

242926



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS



BIBLIOTECA INSTITUTO DE ECOLOGIA UNAM

Ecología del Mutualismo Defensivo de Cecropia obtusifolia Bertol. (Moraceae) por Hormigas del Género Azteca en las Selva de Los Tuxtlas.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A:

**RICARDO ALFONSO FRÍAS LÓPEZ**

Director de Tesis: Dr. Rodolfo Dirzo Minjarez



MEXICO, D. F.

1996



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

PCE-403

Para el Centro de  
Ecología, UNAM.

Diego Frías.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

M. en C. Virginia Abrín Batule  
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la  
Facultad de Ciencias  
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

Ecología del Mutualismo Defensivo de Cecropia obtusifolia Bertol.  
(Moraceae) por Hormigas del Género Azteca en la Selva de Los Tuxtlas.

realizado por Ricardo Alfonso Frías López

con número de cuenta 8215148-9 , pasante de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis  
Propietario

Dr. Rodolfo Dirzo Minjares

Propietario

Dr. Juan Servando Núñez Farfán

Propietario

Dr. Francisco Javier Espinosa García

Suplente

Dr. Luis Enrique Eguiarte Fruns

Suplente

Dra. Betty Benrey Boguslavsky  
FACULTAD DE CIENCIAS

Comité Departamental de Biología  
  
COORDINACIÓN GENERAL  
DE BIOLOGÍA

## Agradecimientos

Esta tesis tuvo el privilegio de ser dirigida por el Dr. Rodolfo Dirzo, quien en todo momento (siempre que era posible) estuvo dispuesto a discutir acerca del trabajo. Ahora, en situaciones diferentes, esta actitud, afortunadamente para mí, no ha cambiado. Mil gracias por todo esto a Rodolfo.

Los Drs. Juan Nuñez, Francisco Espinosa, Luis Eguiarte y Betty Benrey amablemente aceptaron revisar el trabajo. Sus recomendaciones y observaciones me fueron de mucha utilidad, además de que todos, en alguna medida, estuvieron involucrados en el desarrollo de la tesis.

El Dr. Cesar Domínguez, fue otra de las personas que más de cerca siguieron el desarrollo de este estudio. Siempre encontró tiempo para ayudarme en todos los aspectos. Desde conceptos básicos y especialmente en la Estadística. Por todo esto, mil gracias a Cesar.

Mi amigo y maestro, Santiago Sinaca fue una pieza clave (para variar), en las primeras etapas de la tesis. Las discusiones con él sobre historia natural de los trópicos han sido invaluable en mi formación. Gracias compadre.

La gente que colaboró conmigo en el de campo lo hizo siempre de manera muy desinteresada. Ojalá no olvide a nadie: Rodolfo Dirzo, Cecilia Sánchez, Praxedis Sinaca, Lucio Sinaca, Martha Delia Díaz, Lucía Aranda, José García, Fernando Rosas, Horacio Paz.

En el laboratorio el trabajo también fue intenso. Debo reconocerles toda su ayuda a Alvaro Miranda, María Elena Sánchez, Cecilia Sánchez, Roguer Guevara, Martín Quijano, Nelida Barajas, Roberto Cabrales y Raúl Alcalá.

Siempre hubo personas dispuestas a discutir conmigo sobre el estudio. Principalmente mis compañeros de laboratorio, Reina, Raúl (los tres), Martín, Roberto, Cristina, Nelida, Eduardo, Irma, Nestor y todos los del laboratorio de Ecología de Poblaciones y Comunidades Tropicales (Miguelitos) que hicieron muy amenas y fructíferas las estancias en Los Tuxtlas.

Las siguientes personas accedieron a discutir conmigo este trabajo: Carol Horowitz, Phillis D. Coley, Gino Schupp, Miguel Franco, Carlos Vázquez, Javier Simonetti, Guillermo Ibarra y Miguel Martínez. Muchísimas gracias a todos ellos.

Cecilia estuvo presente en todas las etapas de la tesis (incluyendo mi vida). Me faltaría papel si quisiera describir todo eso. Simplemente gracias, Ceci.

Quiero agradecer a todo el personal de la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, quienes siempre hicieron todo lo que estuvo en su mano para facilitarme el trabajo.

Mi madre y mis hermanos siempre me apoyaron (aunque no entendían que es lo que estaba haciendo) durante el curso de la carrera y la tesis. Muchas gracias a ellos.

El presente estudio se realizó gracias al apoyo del presupuesto operativo del Centro de Ecología de la UNAM asignado al Dr. Rodolfo Dirzo, y a la beca de la Sigma Xi, The Scientific Research Society, Incorporated. Asignación -9206 - Appl # 16568, otorgada a Ricardo Frías.

# Contenido

## Capítulo I

<b>Introducción General y Antecedentes</b>	1
Mirmecofilia: La protección de plantas por hormigas	4
El efecto de los Herbívoros	8
Defensas de las Plantas	10
Costos de la Defensa	13
Adaptaciones de los Herbívoros para consumir plantas	15
Coevolución	18
Los mutualismos defensa recompensa	20
La asociación Planta - Hormiga	21

## Capítulo II

<b>El Sistema de Estudio</b>	26
<i>Cecropia obtusifolia</i>	27
Azteca spp	28
La interacción	29
Sitio de Estudio	30
Objetivos	32

## Capítulo III

<b>Evaluación Experimental de la Defensa por Hormigas</b>	34
Introducción	35
Métodos	35
Resultados	46
Discusión	63

<b>Capítulo IV</b>	
<b>La Defensa en Plántulas</b>	69
Introducción	70
Métodos	72
Resultados	77
Discusión	84
<b>Capítulo V</b>	
<b>Producción de Cuerpos Mülllerianos</b>	91
Introducción	92
Métodos	94
Resultados	96
Discusión	101
Literatura Citada	109

# **CAPITULO I**

## **INTRODUCCIÓN GENERAL Y ANTECEDENTES**

Los organismos viven o mueren, y dejan más o menos descendientes en un escenario determinado por el ambiente físico en que viven. Sin embargo, además del ambiente físico, los seres vivos no se encuentran aislados en la naturaleza. Por el contrario, interactúan constante y continuamente entre ellos determinando el ambiente biótico, el cual también moldea las probabilidades de vivir o morir, y dejar descendencia. El tamaño y la dinámica de una población está en gran medida regulada por interacciones bióticas antagónicas como la competencia, el parasitismo y la depredación, y mutualistas como la dispersión, polinización y la defensa mirmecófila. Además de la importancia del ambiente biótico a nivel poblacional, la estructura de las comunidades podría tener su origen principal en las interacciones como la competencia y la depredación, que se llevan a cabo entre las diferentes poblaciones que las componen (véase Paine 1966, Connell 1971). Por ejemplo, algunas investigaciones recientes señalan que la estructura y composición florística del bosque tropical húmedo puede estar influenciada profundamente por la fauna de herbívoros que lo habitan (Dirzo y Miranda 1991, Janzen 1986, Leigh y Putz 1992).

Las interacciones pueden ocurrir entre individuos de la misma población (interacciones intraespecíficas) o entre poblaciones de distintas especies (interacciones interespecíficas). En cualquiera de estos casos, una de las razones que hace de las interacciones eventos de enorme interés ecológico y sobre todo evolutivo, es su capacidad de alterar en alguna medida la adecuación individual (sobrevivencia y éxito reproductivo) de los organismos participantes.

El impacto de los interactuantes puede ser positivo (+/+), negativo (+/-), nulo (0) o de tipo comensal (+/0). La interacción en la que ambos participantes se ven beneficiados se conoce como mutualismo, y es del tipo (+/+).

La polinización y la dispersión de semillas y frutos son ejemplos de mutualismos entre plantas y animales ampliamente estudiados, los cuales se "pagan" con beneficios, que, de manera general son de tres tipos:

- i) Beneficios tróficos o alimenticios para el animal (néctar, polen, arilo o elaiosomas de algunas semillas).
  
- ii) Beneficios derivados de la transportación de gametos o propágulos de la planta (polen llevado a otras plantas, dispersión de semillas a sitios donde es mayor la probabilidad de establecerse y de llegar a edad reproductiva).
  
- iii) Protección biótica contra herbívoros o depredadores. La importancia de esta moneda mutualista está resaltada por el impacto, en general negativo, que los herbívoros provocan sobre algunos componentes del desempeño de las plantas. La protección resulta en beneficios que favorecen el establecimiento de un tipo de mutualismo defensivo en el que participan fundamentalmente hormigas (pero véase Dominguez et al. 1989) y plantas y que está ampliamente distribuido en los sistemas naturales: la mirmecofilia, la cual ha sido, comparativamente con la polinización y la dispersión, objeto de pocos estudios.

## MIRMECOFILIA: LA PROTECCIÓN DE PLANTAS POR HORMIGAS DEFENSORAS

La protección de plantas por hormigas defensoras es un tipo de mutualismo planta-animal, en el que las plantas suministran a las hormigas alimento en forma de nectarios extraflorales (Bentley 1977) o de diversos cuerpos alimenticios, los cuales proveen algún nutriente (Tabla 1). La planta también puede otorgar habitación, o sitios de refugio, mediante la formación o la modificación de diversas estructuras vegetales, que reciben el nombre genérico de domatia o domacio (Font Quer 1973), donde las hormigas establecen su nido. Como se ilustra en la Tabla 1 estas modificaciones tanto de plantas como hormigas se dan en un ámbito amplio de grupos taxonómicos.

En un esquema ideal, se concibe que a cambio del alimento y domatia, las hormigas protegen a la planta contra el ataque de otros insectos fitófagos, la nutren con sus deyecciones ricas en nitrógeno, la limpian de lianas, epífitas o plantas competidoras, pueden en ocasiones dispersar sus semillas o pueden hacer una combinación de varias de éstas actividades.

El papel de las hormigas en este tipo de mutualismo se ha analizado cuantitativamente en varios trabajos (Tabla 2), detectándose ventajas en algún atributo de la adecuación de la planta asociado a la presencia de hormigas.

Daniel H. Janzen ha sido el iniciador de una serie de estudios modernos dirigidos a evaluar la ecología y evolución de la interacción entre hormigas y plantas. Su primer trabajo (Janzen 1966), referente a la defensa en plantas de *Acacia* por

Tabla 1. Modificaciones vegetativas y cuerpos alimenticios especializados utilizados por hormigas en cinco géneros de plantas.

	<i>Acacia</i> spp Leguminosae	<i>Cecropia</i> spp Moraceae	<i>Macaranga</i> sp Euphorbiaceae	<i>Ochroma</i> sp Bombacaceae	<i>Piper</i> sp Piperaceae
Hormiga principal asociada	<i>Pseudomirmex</i>	<i>Azteca</i>	<i>Crematogaster</i>	<i>Solenopsis</i> , <i>Azteca</i>	<i>Pheidole</i>
Tipo de cuerpo alimenticio	Beltiano, en la punta de las pinulas y raquis	Mulleriano, producido en los trichilias	Beccariano, sobre las estípulas o las hojas jóvenes	Perlado, sobre hojas y tallos en plántulas	En los márgenes de los peciolo
Nutrientes principales	Proteínas, lípidos	Glicógeno, proteínas	Lípidos, almidón, proteínas	Lípidos, y tal vez almidón y proteínas	Lípidos, proteínas
Anatomía	Multicelular, tejido diferenciado	Multicelular	Multicelular	Multicelular	Células simples
Presencia de nectarios extraflorales	Presentes	Ausentes	Presentes	Presentes	Presentes
Presencia de domatia	Presente	Presente	Presente	Ausente	Dudoso
La planta provee una dieta completa para las hormigas?	Si	Probablemente, cuando están presentes coccidos	Probablemente, cuando están presentes coccidos	No	No
Las hormigas protegen a la planta	Si	Probablemente	Probablemente	Probablemente	Probablemente

Tomado de Beatie (1985)

Tabla 2. Casos documentados del efecto (protector, defensivo) de la presencia de hormigas en relación a varios tipos de ataque por fitófagos en plantas que presentan nectarios extraflorales. Los efectos se evaluaron al comparar la presencia o ausencia de las hormigas en las plantas investigadas.

Especie de planta	Tipo de ataque a la planta	Planta sin hormigas	Planta con hormigas	Fuente
<i>Ipomoea leptophylla</i>	Dstrucción de estigmas por chapulines	74% (n=138)	48% (n=380)	Keeler (1980)
<i>Ipomoea leptophylla</i>	Dstrucción de semillas por brúquidos	34% (n=149)	24% (n=3509)	Keeler (1980)
<i>Ipomoea leptophylla</i>	Ataque a semillas: media de semillas por planta	45.2 (n=271)	403.2 (n=2419)	Keeler (1980)
<i>Costus woodsonii</i>	Asentamientos de moscas parásitas sobre flores	872	128	Schemske (1980)
<i>Costus woodsonii</i>	Ataque a las flores y semillas: Promedio de semillas por inflorescencia	183	612	Schemske (1980)
<i>Helianthella quinquenervis</i>	Promedio de insectos depredadores por medición	7.6	2.9	Inouye & Taylor (1979)
<i>Helianthella quinquenervis</i>	Depredación de semillas (%)	43.5	27.6	Inouye & Taylor (1979)
<i>Catalpa speciosa</i>	Ataque a las estructuras reproductoras: Número de frutos por rama	0.85 ± 0.81	1.11 ± 0.81*	Stephenson (1982)

\* P=0.025. Los demás son significativamente diferentes de P=0.001. Tomado de Beatie (1985)

hormigas *Pseudomirmex* y géneros cercanos, fue el punto de partida en la exploración de este tipo de interacciones. A partir de entonces, se ha manifestado en diversos trabajos la inquietud por estudiar y conocer más acerca de esta interacción (Janzen 1969, Janzen 1973, Bentley 1976, Pickett y Clark 1979, Inouye y Taylor 1979, Schemske 1980, Blom y Clark 1980, Schemske 1982, Horvitz y Schemske 1984, Rico-Gray y Thien 1989, Koptur 1984, Davidson 1988, Mackay 1991, Vasconcelos 1991).

La mirmecofilia está notablemente representada en los bosques tropicales de América, Asia y África, y parece ser tan exitosa que ha evolucionado en grupos de plantas que trascienden límites taxonómicos notables. En la selva de Los Tuxtlas, por ejemplo, se encontró que 9 de 289 especies de plantas analizadas (3.1%) de diferentes familias estaban asociadas a 26 especies de hormigas (Ibarra y Dirzo 1990).

Con base en estos antecedentes se ha defendido la noción de que las hormigas pueden formar parte de un mecanismo de defensa en plantas, como una alternativa equiparable a la defensa química o mecánica. Esta defensa podría ser importante en sistemas tropicales donde la herbivoría (sobre todo por insectos) es una de las mayores presiones de selección (Dobzhansky 1951, Coley 1987, Dirzo 1987) por su papel determinante en el desarrollo, supervivencia (Janzen 1979) y reproducción (p. ej. Schemske 1980) de las plantas.

Se ha planteado además (Janzen 1969) que las hormigas pueden funcionar como agentes "alelopáticos" de plantas mirmecófilas neotropicales como es el caso de *Cecropia* spp. y *Acacia* spp. En estos casos la hormiga elimina o reduce la presencia de plantas vecinas o epífitas que compiten por los recursos de la planta mirmecófila y

se ha sugerido que las hormigas podrían ser más eficientes en tanto "agentes alelopáticos" por su versatilidad (Janzen 1969), en comparación con las defensas químicas o mecánicas.

Desde una perspectiva evolutiva, la mirmecofilia puede concebirse como un resultado de la adaptación, cuya fuente de origen es la presión de selección ejercida por el ataque de los herbívoros. Enseguida presento, como marco de referencia, una revisión breve del conocimiento disponible sobre la interfase herbívoro-planta con un énfasis principal en los herbívoros como presión de selección vegetal (Para algunas referencias exhaustivas véase, por ejemplo, Rosenthal & Janzen 1979, Crawley 1983, Strong, Lawton y Southwood 1984, Howe & Westley 1988, Fritz y Simms 1992).

## **EFEECTO DE LOS HERBÍVOROS**

Las plantas aparecieron en el ambiente terrestre hace unos 450 millones de años aproximadamente. Este evento pudo haber potencializado la colonización de la tierra por los animales, que hasta ese momento estaban presentes sólo en ambientes acuáticos. Los herbívoros consumen material vegetal, y probablemente la colonización del nuevo ámbito terrestre fue mediada por la precedente aparición de las plantas. En particular, a partir del Cretácico Superior, hace unos 110 millones de años, cuando las angiospermas y los insectos claramente entraron en un contacto trófico de gran intensidad (vease Dirzo 1986), es posible que se generó la gran radiación adaptativa de ambos grupos. Muy probablemente el ataque de los insectos fitófagos ha sido una

fuerza selectiva y evolutiva de gran importancia en esta radiación adaptativa (Strong *et al* 1984).

