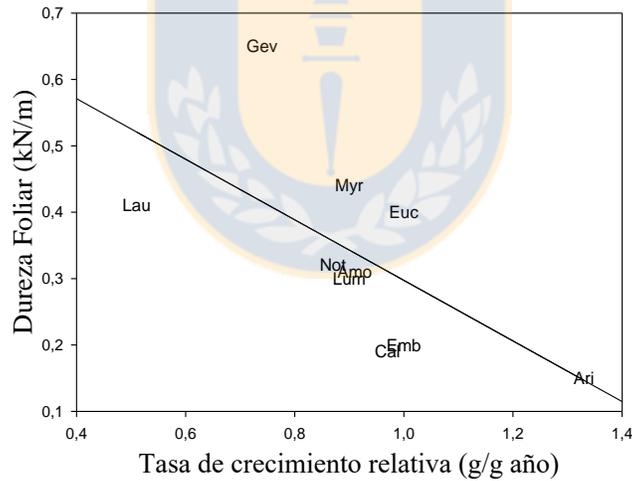


Figura 10. Regresión lineal entre la tasa de crecimiento relativa (estimador de la tolerancia a la herbivoría) y la dureza foliar (estimador de la resistencia a la herbivoría) ($r^2 = 0,41$; $p = 0,05$). Fuente: Elaboración propia.

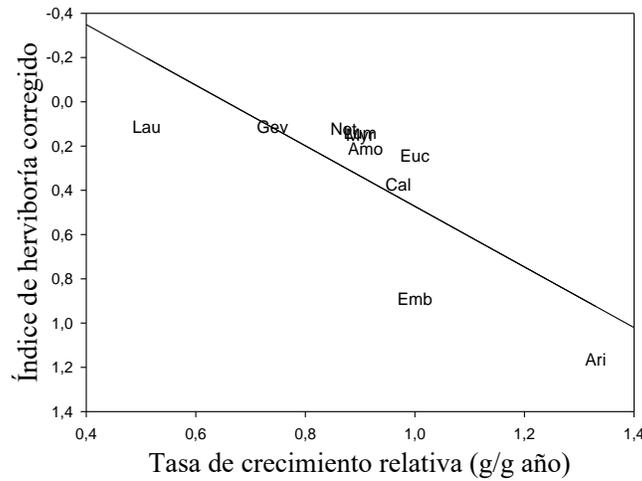


Figura 11. Regresión lineal entre la tasa de crecimiento relativa (estimador de la tolerancia a la herbivoría) y el índice de herbivoría corregido (estimador de la resistencia a la herbivoría). Los valores del índice del IHC son graficados de manera inversa para una mejor visualización del aumento de la resistencia a la herbivoría en relación al eje vertical ($r^2 = 0,59$; $p = 0,009$). Fuente: Elaboración propia.

3.3 Tolerancia a la herbivoría y tolerancia a la sombra

Con los valores y datos promedio de cada parámetro requerido (tabla 2), se obtuvo que la relación entre la tolerancia a la herbivoría y la tolerancia a la sombra no fue estadísticamente significativa al evaluar la tasa de crecimiento relativa vs el requerimiento lumínico mínimo ($r^2 = 0,32$; $p = 0,09$), aunque se observó cierta tendencia a una asociación negativa (Figura 12), mientras que se observó una relación positiva al evaluar la tasa de crecimiento relativa vs la longevidad foliar ($r^2 = 0,64$; $p = 0,005$) (Figura 13). Además se grafican los patrones de variación de la herbivoría frente a la variación lumínica a lo largo de las 50 parcelas medidas (incluyendo las diez especies de estudio). Este resultado indica que el índice de herbivoría corregido (IHC) fue mayor en parcelas con mayor disponibilidad de luz (Figura 14).

