

Patrones de herbivoría en *Avicennia germinans*: Importancia de la defensa química y la calidad nutricional

Janet Herrera¹, Yurixhi Maldonado-López², Luis F. Mendoza Cuenca³ y Pablo Cuevas-Reyes¹

¹Laboratorio de Ecología de Interacciones Bióticas, Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Ciudad Universitaria, Morelia, Michoacán, México. C. P. 58060 correo-e: azulkrystal@gmail.com, pcuevas@oikos.unam.mx, ²Laboratorio de Ecología Genética y Molecular, CIECO, UNAM, Morelia, Michoacán, México. C. P. 58190 correo-e: ymaldonado@oikos.unam.mx, ³Laboratorio de Ecología de la Conducta, Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Ciudad Universitaria, Morelia, Michoacán, México. C. P. 58060 correo-e: luis.mendoza@inecol.edu.mx

RESUMEN

Se determinó la relación entre calidad nutricional y defensa química foliar con los patrones de herbivoría por insectos folívoros en *Avicennia germinans*. Se eligieron 15 individuos de *A. germinans* y se midió el diámetro a la altura del pecho (DAP) como un estimador del tamaño. Se realizó un muestreo sistemático-aleatorio en los estratos del dosel: basal, medio y superior, se calculó el porcentaje del área foliar perdida tomando una fotografía digital de cada hoja y estimando el área foliar total y el área foliar removida. Se estimaron las concentraciones de fenoles totales, flavonoides, taninos totales, galotaninos, proantocianidinas, agua y carbohidratos. Se encontró variación en los niveles de herbivoría (de 1.0 al 10.5%), defensa química y calidad nutricional entre individuos de *A. germinans*. Dentro del dosel, la herbivoría fue mayor en el estrato superior no habiendo relación con una mayor disponibilidad de agua o carbohidratos. Existe una relación positiva entre la concentración de fenoles y flavonoides con los niveles de herbivoría, lo cual sugiere que estos son compuestos de defensa inducidos por la herbivoría. Por el contrario, se encontró una relación negativa entre la concentración de galotaninos con los niveles de herbivoría, lo cual indica que estos son compuestos de defensa efectivos contra los folívoros. Árboles más grandes presentaron mayores niveles de herbivoría, lo cual puede ser explicado por la presencia de mayores concentraciones de agua, fenoles y taninos. Árboles más pequeños presentaron mayores concentraciones de galotaninos, los cuales son efectivos contra los herbívoros, individuos más pequeños son mejor defendidos químicamente.

Palabras clave: Folivoría, Composición química, *Avicennia germinans*.

ABSTRACT

We study the relationship between nutritional quality and foliar chemical defense with the herbivory patterns of folivorous insects in *Avicennia germinans*. From 15 individuals, we measured the stem diameter at breast height (DBH) as an estimator for plant size and randomly collected leaves at three canopy stratum (i.e. top, intermedium and bottom). For each leaf, we calculated the percentage of removed area by folivorous using digital images to estimate the total foliar area and the foliar area removed. We analysed the concentrations of total phenols, flavonoids, total tannins, galotanins, proantocyanidins, water and carbohydrates. Our result shows individual variation in herbivory levels (from 1.0 to 10.5%), chemical defense and nutritional quality in *A. germinans*. Between canopy stratum, the higher level of herbivory occurs at the upper stratum, but it is

independent of leaf water or carbohydrates availability. Contrary to these results, there is a negative and significant relationship between galotanins concentrations and herbivory levels, suggesting that this is an effective defense component against folivory. Also our results suggest that smaller individuals were more protected against herbivorous, because galotanins occur in higher concentrations in these individuals.

Key words: Folivory, Chemical composition, *Avicennia germinans*.

INTRODUCCIÓN

Los manglares se encuentran en zonas de transición entre sistemas terrestres y marinos, se consideran de los sistemas más productivos y diversos en el mundo debido a que el 80% de la pesca marina mundial depende directa o indirectamente de estos ecosistemas (Ming *et al*, 2007). Son ambientes inundados de alta humedad con presencia de una gran diversidad de microorganismos e insectos herbívoros (Bandaranayake 2002). Al igual que en otros ecosistemas, las comunidades de herbívoros consumen cantidades importantes de las plantas que los conforman. Los herbívoros de manglares son sumamente diversos, incluyen generalistas y especialistas a órganos y/o taxa de plantas hospederas (Ellison y Farnsworth 2001). El papel de los herbívoros en los ecosistemas es fundamental debido a que afectan el crecimiento, el éxito reproductivo y la capacidad fotosintética de las plantas hospederas en bosques templados y tropicales (Karban y Strauss 1993, Rossi y Stiling 1998, Agren *et al* 1999, Lehtilä y Strauss 1999, Mothershead y Marquis 2000, Strauss *et al* 2001, Doyle *et al* 2002, Ávila-Sakar *et al* 2003, Bañuelos y Obeso 2004, Parra-Tabla *et al* 2004). Sin embargo, estudios recientes sugieren que la importancia de estos herbívoros ha sido subestimada (Lee 1999) y los factores que explican la variación en los patrones de herbivoría como la estratificación del dosel (Lowman 1985, Dial y Roughgarden 1995, Coley y Barone 1996) y la defensa y calidad nutricional de las plantas hospederas han sido poco documentadas (Rhoades y Cates 1976, Coley y Barone 1996, Strauss y Agrawal 1999). Particularmente en manglares, la relación entre estos factores y la herbivoría son poco conocidos (Ditzel y da Cunha 2004). Robertson y Duke (1987) reportan niveles de her-

