

BALANCE DE CARBOHIDRATOS EN DIFERENTES COMPARTIMENTOS VEGETALES DE ENCINO (*Quercus petraea*) Y HAYA (*Fagus sylvatica*), SOMETIDOS A DEFOLIACIÓN Y SOMBRA

CARBOHYDRATE BALANCE IN DIFFERENT PLANT COMPARTMENTS OF OAK (*Quercus petraea*) AND BEECH (*Fagus sylvatica*) SUBJECTED TO DEFOLIATION AND SHADE

Luis Manuel Valenzuela Núñez¹; Pascale Maillard²; José Luis González Barrios¹; Guillermo González Cervantes¹

¹ INIFAP Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en la Relación Agua-Suelo-Planta-Atmósfera, Ejido Las Huertas, Gómez Palacio, Durango, MÉXICO. C. P. 35140

Correo-e: luisvn70@hotmail.com (*Autor para correspondencia)

² Institut National de la Recherche Agronomique, Centre National de Recherches Forestieres, Equipe Bioclimatologie, Champenoux, France 54280.

RESUMEN

Durante su vida, un árbol que se encuentra bajo la presión de un factor biótico o abiótico puede perder parte de su follaje. Como las hojas son la base de la fotosíntesis, una eventual defoliación tiene un efecto directo sobre las reservas de carbohidratos del árbol. Algunas especies, como el haya (*Fagus sylvatica*), se desarrollan en condiciones de poca luz. El encino blanco (*Quercus petraea*), en cambio, crece en condiciones de luz solar directa. Existen diferencias marcadas entre el haya y el encino en cuanto a las respuestas fisiológicas a la defoliación. Ambas especies son de gran importancia en los bosques de la región Lorrain, en el este de Francia. Una mejor comprensión del comportamiento de respuesta a factores de estrés biótico y abiótico se considera que contribuirán a un mejor conocimiento y diseño de planes de manejo de los bosques para optimizar su rendimiento. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la defoliación estacional y del sombreado sobre las reservas de carbohidratos en árboles jóvenes de encino blanco y de haya de dos años de edad. Se observó que las dos especies difieren en la cantidad de reservas y órganos de almacenamiento. A lo largo del año, las reservas en carbohidratos almacenadas en invierno disminuyen gradualmente; una parte se utiliza para la respiración durante el invierno, y otra para el crecimiento y la brotación en la primavera. En la defoliación se usan las reservas de carbohidratos para sustituir a las hojas, sin que ello afecte la biomasa.

PALABRAS CLAVE: Biomasa, carbohidratos, azúcares, almidón, reservas vegetativas, defoliación, luz solar.

ABSTRACT

During its lifespan, a tree under the pressure of a biotic or abiotic factor may lose some of its foliage. As leaves are the basis of photosynthesis, eventual defoliation has a direct effect on the carbohydrate reserves of the tree. Some species, such as beech (*Fagus sylvatica*), develop in low light conditions. The white oak (*Quercus petraea*), on the other hand, grows in direct sunlight conditions. There are marked differences between beech and oak in terms of physiological responses to defoliation. Both species are of great importance in the forests of the Lorrain region in eastern France. It is believed that a better understanding of behavioral response to biotic and abiotic stresses will contribute to better knowledge and design of management plans for forests and thus optimize their yield. The aim of this work was to study the effect of seasonal defoliation and shading on carbohydrate reserves in two-year-old white oak and beech saplings. It was observed that the two species differ in the amount of reserves and storage organs. Throughout the year, carbohydrate reserves stored in winter gradually decrease; some are used for respiration during the winter, and some for growth and sprouting in the spring. In defoliation, carbohydrate reserves are used to replace the leaves, without affecting biomass.

KEYWORDS: Biomass, carbohydrates, sugars, starch, vegetative reserves, defoliation, sunlight.



Recibido: 22 de junio, 2012

Aceptado: 23 de agosto, 2013

doi: 10.5154/r.rchsza.2012.06.027

[http:// www.chapingo.mx/revistas](http://www.chapingo.mx/revistas)

INTRODUCCIÓN

Durante su crecimiento, los árboles pueden sufrir defoliación debido a los ataques de insectos en los brotes jóvenes; actualmente, debido al cambio climático, el aumento de ocurrencia de las sequías también aumenta la frecuencia de la defoliación, resultando con ello una disminución en el crecimiento vegetativo. Los estudios han demostrado que este factor afecta negativamente la regeneración del bosque, sobre todo en árboles jóvenes, que son garantía de la sostenibilidad forestal. El crecimiento después de la pérdida de hojas requiere carbono disponible (Barbaroux, 2002). Las reservas a partir de la fotosíntesis (azúcares solubles) y el carbono son indispensables para formar nuevas hojas en los árboles defoliados (Luckwill y Cutting, 1970).