La herbivoría ha sido una interacción ampliamente estudiada en varios tipos de trabajos, y desde diversos enfoques (Howe y Westley 1988, Dirzo 1984, Dirzo y Chapin III 1987).

Hay dos puntos de vista claramente opuestos en lo que se refiere al impacto de los herbívoros en las plantas. Uno de ellos considera que el efecto es negativo sobre el desarrollo y adecuación de las plantas (véase Belsky 1987), mientras que la otra posición argumenta que las plantas tienen la capacidad de compensar el daño provocado por herbívoros, incluso siendo esta capacidad compensatoria más importante mientras menor sea el daño infringido (McNaughton 1986).

Aunque la visión predominante ha sido que la herbivoría afecta de manera negativa la adecuación de las plantas (véase Nuñez-Farfán 1991), existen trabajos que aportan evidencia en la dirección de un efecto positivo de los herbívoros sobre la adecuación de las plantas atacadas (Paige y Whitham 1987, Cargill y Jefferies 1984, Whitham *et al.* 1991).

El impacto de los herbívoros se puede estudiar desde el nivel comunitario, el poblacional y el individual, siendo de particular interés la variación de los niveles de daño dentro de una misma especie, así como el efecto que esta variación provoca sobre algunos componentes de adecuación de las plantas atacadas (Coley 1983a).

Dentro de una misma población se observa que algunos individuos son más resistentes a los herbívoros que otros (Dirzo 1982, Nuñez-Farfán y Dirzo 1994,

Marquis 1987). Se puede entonces preguntar: ¿Cuales son las consecuencias que tendría a nivel poblacional la herbivoría diferencial? ¿Se debe a propiedades del medio en el que viven las plantas (por ejemplo, la distribución espacial) o esta herbivoría está asociada al genotipo?

La sola variación dentro de una población no es suficiente para que la selección natural fomente la resistencia a herbívoros, sino que es necesario constatar la pregunta de si dicha resistencia tiene una base genética (veáse Marquis 1987, Nuñez-Farfán 1991).

Posiblemente donde se refleja más dramáticamente el impacto de los herbívoros es en atributos relacionados con la fecundidad de la planta debido a la defoliación, el consumo de partes subterráneas (raíces) o el consumo de fluidos, y que tienen efectos directos sobre la producción de flores, número y tamaño de la semilla, y sobre la fenología reproductiva (Crawley 1983).

## **DEFENSAS DE LAS PLANTAS**

Las estrategias con las que las plantas se defienden son muy variadas, llegando algunas especies a tener una morfología foliar que semeja la acción de herbívoros, tal vez como una forma de hacerse menos atractivas a los herbívoros a los cuales, se ha argumentado, no les conviene visitar lugares donde puede existir competencia o donde se han desencadenado mecanismos de defensa inducida que hacen a la planta poco aceptable (Niemellä y Tuomi 1987). Las defensas pueden agruparse para su

descripción en la siguiente forma: 1) Protección mecánica; 2) Protección por reducción de la digestibilidad; 3) Protección por toxinas.

### Protección Mecánica

Es conferida por estructuras físicas externas en las hojas o el tronco. Las espinas, la fibrosidad (cf. dureza) los gránulos de sílice, y los tricomas son ejemplo de este tipo de estructuras. El ámbito de herbívoros contra los que profieren protección incluye desde pulgones hasta grandes mamíferos. Aunque la función defensiva de estas estructuras se ha documentado repetidamente a nivel próximo (Norris y Kogan 1980), la interpretación última (evolutiva) no siempre ha sido establecida.

### Reducción de la Capacidad Digestiva

Esta protección se genera principalmente por la formación de polímeros de cristales inorgánicos que hacen que la planta sea indigerible para el animal (Howe y Westley 1988). La celulosa es un polisacárido que comprende entre el 80 y el 90% del peso seco de las plantas. Otros polímeros de este tipo son la pectina, la lignina y los taninos. Estas defensas de tipo estructural, por lo general son difíciles de interpretar desde una perspectiva última (adaptativa/evolutiva).

## Las Toxinas

La gran mayoría de las plantas conocidas tienen compuestos químicos que son real o potencialmente tóxicos para los herbívoros. Estas toxinas defensivas son llamadas compuestos secundarios, o metabolitos secundarios (MS) porque no participan en el metabolismo primario de las plantas, y se han descrito miles de ellos (véase Brower 1969, Dirzo 1985). La forma de acción sobre el herbívoro, así como su estructura química, agrupa a estas toxinas en varias categorías. Los alcaloides, los terpenos y los glucósidos cardiacos y cianogénicos son ejemplos representativos de estos grupos de compuestos o metabolitos secundarios. La prevalencia de estos metabolitos en el reino vegetal, su diversidad y versatilidad de acción, su producción activa y determinismo genético (documentado en varias especies) los han constituido en elementos centrales de la interpretación ecológico-evolutiva de la interacción planta-herbívoro (véase, sin embargo, Dirzo 1985). Una revisión completa y analítica de la defensa química o por metabolitos secundarios se presenta en Rosenthal y Janzen (1979). Además de todo lo anterior, no debe soslayarse el hecho de que las características de la defensa son en la mayoría de los casos una respuesta al ataque de los herbívoros, debiendo buscar que estos dos componentes queden vinculados y complementados en los estudios sobre el tema (Coley 1983b).

### **La defensa Inducida y Constitutiva**

Las defensas químicas pueden estar presentes permanentemente en la plantas o sólo aparecer si son estimuladas por la acción de los herbívoros. Las defensas

constitutivas son aquellas que otorgan protección continua a la planta; tal es el caso de muchas estructuras externas (defensas mecánicas), algunos compuestos que reducen la capacidad digestiva del herbívoro, o metabolitos secundarios de producción continua en la planta. Los componentes de la defensa constitutiva siempre están disponibles para la planta, sea o no atacada por herbívoros.

La defensa inducida aparece como una respuesta de la planta ante el daño a sus tejidos. Algunos compuestos secundarios sólo son detectables en plantas que han sufrido previamente ataque por herbívoros. Los inhibidores de proteinasas son un grupo típico de compuestos secundarios que se producen como una defensa inducida (Green y Ryan 1972, Ryan, 1979).

En una planta pueden presentarse varios tipos de defensa, e incluso la estrategia de defensa puede cambiar dependiendo de la etapa de desarrollo de la planta. Por ejemplo, *Solanum rostratum*, que como muchos miembros de la familia Solanaceae es rica en compuestos secundarios, presenta además abundantes espinas en tallos, hojas y frutos.

## **COSTOS DE LA DEFENSA**

La defensa es una actividad que utiliza parte de la energía disponible en la planta. Esa energía es finita, de tal forma que usarla en la defensa disminuye la capacidad de realizar otras actividades metabólicas importantes, como el crecimiento o la reproducción.

Con base en los costos que involucra la defensa, Rhoades (1979) sintetizó los estudios realizados sobre interacciones planta-herbívoro en su teoría general de la defensa en plantas, también conocida como la Teoría General de la Defensa Óptima en Plantas. La teoría propone dos hipótesis principales:

- 1) Los organismos desarrollan y distribuyen sus defensas procurando maximizar su adecuación individual.
- 2) Ya que en términos de adecuación las defensas pueden ser costosas para los organismos, en ausencia de enemigos los organismos menos defendidos tendrán una mayor adecuación que aquellos que han invertido una buena parte de su energía disponible en la elaboración de defensas.

La segunda hipótesis ha sido probada en varias ocasiones comparando dentro de una misma población de plantas dos morfos distintos: con protección y sin protección (Grime, 1972; Dirzo y Harper, 1982).

Un aspecto determinante de esta teoría, se refiere a cómo el herbívoro percibe a la planta. Feeny (1976) se refiere a la **apariencia** como la susceptibilidad de una planta para ser detectada por cualquier medio al alcance del herbívoro. Para este autor, la apariencia es un concepto subjetivo, relacionado con los mecanismos sensoriales del herbívoro. Rhoades y Cates (1976) consideran la apariencia como la predictibilidad o disponibilidad de un recurso, en este caso una planta. Atribuyen la probabilidad de encuentro con un herbívoro a los atributos de historia natural de la planta y al ambiente.

Según estas ideas, la planta escapa de sus consumidores por la modificación de atributos como la forma de crecimiento, la temporalidad, la etapa del ciclo de vida en la que son más susceptibles a los herbívoros, etc., estrategias todas que la hacen más difícil de "pronosticar". Una teoría cuasi alternativa, generada a partir de las propuestas de Rhoades y Coates es conocida como Teoría de la Disponibilidad de Recursos (Coley *et al* 1985). De acuerdo a esta, para las plantas que crecen en condiciones de estrés de nutrientes o escases de recursos (como las llamadas tolerantes), la pérdida de tejido o material vegetal a causa de los herbívoros representa la pérdida de una mayor inversión comparativamente con las plantas que crecen en condiciones claramente contrastantes de disponibilidad de recursos (plantas pioneras). En base a esto, la teoría predice que aquellas plantas en las que la herbivoría resulte mas costosa se observará una mayor inversión en defensa (vgr. metabolitos secundarios) que en aquellas en las que los recursos puedan de alguna forma compensar la pérdida de las estructuras.

## **ADAPTACIONES DE LOS HERBÍVOROS PARA CONSUMIR PLANTAS**

Los herbívoros tienen la capacidad de detectar a las plantas que pueden ser usadas como alimento. Esto es, pueden discriminar entre varios tipos de alimento y con base en alguna característica "decidir" si es aceptable o no. En este sentido se explica el que algunos herbívoros consuman plantas que otros rechazan, existiendo animales que pueden alimentarse de un notable número de especies vegetales. En el

otro extremo, hay herbívoros que sólo se alimentan de una o de muy pocas especies (agrupadas por lo común en géneros o familias particulares). Con base en esto, los herbívoros pueden ser clasificados en generalistas y especialistas.

Los generalistas son organismos que pueden consumir una amplia variedad de "presas", mientras que los especialistas consumen dentro de un estrecho margen de especies. El estudio de la conducta alimentaria de estos dos grupos de herbívoros está enfocado a responder una cuestión importante y fundamental en la ecología de las interacciones: ¿Porqué diferentes herbívoros comen diferentes plantas? Es claro que las defensas de las plantas imponen una barrera natural que impide o dificulta que los herbívoros las consuman. De esta manera, los animales se ven presionados en el sentido de que aquellos organismos que logren más exitosamente superar las defensas, serán aquellos que mayores valores de adecuación obtengan, y que por ende serán favorecidos por la selección natural. Así, la selección natural ha generado una gama de adaptaciones dirigidas a contrarrestar o "brincar" las defensas vegetales.

Las adaptaciones de los herbívoros que contrarrestan el efecto de la defensa de las plantas, son principalmente de tipo mecánico, bioquímico y conductual.

### Adaptaciones Mecánicas

Los herbívoros fragmentan o rompen el tejido vegetal para tener acceso a los contenidos intracelulares de las plantas. Las estructuras usadas en este tipo de función van desde los dientes, que se presentan en los mamíferos y las iguanas, el

pico y buche en aves, y un complejo de estructuras de la boca en los insectos (labro, mandíbula, maxila y labium).

Estas herramientas sirven para la fragmentación del material a un primer nivel. Algunos herbívoros poseen, además, un sistema que degrada más finamente los componentes vegetales facilitando su digestión y absorción. Esta es realizada por simbioses microbianas que se alojan en el tracto digestivo de algunos herbívoros (como los rumiantes), los cuales se encargan de degradar la celulosa a azúcares. También encontramos simbioses microbianas (bacterias y protozoarios) en insectos, anfibios (ranas) y reptiles (iguanas). En algunos casos, estos simbioses pueden desnaturalizar compuestos secundarios de la planta evitando la intoxicación del animal (Howe y Westley, 1988).

### Adaptaciones Bioquímicas

Además de la microbiota, los herbívoros tienen sistemas enzimáticos que actúan sobre una variedad de metabolitos secundarios tóxicos. Las oxidasas de función múltiple (OFM) son probablemente las adaptaciones mejor estudiadas con esta característica (Brattsten, 1979). Otras adaptaciones bioquímicas similares en función son las reductasas, enzimas hidrolíticas y enzimas transferidoras de grupos (Brattsten, 1979). Las OFM son un grupo de adaptaciones verdaderamente revolucionarias, gracias a las cuales, en gran medida, ocurre el consumo vegetal en la forma, patrones y esquemas que hoy reconocemos en el mundo natural y agronómico.

Hay herbívoros que incluso usan los metabolitos secundarios de las plantas que se alimentan para defenderse. Esto evidencia una maquinaria bioquímica compleja encargada de extraer del alimento los compuestos tóxicos y movilizarlos a otros sitios del cuerpo. Un ejemplo de esto ocurre en la mariposa monarca, *Danaus plexipus*, que utiliza los glucósidos cardiacos presentes en las Asclepiadaceae de las que se alimenta en su etapa larvaria. Los depredadores inexpertos que prueban una monarca experimentan tales malestares que rápidamente aprenden a evadir como alimento a estas mariposas generando un sistema mimético extremadamente complejo (Brower 1969). Son numerosos los casos conocidos de este tipo de "secuestro" bioquímico vegetal que es usado como defensa por los herbívoros.

En resumen, las plantas responden al ataque de los herbívoros generando algún tipo de defensa. Los herbívoros se ven presionados y, en algunos casos, superan la defensa vegetal mediante una adaptación (mecánica, bioquímica, etc.). La dinámica evolutiva así generada, en la que se involucran los dos organismos, planta y herbívoro genera cambios evolutivos en ambos participantes. En base a estas ideas se originó la teoría de coevolución, la cual ha sido continuamente debatida entre la comunidad de biólogos evolucionistas.

## **COEVOLUCION**

La dinámica planteada por la teoría de coevolución semeja una carrera armamentista en la que las especies participantes luchan por "adelantarse" una a la

otra y viceversa, por medio de adaptaciones que disminuyan las probabilidades de ser comida en el caso de la planta, ó con adaptaciones que faciliten al animal comerse a una planta por algún medio defendida.

Aunque existieron trabajos como el de Dethier (1954) y Fraenkel (1959) en los que se llama la atención sobre cómo diferentes especies de insectos reaccionaban diferencialmente a compuestos químicos tóxicos de plantas, fueron Ehrlich y Raven (1964), quienes propusieron la teoría de la coevolución como una explicación tipo carrera armamentista, con base en un estudio sobre los patrones de consumo de plantas por lepidópteros. Una de las definiciones de coevolución más aceptada es la propuesta por Janzen (1980): "La coevolución puede definirse como un cambio evolutivo en una de las características de los individuos de una población en respuesta de una de las características de los individuos de una segunda población, seguida por una respuesta evolutiva de la segunda población a un cambio en la primera".

La coevolución ha sido ampliamente discutida en gran variedad de publicaciones. Actualmente, el término coevolución se usa con cautela, ya que se han propuesto serias restricciones que dificultan su aceptación entre los biólogos evolucionistas (Janzen 1980, Dirzo 1983, Oyama 1986). No obstante, en la época en que fue propuesta sugirió una elegante y atractiva explicación a las adaptaciones "finas" encontradas (o sugeridas) frecuentemente en las plantas y sus herbívoros (Thompson 1988).

De esta forma, la teoría de la coevolución ha sido un catalizador de numerosas investigaciones sobre esta interfase.

## LOS MUTUALISMOS DEFENSA-RECOMPENSA

Un tema de gran atractivo en la ecología moderna es el comprender los medios mediante los cuales plantas y animales se explotan para su beneficio mutuo (Howe y Westley 1988). La interacción que tiene como resultado el beneficio de ambos participantes se conoce con el nombre de mutualismo. Otros sinónimos usados, no siempre correctamente son simbiosis, cooperación, protooperación, ayuda mutua, facilitación, altruismo recíproco y *entraide* (Boucher *et al.* 1982).

Las interacciones mutualistas no pasaron de ser, durante mucho tiempo, "curiosidades" cautivadoras para los naturalistas, e incluso para algunos ideólogos políticos que buscaban analogarlos con las sociedades humanas (Boucher *et al.* 1982). Es hasta la década de los sesenta que los ecólogos empiezan a considerar los mutualismos como interacciones ecológicas importantes e interesantes. Anterior a este tiempo los mutualismos, sobre todo los de tipo defensa - recompensa, simplemente pasaron por una etapa descriptiva.