bivoría de entre 0.3 y 35% en diferentes especies de mangle en Australia. Mientras Fransworth y Ellison (1991) reportan porcentajes entre 4.3 y 25.3% para *Rhizophora mangle* y del 7.7 al 36.1% para *Avicennia germinans* en Belice. Robertson *et al* (1992) encuentran que la pérdida de área foliar por insectos masticadores es sumamente variable incluso entre individuos de la misma especie. Esta pérdida de área fotosintética altera el balance de carbohidratos, interfiere con el consumo de agua y nutrientes y debilita la estructura de la planta, reduciendo su potencial reproductivo y afectando el crecimiento y la supervivencia al incrementar la probabilidad de muerte (Pinter y Kalman 1979, Reyes-de la Cruz y Gaspar 2002).

Janzen (1974) sugiere que plantas en sitios estresados contienen altas cantidades de taninos (10-20% del peso seco) en las vacuolas de órganos o tejidos particulares (i.e. corteza, madera, hojas, frutos y/o raíces) como defensa contra la herbivoría, debido a que la pérdida de hojas representa un impacto aún mayor en la adecuación de la planta que el estrés ambiental por sí mismo. Aunque muchas especies han evolucionado mecanismos para contrarrestar o tolerar el efecto de los taninos (Scalber 1991). Erickson *et al* (2004) consideran que el contenido de nitrógeno y fenoles afectan en diferentes vías los patrones de herbivoría: (i) el nitrógeno como indicador de la calidad nutricional de la hoja está asociado positivamente y (ii) los fenoles asociados negativamente con los niveles de herbivoría por su tendencia a disminuir la palatabilidad, digestión y absorción de nutrientes. Sin embargo, Johnstone (1981), no encontró ninguna relación entre el contenido de nitrógeno y la tasa de consumo de los herbívoros en hojas de diferentes especies de mangle en Nueva Guinea. De Lacerda *et al* (1986) analizó los patrones de

herbivoría y características químicas de las hojas de mangle negro y blanco (*Avicennia schaueriana* Stapf and Leechman ex Moldenke y *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. f) encontrando una relación negativa entre los niveles de herbivoría y el contenido de cenizas, fibra y agua, mientras que los carbohidratos y fenoles presentaron una relación positiva y ninguna relación con el nitrógeno. Farnsworth y Ellison (1991) tampoco encuentran evidencia de que la herbivoría sea estimulada por el contenido de nutrientes en hojas de mangle negro en Belice, pero si una mayor tasa de consumo en plantas con mayor concentración de fenoles. Por lo tanto, en manglares, los patrones de herbivoría son contradictorios en relación a los atributos químicos de sus plantas hospederas. De este modo, en este trabajo se propuso determinar como es que los patrones de herbivoría se relacionan con la calidad nutricional y defensa química de las hojas del mangle negro *Avicennia germinans* en La Mancha, Veracruz, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en la Reserva del Centro de Investigaciones Costeras (CICOLMA) de La Mancha, Veracruz, México ubicada en la parte noreste de la Laguna La Mancha a 19° 39' N y 96° 20' W. Presenta una precipitación anual de 1300 mm, marcadamente estacional con lluvias de junio a septiembre. El clima es cálido subhúmedo con influencia de ciclón y temperatura media de 25.4°C (Mata-Infante y Baca-Plazaola 2002).

Patrones de herbivoría

Al final de la época de lluvias del 2007, se muestrearon aleatoriamente 15 individuos de *A. germinans* en toda la extensión de la población. Se midió el diámetro a la altura del pecho (DAP) de cada individuo como un estimador del tamaño. Para determinar el porcentaje de herbivoría foliar en los distintos estratos del dosel y en cada individuo, se realizó un muestreo sistemático-aleatorio en los tres estratos del dosel: basal, medio y superior. En cada estrato, se colectaron aleatoriamente 3

ramas secundarias, de las cuales se eligieron al azar 50 hojas por estrato (150 hojas por individuo). Las hojas colectadas de cada estrato se prensaron y se calculó el porcentaje de área foliar perdida tomando una fotografía digital de cada hoja y estimando el área foliar total y el área foliar removida por los insectos folívoros utilizando el Software Sigma Scan Pro (Systat: SPSS 1999).