La síntesis de las reservas a partir del proceso de la fotosíntesis, es un paso fundamental para la sobrevivencia de los árboles y depende de la disponibilidad de los elementos básicos y los factores ambientales. La luz es necesaria para la fase fotoquímica de la fotosíntesis y la formación de la clorofila. Sin embargo, las diversas especies de plantas se han adaptado a condiciones de luz diferentes, y existen las que pueden sobrevivir con baja disponibilidad de luz, como el haya (*Fagus sylvatica*). Las especies que requieren mayor cantidad de luz, como la mayoría de los encinos (*Quercus* spp), prefieren la exposición a la luz solar directa. La característica denominada tolerancia a la sombra, muy marcada en los árboles jóvenes, desaparece con la edad (ONF- Boletín Técnico, 1997).

Bajo condiciones de estrés ambiental de origen biótico o abiótico, el árbol puede debilitarse, y son afectadas sus capacidades de asimilación y su crecimiento. Parte de las reservas pueden ser movilizadas para la síntesis de compuestos de defensa y el metabolismo de base. Las reservas almacenadas en los demás compartimentos del árbol (tronco, ramas, raíces) pueden reformar el follaje (Vanderklein y Reich, 1999; Cherbuy *et al.*, 2001), lo cual permitirá al árbol sobrevivir a la defoliación en la misma estación de crecimiento, para asegurar el desarrollo, la formación de tejidos y la acumulación de biomasa, que es un aspecto muy importante de la perspectiva económica para la explotación de los bosques. Existen diferencias marcadas entre las especies en lo que se refiere a las respuestas fisiológicas a la defoliación. Las latifoliadas y las coníferas, tales como *Fagus* y *Abies*, no responden de manera similar a la defoliación, y los árboles de maderas con lento crecimiento son generalmente más resistentes a la defoliación que las coníferas. Las especies caducifolias pueden sobrevivir a una defoliación severa, probablemente debido a que el follaje perdido es rápidamente reemplazado por uno nuevo.

El crecimiento anual, que mide la acumulación de productos de madera en pie durante un año, se estima en 7.72 millones de $\text{m}^3 \cdot \text{año}^{-1}$ para el encino y 7.68 millones de $\text{m}^3 \cdot \text{año}^{-1}$ para el haya. Esto explica el interés económico de este tipo de estudios, ya que estas especies constituyen una base sólida de

INTRODUCTION

During growth, trees can suffer defoliation due to insect attacks on young shoots. Currently, due to climate change, an increase in the incidence of drought also increases the frequency of defoliation, resulting in a decrease in vegetative growth. Studies have shown that this factor adversely affects forest regeneration, especially in relation to young trees, which are a guarantee of forest sustainability. Growth after leaf loss requires available carbon (Barbaroux, 2002). Reserves from photosynthesis (soluble sugars) and carbon are essential to form new leaves in defoliated trees (Luckwill and Cutting, 1970).

Synthesis of the reserves from the photosynthesis process is an essential step for the survival of trees and depends on the availability of basic elements and environmental factors. Light is necessary for the photochemical phase of photosynthesis and chlorophyll formation. However, various plant species have adapted to different light conditions, and some can survive with low light availability, such as beech (*Fagus sylvatica*). Species requiring more light, like most oaks (*Quercus* spp), prefer exposure to direct sunlight. The trait called shade tolerance, which is very marked in young trees, disappears with age (ONF - Boletín Técnico 1997).

Under biotic or abiotic environmental stress conditions, trees can weaken and their assimilation and growth capabilities are affected. Part of the reserves can be mobilized for the synthesis of defense compounds and base metabolism. Reserves stored in other tree compartments (trunk, branches, roots) can reform the foliage (Vanderklein and Reich, 1999; Cherbuy *et al.*, 2001), enabling the tree to survive defoliation in the same growing season to ensure development, tissue formation and biomass accumulation, which is a very important economic aspect of forest exploitation. There are marked differences between species in regard to physiological responses to defoliation. Hardwoods and conifers, such as *Fagus* and *Abies*, do not respond in a similar way to defoliation, and slow-growing timber trees are generally more resistant to defoliation than conifers. Deciduous species can survive severe defoliation, probably because the lost foliage is quickly replaced by new growth.