El principal problema en la descripción de una interacción como mutualista, es poder asegurar que existe incremento en algún componente de la adecuación de una de las especies interactuante como producto de la presencia de la otra especie. Una revisión (no extensiva) de los trabajos en esta área muestra una tendencia a considerar sólo uno de los interactuantes (Schupp 1986). Lo que se podría concluir de estos trabajos es la necesidad de estudios experimentales que analicen la interacción

considerando a ambos participantes. En este sentido, las interacciones planta-hormiga (mirmecofilia) podrían ser un buen modelo para el estudio experimental de dichos mutualismos.

El mutualismo defensivo que se establece entre plantas y hormigas puede ser estudiado con dos enfoques relacionados:

- i) Como un mecanismo de defensa alternativo para plantas, ya que en varios estudios se ha probado que la presencia de hormigas en una planta tiene un efecto directo sobre los niveles de herbivoría (en comparación con las plantas de su misma especie que carecen de hormigas supuestamente defensoras, ver Tabla 2).
- ii) Como interacción mutualista en la que ambos participantes (tanto la planta como la hormiga) se pueden ver beneficiados. Este tipo de enfoque debería incluir la evaluación del desempeño de ambos organismos involucrados.

## **LA ASOCIACIÓN PLANTA - HORMIGA**

Las angiospermas y las hormigas aparecieron en el período Cretácico (era Mesozoica), hace aproximadamente 144 millones de años. Los himenópteros (orden al que pertenecen las hormigas) surgen al inicio del triásico, hace unos 250 millones de años, aunque la primer hormiga fósil, *Sphecomyrma freyi*, fue encontrada en ámbar del Cretácico tardío (Wilson 1971). Zherichin (citado en Beattie 1985), opina que las hormigas se originaron a mediados del Cretácico, y que posteriormente fueron muy abundantes.

Se cree que las plantas invadieron el ámbito terrestre en el período Silúrico, y las primeras plantas vasculares (superiores) surgen en el Carbonífero (Futuyma 1986). Las primeras muestras fósiles que muestran daño por el consumo de animales, surgen en etapas tempranas del Devónico, aunque recientemente se ha encontrado evidencia que sugiere que esta interacción pudo originarse en un período pre-Devónico, posiblemente en los finales del Silúrico (Chaloner *et al.* 1991). Si esto fuera cierto, la herbivoría estaría presente desde que prácticamente coincidieron plantas y animales.

La larga historia evolutiva de la interacción planta-herbívoro probablemente ha influenciado algunas características en ambos participantes (Harper 1984), tales como la morfología y fisiología de las plantas (Haukioja 1991) y la morfología de los insectos en relación a las plantas (Bernays 1991).

El registro fósil no nos ayuda a inferir en qué momento probable se estableció la relación entre plantas y hormigas, pero existen argumentos para afirmar que dicha relación no involucró originalmente a las angiospermas (Beattie 1985).

Las hormigas constituyen el grupo de insectos sociales más importante, además de ser probablemente el grupo más ampliamente distribuido del planeta, ya que se les puede encontrar desde los límites de vegetación del ártico, hasta el sur de Tierra del Fuego. Se considera que las hormigas (como individuos) pueden representar en número, el 0.1% de todos los insectos. Según este cálculo (Williams 1964, citado en Wilson 1971) habría al menos  $10^{15}$  hormigas vivas en el planeta.

La especialización en la alimentación de las hormigas es extrema. En la mayoría de los grupos de hormigas hay poca variación en la elección de presas.

Mientras unas pocas se alimentan de semillas, de exudados de áfidos (pulgones), de algunas larvas de mariposas, o de hongos especialmente cultivados por ellas, la gran mayoría de los grupos son carnívoros (Wilson 1971).

El papel que pueden desempeñar las hormigas en la interacción con una planta es muy variado. La remoción de semillas por animales (en algunos casos con fines alimenticios), ha sido discutida como una acción de importancia relevante en la evolución de las plantas y de animales (Herrera 1989, Harper 1977). La dispersión de semillas por parte de hormigas es una actividad común, sobre todo en sistemas áridos y pastizales (Carroll y Janzen 1973, Hölldobler y Wilson 1990, Tevis 1958), aunque también ocurre con menos frecuencia en sitios húmedos en relaciones muy especializadas con la remoción de semillas de algunas especies de epífitas que forman los llamados jardines de hormigas (Huxley 1986, Davidson 1988). Las hormigas pueden alimentarse directamente de las semillas o de un tejido especializado, llamado, elaiosoma que se encuentra adherido a éstas o a algunos frutos (Beatie 1985). El impacto de la remoción puede ser importante como mecanismo de las plantas para incursionar en sitios con mejores recursos (Smith 1989) o con menor depredación (O'Down y Hay 1980). Sin embargo, los resultados de esta remoción pueden ser afectados por características tales como: i) la abundancia de hormigas (Mossop 1989), ii) la densidad de plantas mirmécoras (Westoby *et al.* 1991), o iii) a una afinidad de las especies vegetales establecidas, a alguna característica en particular (Rice y Westoby 1986). Otra ventaja de las plantas cuyas semillas son dispersadas por hormigas, es la posibilidad de estas de escapar a los depredadores. Por ejemplo la frecuencia con la

que algunos roedores consumen semillas de *Datura discolor* disminuye cuando aumenta la actividad de remoción por hormigas (Dennis, Down y Hay 1980).

La polinización por hormigas ha sido documentada en algunos pocos casos (Beattie 1985). No obstante, en general las hormigas no se han reconocido como polinizadores de importancia debido a que producen sustancias nocivas para el polen y que las hacen incluso negativas para esta actividad. Dichas sustancias, semejantes en función a los antibióticos les ayudan a mantener sus cuerpos (así como los nidos) limpios de hongos y bacterias. Estas sustancias, llamadas en conjunto mirmecacinas, se encuentran comúnmente sobre el cuerpo del insecto e inhiben la germinación del polen que se adhiere a la hormiga cuando ésta visita flores en busca de néctar (Hölldobler y Wilson 1990).

En contraste, una de las funciones más importantes en el campo de las interacciones planta-hormiga, es la protección o defensa. En general la defensa es otorgada por alguna especie de hormiga asociada (en algún grado) a una planta. La defensa de plantas por hormigas es un área de estudio dentro de los mutualismos, y constituye una interacción biológica en la que ambas especies que interactúan se ven beneficiadas cuando se encuentran presentes. Los beneficios que recibe la planta por parte de la hormiga tienen que ver con el control de herbívoros. En algunos otros casos la planta puede verse además beneficiada por los desechos metabólicos procedentes de las hormigas y que son de importancia nutricional para la planta. La planta por su parte puede proveer de sitios apropiados para el establecimiento y anidación de las colonias, así como de algún tipo de alimento. Estas, en general, son

las características fundamentales en las que se presentan los mutualismos defensivos entre plantas y hormigas.

Para el presente estudio, dichas características se cumplen satisfactoriamente en la interacción entre *Cecropia obtusifolia*, una planta de distribución neotropical, y *Azteca*, un género de hormigas que cumple una función presumiblemente defensiva para la planta.

## **CAPITULO II**

### **EL SISTEMA DE ESTUDIO**

## LAS ESPECIES

### **CECROPIA OBTUSIFOLIA**

*Cecropia obtusifolia* (comúnmente conocida como chancarro, guarumbo, hormiguillo) es una planta perteneciente a la familia de las Moraceae (actualmente reconocida como Cecropiaceae) y es el árbol pionero más abundante en la región de Los Tuxtlas. *Cecropia obtusifolia* se distribuye en México a lo largo de las costas del Pacífico y del Atlántico. En selvas centroamericanas se puede encontrar desde los 0 hasta los 800 m s.n.m. Se trata de un árbol dioico, mirmecófilo, que puede alcanzar una altura de máxima de 20 a 35 m con un tronco hueco monopódico, y ramas de primer orden en pisos e idénticas al tronco principal (módulos). *C. obtusifolia* crece a tasas elevadas (hasta de 2 cm de incremento diametral al año). Las plántulas recién establecidas (0.5-15 cm de altura) crecen a una tasa de 1.5 cm mensuales en promedio (Alvarez-Buylla en prensa). Las hojas son lanceoladas durante las primeras etapas del desarrollo de las plántulas y hasta que ésta alcanza aproximadamente los 80 cm de altura, a partir de la cual se empiezan a lobular. La lobulación coincide con la aparición de unas estructuras lanosas, llamadas trichilia, en la parte basal de cada peciolo. La función de éstas es semejante a la de los nectarios extraflorales de otras plantas; en los trichilia se producen unos corpúsculos de color blanco: los cuerpos Müllerianos. Los cuerpos Müllerianos son estructuras multicelulares de tamaño pequeño, en forma de huevo (0.75 por 0.25 mm), y que las hormigas colonizadoras de

la planta constantemente remueven con fines alimenticios. Una serie de análisis nutricionales realizados a los cuerpos Mülllerianos de *Cecropia peltata* (Rickson 1971), mostraron un alto porcentaje de glicógeno dentro de los plástidos celulares. En este mismo análisis, una serie de pruebas químicas indicaron que este glicógeno (fitoglicógeno), es idéntico al glicógeno animal. Esto es, la supuesta recompensa de *Cecropia* semeja al tipo de alimento que es el predominante en las hormigas (tejido animal).

La especie es una demandante de luz por excelencia y sólo coloniza claros naturales de gran tamaño, o bien se establece en sitios abiertos resultantes de la perturbación humana. La tasa de recambio foliar en esta especie es notablemente baja (Nuñez-Farfán y Dirzo 1989); el número de hojas por planta es notablemente bajo, pero el área foliar (por hoja) es considerablemente alto. Por todos estos atributos, sería esperable que el impacto de la herbivoría foliar en *C. obtusifolia* fuese alto, y que, en consecuencia, la defensa contra herbívoros fuese de gran importancia en esta especie.

### **AZTECA SPP.**

Las hormigas del género *Azteca* pertenecen a la subfamilia Dolichoderinae. El género se encuentra sólo en los neotrópicos. Se trata de un grupo de hormigas muy agresivas que anidan comúnmente en árboles. Las obreras de una colonia son polimórficas y las mayores tienen la cabeza en forma de corazón. Algunas especies

del género son muy difíciles de identificar a menos que se tengan a los individuos reproductores. *Azteca* spp. generalmente habita árboles que tienen nudos o tallos huecos o troncos donde pueden cuidar poblaciones de "chinches harinosos" (Pseudococcidae), los cuales les proporcionan azúcares, algunas vitaminas y aminoácidos. La fundación de nuevas colonias se da con el establecimiento de reinas aladas jóvenes, emergidas de colonias muy grandes ya establecidas. La frecuencia de ocurrencia de las reinas colonizadoras jóvenes de *Azteca* tiene un patrón estacional, siendo más comunes al inicio de la época de lluvias. En Costa Rica, las especies de plantas a las que se ha visto asociada *Azteca* son *Phithecellobium saman*, *Triplaris americana*, *Cocoloba caracasana*, *Terminalia lucida*, *Cordia alliodora* y varias especies de *Cecropia* (Carroll 1991).

En la Estación de Biología Los Tuxtlas las especies arbóreas asociadas a *Azteca* son: *Cecropia obtusifolia*, *Cordia alliodora* y *Cordia megalantha* (Ibarra-Manriquez y Dirzo 1990), además de *Heliocarpus appendiculatus* (R. Frías obs. pers.).

## LA INTERACCION

La interacción *Cecropia*-*Azteca* ha sido descrita por varios autores (Müller 1874 y 1876, Wheeler 1910 y 1942, Bailey 1922, Baird 1967, citados en Schupp 1986, Janzen 1973).

En esta interacción, la planta ofrece a la colonia de hormigas alimento en los llamados cuerpos Mülllerianos, los cuales están principalmente constituidos por glicógeno (Rickson 1971). Además de la recompensa alimenticia, *Cecropia* posee un tronco hueco donde la colonia de *Azteca* establece su nido. Inicialmente, la reina alada procedente de otra colonia, perfora una zona del tronco por lo general localizada inmediatamente sobre el peciolo de la hoja en posición más alta del tronco. A través de dicha perforación penetra y establece la colonia (R. Frías obs. pers.).

Las hormigas por su parte vigilan la planta. Se ha observado que existe un patrullaje más continuo sobre las hojas jóvenes de la planta (Barnwell 1967), las cuales tienen la mayor producción de cuerpos Mülllerianos (R. Frías obs. pers.), y que, probablemente contribuyen con más fotosintetatos para las plantas que las hojas más viejas (Dirzo 1984). Se ha argumentado otro servicio que las hormigas prestan a la planta, es la remoción de epífitas y lianas (Janzen 1973). Estas invasoras compiten por la luz, además de que representan un peso extra para *Cecropia* (Janzen 1973 b, Perry 1985).

## **SITIO DE ESTUDIO**

El presente estudio se llevó a cabo en la Estación de Biología Tropical Los Tuxtles (ELT), en el Estado de Veracruz, México y perteneciente al Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México. La Estación se ubica en el Sur de Veracruz, a 33 km al norte de Catemaco, 4.5 km de la costa del Golfo y a unos

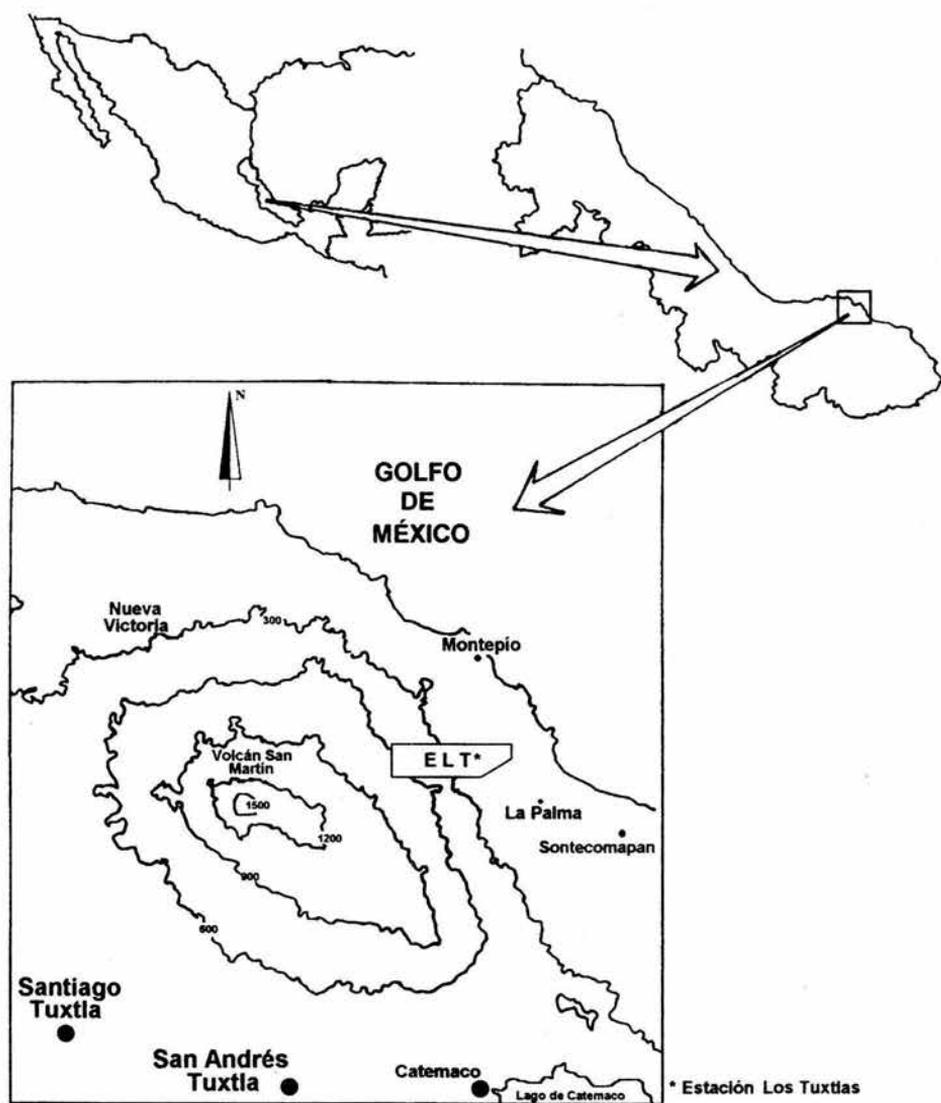


Figura 1. Ubicación de la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, sitio donde se realizó el presente estudio.