Defensa química y herbivoría

Para determinar si los niveles de herbivoría por diferentes insectos folívoros están relacionados con la defensa química, en las mismas ramas seleccionadas para medir los niveles de herbivoría se colectaron 3 hojas por estrato (9 hojas por individuo, 135 en total) y se estimaron las concentraciones de fenoles totales, flavonoides, taninos totales, galotaninos y proantocianidinas solubles mediante los siguientes métodos:

- (i) *Método de cuantificación de fenoles totales:* se realizó la extracción con etanol al 80%. La muestra se centrifugó a 3000 rpm por 10 minutos y se conservó el sobrenadante. Un ml de sobrenadante se adicionó a 7 ml de agua desionizada. El blanco para calibrar se preparó agregando 1 ml de etanol en lugar de muestra y se agitó con vortex. Se agregó 0.5 ml de reactivo de Folin y Cicalteau (2.0 N, Sigma®). A los 8 minutos, se adicionó 1 ml de carbonato de sodio al 20%, y se agitó nuevamente. Después de 1 hora (a partir de los 30 minutos) se leyó la absorbancia a 760 nm. El compuesto estándar usado fue el ácido tánico. La ecuación obtenida mediante la curva de calibración se utilizó para realizar la transformación a miligramos/gramo de muestra. (Waterman y Mole 1994).
- (ii) *Método de cuantificación de flavonoides totales:* Método de cuantificación de flavonoides totales: se realizó la extracción con etanol al 80%. Una alícuota de volumen conocido (0.5 ml) se añadió a un tubo de ensaye. Se aforó la muestra a 5 ml con agua destilada y se agregó 0.3 ml de NaNO₂ (1:20). Después de 5 min se agregó 3 ml de AlCl₃ (1:10 o 5%). 6 minutos después, se

añadió 2 ml de NaOH 1M. La solución se mezcló en vortex y se leyó la absorbancia a 510 nm. (Abdullin *et al* 2001); El contenido de flavonoides totales se calculó a partir de una curva estándar de quercetina y se derivó una ecuación de regresión.

- (iii) *Método de difusión radial de taninos*: se cuantificaron taninos totales a partir de su capacidad para precipitar proteínas como medida de su actividad biológica. Las muestras se extrajeron con nitrógeno líquido y acetona acuosa al 70% (Hagerman 1987). Para preparar 8 cajas petri (80 muestras) se añadió 1.0 g de agarosa (tipo I, bajo EEO, punto del gel 36 °C, Sigma® a-6013) a 100 ml de buffer (*Buffer acetato 0.05 M conteniendo 60 µM de ácido ascórbico pH 5.0*) en un matraz de 150 ml, se calentó con agitación constante hasta que la agarosa se disolvió. Cuando la solución alcanzó los 45 °C, se añadió 100 mg de ASB (*Albúmina de Suero de bovino fracción V en polvo, 96-99% albúmina, Sigma® a-3350*) con agitación y se disolvió sin permitir que la solución se enfriara. Se utilizó una pipeta serológica de 10.0 ml para dispensar 9.5 ml de la solución en cada caja petri, las cuales fueron almacenadas a 4 °C. Se hicieron 10 hoyos por plato, con un sacabocados (4.0 mm de diámetro). Se utilizó una micropipeta para aplicar 100 µl de muestra en los pozos, se cubrieron los platos y se sellaron con parafilm. Se colocaron en la incubadora por 96 horas a 30 °C. Los platos se retiraron de la incubadora y se agregó anilina al 1.2% en K3PO4 para visualizar los anillos. Con un Vernier se midió el diámetro del anillo formado. El cuadrado del diámetro es proporcional a la concentración de taninos en la muestra. Se estandarizó con ácido tánico (Hagerman 1987).
- (iv) *Método de cuantificación de galotaninos*: determinación con rodanina. Es un método basado en la reacción del grupo funcional del ácido gálico con la rodanina. Las muestras son hidrolizadas con ácido sulfúrico para liberar el ácido gálico presente en la

planta en forma de éster. La extracción se realizó con acetona acuosa al 70%, se colocó 1 ml de extracto en 1 ml de H2SO4 1M en un tubo de vidrio de cultivo con tapa de rosca de teflón (volumen de 2 ml). El tubo se tapó y la hidrólisis se llevó a cabo por 4 hrs. a 100 °C. Después los tubos se abrieron y se tomó 0.1 ml de hidrolizado y se diluyó a 1 ml con agua destilada. En un tubo de ensaye se añadió 0.3 ml de rodanina metanólica al 0.667% a 0.2 ml de la muestra. Después de 5 minutos, se añadió 0.2 ml de KOH 0.5 M después de 2.5 minutos la mezcla se diluyó a 3 ml con agua destilada. Después de 5 a 10 minutos se leyó la absorbancia a 520 nm. Se estandarizó con ácido gálico (Inoue y Hagerman 1988).