Annual growth, which measures the accumulation of growing stock for a year, is estimated at 7.72 million $\text{m}^3 \cdot \text{year}^{-1}$ for oak and 7.68 million $\text{m}^3 \cdot \text{year}^{-1}$ for beech. This explains the economic interest in such studies, since these species constitute a solid foundation for the timber industry in many countries; a better understanding of their behavior in response to the studied factors contributes to improving the cultivation and renewal of forests for better use.

The purpose of this research was to study the effect of seasonal defoliation and moderate shade in winter on carbohydrate reserves in two-year-old oak and beech trees, by determining the non-structural carbohydrate balance accumulation in the different plant compartments of both species.

la industria de la madera en muchos países; una mejor comprensión de su comportamiento en respuesta a los factores estudiados, contribuye a mejorar la cultura y la renovación de los bosques para un mejor aprovechamiento.

El propósito del presente trabajo fue estudiar el efecto de la defoliación estacional y de la sombra moderada en invierno sobre las reservas de carbohidratos en árboles de encino y haya de dos años de edad, determinado el balance de la acumulación de carbohidratos no estructurales en los diferentes compartimentos vegetales de ambas especies.

MATERIALES Y MÉTODOS

Quinientas bellotas de encino blanco (*Quercus petraea*), cosechadas en el bosque de Compiègne por el Laboratorio de Ecofisiología Forestal INRA Champenoux, y 500 semillas de haya (*Fagus sylvatica*), proporcionadas por Vilmorin (este de Francia), fueron sembradas en el mes de mayo de 2003, usando como sustrato una mezcla de turba + arena (1:1) en macetas de plástico de 4 litros. Las macetas se dividieron en dos lotes de igual tamaño: 50 % en condiciones de luz solar directa y 50 % en condiciones de sombra (66 % de la luz incidente) para cada especie.

Al segundo año de crecimiento, en julio de 2004, se llevó a cabo una defoliación manual del 70 % en 50 % de las plantas de cada tratamiento, obteniendo cuatro tratamientos para cada especie: luz directa (E), sombra (O), luz directa + defoliación (ED) y sombra + defoliación (OD).

Cinco plantas de cada especie, por tratamiento, fueron muestreadas en la estación de crecimiento: noviembre, enero, abril y después de la brotación. En cada muestreo, las plantas se dividieron en los diferentes compartimentos (tallos, raíces, pivote, raíces gruesas y raíces finas; se considera las raíces finas con un diámetro inferior a 3 mm). Las muestras se envolvieron en papel aluminio, se sumergieron en nitrógeno líquido y se sometieron a un proceso de liofilización en un periodo de siete días, para posteriormente reducir las en forma de polvo con la ayuda de un molino. Se pesaron 10 mg de polvo liofilizado en un tubo Eppendorf y se mezcló con 650 µL de una mezcla de metanol/agua, 7:3 durante 10 minutos. Las muestras se centrifugaron a 17,000 g durante 5 min, luego se eliminó el sobrenadante y se colocó en un tubo de polipropileno de 5 ml. La extracción se repitió dos veces, y los tres sobrenadantes se recogieron en el tubo de polipropileno. Los sobrenadantes se pusieron en un evaporador rotativo a bajo vacío durante 12 horas, y posteriormente se colocaron en el congelador para la extracción del almidón. Los contenidos de glucosa, fructosa, sacarosa y almidón se determinaron siguiendo el método de Bergmeyer y Bernt (1974).

Los sedimentos que permanecieron en el tubo de polipropileno después de la extracción de los azúcares y otros componentes solubles, se colocaron a bajo vacío durante 10 minutos para eliminar los restos de metanol. Se tomó el peso del tubo + sedimento, y a continuación, se añadió a la mezcla

MATERIALS AND METHODS

Five hundred white oak (*Quercus petraea*) acorns, harvested in the Compiègne forest by the Laboratorio de Ecofisiología Forestal INRA Champenoux, and 500 beech (*Fagus sylvatica*) seeds, provided by Vilmorin (eastern France), were sown in May 2003, using as substrate a peat moss + sand (1:1) mixture in 4-L plastic pots. The pots were divided into two lots of equal size: 50 % under direct sunlight conditions and 50 % under shade conditions (66 % incident light) for each species.