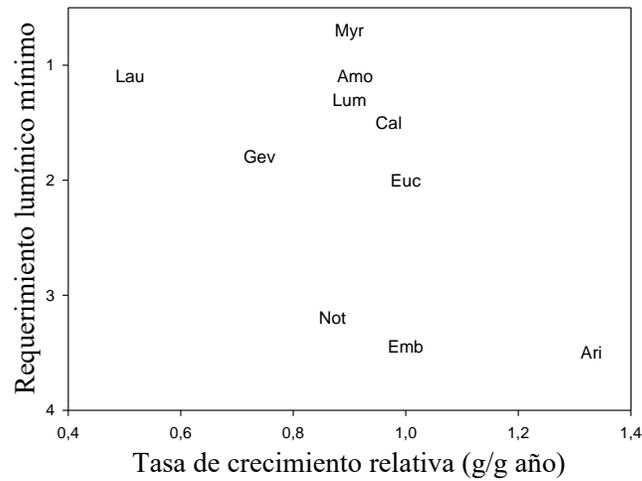


Figura 12. Relación entre la tasa de crecimiento relativa (estimador de la tolerancia a la herbivoría) y el requerimiento lumínico mínimo (estimador de la sombra-tolerancia). Los valores del mínimo de luz requerido (MLR) son graficados de manera inversa para una mejor visualización del aumento de la sombra-tolerancia en relación al eje vertical ($r^2 = 0,32$; $p = 0,09$). Fuente: Elaboración propia.

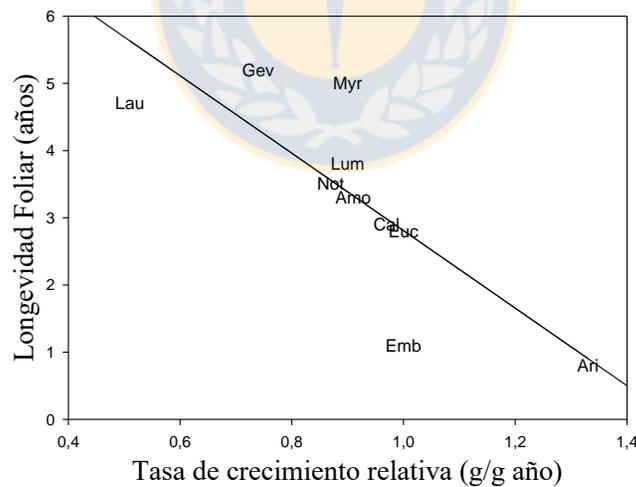


Figura 13. Relación obtenida entre la tasa de crecimiento relativa (estimador de la tolerancia a la herbivoría) y la longevidad foliar (estimador de la sombra-tolerancia) ($r^2 = 0,64$; $p = 0,005$). Fuente: Elaboración propia.

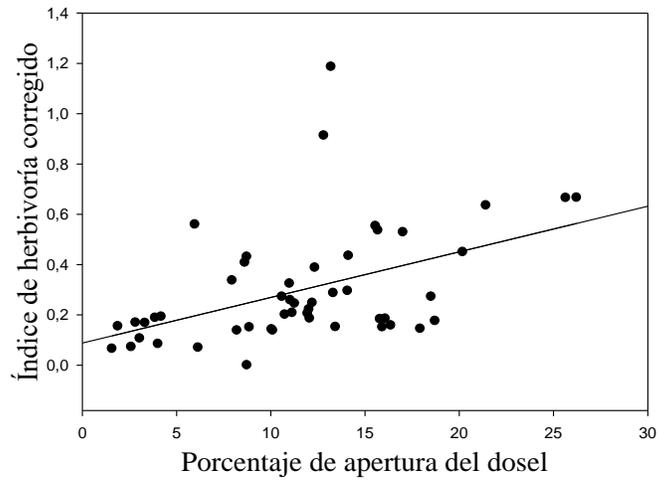


Figura 14. Relación obtenida entre el porcentaje de apertura del dosel de cada parcela y el índice de herbivoría corregido de cada parcela. Cada punto es el valor promedio de cada parcela ($r^2 = 0,22$; $p = 0,0007$). Fuente: Elaboración propia.