- (v) *Método para la cuantificación de proantocianidinas (pas)*: Se utilizó una modificación del método de ácido/butanol para cuantificar taninos condensados. Este método emplea polivinilpirrolidina para evitar la interferencia de la clorofila en la absorbancia de las muestras (Watterson y Butler 1983).

Calidad nutricional de hojas

Para determinar si el contenido nutricional de las hojas de *A. germinans* está relacionado con los niveles de herbivoría y defensa química, se colectaron 3 hojas por estrato (9 hojas por individuo, 135 en total) y se estimaron las concentraciones de carbohidratos y agua utilizando los siguientes métodos: (i) *Método de cuantificación de carbohidratos no estructurales (extracción de azúcares simples)*. Las hojas se secaron en estufa a 40 °C. Se utilizó etanol al 80% para la extracción. Con una pipeta calibrada se preparó un blanco con 2 ml de agua desionizada. Las muestras se prepararon añadiendo 1 ml de la muestra y 1 ml de agua en un tubo de ensaye. Se adicionó 50 µl de fenol al 80% a cada tubo. Se mezcló en vortex por 5 segundos y se adicionó 2 ml de H2SO4 al 80% mezclando en vortex 20 seg. Las muestras se leyeron a 487 nm. El contenido azúcares simples se calculó a partir de una curva estándar de glucosa (Marquis R. J *et al* 1997).

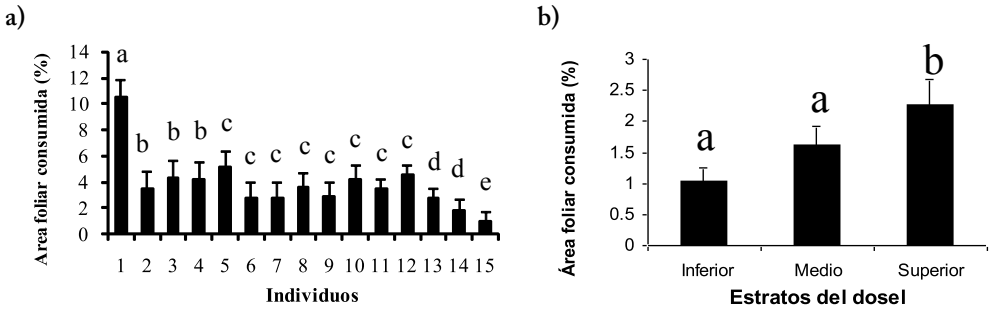


FIGURA 1. a) Variación individual en los niveles de área foliar removida por insectos folívoros en *A. germinans*. b) Diferencias en los niveles de herbivoría entre estratos del dosel. Letras distintas indican las medias estadísticamente diferentes según Tukey-Kramer ($P < 0.05$).

RESULTADOS

Patrones de herbivoría

En relación al porcentaje de área foliar removida por insectos folívoros, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre individuos de *A. germinans* ($F=4.3$; g.l.= 14; $P < 0.0001$), siendo en promedio el 3.5% de área foliar consumida por cada hoja dentro de individuos (FIGURA 1a). Del mismo modo, en los estratos del dosel se encontró variación en los niveles de consumo de área foliar ($F= 4.9$; g.l.= 2; $P < 0.007$), siendo mayores en el estrato superior según la prueba de Tukey-Kramer ($P < 0.05$) (FIGURA 1b).

Al analizar el efecto del tamaño de las plantas hospederas, se encontró que plantas más grandes tuvieron mayores niveles de herbivoría ($F= 8.8$; $R^2= 45\%$; $P= 0.01$), mientras que plantas más

pequeñas tuvieron mayores concentraciones de galotaninos ($F= 4.9$; $R^2= 38\%$; $P= 0.03$)

Defensa química y herbivoría

Los análisis químicos indican diferencias significativas entre individuos en las concentraciones de fenoles totales ($F= 2.5$; g.l.= 14; $P < 0.003$); taninos totales ($F= 1.8$; g.l.= 14; $P < 0.03$); flavonoides ($F= 2.8$; g.l.= 14; $P < 0.001$) y galotaninos ($F= 2.09$; g.l.= 14; $P < 0.0172$). Por el contrario, no se encontraron diferencias en las concentraciones de proantocianidinas solubles ($F= 1.3$; g.l.= 14; $P= 0.2$). Con respecto a los estratos del dosel solo se encontró variación en la concentración de fenoles siendo mayor en el estrato superior ($F= 3.4$; g.l.= 2; $P < 0.03$).