In the second year of growth, in July 2004, 70 % manual defoliation was carried out in 50 % of the plants in each treatment, obtaining four treatments for each species: direct light (E), shade (O), direct light + defoliation (ED) and shade + defoliation (OD).

Five plants of each species per treatment were sampled in the growing season: November, January, April and after sprouting. In each sampling, plants were divided into different compartments (stems, roots, the pivotal root, coarse roots and fine roots; fine roots were considered as those having a diameter of less than 3 mm). Samples were wrapped in aluminum foil, immersed in liquid nitrogen, subjected to a lyophilization process over a period of seven days, and subsequently reduced to powder using a mill. Next, 10 mg of lyophilized powder was weighed in an Eppendorf tube and mixed with 650 µL of a 7:3 methanol/water mixture for 10 minutes. The samples were centrifuged at 17,000 g for 5 min, and then the supernatant was removed and placed in a 5-ml polypropylene tube. The extraction was repeated twice, and the three supernatants were put in the polypropylene tube. The supernatants were placed in a rotary evaporator under vacuum for 12 hours, and then placed in a freezer for starch extraction. Glucose, fructose, sucrose and starch contents were determined using the method described by Bergmeyer and Bernt (1974).

Sediment remaining in the polypropylene tube after extraction of the sugars and other soluble components were placed under vacuum for 10 minutes to remove all traces of methanol. The weight of the tube + sediment was taken, and then 1 ml of NaOH 0.02 N was added to the mixture. The tubes were then placed in a water bath for 60 min at 90 °C and then cooled to 50 °C and centrifuged at 12,620 g for 2 min. Enzymatic hydrolysis of starch was carried out by adding 100 µL of amyloglucosidase solution as a mixture in 0.32 M of citrate buffer (pH 4.2). The tubes were placed in an oven for 30 min at 50 °C and then left at room temperature. The weight of the tube and the mixture were taken. The difference gives the weight for the extraction volume. The tubes were centrifuged at 12,620 g for 10 min to separate the supernatant from the sediment. The test tubes were kept in ice to prevent degradation of the sugars within the solution.

The data obtained were analyzed using ANOVA (Statview[®] 5, SAS Institute Inc); sampling dates, organs or differences between species were considered significant if $P < 0.05$.

1 ml de NaOH 0.02 N. Los tubos se colocaron entonces en un baño maría durante 60 min a 90 °C y luego se enfrió a 50 °C y se centrifugó a 12,620 g durante 2 min. La hidrólisis enzimática del almidón se llevó a cabo mediante la adición de 100 µL de solución amiloglucosidasa como una mezcla en 0.32 M de pH tampón citrato 4.2. Los tubos se colocaron en una estufa durante 30 min a 50 °C y luego se dejaron a temperatura ambiente. Se tomaron el peso del tubo y la mezcla. La diferencia da el peso correspondiente al volumen de extracción. Los tubos se centrifugaron a 12,620 g durante 10 min a fin de separar el sobrenadante del sedimento. Los tubos de ensayo se mantuvieron en hielo para evitar la degradación de los azúcares en solución.

Los datos obtenidos fueron analizados con el ANOVA (Statview[®] 5, SAS Institute Inc); las fechas de muestreo, los órganos o las diferencias entre especies se consideraron significativas si $P < 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los encinos, independientemente del tratamiento de luz o defoliación, mostraron niveles de carbohidratos significativamente más altos que las hayas, debido principalmente a la concentración de almidón más alta. Las diferencias interspecificas se refieren tanto al almidón como a los azúcares solubles (Cuadro 1).

Los árboles sin defoliar y sometidos a luz directa mostraron la mayor cantidad de carbohidratos en noviembre. Los resultados para los árboles defoliados muestran una disminución en la cantidad de carbohidratos en noviembre, mientras que el sombreado no pareció tener ningún efecto. Se observó en primer lugar que las cantidades de carbohidratos no estructurales disminuyeron de noviembre a abril para el caso de los árboles de haya. Las cantidades de azúcares solubles mostraron ser bajas en comparación con las de almidón. Sea cual sea el tratamiento del ambiente aplicado, el almidón fue predominante y representó alrededor de 80 % de las reservas de carbohidratos. Pudo verse un ligero aumento en la cantidad de azúcares solubles en enero para los cuatro tratamientos. Estos son el haya defoliado + luz directa que mostró la menor cantidad de azúcares en abril. Si se comparan las cantidades de carbohidratos de las plantas no defoliadas con las plantas defoliadas, puede verse que la defoliación tiene un efecto de disminución en las reservas

RESULTS AND DISCUSSION

The oaks, regardless of the light or defoliation treatment, showed significantly higher carbohydrate levels than the beeches, mainly due to the higher starch concentration. There are interspecific differences in relation to both starch and soluble sugars (Table 1).