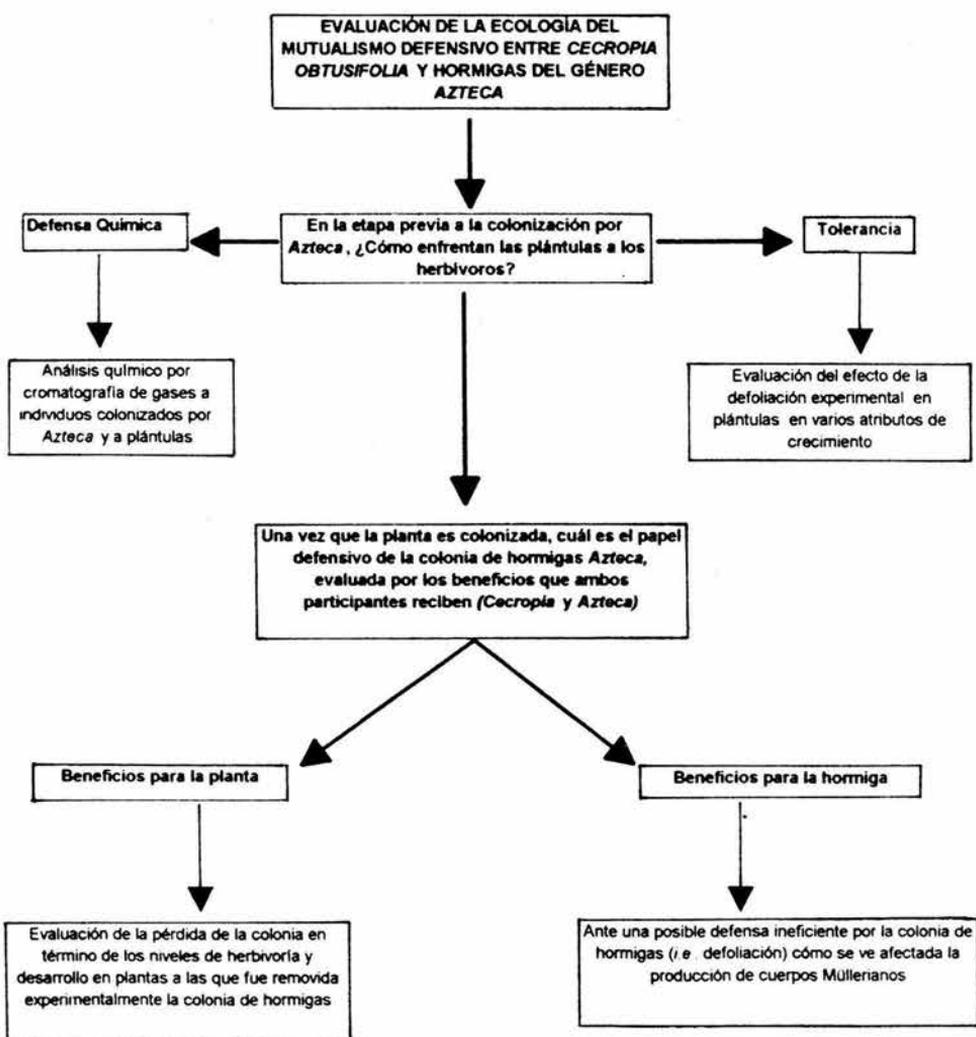
15 km al este del Volcán San Martín (Fig. 1). Las coordenadas geográficas son 95°04' y 95°09' Oeste y 18°34' y 18°36' Norte. Las altitudes dentro de los terrenos de la Estación están entre los 150 y los 700 m s.n.m. El tipo de vegetación presente en las 700 ha que comprenden la estación es selva alta perennifolia (Miranda y Hernandez-X 1963) o bosque tropical perennifolio (Rzedowski 1968). El clima es cálido-húmedo; la temperatura promedio anual es de 24.3°C, oscilando entre 5 y 7°C y con una precipitación promedio anual de 4725 mm. Para descripciones mas detalladas del sitio consultar Dirzo (1991).

## OBJETIVOS

Partiendo del supuesto de que la interacción que se establece entre *Cecropia* y *Azteca* es un mutualismo defensivo, se busca evaluar cómo es el impacto la colonia defensora sobre los niveles de daño por herbívoros, y al mismo tiempo estimar cómo esta herbivoría afecta algunos atributos de crecimiento y desempeño de plantas juveniles de *Cecropia obtusifolia*.

La interacción defensiva entre *Cecropia* y *Azteca* ocurre una vez que la planta ha alcanzado los 7-10 meses de edad, cuando la planta está en condiciones de sustentar una colonia de hormigas. Con este antecedente, se buscará evaluar cómo es el impacto de la herbivoría simulada en el desarrollo y desempeño de las plántulas, investigando además, los posibles mecanismos defensivos previos a la colonización.

Desde la perspectiva de la hormiga, se explorará el efecto de la herbivoría experimental en la producción de cuerpos alimenticios con los que se nutre la colonia (cuerpos Müllermanos), como una aproximación indirecta al funcionamiento de la interacción y del impacto, a su vez, sobre la colonia de hormigas por una posible reducción del desempeño de la planta. El raciocinio desarrollado para este estudio se presenta en el siguiente esquema:



## CAPITULO III

# EVALUACIÓN EXPERIMENTAL DE LA DEFENSA POR HORMIGAS



BIBLIOTECA  
INSTITUTO DE ECOLOGIA  
*UNAM*

## INTRODUCCION

El ataque por herbívoros tiene en general un efecto negativo sobre las plantas, las cuales con frecuencia se ven bajo presión selectiva para contrarrestar este efecto con algún mecanismo defensivo.

Se ha argumentado que en *Cecropia obtusifolia* el follaje es defendido contra el ataque de fitófagos por hormigas mutualistas del género *Azteca* asociadas estrechamente a la planta (Janzen 1979, Schupp 1986).

Poner a prueba la eficacia de la defensa en *Cecropia*, involucraría la eliminación del sistema de defensa (colonia de hormigas) de un grupo de plantas y su posterior comparación con un grupo supuestamente defendido.

La eliminación de la colonia de hormigas de plantas de *Cecropia obtusifolia* ha sido una metodología desarrollada en trabajos anteriores (Schupp 1986), por lo cual se sabe que esta manipulación se puede llevar a cabo sin generar ningún efecto detectable en la planta.

Bajo esta manipulación, las diferencias que pudieran encontrarse en niveles de daño por herbívoros, así como las consecuencias relacionadas con el desempeño de las plantas, podrían ser atribuidos a la pérdida de las hormigas.

## METODOS

Para evaluar el efecto de la presencia de hormigas, se llevó a cabo un experimento de remoción de las colonias de hormigas supuestamente defensoras, en plantas juveniles de *Cecropia obtusifolia*.

A finales de mayo de 1991 se buscaron parejas de plantas juveniles de *Cecropia obtusifolia* en sitios dentro de la Estación de Biología, así como en terrenos aledaños.

Los criterios para la elección y formación de cada pareja fueron los siguientes:

- Las dos plantas debían encontrarse en el mismo sitio, es decir, compartiendo el mismo microambiente.
- Fisonómicamente, las dos plantas debían ser muy similares. Esto es, debían tener alturas, diámetros basales y número de hojas muy parecidos.
- Las plantas de la pareja debían estar colonizada por hormigas.

Se marcó cada planta, haciendo referencia al número de pareja perteneciente y al tratamiento.

Se escogieron 20 parejas de plantas (numeradas del 1 al 20, 40 plantas juveniles en total), ubicadas en varios sitios: a lo largo del "Camino Nuevo" a Laguna Escondida (sitios 1, 2 y 3 en la Fig.2) y en el borde sur de un terreno aledaño a la Estación (propiedad del Sr. Santiago Velazco), en el ejido Laguna Escondida (Fig.2, sitios 4 y 5). Aquí, dos parejas se ubicaron en un lugar limpiado con fines agrícolas, y seis en dos sitios de selva en regeneración.

Con el objeto de aumentar el tamaño de la muestra, el 6 de septiembre de 1991 fueron incorporadas 5 parejas adicionales a la muestra (numeradas de la 21 a la 25). El 30 de octubre de 1991 se marcaron 9 parejas más (numeradas del 26 al 34). El motivo de este último reclutamiento fue una pérdida de plantas por actividad

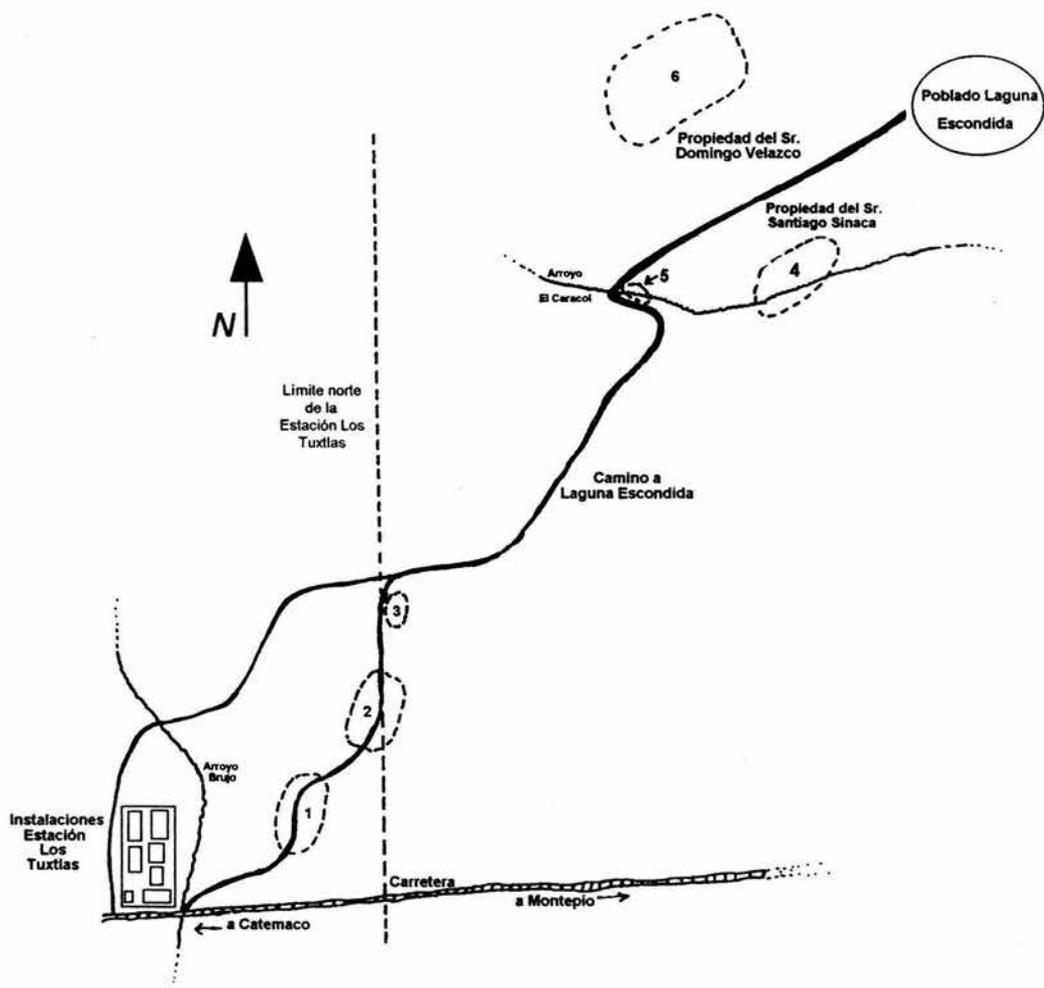


Figura 2. Esquema de ubicación de los diferentes sitios donde se establecieron las parejas de plantas.

humana que no fue posible prever. El sitio donde se ubicaron estas plantas fue un acahual con platanal localizado en el ejido de Laguna Escondida, propiedad del Sr. Domingo Velazco (Fig. 2, Sitio 6).

### **Herbivoría y Desempeño de las Plantas**

A partir del montaje del experimento, y a intervalos regulares de tiempo (ca. 6 semanas), se midieron: el daño por herbívoros (daño puntual y tasa; ver en seguida). la tasa de herbivoría, la altura, el diámetro basal, el área foliar y el porcentaje de cobertura por enredaderas.

Altura: La Altura (Alt) fue medida como la máxima longitud desde la base de la planta hasta el meristemo apical. Este no es difícil de ubicar ya que a esa edad *Cecropia* no tiene ramificaciones. Cuando una planta mostraba en el tallo alguna curvatura o irregularidad, la altura se tomaba siguiendo la trayectoria del tronco, correspondiendo la medida a la longitud.

Diámetro basal: Se consideró al diámetro basal (DB), como la parte basal más ancha del tronco por encima de las raíces pivotantes. Para cada planta esta medida se tomó siempre en el mismo sitio, gracias a una marca de pintura permanente puesta al inicio del experimento. La medición se realizó con un vernier que se giraba alrededor de la marca hasta tener la máxima dimensión.

Área foliar: La Longitud Foliar (LF) fue la medida utilizada como referencia del área foliar (AF). LF es la distancia entre la base de la hoja y el extremo del lóbulo foliar más grande (generalmente el central). Para encontrar la relación entre LF y AF se llevó a cabo una regresión entre estas dos variables. Con este fin, al inicio del experimento se colectaron 120 hojas de diferentes tamaños, pertenecientes a individuos no incluidos en las parejas de la muestra. A cada hoja se le midió la longitud foliar, se le marcó y prensó para su traslado al Laboratorio de Interacción Planta-Animal (LIPA) del Centro de Ecología (UNAM). Una vez ahí, se evaluó el AF de cada hoja con un medidor de áreas foliares electrónico (Delta-T Devices Modelo RS 232 C, Cambridge, England).

Las hojas de las plantas estudiadas se marcaron individualmente en el campo con anillos de alambre plastificado de diferentes colores para tener un seguimiento de cada una de ellas. Cada uno de los colores codificaba la identidad de cada hoja. Con el registro de esta variable, se obtuvo además el número de hojas (NH) en pie de cada planta, para cada tiempo.

Herbivoría: Esta variable se midió de dos maneras; con un índice de herbivoría y con la tasa de herbivoría. El Índice de herbivoría (IH) es una medida de la magnitud del daño en pie por herbívoros basado en categorías. Para la obtención de este valor se realizó una estimación visual del daño en cada hoja, asignándole un valor de acuerdo a las siguientes categorías ( Dirzo y Dominguez 1995):

Categoría	% del área foliar dañada
0	0
1	1 a 6
2	6 a 12
3	12 a 25
4	25 a 50
5	50 a 75
6	75 a 100

A cada hoja se le asignó un valor de categoría de daño en cada visita. Se calculó para cada planta un índice de herbivoría (*IH*) de la siguiente manera (Dirzo y Dominguez 1995):

$$IH = \frac{\sum(n_i)i}{n}$$

Donde  $n_i$  es el número absoluto de hojas de la categoría  $i$  de daño;  $i$  es la categoría (de 0 a 6); y  $n$  es el número total de hojas de la planta. El *IH* va de 0

cuando la planta no tiene daño por herbívoros, a 6 cuando ha perdido mas del 75% del area foliar.

Para calcular la tasa de herbivoría (TH) se marcó un cuadro en la lámina foliar al cual se ajustaba exáctamente un cuadro de acetato cuadrículado de 10 x 10 cm . La cuadrícula era de 0.5 x 0.5 cm (por lo tanto el área de cada subcuadro era de 0.25 cm<sup>2</sup>). Para la medición de la TH, se usaron las hojas nuevas, recién formadas en la planta (*i.e.* recientemente emergidas del meristemo apical), y que no presentaban daño por herbívoros. En cada registro, se colocaba el acetato sobre la hoja marcada y se contaban los subcuadros (dañados o no dañados) sobrepuestos al área foliar dañada. De esta manera, se podía estimar el porcentaje de área foliar consumida (número de cuadros de 0.25 cm<sup>2</sup> dañados, de un total de 100 cm<sup>2</sup>). La TH se calcula como:

$$TH = \frac{AFD_1 - AFD_0}{t}$$

Donde  $AFD_0$  y  $AFD_1$  corresponde el área foliar dañada a los tiempos 0 y 1 respectivamente, y  $t$  es el número de días entre los tiempos 0 y 1.

Porcentaje de Cobertura por Enredaderas: Este valor (PCE) fue asignado visualmente a cada planta. Para ello se estimó qué porcentaje del área de la copade *C. obtusifolia* estaba cubierto por enredaderas. Cuando las enredaderas

subían por el tronco, pero no tocaban ninguna hoja, la cobertura se consideró como 0.