Se encontró una relación positiva entre la concentración de fenoles totales($F= 4.9$; $R^2= 25.7\%$; $P= 0.03$) y flavonoides ($F=5.0$; $R^2=$

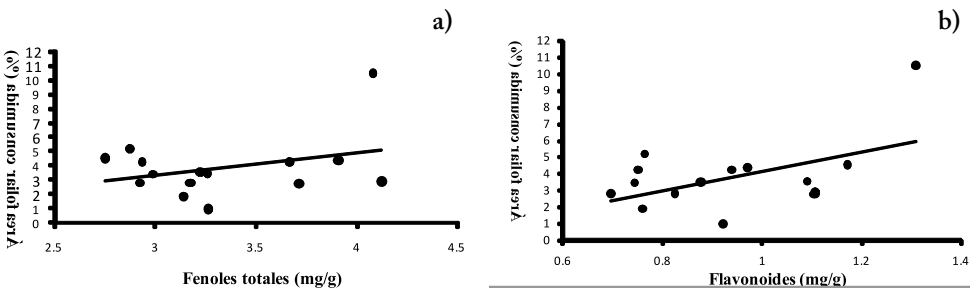


FIGURA 2. a) Relación entre el área foliar removida por insectos folívoros y la concentración de fenoles totales. b) Relación entre los niveles de herbivoría y la concentración de flavonoides.

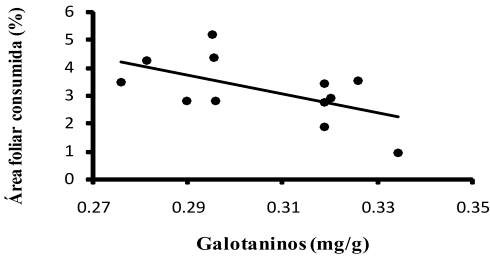


FIGURA 3. Relación entre el área foliar removida por insectos folívoros y la concentración de galotaninos.

25%; $P = 0.04$) con los niveles de herbivoría (FIGURA 2). Por el contrario, existe una relación negativa entre la concentración de galotaninos con los niveles de herbivoría ($F = 4.9$; $R^2 = 35\%$; $P = 0.03$) FIGURA 3.

Calidad nutricional y herbivoría

Los análisis de calidad nutricional en hojas de *A. germinans* muestran que existe variación entre individuos en la concentración de carbohidratos no estructurales ($F = 10.9$; g.l. = 14; $P < 0.0001$). Sin embargo, no se encontraron diferencias entre estratos del dosel en la concentración de estos carbohidratos totales ($F = 0.5$; g.l. = 2; $P = 0.6$). Similarmente, el contenido de agua varía entre individuos ($F = 7.0$; g.l. = 14; $P < 0.0001$) y entre estratos del dosel siendo mayores en los estratos medios y bajos ($F = 10.9$; g.l. = 2; $P < 0.0001$). Adicionalmente, se encontró una relación positiva entre la cantidad de agua en hojas y los niveles de herbivoría ($F = 5.8$; $R^2 = 30.9\%$; $P = 0.03$).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Para entender el impacto de los insectos folívoros sobre sus plantas hospederas es necesario documentar la variación en la cantidad de daño foliar causado por estos insectos (Marquis 1991). Nuestro estudio indica que existe variación natural en los niveles de herbivoría por insectos folívoros entre los individuos de *Avicennia germinans* en la población de la Mancha, Veracruz, México. Estos niveles de consumo foliar van desde el 1.0 al 10.5% y el promedio de área foliar consumida fue de 3.5%. Estos niveles