4. DISCUSIÓN

4.1 Fluorescencia de la clorofila

Los resultados muestran que el parámetro F_v/F_m , una estimación de la eficiencia fotosintética (Maxwell & Johnson 2000), es un predictor exacto de RGR y, por tanto, de tolerancia al daño realizado por los herbívoros (Strauss y Agrawal 1999) en plántulas de *A. punctatum* sometidas a herbivoría simulada. Así, entre las plántulas en el tratamiento de herbivoría, aquellas que mostraban una mayor tasa de crecimiento (es decir, las plantas más tolerantes) eran aquellas que exhibían una mayor eficiencia fotosintética en el inicio así como al final del experimento. Curiosamente, esta asociación no se observó cuando se obtuvieron datos de F_v/F_m antes de realizar el tratamiento de herbivoría. Por lo tanto, el patrón de tolerancia diferencial a la herbivoría entre las plántulas individuales no puede predecirse a partir de la eficiencia fotosintética de las plantas intactas. Esto sugiere que el daño desencadena mecanismos particulares (Strauss & Agrawal 1999) que conducen a una clasificación diferente de genotipos en términos de rendimiento fisiológico.

La eficiencia fotosintética se ha utilizado anteriormente como un indicador del daño o de la reducción del rendimiento de las plantas causado por herbívoros (Thomson *et al.* 2003, Nability *et al.* 2009) y sus consecuencias para la adecuación biológica de las plantas (Figueroa *et al.* 1997). Sin embargo, para nuestro conocimiento, los resultados de la presente tesis intentan vincular explícitamente la eficiencia fotosintética y la tolerancia a la herbivoría. Ecólogos y biólogos evolutivos reconocen la importancia de los mecanismos de tolerancia para la adaptación de las plantas a la presión de herbivoría (Fornoni 2011), pero las evaluaciones de la tolerancia de las plantas a menudo implican evaluaciones a largo plazo (Strauss & Agrawal 1999). Dado que los parámetros de fluorescencia de la clorofila se pueden medir fácilmente en el campo con equipos portátiles, abogamos por el uso de esta metodología rápida y no destructiva para estimar la tolerancia de las plantas a la herbivoría en poblaciones naturales, particularmente en el caso de *A. punctatum* y otras especies arbóreas amenazadas por herbívoros. Este enfoque podría ser de utilidad tanto para los ecólogos, como para los biólogos evolutivos y para los administradores forestales interesados en evaluaciones a gran y / o larga escala del rendimiento de las plantas en el campo.

4.2 Tolerancia y resistencia a la herbivoría

Los compromisos se presentan de manera constante en la naturaleza y representan los costos en la adecuación biológica cuando un cambio beneficioso en un rasgo está vinculado a un cambio perjudicial en otro (Stearns 1989). En general, a medida que las plantas se desarrollan, los cambios en las presiones selectivas ejercidas por los herbívoros, junto con los compromisos de asignación de recursos de las plantas, influyen en la expresión de la defensa de las plantas. Por lo tanto, los rasgos anti-herbívoros pueden caracterizarse por aumentos, disminuciones o tendencias mixtas en la expresión de tales rasgos (Boege *et al.* 2011). Y, debido a que los impactos más dramáticos de los herbívoros sobre la adecuación biológica de la planta se producen durante las etapas más jóvenes (Marquis 1984), la selección natural de herbívoros promueve mecanismos defensivos tempranos durante su desarrollo, lo cual varía entre especies (Boege & Marquis 2005, Barton & Koricheva 2010).

Se encontró que la relación entre la tolerancia y la resistencia a la herbivoría para diez especies de plántulas del bosque templado lluvioso del sur de Chile fue negativa en dos de tres casos evaluados. Así, esta investigación aporta pruebas de que ambas estrategias defensivas serían mutuamente excluyentes, sumando evidencia a trabajos que han documentado este compromiso en herbáceas (Leimu & Koricheva 2006) y en ecosistemas tropicales (Coley & Aide 1991).