### **Eliminación de la Colonia de Hormigas**

Una vez tomados los datos iniciales de altura, diámetro basal, porcentaje de cobertura por enredaderas, área foliar y herbivoría, se seleccionó al azar una planta de cada pareja, de la cual se eliminó la colonia de hormigas por fumigación. El insecticida usado fue clordano al 42% (marca comercial de los laboratorios Helios). El clordano es un insecticida organoclorado, de contacto, específico contra himenópteros (particularmente hormigas). Su elección para este estudio se basó en experimentos de invernadero realizados por Schupp (1981). En dichos experimentos, Schupp (1981) no encontró diferencias en el desempeño de plántulas de *Cecropia obtusifolia* rociadas con clordano y plantas rociadas con agua.

Se preparó una solución de una parte de Clordano al 42% y 100 partes de agua (según instructivo del producto). La solución fue rociada sobre la planta experimental (sin colonia) de cada pareja, con un aspersor de uso agrícola. Las plantas que conservaron la colonia de hormigas (plantas testigo) se rociaron (con un aspersor igual) con agua corriente. Por otro lado, se llenaron tubos Eppendorff con la solución de clordano y se insertaron en el tronco de cada planta experimental de *C. obtusifolia*. Para este fin se practicó una incisión en un entrenudo del tronco, por la que se introdujo el Eppendorf, el cual se sentó sobre el tejido del septo de un nudo. La incisión después se cerró y se cubrió con cinta

adhesiva. Esto se hizo para matar a la reina y a las larvas que habitan dentro del tronco hueco con los vapores del insecticida (éstos organismos no tienen contacto con el exterior de la planta, y por lo tanto pueden sobrevivir al rociado). En el caso de las plantas testigo se realizó la misma operación, solo que los Eppendorf colocados en éstas contenía agua destilada. Se dejó actuar al insecticida durante 3 días, al término de los cuales, en todos los casos, la colonia había desaparecido. Ocurrido ésto, todas las plantas, tanto experimentales como testigo fueron lavadas con agua y se retiraron los Eppendorff del interior de las plantas tratadas. La incisión fue sellada con cinta adhesiva.

El proceso de fumigación descrito arriba se repitió cada vez que la planta tratamiento era recolonizada. Estos eventos de recolonización por hormigas fueron comunes a lo largo del experimento. De tal manera, la remoción, aunque efectiva, no fué constante. Sin embargo el efecto de la recolonización solo podría tener una duración equivalente, como máximo potencial, el tiempo que transcurría entre los censos subsecuentes que fueron de aproximadamente seis semanas. En la práctica ese tiempo siempre fue considerablemente menor debido a que el Clordano mantuvo su efecto por varias semanas (R. Frías, obs. pers.). Los resultados del experimento deberán ser conservadores en dirección de la hipótesis nula.

### **Toma de Datos**

Cada 6 semanas aproximadamente, y durante año y medio fueron medidos los parámetros del desempeño arriba señalados a cada planta de todas las parejas. Las fechas de registros de datos fueron:

Registro	Fecha	Días acumulados
1o.	3 Junio 91	0
2o.	8 Julio 91	36
3o.	2 Septiembre 91	91
4o.	30 Octubre 91	148
5o.	21 Diciembre 91	198
6o.	3 Febrero 92	242
7o.	18 Marzo 92	285
8o.	2 Mayo 92	327
9o.	15 Junio 92	371
10o.	20 Julio 92	406
11o.	16 Octubre 92	494

A lo largo del experimento hubo pérdida de plantas. Cuando esto ocurría, se desechaba la planta remanente de la pareja debido a que el diseño del experimento exigía que los dos individuos de cada pareja pudieran ser comparados. La pérdida de plantas (y consecuentemente de parejas), se relacionó con dos causas principalmente:

1.- Eventos naturales. Muerte por caída de ramas o de árboles durante la época de nortes.

2.- Actividades humanas. Principalmente por chapeo en los bordes del camino donde se ubicaban las plantas.

La reducción en el número de parejas llevó a eliminar los datos obtenidos en las salidas 10 y 11, considerando para los análisis solo las nueve anteriores (371 días).

### **Análisis de datos**

Los datos obtenidos en este experimento se analizaron con dos tipos de pruebas estadísticas:

Para el diámetro basal, el crecimiento en altura, el número de hojas y el área foliar se usaron pruebas de t pareadas (Zar 1974). Este análisis considera las diferencias entre los dos individuos de cada pareja. Se realizó una t pareada para cada tiempo en cada uno de los atributos analizados, teniendo al final un total de 9 pruebas en cada característica. Para evitar el error de tipo I asociado al gran número de pruebas, para cada comparación sólo se consideró el valor de  $t$  como significativo al aplicar la corrección de Bonferroni. Para esta corrección el nivel de significancia estadística ( $\alpha$ ) correspondiente es:

$$\alpha = \frac{0.05}{n}$$

Donde  $n$  es el número de comparaciones (= 9).

Las diferencias en los índices de herbivoría (resultante de datos categóricos) se analizaron con la prueba de muestras pareadas de Wilcoxon (Zar 1974) por tratarse de datos no paramétricos.

## RESULTADOS

### Herbivoría

Los niveles de herbivoría en pie por categorías de daño (IH) observados en las parejas de campo muestran una clara tendencia a hacerse diferentes en los individuos a los que les fueron removidas las colonias de hormigas con respecto a los testigos (Figura 3). Al inicio del experimento ( $t=0$ ) no existía esta tendencia, no detectándose diferencias significativas en los niveles de herbivoría ( $P > 0.25$ ). A partir del segundo registro ( $t=36$  días), se detectaron diferencias en los niveles de daño, siendo significativamente mayores ( $T$  de Wilcoxon =  $P < 0.005$ ) en las plantas que perdieron la colonia de hormigas. Este efecto puede verse a partir de los valores negativos de las diferencias promedio (plantas testigo-plantas experimentales) de los índices de herbivoría (Fig. 3). Con excepción de los valores de 148 ( $P < 0.09$ ) y 371 días ( $P = 0.11$ ), todas las demás fechas mostraron tendencias claras y estadísticamente significativas de aumento en los niveles de daño en las plantas que perdieron la colonia de hormigas (Tabla 3). En lo que se refiere a los valores a los 371 días es importante señalar que el número de parejas en esa fecha solo fue de 6, razón probable de los altos niveles de variación observados y de la falta de diferencias significativas (Tabla 3).

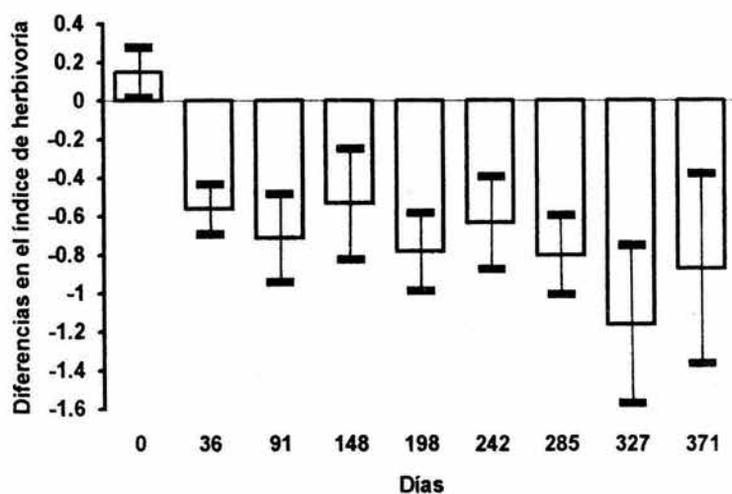


Figura 3. Efecto de la pérdida de la colonia de hormigas *Azteca* en los niveles de daño por herbivoría en juveniles de *Cecropia obtusifolia*. Las barras muestran los promedios ( $\pm$  desviación estándar) de las diferencias (planta testigo - planta sin colonia) en el índice de herbivoría entre las plantas de cada pareja. Los valores por abajo o por encima de 0 indicarían mayor daño en las plantas testigo o sin colonia respectivamente.

Tabla 3. Análisis de las diferencias en índices de herbivoría en las parejas de plantas en el campo (prueba de Wilcoxon) en los diferentes registros.

Días	Parejas (n)	<i>T</i>	<i>P</i>
0	27	141.5	0.25
36	27	33	<0.01
148	16	35	<0.09
198	16	12	<0.01
242	16	25	<0.03
285	15	5.5	<0.01
327	15	18	<0.02
371	6	3	0.11

En concordancia con estos resultados, los niveles de herbivoría medidos como herbívora acumulada en hojas que se siguieron desde su aparición (Tasa de herbivoría), mostraron la misma tendencia aunque las diferencias fueron más claramente marcadas (Fig. 4). Las pruebas de *t* pareadas aplicadas a estos datos resultaron significativas para todas las fechas de registro ( $P < 0.001$ , Fig. 4).

### Diámetro basal

Esta medida del desempeño resultó altamente sensitiva a la presencia-ausencia de hormigas. La Figura 5 muestra las diferencias en crecimiento en diámetro basal (mm) a través del tiempo. Los resultados muestran que las plantas que conservaron la colonia de hormigas crecieron considerablemente más que las plantas testigo: las diferencias en los valores fueron siempre positivas. De hecho, las diferencias en el crecimiento por diámetro basal, resultaron significativas a partir de los 91 días de aplicado el tratamiento ( $P < 0.005$ , Tabla 4). Se nota también que conforme pasó el tiempo, las diferencias entre los dos grupos de plantas aumentaron. Sin embargo, a los 371 días se pierde la significancia ( $P > 0.1$ ), a lo que coincide también con una disminución brusca en el número de parejas que persistían en el campo ( $n = 6$ ).

### Altura

El efecto de la pérdida de la colonia de hormigas sobre el crecimiento en altura se muestra en la Figura 6. Aunque los valores de las diferencias fueron siempre positivos, y en un ámbito de variación entre 0 y 30 cm de diferencia a favor de las plantas que mantuvieron su colonia, el análisis estadístico no mostró

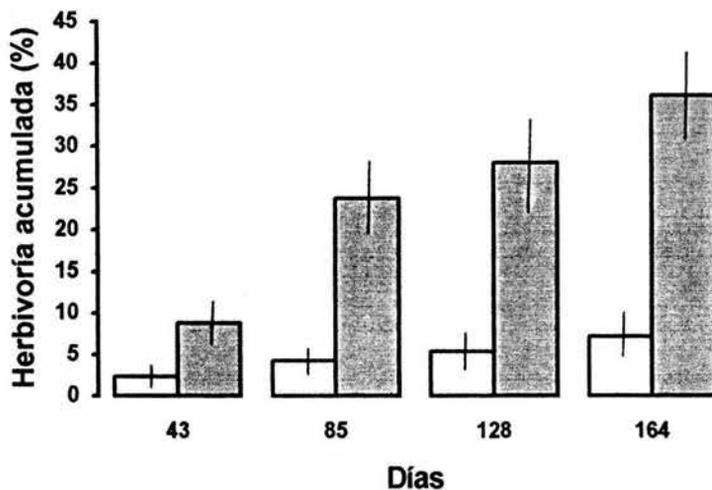


Figura 4. Tasa de herbivoría en hojas de *Cecropia obtusifolia* que se siguieron desde su aparición hasta su abscisión. Se muestra la media ( $\pm$  desviación estándar) de plantas testigo (□) y plantas a las que se les removió la colonia de hormigas (■). Los valores correspondientes de las pruebas de *t* pareadas para cada fecha son: 12.6, 19.9, 20.7 y 29.7. En todos los casos  $P < 0.001$ .

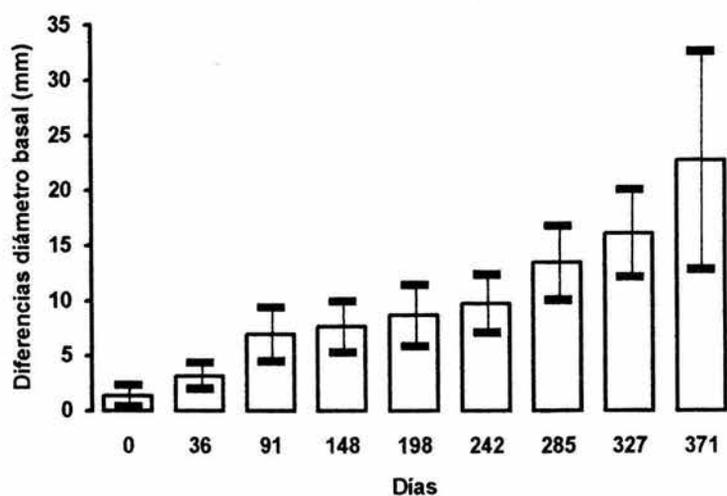


Figura 5. Valores promedio ( $\pm$  desviación estandar) de las diferencias en el diámetro basal de plantas testigo - plantas experimentales (plantas a las que se les removio la colonia de hormigas) de *Cecropia obtusifolia* a través del tiempo.

Tabla 4. Resultados de la comparación (t pareada) de las diferencias en el diámetro basal para las parejas de plantas (testigo - experimentales) en el campo en los diferentes tiempos. El valor de rechazo utilizado en las pruebas de Wilcoxon es 0.005 debido a que se aplicó la corrección de Bonferroni

Días	0	36	91	148	198	242	285	327	371
<i>T</i>	1.44	2.65	2.85	3.31	3.19	3.79	4.07	4.04	2.30
<i>gl</i>	26	26	23	15	15	15	14	14	5
<i>P</i>	>0.005	>0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.001	<0.001	<0.001	>0.005

diferencias entre los dos tipos de planta a ningún tiempo (Tabla 5). [No hubo diferencias significativas al  $t=0$ , rechazando la posibilidad de ventajas iniciales]. Es de notar, también, la gran variación de las diferencias promedio. Estos resultados inesperados indican que la pérdida de la colonia, y el consecuente aumento en los niveles de daño no parecen tener efecto en el crecimiento en altura de las plantas.

### Número de hojas en pie

El tratamiento experimental parece no tener un efecto consistente y marcado sobre la producción de hojas. El producto de las diferencias (plantas testigo - experimentales) en el número de hojas resultó siempre positivo (Figura 7), aunque el promedio de estas diferencias nunca fue mayor de 3. Con excepción del 5o. registro (198 días), el 8o. (327 días) y el 9o. (371 días) en que la producción foliar fue significativamente mayor en las plantas testigo, en los demás tiempos de registro (Tabla 6), las plantas parecen producir un número estadísticamente indistinguible de hojas. Un fenómeno interesante fue la aparición de "chupones" en las plantas. Algunas de ellas mostraron pequeños indicios de ramificación consistentes en el desarrollo de yemas foliares a lo largo del tronco. Cada yema estaba formada en unas cuantas hojas de tamaño muy pequeño, y que al poco tiempo se abortaban junto con la yema. Sólo se observó el desarrollo de estos chupones en algunas de las plantas ( $n=4$ ) sin hormigas.

### Área foliar

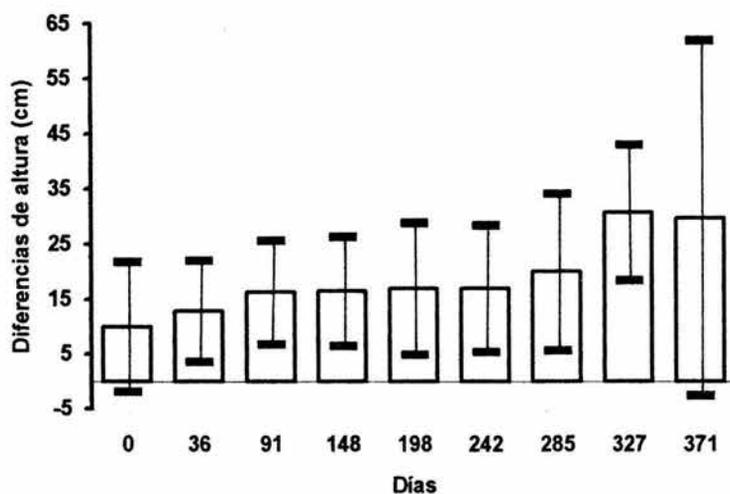


Figura 6. Efecto de la pérdida de la colonia de hormigas *Azteca* sobre el crecimiento en altura de plantas juveniles de *Cecropia obtusifolia*. Los valores corresponden a los promedios de las diferencias (plantas testigos - plantas experimentales) para cada uno de los registros ( $\pm$  desviación estándar).