de herbivoría son menores que los encontrados para otras especies de mangles e incluso para poblaciones de *A. germinans* en Belice (i.e. 7.7 al 36.1%) (Robertson y Duke 1987, Fransworth y Ellison 1991). Los bajos niveles de herbivoría encontrados en nuestro estudio pueden ser explicados por los patrones de defensa química foliar de *A. germinans*. Diversos estudios han sugerido que compuestos fenólicos como taninos totales, flavonoides y galotaninos están asociados a defensa vegetal contra insectos herbívoros (Hunter y Schultz 1995, Erickson *et al* 2004, Forkner *et al* 2004, Rossi *et al* 2004). En este trabajo, la reducción en los niveles de herbivoría puede estar asociada a una mayor concentración de galotaninos foliares. Del mismo modo, los individuos de menor tamaño y que presentaron menores niveles de consumo foliar tuvieron mayores concentraciones de galotaninos. Además, el incremento en la concentración de fenoles y flavonoides conforme aumentan los niveles de herbivoría, sugieren que estos son compuestos inducidos como resultado de la herbivoría y al mismo tiempo mecanismos efectivos contra los herbívoros. La resistencia inducida se refiere a la producción de nuevos metabolitos secundarios como respuesta al daño mecánico de alguna parte de la planta o por el ataque de herbívoros y patógenos (Agrawal 1999, Agrawal *et al* 1999, McCall y Karban 2006). Los cambios químicos inducidos pueden ser en diferentes escalas: temporales y espaciales, algunos ocurren rápidamente y otros a largo plazo (Hartley y Lawton 1991) y la inducción puede ser sistémica o local (Karban y Baldwin 1997). Por lo tanto, podemos concluir que los bajos niveles de herbivoría encontrados en *A. germinans* pueden ser explicados por la concentración de compuestos químicos asociados a defensa vegetal como los fenoles totales, flavonoides y galotaninos.

En relación a los niveles de herbivoría en los estratos del dosel, se encontró que hojas del estrato superior presentaron mayores niveles de herbivoría y menores concentraciones de compuestos nutricionales. Por lo tanto, la calidad nutricional no explica los niveles de consumo foliar en *A. germinans*. La estratificación del dosel es uno de los factores que se han relacio-

nado con las diferencias en los niveles de folivoría y resistencia a la herbivoría de árboles tropicales, ya que representan para los herbívoros una gran diversidad de microambientes potenciales que pueden colonizar y afectar sus preferencias alimenticias (Kursar y Coley 2003). El patrón general muestra que las hojas expuestas al sol sufren un menor daño que las hojas de los estratos más bajos (Lowman 1985). Sin embargo, algunos estudios han mostrado que los estratos superiores representan sitios de menores presiones de selección por parte de los depredadores (Basset 2001). Por lo tanto, es probable que los estratos superiores del dosel puedan representar espacios libres de enemigos naturales (e.g. parasitoides) para insectos folívoros.

Diversos estudios han demostrado que porcentajes bajos de remoción foliar pueden tener un efecto negativo sobre el crecimiento y la reproducción de las plantas (Houle 1999, Krupnick *et al* 2000, Doyle *et al* 2002, Bañuelos y Obeso 2004). En este trabajo no se evaluó el efecto de la folivoría sobre el crecimiento y el éxito reproductivo de *Avicennia germinans*, pero es probable que la folivoría encontrada en esta especie tenga algún efecto negativo sobre algún componente del crecimiento o la reproducción ya que el porcentaje promedio de área foliar consumida por folívoros es considerablemente mayor que en otras especies tropicales (Coley y Barone 1996). Finalmente, podemos concluir que los patrones de herbivoría por insectos folívoros en *Avicennia germinans* son afectados por la defensa química más que por la calidad nutricional foliar.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos las facilidades otorgadas por el Dr. Mauricio Quesada del CIECO, UNAM para la realización de los análisis químicos. Pablo Cuevas-Reyes agradece el apoyo recibido al Programa de Mejoramiento del Profesorado (PRO-MEP).

REFERENCIAS

- Abdullin, I. F., E. N. Turova y G. K. Budnikov. 2001. Colorimetric determination of the antioxidant capacity of tea extracts using electrogenerated bromine. *Journal of Analytical Chemistry* (56): 557-559.
- Agren, J., K. Danell, T. Elmqvist, L. Ericson y J. Hjältén. 1999. Sexual dimorphism and biotic interactions. En: Geber, M. A., T. E. Dawson y L. F. Delph (Eds). *Gender and sexual dimorphism in flowering plants*. Springer Verlag Berlin Heidelberg. Pp. 217-246
- Agrawal, A. A. 1999. Induced responses to herbivory in wild radish: effects on several herbivores and plant fitness. *Ecology*. (80): 1713-1723.
- Agrawal, A. A., P. M. Gorski y D. W. Tallamy. 1999. Polymorphism in plant defense against herbivory: constitutive and induced resistance in *Cucumis sativus*. *Journal of Chemical Ecology*. (25): 2285-2304.
- Ávila-Sakar, G., L. L. Leist y A. G. Stephenson. 2003. Effects of the spatial pattern of leaf damage on growth and reproduction: nodes and branches. *Journal of Ecology* (91): 867-879.
- Bandaranayake, W. M. 2002. Bioactivities, bioactive compounds and chemical constituents of mangrove plants. *Wetlands Ecology and Management* (10): 421-452.
- Bañuelos, M. J., M. Sierra y J. R. Obeso. 2004. Sex, secondary compounds and asymmetry. Effects on plant-herbivore interaction in a dioecious shrub. *Acta Oecologic* (25): 151-157.
- Basset, Y. 2001. Communities of insect herbivores foraging on saplings versus mature trees of *Pourouma bicolor* (Cecropiaceae) in Panama. *Oecologia*. (129): 253260.
- De Lacerda, L. D., J. D. V., Carlos E. De Rezende, M. C. Francisco F., J. C. Wasserman y J. C. Martins. 1986. Leaf Chemical Characteristics Affecting Herbivory in a New World Mangrove Forest. *Biotropica* 18 (4): 350-355.
- Ditzel, L. F. y Paulo Da Cunha Lana. 2004. Leaf-consumption levels in subtropical mangroves of Paranaguá Bay (SE Brazil).