Al evaluar la tasa de crecimiento y la dureza foliar, especies más tolerantes a la herbivoría fueron menos resistentes a la misma, mientras que especies que fueron menos tolerantes, fueron más resistentes a la herbivoría; mismo patrón al evaluar la tasa de crecimiento relativa y el índice de herbivoría (corregido por la longevidad foliar). Conclusiones similares fueron reportadas en un meta-análisis realizado por Endara y Coley (2011), que, aunque no hablaron explícitamente de tolerancia, expusieron que especies presentes en ambientes con altos recursos, presentaban altas tasas de crecimiento, hojas de vida corta y bajas defensas físicas. Por tanto soportan una mayor tasa de herbivoría. Nuestros resultados generales son concordantes con los realizados por Salgado-Luarte & Gianoli (2017) quienes han obtenido patrones similares para especies leñosas del bosque templado lluvioso de Chile, indicando que especies de crecimiento lento sufren menos daño por herbívoros. Ellos atribuyen esta asociación encontrada entre la tasa de crecimiento relativa y las tasas

de herbivoría, a la adaptación de las plantas a la sombra, lo que implica una estrategia de conservación de recursos que restringe el potencial de crecimiento y mejora la resistencia a los herbívoros.

No todas las plantas recibieron el mismo nivel de daño (intra e interespecíficamente), algunas fueron fuertemente defoliadas, mientras que otras se mantuvieron prácticamente intactas (observaciones realizadas en campo). Una mayor dureza foliar puede explicar en parte una menor defoliación (Soria & Zambrana 2004), Así lo demostraron Guerra *et al.* (2010) para la especie *Aristotelia chilensis*, en la cual, las defensas químicas no predecían la herbivoría sufrida, pero si el grosor foliar (correlacionado con la dureza foliar). Las defensas químicas como los metabolitos secundarios (flavonoides) no presentaron un compromiso con la tasa de crecimiento relativa de las especies de estudio, aun cuando se esperaba que los niveles de defensa fueran menores en ambientes con alta disponibilidad de luz, debido a que la mayoría de los recursos son asignados a crecimiento (Endara & Coley 2011). Estudios realizados con plántulas de especies leñosas en el bosque templado lluvioso de Chile (*Drimys winteri* y *Gevuina avellana*) indicaron que una mayor disponibilidad de luz induce una mayor producción de compuestos secundarios basados en carbono (Fenoles y Taninos), pero estos compuestos no parecieron desempeñar un papel defensivo importante, ya que las plántulas crecidas en claros sufrieron mayor daño foliar que las plántulas en el interior del bosque (Chacón & Armesto 2006). Años más tarde Carmona *et al.* (2011) dieron a conocer en un meta-análisis que los metabolitos secundarios no predicen significativamente la resistencia a la herbivoría, por el contrario, son las defensas físicas quienes se relacionan más fuertemente con la susceptibilidad a los herbívoros, lo que apoya nuestros resultados.

En general, el índice de herbivoría corregido por la longevidad foliar (IHC) fue mayor en parcelas con mayor disponibilidad de luz (Figura 14). Por tanto, se afirma que la relación entre la herbivoría y la disponibilidad lumínica es positiva. Resultados similares han sido reportados con anterioridad para un número menor de especies presentes en este ecosistema (Chacón & Armesto 2006, Salgado-Luarte & Gianoli 2010-2011). Y, aunque la abundancia de herbívoros no fue cuantificada, se trabajó bajo la premisa de que éstos eran más abundantes en sitios con mayor disponibilidad de luz (Chacón & Armesto 2006, Salgado-

Luarte & Gianoli 2010). La mayor abundancia de herbívoros en ambientes con alta disponibilidad lumínica puede explicarse por factores abióticos (*e.g.* temperatura y humedad) y bióticos (*e.g.* disponibilidad de alimento y competencia) (del Val & Boege 2012). Esto sugiere que los patrones de herbivoría observados pueden explicarse por la mayor presión de herbívoros en ambientes con alta disponibilidad lumínica y no por las diferencias en defensas químicas entre plantas de cada ambiente lumínico (Chacón & Armesto 2006, Salgado-Luarte & Gianoli 2010). Es importante destacar que este trabajo de tesis exhibe los patrones de herbivoría en distintos ambientes de luz, pero corregidos por la longevidad foliar, eliminando el sesgo del tiempo de exposición a los herbívoros (Figueroa & Castro 2000).