Tabla 5. Análisis de las diferencias de crecimiento en altura para las parejas de plantas en el campo (*t* pareada) en los diferentes tiempos. El valor de rechazo utilizado en las pruebas de Wilcoxon es 0.005 debido a que se aplicó la corrección de Bonferroni

Días	0	36	91	148	198	242	285	327	371
<i>T</i>	.85	1.39	1.74	1.65	1.42	1.45	1.39	2.49	0.92
<i>gl</i>	26	26	23	15	15	15	14	14	5
<i>P</i>	>0.005 (NS)								

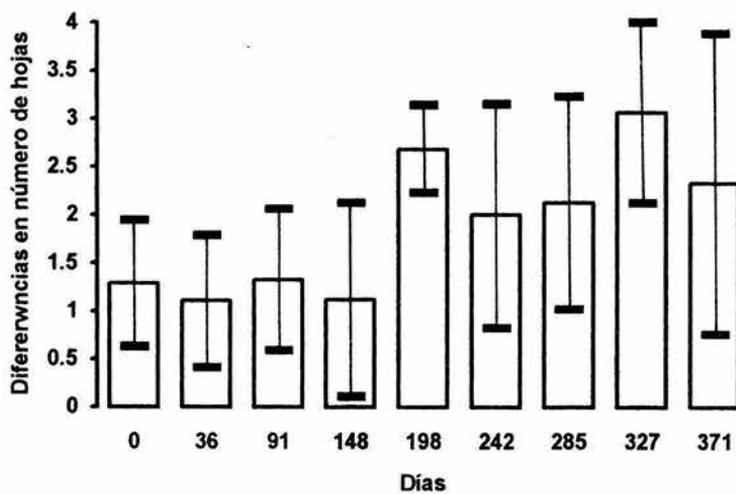


Figura 7. Diferencias en el número promedio ( $\pm$  desviación estándar) de hojas producidas por parejas de plantas (testigo - experimentales) de *Cecropia obtusifolia* a través del tiempo.

Tabla 6. Análisis de las diferencias de crecimiento en número de hojas para las parejas de plantas en el campo (*t* pareada) en los diferentes tiempos. El valor de rechazo utilizado en las pruebas de Wilcoxon es 0.005 debido a que se aplicó la corrección de Bonferroni

Días	0	36	91	148	198	242	285	327	371
<i>T</i>	1.96	1.61	1.81	1.11	5.92	1.71	1.93	3.28	1.49
<i>gl</i>	26	26	23	15	15	15	14	14	5
<i>P</i>	>0.005 (NS)	>0.005 (NS)	>0.005 (NS)	>0.005 (NS)	<0.005 (*)	>0.005 (NS)	>0.005 (NS)	<0.005 (*)	<0.005 (*)

En términos generales, las plantas testigo mostraron consistentemente un mayor incremento en el AF. Las diferencias mostraron siempre valores positivos (Figura 8). [observándose que al t=0 estas no eran significativas] A excepción de los datos encontrados a los 242, 285 y 371 días, en las demás fechas se encontraron valores de significancia por abajo de 0.005 (Tabla 7). El tratamiento experimental tuvo un efecto tal en este atributo, que las plantas asociadas a su colonia tuvieron una diferencia a su favor, con respecto a las experimentales, que osciló de  $+5 \times 10^3 \text{ cm}^2$  al principio, hasta cerca  $+20 \times 10^3 \text{ cm}^2$  hacia el final. Es importante hacer notar que aunque no hubo diferencias en el número de hojas, si existen en el área foliar. Esto sugiere un efecto cualitativo y no cuantitativo: es decir, un desarrollo más vigoroso de las hojas de las plantas que conservaron la colonia defensora.

#### Porcentaje de Cobertura por Enredaderas

Esto parece no ser un factor importante para el desempeño de *C. obtusifolia* en este sitio. En primer lugar, las observaciones en el campo sugieren que la invasión de *C. obtusifolia* por enredaderas y bejucos es de poca incidencia. La frecuencia con la que se detectaron enredaderas resultó ser muy baja en todos los registros (Tabla 8). El porcentaje de plantas que fueron invadidas osciló entre 0 (a los 371 días) y 2% (a los 148 días). Por otra parte, en los pocos casos en que hubo invasión de plantas trepadoras, la cobertura de éstas sobre la copa fue mínima (entre <1 y 2%) (Fig.9). Finalmente, en los casos de aparición de cobertura, no se

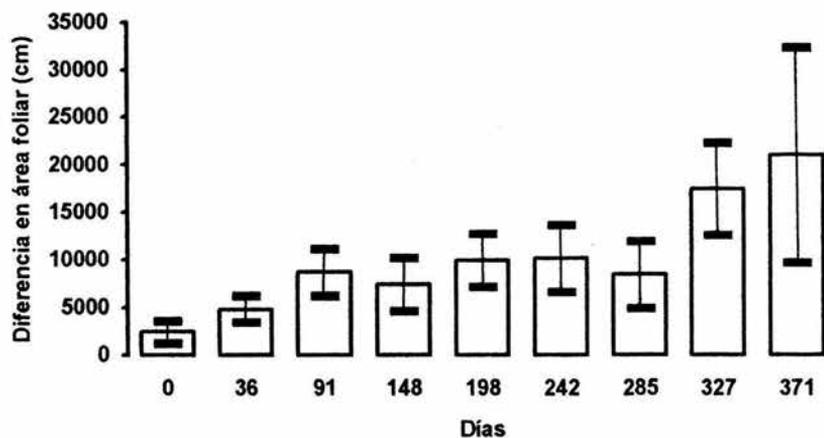


Figura 8. Efectos de la pérdida de la colonia de hormigas *Azteca* sobre el crecimiento en área foliar de plantas juveniles de *Cecropia obtusifolia*. Los efectos se muestran como los promedios ( $\pm$  desviación estándar) de las diferencias en área foliar de las plantas testigo - experimentales.

Tabla 7. Resultados de los análisis (*t* pareada) de las diferencias de crecimiento en área foliar para las parejas de plantas (testigo - experimentales) de *Cecropia obtusifolia* en los diferentes tiempos de registro. El valor de rechazo utilizado en las pruebas de Wilcoxon es 0.005 debido a que se aplicó la corrección de Bonferroni

Días	0	36	91	148	198	242	285	327	371
<i>T</i>	2.07	3.58	3.50	3.62	3.53	2.91	2.40	3.61	1.85
<i>gl</i>	26	26	23	15	15	15	14	14	5
<i>P</i>	>0.005 (NS)	<0.001 (**)	<0.001 (**)	<0.005 (*)	<0.001 (**)	>0.005 (NS)	>0.005 (NS)	<0.001 (**)	>0.005 (NS)

Tabla 8. Frecuencia de aparición de bejucos sobre juveniles de *Cecropia obtusifolia*.

Con bej. = Número de plantas en ese registro que presentaron cobertura en alguna parte de la copa.

Total = Número total de plantas registradas en ese tiempo.

Días	0	36	91	148	198	242	285	327	371
Con bej.	8	6	5	4	3	4	4	3	0
Total	54	54	48	32	32	32	30	30	12

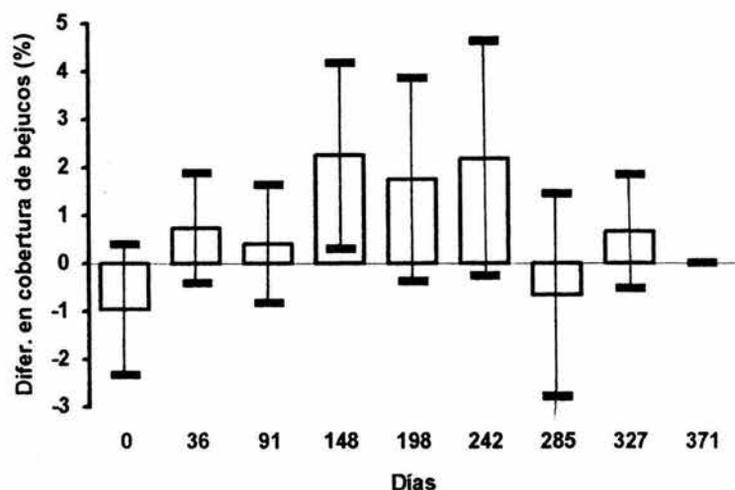


Figura 9. Diferencias en la colonización de plantas de *Cecropia obtusifolia* por plantas trepadoras. Los valores corresponden al promedio ( $\pm$  desviación estándar) de la diferencia en cobertura estimada de plantas trepadoras entre plantas testigo y sin colonia defensora.

detectaron preferencias por alguno de los dos grupos de plantas del estudio (Fig. 9).

Otro tipo de evidencia parece respaldar la idea de que la presión de colonización por enredaderas es muy baja en la selva de Los Tuxtlas. Durante 1993 se hizo un censo de plantas de *C. obtusifolia* colonizadas por enredaderas en la parte sur de la Reserva de Montes Azules (R. Frías y R. Dirzo, datos no publicados). Los resultados encontrados muestran una mayor proporción de plantas de *C. obtusifolia* colonizadas en la Selva Lacandona (52.75% de las plantas de *Cecropia* registradas presentaban en algún grado invasión por plantas trepadoras,  $n= 290$ ), en comparación con las halladas en Los Tuxtlas (6% de ocupación,  $n= 51$ ). Estos resultados son significativos ( $\chi^2 = 34.74$ ,  $P<0.01$ ). Dada la baja incidencia de colonización por trepadoras en Los Tuxtlas, es difícil afirmar el efecto del tratamiento experimental sobre este atributo.

## DISCUSION

Las dos formas de evaluar la herbivoría coincidieron al evidenciar un aumento significativo en el daño por herbívoros a plantas a las que se les eliminó la colonia de hormigas. En algunos casos, el monto del daño fue de hasta cuatro veces mayor que el de plantas que conservaron su colonia de hormigas. Esto parece indicar que con la pérdida de la colonia, la planta pierde un importante componente de su defensa (Janzen 1969, Schupp 1986). Por otra parte, los resultados del presente estudio indican que el aumento en el daño tiene impacto en algunos elementos del crecimiento de la planta.

Las plantas a las que se les eliminó la colonia de hormigas crecieron menos en diámetro. Los tamaños alcanzados por las plantas protegidas superaron en algunos casos a las deshormigadas por 2 cm en dicha variable en promedio. Este resultado sugiere que componentes del crecimiento como el diámetro basal pueden ser muy importantes en el desempeño de brinzales de *Cecropia obtusifolia*. El DB es una medida directa del vigor con el que puede estar creciendo una planta. En el caso de *C. obtusifolia* que coloniza claros, el vigor del tronco puede ser determinante ante eventos como caídas de ramas. Además, dado el hecho de que su tronco es hueco, un engrosamiento inicial considerable, puede ser ventajoso para esta especie colonizadora.

Un resultado inesperado fue que no aparecieran diferencias significativas en la altura (longitud de la planta) como producto de la exclusión de la colonia de hormigas. En otras palabras, el tamaño no se ve afectado por la pérdida de la defensa por *Azteca*. Sería de esperar que la ganancia de altura, para esta especie, fuese un atributo altamente ventajoso (Alvarez-Buylla en prensa). Ante este hecho se podrían dar dos posibles explicaciones:

- 1) El impacto de los herbívoros en individuos de *C. obtusifolia* de esa edad no es tan grave para llegar a un umbral crítico que afecte el crecimiento de la planta.
- 2) Si el crecimiento en altura es muy importante en esta etapa de desarrollo de la planta, se podría esperar que eso ocurriese a expensas de la disminución de recursos a otros atributos de crecimiento. Si esto fuera cierto, se podría esperar una disminución en otras medidas de crecimiento (como el DB, el número de hojas o el área foliar) o en otras funciones. Para explorar esta especulación sería de interés llevar a cabo un estudio de distribución (asignación) de recursos (biomasa, minerales) en plantas con y sin hormigas.

Los resultados encontrados en el caso de la altura contrastan con los hallados por Schupp (1985). En estudios realizados con *C. obtusifolia* en Ecuador, este autor encontró diferencias importantes en altura entre plantas con y sin hormigas. En relación a esto es pertinente señalar que este autor consideró a la altura como única medida de crecimiento de las plantas, no tomando en cuenta otras características, como el DB y el AF. La diferencia en crecimiento, afirma Schupp, podría traducirse en ventajas en términos de la adecuación de las plantas que conservaron su colonia de hormigas defensoras. Una planta que pudiera estar creciendo más en altura podría llegar más rápido a la etapa reproductiva.

De acuerdo con los resultados, los dos grupos de plantas produjeron, en general, un número similar de hojas en promedio, aunque las plantas defendidas las tuvieron más grandes. Independientemente del área consumida por los herbívoros, las hojas de las plantas testigo fueron más robustas. Esto es importante en el desarrollo de la planta. Es esperable que a menor AF, menor será el potencial fotosintético (cf. Harper 1977). En relación con esto, una observación interesante fue la aparición de "chupones" (pequeñas y efímeras ramificaciones en plantas a las que se les eliminó experimentalmente la colonia de hormigas). Estos chupones se presentaban a lo largo del tronco y estaban formados de pocas (2 a 4) hojas muy pequeñas. La permanencia de estos chupones en las plantas fue corta, no observándose el mismo en dos registros subsecuentes. La explicación de esta conducta podría estar relacionada con estrés fotosintético ocasionado por el aumento del AF consumida por los herbívoros, sumando además la disminución en el tamaño de las hojas.

En lo que respecta a el efecto que tiene la defensa por hormigas sobre la competencia con enredaderas, con los datos del presente estudio no se puede

concluir en ninguna dirección. Al parecer, la competencia con bejucos no es una presión importante en la comunidad de Los Tuxtlas, a diferencia de la selva Lacandona, y de otros sitios como Costa Rica en que las plantas trepadoras reducen la adecuación (producción de semillas) de las plantas sobre las que crecen, llegando incluso a ser consideradas como parasitos estructurales de algunas especies (Stevens 1987). La presión por enredaderas probablemente es, en Los Tuxtlas, un elemento secundario dentro de las interacciones antagonicas de *Cecropia* con otros organismos.

Corroborando los datos mostrados en el experimento por parejas, se hicieron algunas observaciones con respecto a la presencia de herbívoros. En las plantas a las que se les eliminó la colonia de hormigas se observaron varias especies de larvas de lepidópteros, ortópteros, coleópteros y larvas de dípteros entre otros. Una característica de interés en las plantas que han alimentado una colonia de hormigas es que en el momento en que esta es eliminada, los trichilia activos son invadidos por micelios de hongos (Ascomycetes), presentando estos un aspecto carcomido. El hecho de que ocurra esta invasión sugiere una acción de limpieza en los trichilia de parte de las hormigas por las frecuentes visitas que realizan en busca de cuerpos Müllerianos.

Una larva de esfíngido que se caracteriza por enrollar lóbulos foliares y algunas veces hojas completas fue un visitante común de las plantas fumigadas. Esta larva usa el hueco formado por el enrollamiento para vivir y alimentarse. Fue notable que estos individuos sólo se presentaran en plantas deshormigadas, no siendo vistas en ninguna ocasión en plantas control.

Los troncos vacíos de la plantas de *Cecropia* fumigadas parecen ser buenos sitios para que especies de hormigas diferentes de *Azteca* lleguen a anidar. Este

fenómeno fue observado algunas veces durante el experimento. Cuando se manipulaban estas plantas no se pudo detectar ninguna actividad defensiva por parte de la colonia recién llegada. Otra característica de esas hormigas es la poca atracción que aparentemente tienen por los cuerpos alimenticios que *C. obtusifolia* produce. En ninguna ocasión las hormigas de estas colonias fueron vistas forrajeando sobre los trichilia, aún cuando estos portaran cuerpos mullerianos. Estas evidencias sugieren que la presencia de estas hormigas es de naturaleza oportunista, aunque no se puede asegurar que no tengan algún efecto negativo en el posterior desempeño de la planta. Por ejemplo, el hecho de que estas hormigas se encuentren habitando dentro del tronco, podría dificultar el establecimiento de colonias defensivas.

Se detectó la presencia de ladrones de cuerpos Müllerianos en plantas que perdieron la colonia de hormigas. En este caso se ubicaron hormigas del género *Solenopsis* que llegaban a invadir plantas fumigadas. Estas hormigas subían por el tronco hasta los trichilia que contenían los cuerpos mullerianos, llevándoselos a su nido. En ningún momento *Solenopsis* se observó patrullando defensivamente hojas que en algunos casos mostraban evidencia de actividad por herbívoros. Desde este punto de vista, la hormiga se está aprovechando de la planta. Otra forma como la hormiga puede estar explotando indirectamente a la planta es mediante el cría de homópteros (pulgones) (cf. Buckley 1987). En el caso de *C. obtusifolia* se ha observado la presencia de pulgones dentro del tronco colonizado por *Azteca*. La utilización de pulgones por hormigas teóricamente defensoras es una forma de comportarse típica de organismos oportunistas que toman ventaja de un sistema mutualista sin participar en el ("aprovechado" *sensu* Soberón y Martínez del Río, 1985).