Non-defoliated trees subjected to direct light showed the greatest amount of carbohydrates in November. The results for defoliated trees show a decrease in the amount of carbohydrates in November, while shading seemed to have no effect. It was first observed that nonstructural carbohydrate amounts decreased from November to April in the case of beech trees. The amounts of soluble sugars were shown to be low compared to those of starch. Regardless of the environmental treatment applied, starch was predominant and accounted for about 80 % of carbohydrate reserves. There was a slight increase in the amount of soluble sugars in January for the four treatments. The defoliated beech + direct light treatment showed the smallest amount of sugars in April. If the carbohydrate amounts in the non-defoliated and defoliated plants are compared, it can be seen that defoliation has a lowering effect on carbohydrate reserves regardless of light conditions. The direct light condition associated with defoliation showed a notable reduction in amounts in the last two dates, suggesting that this combination of factors increased sugar consumption in the winter in beech trees.

It was observed that carbohydrate amounts were much higher in oak than beech (about twice as much). Starch is the most abundant carbohydrate form; soluble sugars are more abundant in oak than beech trees. On the other hand, carbohydrate amounts in beech trees showed a slight increase in January and then decreased. Defoliated oak trees in shade conditions had the lowest amount of carbohydrates throughout the year. Oak trees in direct light conditions showed the lowest amount of carbohydrates in January, while the November and April amounts are similar. This is probably related to an anticipated reserve accumulation effect. It was also observed that defoliated oak trees have lower carbohydrate amounts than non-defoliated trees. Carbohydrate reserves do not have the same behavior in shade conditions, because the amount of reserves is higher in April, showing an inverse effect on plants subjected to direct sunlight. Shade conditions have a negative effect on carbohydrate accumulation in oak trees.

CUADRO 1. Valores promedio en $g \cdot 100^{-1}$ g MS para cada compuesto en carbohidratos en encino y haya.

TABLE 1. Mean values in $g \cdot 100^{-1}$ g DM for each carbohydrate compound in oak and beech.

Especie / Species	n	Almidón / Starch	Glucosa+fructosa / Glucose+fructose	Sacarosa / Sucrose
Encino / Oak	234	13.50 ± 0.64	1.23 ± 0.08	1.93 ± 0.10
Haya / Beech	196	10.59 ± 0.67	1.61 ± 0.12	2.83 ± 0.13
Diferencia / Difference		$P = 0.0019$	$P = 0.0074$	$P = 0.0001$

Las diferencias entre especies son significativas en la probabilidad p, y n indica el número de repeticiones tomadas en cuenta en los cálculos.

Species differences are significant at probability p, and n indicates the number of repetitions taken into account in the calculations.

de carbohidratos independientemente de las condiciones lumínicas. En condición de luz directa asociada a la defoliación, se presentó una reducción de cantidades notables en las dos últimas fechas, lo que sugiere que esta combinación de factores incrementó el consumo de azúcares en el invierno en los árboles de haya.

Se observó para el caso del encino que las cantidades de carbohidratos fueron mucho mayores que para el haya (aproximadamente dos veces). El almidón es la forma de carbohidratos más abundante; los azúcares solubles son más abundantes en los árboles de encino que en los árboles de haya. De forma paralela, las cantidades de carbohidratos en los árboles de haya presentaron un ligero aumento en enero para luego disminuir. Los árboles de encino defoliados y en condiciones de sombra presentaron la cantidad más baja de carbohidratos durante todo el año. Los árboles de encino en condiciones de luz directa presentaron la cantidad de carbohidratos más baja en enero, mientras que las cantidades de noviembre y abril son similares. Esto probablemente se relacione con un efecto de acumulación de reservas anticipado. Se pudo observar también que los árboles de encino defoliados presentan cantidades de carbohidratos inferiores a los árboles no defoliados. Las reservas de carbohidratos no tienen el mismo comportamiento en condiciones de sombra, debido a que la cantidad de reservas es mayor en abril, presentando un efecto inverso en las plantas sometidas a luz directa. Las condiciones de sombra tienen un efecto negativo sobre la acumulación de carbohidratos en los árboles de encino.