En ambientes de sombra, el costo de ser tolerante a la herbivoría resulta ser mayor que el de ser resistente (Salgado-Luarte & Gianoli 2010) y una posible consecuencia es que exista una relación positiva entre la resistencia y la adecuación biológica. En cambio en ambientes con alta disponibilidad de luz, el costo de ser resistente a la herbivoría es mayor que el de ser tolerante (Salgado-Luarte & Gianoli 2010), y se espera una relación positiva entre la tolerancia y la adecuación biológica. Si estas hipótesis, junto a los hallazgos anteriores, se complementaran con estudios a largo plazo, y se evidenciara como estos rasgos defensivos son heredados a las siguientes generaciones, se contribuiría a comprender cómo las estrategias de defensa evolucionan y se mantienen en los entornos de variabilidad espacial y temporal del sistema de estudio (Hakes & Cronin 2011).

4.3 Tolerancia a la herbivoría y tolerancia a la sombra

La relación encontrada entre la tolerancia a la sombra y la tolerancia a la herbivoría se presentó como un compromiso únicamente al evaluar la tasa de crecimiento relativa vs la longevidad foliar, esto indica que a medida que las especies son más tolerantes a la herbivoría, son menos tolerantes a la sombra. Y, aunque ambos atributos (longevidad foliar y requerimiento lumínico mínimo) capturan de manera similar las variaciones en la estrategia de crecimiento frente a la disponibilidad de recursos, la sombra-tolerancia varía a través de la ontogenia, contrariamente a lo que sucede con la longevidad foliar (Lusk *et al.* 2008), rasgo clave por el cual se considera que el compromiso entre la tolerancia a la herbivoría y la tolerancia a la sombra fue significativo.

5. CONCLUSIONES

La relación entre el rendimiento máximo cuántico del PSII y la tasa de crecimiento relativa de *A. punctatum* fue positiva, lo que nos permiten afirmar que los parámetros de fluorescencia de la clorofila (F_v/F_m) son un *proxy* de rápida evaluación de la tolerancia a la herbivoría.

La asignación en defensas contra la herbivoría representó un compromiso en las especies de estudio, por tanto, especies más resistentes a la herbivoría, fueron menos tolerantes a la misma y viceversa. En este sentido aportamos evidencia de que tener ambas estrategias defensivas no sería conveniente menos cuando se está presente bajo una limitación de recursos. Trabajos que han documentado este compromiso se han realizado con herbáceas (Leimu & Koricheva 2006), han registrado estas respuestas ante la presión de parásitos (Medel 2001), o se han realizado en ecosistemas tropicales (Coley & Aide 1991). Por lo que esta tesis es un aporte para el estudio de este compromiso con especies leñosas de ontogenia temprana en ecosistemas templados.

La tolerancia la herbivoría con la tolerancia a la sombra se relacionaron de manera positiva, por lo que aportamos evidencia de un compromiso de estas dos presiones selectivas en el bosque templado del sur de Chile. Esto adquiere importancia al evaluar la herbivoría diferencial sufrida por los individuos en ambientes lumínicos contrastantes, lo cual se traduce en una disminución del rendimiento de la planta y de la adecuación biológica.

6. REFERENCIAS

- ALABACK, P. B. 1991. Comparative ecology of temperate rainforests of the Americas along analogous climatic gradients. *Revista Chilena de Historia Natural*, 64, 399-412.
- ARMESTO, J. J., R. ROZZI, C. SMITH-RAMIREZ & M. T. K. ARROYO. 1998. Conservation targets in South American temperate forests. *Science*, 282(5392), 1271-1272.
- BARTON, K. E. & J. KORICHEVA. 2010. The ontogeny of plant defense and herbivory: Characterizing general patterns using meta-analysis. *The American Naturalist*, 175(4), 481-493.
- BOEGE, K. & R. J. MARQUIS. 2005. Facing herbivory as you grow up: the ontogeny of resistance in plants. *Trends in Ecology & Evolution*, 20(8), 441-448.
- BOEGE, K., K. E. BARTON & R. DIRZO. 2011. Influence of tree ontogeny on plant-herbivore interactions. In *Size-and age-related changes in tree structure and function* (pp. 193-214). Springer Netherlands.
- BOEGE, K., R. DIRZO, D. SIEMENS & P. BROWN. 2007. Ontogenetic switches from plant resistance to tolerance: minimizing costs with age?. *Ecology letters*, 10(3), 177-187.
- CARMONA, D., M. J. LAJEUNESSE & M. T. JOHNSON. 2011. Plant traits that predict resistance to herbivores. *Functional Ecology*, 25(2), 358-367.
- CHACON, P. & J. J. ARMESTO. 2006. Do carbon-based defences reduce foliar damage? Habitat-related effects on tree seedling performance in a temperate rainforest of Chiloé Island, Chile. *Oecologia*, 146(4), 555-565.
- COLEY, P. D. & J. A. BARONE. 1996. Herbivory and plant defenses in tropical forests. *Annual review of ecology and systematics*, 305-335.
- COLEY, P. D. & T. M. AIDE. 1991. Comparison of herbivory and plant defenses in temperate and tropical broad-leaved forests. *Plant-animal interactions: evolutionary ecology in tropical and temperate regions*, 25-49.
- COLEY, P. D. 1988. Effects of plant growth rate and leaf lifetime on the amount and type of anti-herbivore defense. *Oecologia*, 74(4), 531-536.