Como corolario de este capítulo, se puede afirmar que las plantas que poseen una colonia de hormigas defensoras, adquieren ventajas en atributos de crecimiento como son el diámetro basal y el área foliar al reducir significativamente la intensidad del daño por herbívoros.

## **CAPITULO IV**

### **LA DEFENSA EN PLANTULAS**

## INTRODUCCION

La interacción *Cecropia* - *Azteca* en Los Tuxtlas puede ser considerada, con base en los resultados del capítulo anterior, como un mutualismo defensivo de valor para la planta. Por una parte, es un hecho bien establecido que la hormigas *Azteca* son, en la generalidad de los casos, dependientes de *Cecropia* para su existencia (Hölldobler y Wilson 1990). Por otra, los resultados anteriores demostraron que las hormigas defienden efectivamente el follaje de la planta, reduciendo considerablemente la incidencia de daño y subsecuentemente, promoviendo un mejor desempeño vegetativo. Sin embargo, la plantas no siempre están colonizadas por las hormigas defensoras. Aunque las plantas pueden perder temporalmente su colonia, probablemente por razones fortuitas, existe un periodo del ciclo de vida de la planta, la etapa infantil (plántula a brinjal), en que estas no están ocupadas por hormigas. Esto se debe principalmente a que en esa etapa, las plántulas no muestran aún los atributos que las hacen aptas para la colonización.

Los eventos que marcan el momento a partir del cual una planta de *Cecropia obtusifolia* puede ser colonizada son:

1. La aparición de varios trichilia activos en la parte basal de los peciolos.
2. El tronco hueco llega a un tamaño en que es capaz de contener una colonia de hormigas *Azteca*.

Cuando estas características se cumplen se observa que las plantas empiezan a ser visitadas por reinas aladas de *Azteca* (R. Frías, obs. pers.). La hormiga reina

hace una "revisión" de la planta antes de deshacerse ella misma de sus alas y comenzar a cavar con las mandíbulas un orificio para penetrar al interior del tronco.

Esas dos características se cumplen cuando la planta alcanza un tamaño de 1-1.5 m de altura, alrededor de los 7-12 meses de edad (R. Frías, obs. pers.). Con base en esto, es válido plantear la pregunta de ¿cómo hacen las plántulas para defenderse de los herbívoros antes de ser colonizadas?

Dado que es esperable que las plantas precolonizadas resultaran afectadas negativamente por la acción de sus consumidores, se podría predecir que uno de los posibles mecanismos anti-herbívoros que *Cecropia* podría estar usando, previo a la colonización por hormigas, es la defensa química por metabolitos secundarios. Considerando esta primera alternativa, resultaría de interés el poder detectar diferencias químicas entre plántulas y adultos de *Cecropia obtusifolia*. Si estas diferencias químicas se presentan asociadas a una aceptabilidad diferencial en los dos grupos de edades de plantas (i.e., plantas precolonizadas menos aceptadas que las colonizadas), tendríamos elementos para inferir un sistema de defensa químico que podría conferir protección en la etapa previa a la colonización por hormigas.

Otra aproximación para responder la pregunta de cómo se defienden las plantas antes de ser colonizadas, sería investigar cómo responden las plántulas precolonizadas al daño. Si la herbivoría tiene un efecto negativo significativo en el desarrollo de la plántula, se tendrían elementos para predecir la existencia de un mecanismo de defensa relevante alternativo (i.e., distinto a las hormigas) en el desempeño de las plantas. Con el problema que plantean los herbívoros, y carencia de mecanismos de defensa, las plántulas podrían ser afectadas significativamente en su

desempeño vegetativo y posiblemente en su posterior desarrollo hasta edades reproductivas. Se ha observado en estudios previos (Nuñez-Farfán y Dirzo 1988) que el ataque a plántulas de *C. obtusifolia* es un hecho recurrente en el primer año de vida, hecho que justifica la necesidad de un estudio que describa cuantitativamente cuál es el impacto de los consumidores sobre las plántulas.

## METODOS

### Diferencias Químicas

Al follaje de plantas de dos etapas contrastantes de desarrollo se les realizó cromatografías de gases con la finalidad de detectar posibles diferencias químicas.

Se pulverizaron en seco dos muestras, de aproximadamente 10g cada una, de hojas secas de *Cecropia obtusifolia* por separado. Una de estas muestras pertenecía a una mezcla de varios individuos adultos, todos ellos colonizados por hormigas. La otra muestra consistía de hojas de varias plántulas (de entre 1 y 5 meses de edad), ésto es, en etapa previa a la colonización por hormigas. El motivo por el que se mezclaron hojas de diferentes individuos en cada muestra, estuvo enfocado a tener lo mejor representado posible la gama de compuestos presentes a esa edad.

Se separaron 3g de cada muestra pulverizada en frascos color ámbar. Se realizaron tres diferentes extracciones para cada muestra, utilizando diferentes disolventes; ésto con la finalidad de separar compuestos de diferentes polaridades presentes en la muestra de hojas. Los disolventes utilizados fueron: N-hexano,

diclorometano y acetona. En cada caso, se realizó la extracción con 3 g de material vegetal y 60 ml de solvente. Esta mezcla se dejó reposar por 24 horas, al término de las cuales se filtró y concentró a 1 ml por ventilación con nitrógeno. El concentrado obtenido (3 g material vegetal en 1 ml de solvente) fue colocado en recipientes oscuros y conservado en refrigeración. La lista de concentrados elaborados es la siguiente:

- 1.- 3g de hojas plántulas en 1 ml de N-hexano
- 2.- 3g de hojas adultos en 1 ml de N-hexano
- 3.- 3g de hojas plántulas en 1 ml de diclorometano
- 4.- 3g de hojas adultos en 1 ml de diclorometano
- 5.- 3g de hojas plántulas en 1 ml de acetona
- 6.- 3g de hojas adultos en 1 ml de acetona

Se corrieron 0.8  $\mu$ l de cada concentrado en un cromatógrafo de gases (Perkin-Elmer 8410, con columna capilar DB5 J y W de 30 metros y detector de ionización de flama FID) en el laboratorio de Ecología Química del Centro de Ecología ( UNAM). El gas acarreador utilizado fue helio a 25 lbs por pulgada cuadrada. Las especificaciones del programa de corrido fueron las siguientes:

Temperatura del inyector: 250°C

Temperatura del detector: 350°C

Temperatura inicial: 50°C

1a. Rampa:	7°C por minuto hasta 280°C
2a. Rampa:	30°C por minuto hasta 300°C
Tiempo total de corrida:	35.5 minutos

La integración de datos se realizó con el programa 1020 de la Perkin-Elmer Nelson instalado en una computadora conectada al FID.

### **Efecto de la defoliación**

A principios de septiembre de 1991, se colectaron frutos maduros de once individuos diferentes de *Cecropia obtusifolia* ubicados en terrenos de la Estación y zonas aledañas. Cada árbol fue marcado para su posterior identificación. Las semillas de cada árbol fueron extraídas por separado con la finalidad de evitar que se mezclaran con las de otros individuos. El 8 de septiembre de 1991, las semillas fueron sembradas por separado en charolas dentro del invernadero de la Estación Los Tuxtles. Una vez que las semillas germinaron, se trasplantaron a macetas individuales con tierra, manteniéndolas dentro del invernadero de la Estación. Cada plántula fue marcada con un número de planta y un número de familia. Se consideró a todas las plántulas hijas de un mismo árbol como una familia genética (FG). En este sentido, todas las plantas de una misma FG son al menos medios hermanos por ser hijos de una misma madre. Cada familia genética estuvo integrada de 22 a 27 plántulas.

Las plántulas se dejaron crecer durante 6 meses. Al final de este tiempo, se aplicó un tratamiento de herbivoría simulada.

### **Simulación de la herbivoría**

Una vez establecidas, y antes de aplicar la herbivoría artificial, a las plántulas de cada FG se les midió: altura, diámetro basal y área foliar. La altura fue definida como la distancia en longitud de la planta desde la base a la punta donde se ubica el meristemo apical; el diámetro basal se definió como grosor del tallo, medido con un vernier a la altura del suelo. El área foliar fue estimada con una regresión basada en la longitud de cada hoja desde la base hasta la punta (medida al mm más cercano). Para este fin, de una muestra independiente se calculó una regresión entre longitud foliar (variable independiente) y área foliar (AF, variable dependiente). Esta regresión resultó en un modelo altamente predictivo de la variable dependiente a partir de la independiente, donde:

$$AF = e^{(-1.16802)*(longitud^{2.4315})}$$

Se obtuvieron por azarización dos muestras de igual número de individuos en cada FG. A uno de estos dos grupos se le aplicó el tratamiento de herbivoría, el cual consistió en quitar el 50% del área foliar de cada una de las hojas. Este nivel de daño se seleccionó por ser cercano a los valores máximos encontrados en el campo (Nuñez-Farfán y Dirzo 1988, y observaciones personales), y por ser de una magnitud tal que afecta la sobrevivencia de las hojas de esta especie (Nuñez-Farfán y Dirzo 1989). La

defoliación se realizó con la ayuda de un sacabocados (*i. e.* oradores de un área de extracción conocida) de la siguiente manera: se midió la longitud de la hoja y se obtuvo el área foliar; se calculó la mitad (50% del área) y se aplicó el número de oraciones necesarias para completar la remoción del área requerida. Las perforaciones fueron hechas de manera que simularan lo mejor posible el ataque por herbívoros observado en las plántulas en el campo (*i. e.* en el borde y el interior de la hoja, pero evitando tocar las nervaduras centrales). El otro grupo formado fue el testigo, en el cual las hojas se mantuvieron intactas.

Las plantas tratadas y las testigo de cada familia se ubicaron aleatoriamente en una exclusión experimental en la estación Los Tuxtlas. Las dimensiones de la exclusión son 9.85 m de largo x 5.80 m de ancho, con una altura máxima de 3.70 m y una mínima de 2.17 m; está construida con armazón de hierro y tela de malla de mosquitero transparente, de manera que permite el paso de luz, agua y circulación de aire pero evita la entrada de insectos.

En total se utilizaron 10 familias genéticas de las once germinadas originalmente, debido a que una de las familias no produjo suficientes individuos.

Se tomaron datos de todas las plantas en los atributos arriba descritos en tres ocasiones independientes, incluyendo la del inicio del experimento (pre-defoliación, una semana después de aplicado el tratamiento), y posteriormente cada 6 semanas en dos ocasiones ( $t_1$ : 27-28 de Julio, 1992,  $t_2$ : 31 de Agosto-1 de Septiembre, 1992 y  $t_3$ : 5-8 de Octubre, 1992)..

## RESULTADOS

### Diferencias Químicas

El análisis químico de las dos muestras no evidenció diferencias notables entre estados de desarrollo en cuanto a compuestos volátiles con base en dos concentrados: el diclorometano y la acetona. Los compuestos extraídos con estos dos solventes estuvieron presentes en los dos tipos de plantas y mostraron tiempos de retención semejantes. Con el diclorometano los compuestos encontrados tuvieron los mismos tiempos de retención pero los dos tipos de planta tuvieron diferentes perfiles. Esto es, los compuestos fueron los mismos, pero no así sus concentraciones (medidas como cambio en voltaje provocado por la descomposición de los compuestos en el detector del cromatógrafo (mV)).

En el caso de la acetona, no se detectaron diferencias entre plantas, ni en lo referente a la presencia de compuestos, ni en los perfiles de concentración.

La decisión de utilizar tres diferentes solventes se tomó con el fin de extraer compuestos de diferente polaridad. En este caso, el disolvente de menor polaridad fue el N-hexano, seguido del diclorometano y de la acetona que tenía la mayor. En el caso del concentrado con N-hexano, se encontraron pequeñas diferencias en la composición química. La diferencia más notable fue la aparición de un pico a los 32.18 minutos de retención (con una altura de pico de 99.555 mV) en las plántulas que no se observó en los adultos. Otra diferencia menor es un pico a los 30.33 minutos (y 96.998 mV) que aparece solo en las plántulas (Fig. 10). Estos "picos" representan la salida de

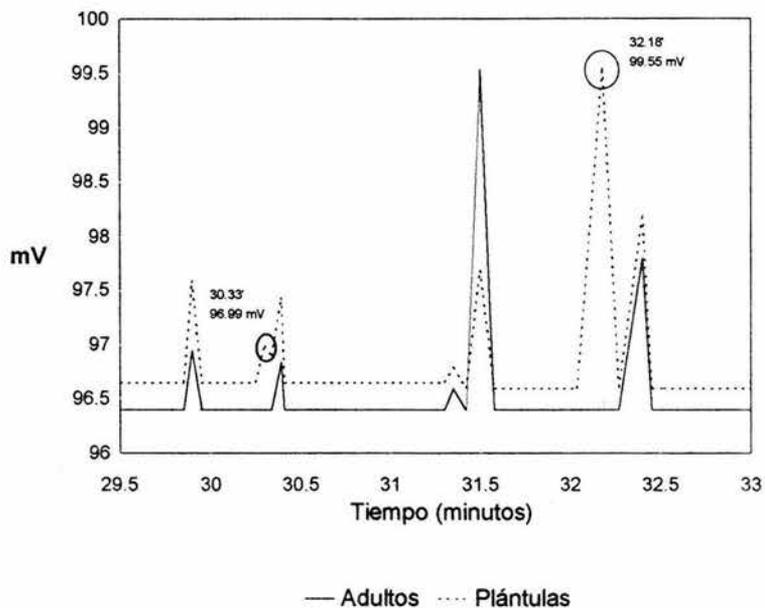


Figura 10 Principales diferencias en compuestos químicos volátiles, entre plantas de dos diferentes categorías de edades de *Cecropia obtusifolia* analizadas por cromatografía de gases (ver detalles en el texto). Cada pico en la gráfica representa uno, o un grupo de compuestos detectados.

generalmente un compuesto, del extracto que es registrado en el detector. La aparición de estos picos en la corrida de plántulas, y que no aparecen en la corrida de plantas adultas, sugiere que existen diferencias químicas entre ambos extractos, al detectarse en uno compuestos que no se revelan en el otro.

### **Herbivoría Artificial**

Al inicio del experimento  $t_0$  (20 de julio de 1992), no se encontraron diferencias entre tratamientos y controles. Se aplicó un análisis de varianza de una vía para cada atributo de desempeño (altura, diámetro basal, número de hojas y área foliar), y en ninguno de los casos se encontraron diferencias entre los dos grupos (Tabla 9, Figura 11). Por esta razón, se puede asegurar que no existían ventajas iniciales en ninguna de las características evaluadas para alguno de los grupos y que, de encontrarse diferencias subsecuentes entre los dos grupos, éstas serían asociables al tratamiento experimental.

Por otra parte, por medio de un ANOVA, se detectaron diferencias significativas entre familias desde el inicio del experimento (Tabla 9), lo que pone de manifiesto la existencia de variabilidad entre éstas.

Se analizaron las diferencias en desempeño de las plántulas para cada tiempo de registro mediante Análisis de Varianza de dos vías (MANOVA's). Dichos análisis consideraron a cada atributo del desempeño en base a dos fuentes de variación: i) el tratamiento y ii) la familia genética.

Tabla 9. Comparación de los dos grupos de plántulas (destinadas a la defoliación y testigos) de *Cecropia obtusifolia* en algunas medidas antes de iniciar el experimento.