- Wetlands Ecology and Management (12): 115–122.
- Doyle, R. D., M. Grodowitz, R. M. Smart y C. Owens. 2002. Impact of herbivory by *Hydrellia pakistanae* (Diptera: Ephydriidae) on growth and photosynthetic potential of *Hydrilla verticillata*. *Biological Control* (24): 221–229.
- Ellison, A.M. y E. J. Farnsworth. 2001. Mangrove community ecology. En: Gaines, M.D.S. y Hay M.E. (Eds.) *Marine Community Ecology*. Sinauer Press. Sunderland, Massachusetts USA, pp. 423–442.
- Erickson, A. A., S. S. BELL, y D. Clinton J. 2004. Does Mangrove Leaf Chemistry Help Explain Crab Herbivory Patterns? *Biotropica* 36(3): 333–343.
- Farnsworth, E. J. y Aaron M. Ellison. 1991. Patterns of Herbivory in Belizean Mangrove Swamps. *Biotropica* 23 (4): 555–567.
- Feller, I. C. 1995. Effects of Nutrient Enrichment on Growth And Herbivory Of Dwarf Red Mangrove (*Rhizophora mangle*). *Ecological Monographs* 65(4): 477–505.
- Forkner, R. E., R. J. Marquis y J. T Lill 2004. Condensed tannins as anti-herbivore defenses in leaf-chewing herbivore communities of *Quercus*. *Ecological Entomology* (29): 174–187
- Hagerman, A. E. 1987. Radial diffusion method for determining tannin in plant extracts. *Journal of Chemical Ecology* (13): 437–449.
- Hartley, S. E. y J. H. Lawton. 1991. Biochemical aspects and significance of the rapidly induced accumulation of phenolics in birch foliage. En: Tallamy, D. W. y M. J. Ranpp (Eds.) *Phytochemical induction by herbivores*. John Wiley, New York. pp. 105–132.
- Hernes, P. J., R. Benner, G. L. Cowie, M. A. Goni, B. A. Bergamaschi y J. I. Hedges. 2001. Tannin diagenesis in mangrove leaves from a tropical estuary: A novel molecular approach. *Geochimica et Cosmochimica Acta* (65): 3109–3122.
- Houle, G. 1999. Nutrient availability and plant gender influences on the short-term compensatory response of *Salix planifolia* spp. *planifolia* to simulated leaf herbivory. *Canadian Journal of Forest Research*. (29): 1841.
- Hunt, M. D. y J. C. Shultz. 1995. 74:1226- Fertilization mitigates chemical induction and herbivore responses within damaged oak trees. *Ecology* (74): 1226–1232
- Inoue, K. H. y A. E. Hagerman. 1988. Determination of gallotannin with rhodanine. *Analytical Biochemistry* (169): 363–369
- Janzen, D. H. 1974. Tropical Blackwater Rivers, animals, and mast fruiting by the Diptero-carpaceae. *Biotropica* (6):69–103.
- Johnstone, I. M. 1981. Consumption of Leaves by Herbivores in Mixed Mangrove Stands. *Biotropica* 13(4): 252–259.
- Karban, R. y S. Y. Strauss. 1993. Effects of herbivores on growth and reproduction of their perennial host, *Erigeron glaucus*. *Ecology* (74): 39–46.
- Karban, R. y I. T. Baldwin. 1997. Induced responses to herbivory. University of Chicago Press. Chicago.
- Krupnick, G. A., G. Avila, K. M. Brown y A.G. Stephenson. 2000. Effects of herbivory on internal ethylene production and sex expression in *Cucurbita texana*. *Functional Ecology*. (14): 215–225.
- Kursar, T. A. y P. D. Coley. 2003. Convergence in defense syndromes of young leaves in tropical rainforest. *Biochemical Systematics and Ecology*. (31): 929–949.
- Lee, S.Y. 1999. Tropical mangrove ecology: Physical and biotic factors influencing ecosystem structure and function. *Australian Journal of Ecology* (24): 355–366.
- Lehtilä, K. y S. Y. Strauss. 1999. Effects of foliar herbivory on male and female reproductive traits of wild radish, *Raphanus raphanistrum*. *Ecology* (80):116–124.
- Lowman, M. D. 1985. Temporal and spatial variability in insect grazing of the canopies of five Australian rainforest tree species. *Australian Journal of Ecology* (10): 7–24.
- McCall, A. C. y R. Karban. 2006. Induced defense in *Nicotiana attenuata* (Solanaceae) fruit and flowers. *Oecologia*. (46): 566–571
- Marquis, R. J. 1991. Herbivore fauna of *Piper* (Piperaceae) in Costa Rican wet forest: di-