- COLEY, P. D., J. P. BRYANT & F. S. CHAPIN III. 1985. Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science (Washington)*, 230(4728), 895-899.
- CRAWLEY, M. J. 1983. *Herbivory. The dynamics of animal-plant interactions*. Blackwell Scientific Publications. 437 pp.
- CRAWLEY, M. J. 1997. "Plant herbivore dynamics". En M. J. Crawley (ed.), *Plant Ecology*, Second Edition, Blackwell Science, Oxford.
- DEL VAL, E. & K. BOEGE. 2012. *Ecología y evolución de las interacciones bióticas*. México, D.F.: Fondo de Cultura Económica, CIECO, UNAM.
- DELLASALA, D. A. 2011. *Temperate and boreal rainforests of the world: ecology and conservation*. Island Press.
- DENSLOW, J. S. 1987. Tropical rainforest gaps and tree species diversity. *Annual review of ecology and systematics*, 431-451.
- DONOSO, C. 1989. Antecedentes básicos para la silvicultura del tipo forestal siempreverde. *Bosque (Valdivia)*, 10(1-2).
- DONOSO, C. (ed.) 2006. *Las especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina*. Marisa Cuneo, Valdivia, Chile. 678 p.
- ENDARA, M. J. & P. D. COLEY. 2011. The resource availability hypothesis revisited: a meta-analysis. *Functional Ecology*, 25(2), 389-398.
- FIGUEROA, J. A. & S. A. CASTRO. 2000. Efecto de herbívoros y patógenos en la sobrevivencia y crecimiento de plántulas en un fragmento del bosque templado húmedo de Chiloé, Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, 73(1), 163-173.
- FIGUEROA, M. E., L. FERNÁNDEZ-BACO, T. LUQUE & A. J. DAVY. 1997. Chlorophyll fluorescence, stress and survival in populations of Mediterranean grassland species. *Journal of Vegetation Science*, 8, 881-888.
- FORNONI, J., J. NUÑEZ-FARFÁN, P. VALVERDE & M. D. RAUSHER. 2004. Evolution of mixed strategies of plant defense allocation against natural enemies. *Evolution*, 58(8), 1685-1695.

FORNONI J. 2011. Ecological and evolutionary implications of plant tolerance to herbivory. *Functional Ecology* 25: 399-407. DOI: 10.1111/j.1365-2435.2010.01805.x.

FRITZ, R. S, E. L. SIMMS (eds). 1992. Plant resistance to herbivores and pathogens. Chicago, IL: University of Chicago Press

GIANOLI, E. & C. SALGADO-LUARTE. 2017. Tolerance to herbivory and the Resource Availability Hypothesis. *Biology Letters*, in press.

GIVNISH, T. J. 1988. Adaptation to sun and shade: a whole-plant perspective. *Functional Plant Biology*, 15(2), 63-92.

GONZÁLES W. L., L. H. SUÁREZ, M. A. MOLINA-MONTENEGRO & E. GIANOLI. 2008. Water availability limits tolerance of apical damage in the annual tarweed *Madia sativa*. *Acta Oecologica* 34:104-110.