CONCLUSIONES

La finalidad de este estudio fue evaluar el posible efecto de la defoliación parcial y de las condiciones lumínicas en la fisiología de árboles jóvenes de encino y haya. Las reservas de carbohidratos son un buen indicador del estado fisiológico del árbol. Después de realizar los tratamientos, el árbol utiliza sus reservas, por lo que la concentración permitió evaluar su comportamiento ante las condiciones de luz y defoliación. Se observó que el encino presentó mayor cantidad de reservas que el haya, y los compartimentos de reserva en las dos especies fueron diferentes.

La concentración de reservas disminuye durante el año; se presenta una cantidad máxima de éstas al final del verano y principios de otoño; dichas reservas disminuirán durante todo el año, pues una parte será utilizada para la respiración durante el invierno, otra para el crecimiento y una más para la brotación en primavera. En la defoliación de los árboles se utilizan las reservas de carbohidratos para sustituir a las hojas, sin que ello afecte la biomasa.

Ambas especies tienen un notable interés económico en la industria de la madera. Se deben considerar todas las variables ecofisiológicas antes de someter un bosque a planes de aprovechamiento. El encino, por ejemplo, requiere mayor cantidad de luz en caso de que se presenten problemas de plagas defoladoras, con la finalidad de que el follaje se de-

CONCLUSIONS

The purpose of this study was to evaluate the possible effect of partial defoliation and light conditions on the physiology of young oak and beech trees. Carbohydrate reserves are a good indicator of the physiological state of a tree. After the treatments, the tree uses its reserves, so the concentration allowed us to assess its behavior under light and defoliation conditions. It was observed that oak had a higher amount of reserves than beech, and that reserve compartments in the two species were different.

The concentration of reserves decreases during the year, presenting a maximum amount in late summer and early autumn; these reserves will decrease throughout the year, since part will be used for respiration during the winter, another for growth and yet another for sprouting in spring. In the defoliation of trees, carbohydrate reserves are used to replace the leaves, without affecting the biomass.

Both species have significant economic importance in the timber industry. All ecophysiological variables should be considered when making a forest harvesting plan. Oak, for example, requires a greater amount of light in case a defoliating pest problem arises, in order for the foliage to develop as quickly as possible; in the case of beech, it has to be taken into account that it grows in shade conditions, and that an opening in the canopy will have a negative effect on sapling growth.

The present study was carried out on young trees. It would be advisable to conduct a similar study with adult trees to compare the behavior of carbohydrate reserves at different ages.

sarrolle lo más rápidamente posible; para el caso del haya se debe tomar en cuenta que crece en condiciones de sombra, y una apertura del dosel tendrá un efecto negativo sobre el desarrollo de los árboles en estado juvenil.

El presente estudio se llevó a cabo en árboles jóvenes. Sería aconsejable realizar un estudio similar con árboles de edad adulta para hacer una comparación del comportamiento de las reservas de carbohidratos a diferentes edades.

LITERATURA CITADA

Barbaroux C. 2002. Analyse et modélisation des flux de carbone de peuplements forestiers pour la compréhension de la croissance de deux espèces feuillue *Quercus petraea* et *Fagus sylvatica* These de l'Université Henri Poincaré Nancy 1. Nancy, France.

Bergmeyer H. U.; Bernt E. 1974, Methods of enzymatic food analysis using single reagents. *Academic Press*, Ed. Bergmeyer, New York :1176-1179.

Cherbuy B., Joffre R., Gillon D., Rambal S. 2001. Internal remobilization of carbohydrates, lipids, nitrogen and phosphorus in the Mediterranean evergreen oak *Quercus ilex*. *Tree Physiol.* 21: 9-17

Luckwill L. C.; Cutting C. V. 1970 Carbohydrates storage and utilization. *Physiology of Tree Crops.* 113-127

Office National des Forêts. 1997. Bulletin Technique No. 34 La lumière et la forêt. Numéro Spécial. ONF-Direction Technique et Commerciale.

Vanderklein D. W., Reich P. B. 1999. The effect of defoliation intensity and history on photosynthesis, growth and carbon reserves of two conifers with contrasting lifespans and growth habits. *New Phytologist* 144: 121-132.