- versity, specificity, and impact. En: Price, P. W., T. M. Lewinsohn, G. W. Fernandes y W. W. Benson (Eds.) *Plant-animal interactions: evolutionary ecology in tropical and temperate regions*. John Wiley and Sons Corporations. New Cork. pp. 179-202.
- Marquis R. J., Newell E. A., Villegas, A. C. 1997. Non-Structural Carbohydrate Accumulation and Use in an Understorey Rain-Forest Shrub and Relevance for the Impact of Leaf Herbivory. *Functional Ecology* 11 (5): 636-643
- Mata-Infante, R. y D. M. Baca-Plazaola. 2002. Presencia-ausencia de estomas en haz y envés en diferentes tipos de humedal en La Mancha, Veracruz. *Ecología de Ecosistemas Costeros Tropicales* 31 (3): 206-211.
- Ming, L. Y., J. Wen L., X. Ping, L. Peng, H. Ding Z., L. Sternberg y L. da Silveira. 2007. Tannins and nitrogen dynamics in mangrove leaves at different age and decay stages (Jiulong River Estuary, China). *Hydrobiologia* 58 (3): 285-295.
- Mothershead, K. y R. J. Marquis. 2000. Fitness impacts of herbivory through indirect effects on plant-pollinator interactions in *Oenothera macrocarpa*. *Ecology* (81):30-40
- Ossipova, V., E. Haukioja, E. Ossipova, S. Hanhimaeki y K. Pihlajab 2001. Phenolic and phenolic-related factors as determinants of suitability of mountain birch leaves to an herbivorous insect. *Biochemical Systematics and Ecology* (29): 223-240
- Parra-Tabla, V., V. Rico-Gray y M. Carbajal. 2004. Effect of defoliation on leaf growth, sexual expression and reproductive success of *Cnidioscolus aconitifolius* (Euphorbiaceae). *Plant Ecology* (173): 153-160.
- Pinter, L. y L. Kalman. 1979. Effects of defoliation on lodging and yield of maize hybrids. *Exp. Agric.* (15): 241-243.
- Reyes-De La Cruz, A. y G. López-Ocaña 2002. Preliminar Assessment of Flooding Effects and Herbivory On Mangrove Seedlings. *Universidad y Ciencia* 18 (36): 135-139.
- Robertson, A. I. y N. C. Duke 1987. Insect herbivory on mangrove leaves in north Queensland. *Australian Journal of Ecology* (12): 1-7.
- Robertson, A. I. y D. M. Alongi 1992. *Tropical Mangrove Ecosystems*. American Geophysical Union. Washington, DC. USA. pp. 350.
- Rossi, A. M., P. Stiling, D. C. Moon, M. V. Cattel y B. G. Drake 2004. Induced defensive response of myrtle oak to foliar insect herbivory in ambient and elevated CO₂. *Journal of Chemical Ecology*. 30 (6): 1143-1152
- Scalber, A. 1991. *Antimicrobial Properties Of Tannins*. Geophysical Union Phytochemistry 30 (12): 3875-3883. Washington, D. C., USA.
- SPSS Science Marketing Department. 1999. *Sigma Scan Users Guide*. Science. Chicago.
- Strauss, S. Y., J. K. Conner y K. P. Lehtilä. 2001. Effects of foliar herbivory by insects on the fitness of *Raphanus raphanistrum*: damage can increase male fitness. *American Naturalist* (158): 496-504.
- Tong, Y. F., Y. Lee S. y B. Morton. 2006. The herbivore assemblage, herbivory and leaf chemistry of the mangrove *Kandelia obovata* in two contrasting forests in Hong Kong. *Wetlands Ecology and Management* (14): 39-52.
- Waterman, P. G. y S. Mole. 1994. *Analysis of phenolic plant metabolites*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, U.K.
- Watterson, J. J. y L. G. Butler. 1983. Occurrence of an unusual leucoanthocyanidin and absence of proanthocyanidins in sorghum leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (31): 41-45.