GUERRA, P., J. BECERRA & E. GIANOLI. 2010. Explaining differential herbivory in sun and shade: the case of *Aristotelia chilensis* saplings. *Arthropod-Plant Interactions*, 4(4), 229-235.

HAKES, A. S. & J. T. CRONIN. 2011. Resistance and tolerance to herbivory in *Solidago altissima* (Asteraceae): genetic variability, costs, and selection for multiple traits. *American Journal of Botany*, 98(9), 1446-1455.

HARTLEY, S. E., & C. G. JONES. 1996. Plant Chemistry and Herbivory, or Why the World is Green. In: *Plant Ecology*, Second Edition (ed M. J. Crawley), Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK. Pp. 284-324.

HEINRICH, B. 2013. The hot-blooded insects: strategies and mechanisms of thermoregulation. Springer Science & Business Media.

HEVIA, F., K. L. DECKER & R. E. BOERNER. 1999. Foliar nitrogen and phosphorus dynamics of three Chilean *Nothofagus* (Fagaceae) species in relation to leaf lifespan. *American Journal of Botany*, 86(3), 447-455.

HUYGHE, E. & G. WENBORNE. 2012. Bosques de Chile. Travesía S. A. Santiago. 328 pp.

KARBAN, R. & I. T. BALDWIN. 1997. Induced Responses to Herbivory. Chicago: University of Chicago Press.

LAMBERS, H., F. S. CHAPIN III & T. L. PONS. 2008. Plant physiological ecology. 2nd edn. (Springer-Verlag: New York). 604 pp.

LEIMU, R. & J. KORICHEVA. 2006. A meta-analysis of tradeoffs between plant tolerance and resistance to herbivores: combining the evidence from ecological and agricultural studies. *Oikos*, 112(1), 1-9

LOUDA, S. M. & J. E. RODMAN. 1996. Insect herbivory as a major factor in the shade distribution of a native crucifer (*Cardamine cordifolia* A. Gray, bittercress). *Journal of Ecology*, 229-237.

LUEBERT, F. & P. PLISCOFF. 2006. Sinopsis bioclimática y vegetacional de Chile. Editorial Universitaria. 316 pp.

LUSK, C. H. & A. D. POZO. 2002. Survival and growth of seedlings of 12 Chilean rainforest trees in two light environments: gas exchange and biomass distribution correlates. *Austral Ecology*, 27(2), 173-182.

LUSK, C. H. & O. CONTRERAS. 1999. Foliage area and crown nitrogen turnover in temperate rain forest juvenile trees of differing shade tolerance. *Journal of Ecology*, 87(6), 973-983.

LUSK, C. H. 2002. Leaf area accumulation helps juvenile evergreen trees tolerate shade in a temperate rainforest. *Oecologia*, 132 (2), 188-196.

LUSK, C. H. 2004. Adaptación a la sombra en especies arbóreas siempreverdes. *Fisiología ecológica en plantas. Mecanismos y respuestas a estrés en los ecosistemas*, 235-247.

LUSK, C. H., D. S. FALSTER, C. K. JARA-VERGARA, M. JIMÉNEZ-CASTILLO & A. SALDAÑA-MENDOZA. 2008. Ontogenetic variation in light requirements of juvenile rainforest evergreens. *Functional Ecology*, 22(3), 454-459.

- LUSK, C. H., R. L. CHAZDON & G. HOFMANN. 2006. A bounded null model explains juvenile tree community structure along light availability gradients in a temperate rain forest. *Oikos*, 112(1), 131-137.
- MARQUIS, R. 1984. Leaf herbivores decrease fitness of a tropical plant. *Science*, 226(4674), 537-539.
- MAXWELL K. & G. N. JOHNSON. 2000. Chlorophyll fluorescence. A practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51: 659-668.
- MEDEL, R. 2001. Assessment of correlational selection on tolerance and resistance traits in a host plant–parasitic plant interaction. *Evolutionary Ecology*, 15(1), 37-52.
- MOLINA-MONTENEGRO M. A., C. TORRES-DÍAZ, J. GALLARDO-CERDA, M. LEPPE & E. GIANOLI. 2013. Seabirds modify El Niño effects on tree growth in a southern Pacific island. *Ecology* 94:2415-2425.
- MOLINA-MONTENEGRO, M. A., P. ÁVILA, R. HURTADO, A. I. VALDIVIA & E. GIANOLI. 2006. Leaf trichome density may explain herbivory patterns of *Actinote* sp. (Lepidoptera: Acraeidae) on *Liabum mandonii* (Asteraceae) in a montane humid forest (Nor Yungas, Bolivia). *Acta oecologica*, 30(2), 147-150.
- MUÑOZ-SCHICK, M. 1980. Flora del Parque Nacional Puyehue. Editorial Universitaria, Santiago de Chile. 558 pp.
- MUTH, N. Z., E. C. KLUGER, J. H. LEVY, M. J. EDWARDS & R. A. NIESENBAUM. 2008. Increased per capita herbivory in the shade: necessity, feedback, or luxury consumption. *Ecoscience*, 15(2), 182-188.
- NABITY, P. D., J. A. ZAVALA & E. H. DELUCIA. 2009. Indirect suppression of photosynthesis on individual leaves by arthropod herbivory. *Annals of Botany* 103:655-663.
- SALDAÑA, A. & C. H. LUSK. 2003. Influencia de las especies del dosel en la disponibilidad de recursos y regeneración avanzada en un bosque templado lluvioso del sur de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 76, 639-650.

SALGADO-LUARTE, C. & E. GIANOLI. 2010. Herbivory on temperate rainforest seedlings in sun and shade: resistance, tolerance and habitat distribution, PLoS ONE 5(7).

SALGADO-LUARTE, C. & E. GIANOLI. 2011. Herbivory may modify functional responses to shade in seedlings of a light-demanding tree species. Functional Ecology, 25(3), 492-499.

SALGADO-LUARTE, C. & E. GIANOLI. 2012. Herbivores modify selection on plant functional traits in a temperate rainforest understory. The American Naturalist, 180 (2), E42-E53.

SALGADO-LUARTE, C. & E. GIANOLI. 2017. Shade-tolerance and herbivory are associated with RGR of tree species via different functional traits. Plant Biology, in press. DOI: 10.1111/plb.12534.

SIMMS, E. L. & J. TRIPLETT. 1994. Costs and benefits of plant responses to disease: resistance and tolerance. Evolution, 1973-1985.

SMITH, T. & R. SMITH. 2007. Ecology. 6ta Edición. Pearson education, S. A, Madrid. 776 pp. Cap 14 2299-326 pp. Cap 23 518-544 pp.

SORIA, R. & C. ZAMBRANA. 2004. Efectos de la dureza foliar sobre la herbivoría en *Cryptocarya alba* (Lauraceae), *Quillaja saponaria* (Rosaceae) y *Lithrea caustica* (Anarcadiaceae), en la Reserva Nacional Río Clarillo, Chile. Boletín del Museo Nacional de Historia Natural, Chile. 53; 65-69.

STEARNS, S. C. 1989. Trade-offs in life-history evolution. Functional ecology, 259-268.

STRAUSS, S. Y. & A. A. AGRAWAL. 1999. The ecology and evolution of plant tolerance to herbivory. Trends in Ecology & Evolution, 14(5), 179-185.

THOMPSON, V. P., S. A. CUNNINGHAM, M. C. BALL & A. B. NICOTRA. 2003. Compensation for herbivory by *Cucumis sativus* through increased photosynthetic capacity and efficiency. Oecologia, 134 (2), 167-175.

VALLADARES, F. & Ü NIINEMETS. 2008. Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 237-257.

VALVERDE, P. L., J. FORNONI & J. NUÑEZ-FARFÁN. 2003. Evolutionary ecology of *Datura stramonium*: equal plant fitness benefits of growth and resistance against herbivory. *Journal of evolutionary biology*, 16(1), 127-137.

VAN DER MEIDJEN, E., M. WIJN & H. J. VERKAAR. 1988. Defence and regrowth, alternative plant strategies in the struggle against herbivores. *Oikos*, 355-363.

WALTERS, M. B. & P. B. REICH. 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* 143.1: 143-154.