	ALTURA		DIÁMETRO BASAL		NÚMERO DE HOJAS		ÁREA FOLIAR	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Tratamiento	0.323	0.576	0.454	0.509	0.169	0.685	0.110	0.743
Familias	4.81	<0.01	1.02	0.422	4.64	<0.01	2.39	0.013

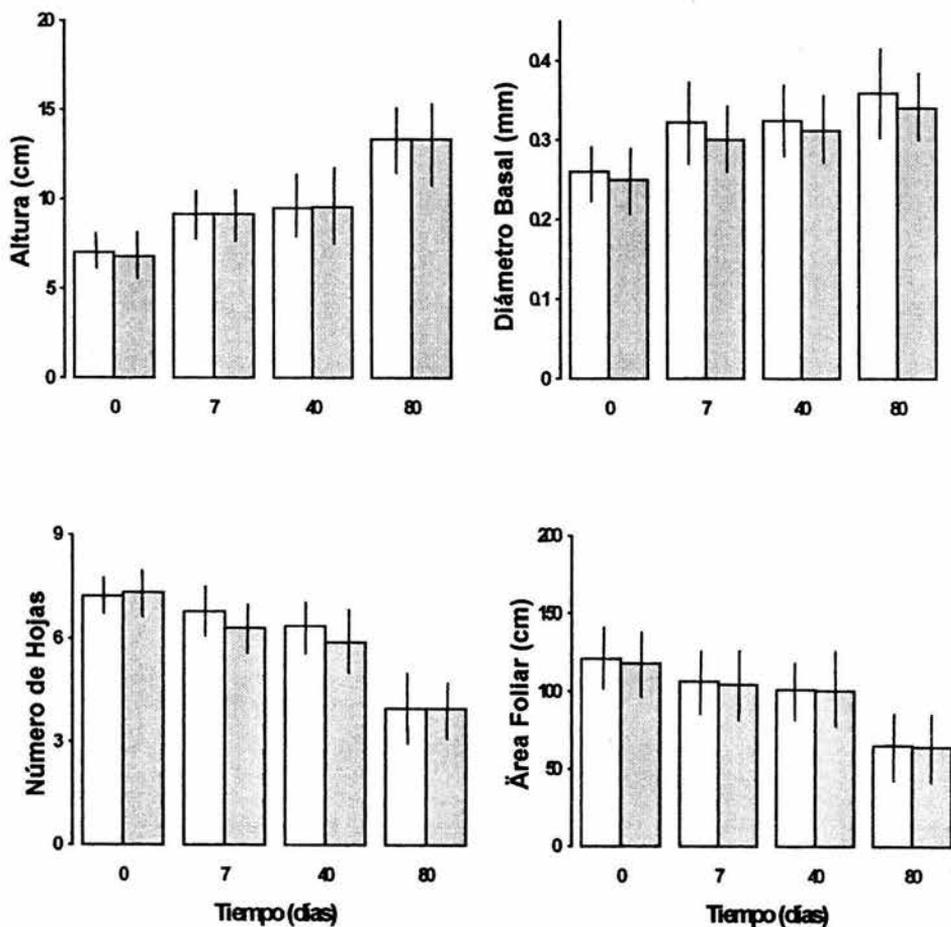


Figura 11. Desempeño de las plántulas de *Cecropia obtusifolia* en cuatro parámetros (Altura, Diámetro Basal, Número de Hojas y Área Foliar) bajo las condiciones de defoliación (□ 0 % y ■ 50%) a través del tiempo. Se grafican los promedios ( $\pm$  desviación estándar) para cada tiempo de los dos grupos de plántulas.

Tabla 10. Efecto de la defoliación artificial (0 y 50% del área foliar), en tres medidas del desempeño de plántulas de *Cecropia obtusifolia* a los 7 (A), 41 (B) y 80 días (C) de aplicado el tratamiento.

	ALTURA		DIÁMETRO BASAL		NÚMERO DE HOJAS		ÁREA FOLIAR	
<b>(A)</b>								
FUENTE	F	P	F	P	F	P	F	P
TRATAM	0.02	0.88	3.14	0.07	7.01	<0.01	0.17	0.67
FAMILIA	3.97	<0.01	0.97	0.45	2.83	<0.01	3.54	<0.01
INTERAC	1.07	0.38	0.91	0.51	0.99	0.44	2.66	<0.05
<b>(B)</b>								
FUENTE	F	P	F	P	F	P	F	P
TRATAM	0.053	0.81	1.55	0.21	7.34	<0.01	0.017	0.89
FAMILIA	3.89	<0.01	0.70	0.7	1.81	0.06	3.49	<0.01
INTERAC	1.22	0.28	1.05	0.39	1.43	0.17	0.97	0.46
<b>(C)</b>								
FUENTE	F	P	F	P	F	P	F	P
TRATAM	0.001	0.97	0.72	0.40	0.01	0.92	0.09	0.76
FAMILIA	2.34	<0.02	1.05	0.40	3.8	<0.01	2.84	<0.01
INTERAC	1.223	0.28	1.14	0.33	0.92	0.5	0.41	0.92

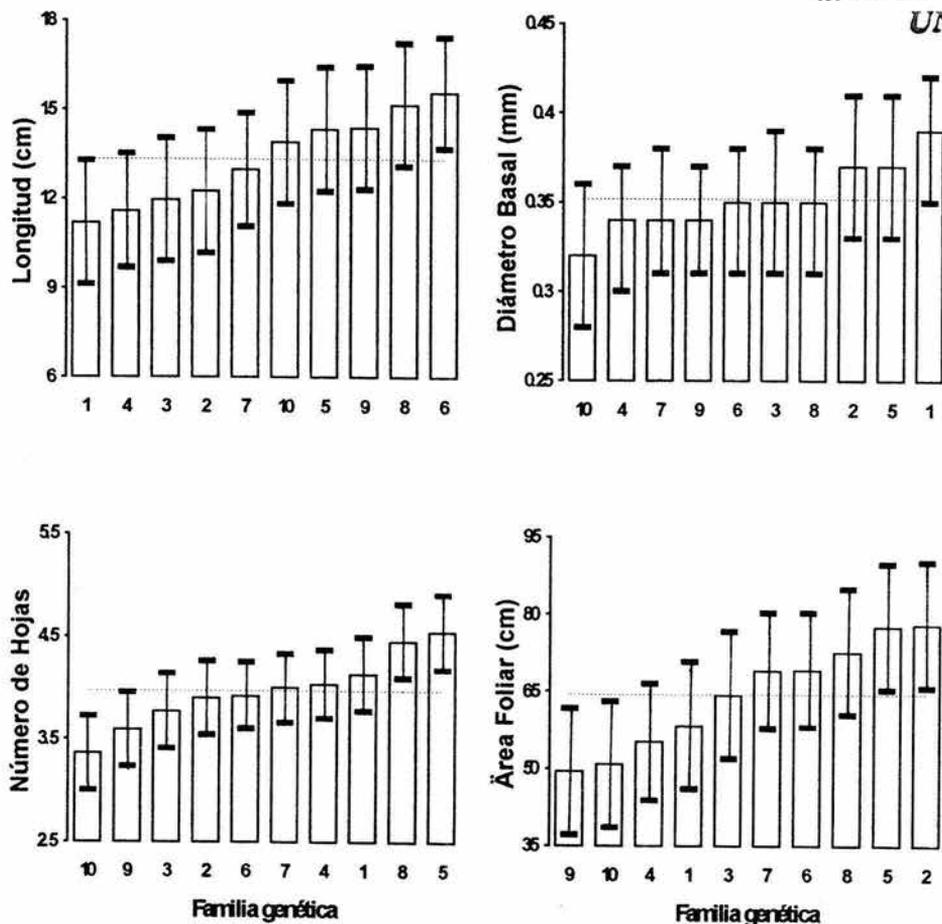


Figura 12. Desempeño en cuatro atributos de crecimiento de 9 familias genéticas de plántulas de *Cecropia obtusifolia* crecidas en condiciones controladas durante 6 meses en la Estación Los Tuxtlas. Se muestran los promedios para cada familia (barra)  $\pm$  desviación estándar. La línea punteada es el promedio general de todas las plántulas (no considerando la familia) para cada atributo.

Para el caso de la herbivoría simulada, los resultados obtenidos mostraron consistentemente, en las tres mediciones posteriores a la aplicación del tratamiento (7, 41 y 80 días), un efecto no significativo de la herbivoría para tres de los cuatro atributos evaluados: longitud, diámetro basal y área foliar (tabla 10, FIG. 11). El número de hojas mostró diferencias al  $t_1$  (Tabla 10 A) y al  $t_2$  (Tabla 10 B) y esto parecía deberse a que las plantas tratadas tiraron las hojas perforadas rápidamente, según observaciones hechas (Fig. 11). En el  $t_3$  las diferencias asociadas a los tratamientos habían dejado de ser significativas en todas las variables medidas (Tabla 10 C, Fig. 11).

Cuando se evaluó la variación por efecto de las familias, se encontraron diferencias significativas en todos los tiempos para tres de los cuatro atributos medidos: longitud, número de hojas y área foliar (Figura 12 ). El diámetro basal no se detectó como significativamente diferente entre familias (tabla 10), debido posiblemente a lo burdo de la resolución del método de medición de este tamaño del tallo de las plántulas (entre 2 y 3 mm).

## **DISCUSION**

En los análisis cromatográficos realizados a plántulas y adultos, se puso de manifiesto la existencia de diferencias químicas entre los dos grupos de edades. Estas diferencias encontradas en las plántulas con respecto de los adultos, muestran la

presencia de dos compuestos o grupos de compuestos volátiles presentes en plántulas y que están ausentes en organismos adultos. El presente estudio sólo puede demostrar que existen diferencias químicas en *Cecropia obtusifolia* en etapas contrastantes de su vida, pero no se puede afirmar que estas diferencias en la química estén involucradas en la defensa contra los herbívoros. Esto es, es posible que los compuestos presentes en las primeras etapas de crecimiento de *Cecropia* pueden estar relacionados con funciones que no tengan nada que ver necesariamente con la defensa. Aún así, el hecho de haber encontrado estas diferencias, podría dar justificación a un futuro trabajo que tuviera como objetivo determinar si los dos compuestos registrados tienen características antiherbívoros, y explorar si hay compuestos no volátiles diferentes entre brinzales y plantas mayores.

Con respecto al impacto que tiene la defoliación, los resultados no mostraron un efecto sobre los atributos medidos como consecuencia del tratamiento de herbivoría en plántulas de *Cecropia obtusifolia* hasta los 6 meses de edad.

Las plántulas pueden representar un recurso importante para herbívoros, debido posiblemente a la cantidad de semillas que germinan en los claros, además de que es en estos sitios donde la diversidad de herbívoros es mayor que en zonas de selva madura ó inalterada (Coley 1987), sin que esto necesariamente signifique mayor potencial de herbivoría. Así, las plántulas sufren una considerable presión por parte de los herbívoros en estos sitios (Nuñez-Farfán y Dirzo 1988), adquiriendo una relevante importancia el tipo de defensa mediante el cual escapan de sus depredadores. De acuerdo con los resultados encontrados, una manera como las plántulas podrían enfrentar el daño por herbívoros en esta etapa previa a la colonización por hormigas

podría ser la tolerancia. Aunque el nivel del 50% de herbivoría se aplicó en una sola ocasión, es importante hacer notar que se trata de un daño considerado alto y presente en las plántulas en condiciones naturales. Por las características de los sitios donde crecen, las plántulas de *C. obtusifolia*, podrían ser evidentes a los herbívoros que frecuentan los claros. La tolerancia parece ser una estrategia de defensa en las plántulas de *Cecropia obtusifolia*, contra herbívoros, y que se mantiene al menos hasta los 80 días de sufrido el daño. Por ejemplo, *Heliocarpus appendiculatus* tolera hasta 50% de defoliación sin reducir la sobrevivencia del individuo o foliar (Nuñez-Farfán y Dirzo 1991).

Se debe tener claro que el tipo de daño aplicado a las plántulas fue mecánico (perforaciones con un orador), siendo tal vez poco realista desde un punto de vista riguroso aunque semejaba bien en aspecto y cantidad de material consumido en condiciones naturales. Los mecanismos fisiológicos por los cuales la planta toleraría la herbivoría no quedan claros debido a que no se realizaron evaluaciones fisiológicas de ningún tipo.

Aunque no se ha reportado el mecanismo fisiológico por el cual *Cecropia obtusifolia* podría estar compensando el daño, el proceso posiblemente involucrado esté relacionado con la fotorespiración (C. Vázquez-Yanes, com. pers.). Una planta puede estar "sobrada" en área foliar. Así, *Cecropia* estaría fotosintetizando de más y los productos fabricados "extras" estarían siendo eliminados por la fotorespiración. Este proceso es común en plantas con fotosíntesis del tipo  $C_3$  como *Cecropia*. De esta manera, si una planta pierde la mitad del área foliar cabría suponer que aún con este detrimento la planta esté funcionando fisiológicamente al 100%, y entonces lo que se

vería disminuido sería la fotorespiración. Esto no afectaría necesariamente alguno de los atributos medidos en las plántulas y plantearía además, para experimentos futuros, la posibilidad de probar el papel de la fotorespiración en procesos como el explicado arriba, y que podría entenderse como el vertedero de los productos excedentes.

Una tentativa explicación de porqué no se encontraron diferencias en el desempeño de las plántulas, podría ser que los atributos medidos en el experimento (altura, diámetro basal, área foliar y número de hojas) no fueron los adecuados para evaluar los cambios que se pudieran dar en el desempeño de las plantas. Esto es, que aunque se hubieran dado cambios, no fueron detectados con las características que se midieron. Por ejemplo, las hojas producidas inmediatamente después de inducida la herbivoría pudieron haber presentado cambios en sus características fisiológicas por cambios en las concentraciones de metabolitos o de nutrientes. Si esto ocurrió no pudo ser detectado.

Una característica interesante encontrada en el presente estudio, es la existencia de variabilidad en los atributos de desempeño entre familias, y consistente en los individuos pertenecientes a cada una de ellas ( Figura 12). Se observó que existen familias que pueden crecer más en altura (familias 6, 8, 9 y 5 por ejemplo) que otras (familias 1 y 4), mientras algunas pueden desarrollar tallos mas gruesos (familia 1) a diferencia de otras (familia 10), aunque en el ANOVA general el DB no mostró diferencias significativas. Así también el crecimiento en número de hojas y área foliar están mejor representados en algunas familias. Esto podría resultar interesante desde el punto de vista de las estrategias de crecimiento de las plántulas, que pudiese ser un componente importante en la colonización de claros. El hecho de encontrar

variabilidad en estos atributos entre familias y que los organismos pertenecientes a una misma FG tengan poca varianza parece sugerir dos cosas:

1. Puede existir un componente notable de heredabilidad en elementos del desarrollo de plántulas como lo son el crecimiento en altura y en diámetro del tallo, así como el número de hojas producidas y el área foliar.
2. Si estos resultados persistiesen en el campo, se podría interpretar que existen para la misma especie, varias formas de enfrentar un desafío ambiental, como es el establecimiento en un sitio. De esta manera, podría existir más de una estrategia exitosa para que *C. obtusifolia* se establezca y crezca en un claro. Algunas plantas (posiblemente agrupadas en familias) pueden elongar el tronco preferentemente que engrosarlo, mientras otras tienen la conducta contraria. Explorar estas estrategias nos redituaria en información sobre las presiones a las que las plantas se ven sometidas en su ambiente, y de las estrategias que desarrollan ante estas.

Finalmente, cabría preguntarse cuál ha sido el escenario evolutivo que ha permitido la aparición y permanencia de dos sistemas de lidiar contra los herbívoros, si suponemos que los compuestos químicos son defensivos, siendo que uno solo de ellos (la tolerancia) parece ser efectivo para compensar niveles de hasta el 50% de pérdida del área foliar. Una aproximación a este nivel sería de enorme interés en el conocimiento de las interacciones planta-herbívoro que puedan darse en los sistemas tropicales. Entre muchas otras posibilidades podría sugerir:

1. La existencia de niveles de daño a los que la defensa química pudiera ya no ser rentable, resultando funcional en ese momento la tolerancia. Si además de el costo que significa la defensa química, la planta tiene que enfrentar el costo de una pérdida de tejido, podría resultar más económico encarar el daño ocasionado por los herbívoros sólo cuando éste se presente, en vez de padecer constantemente los costos involucrados por la defensa química.
2. La posibilidad de que en la historia evolutiva de la planta hayan existido presiones por herbivoría que actualmente ya no detectamos. Estas pudieron haber favorecido el desarrollo de mecanismos de defensa que actualmente observamos, en este caso defensa química, y que parecerían en el presente no tener significado ("el fantasma de la herbivoría pasada") de manera similar a como se ha propuesto para el caso de algunos frutos que presentan características que sugieren la acción de dispersores frugívoros extintos en la actualidad, pero que probablemente moldearon las actuales propiedades observadas en esos frutos (Janzen y Martin 1986), o de manera similar a cómo la estructura de algunas comunidades vegetales pueden verse modificadas una vez que desaparecen sus herbívoros originales (cf Janzen y Martin 1986) o contemporáneos (Dirzo y Miranda 1991).

Otro punto importante a considerar es el de los costos energéticos de la defensa. Si la presencia de dos mecanismos de defensa como son la tolerancia y la química confieren mayores ventajas que uno solo, además de resultar económico para

la planta producirlos, podría ser rentable este fenómeno. Una forma de poner a prueba esta especulación es rebasar los niveles de defoliación aplicados en estos estudios.

Con respecto a la defensa en plántulas analizada en este capítulo, podemos concluir que una posible vía de defensa en el corto plazo, y en cierto nivel de daño, puede ser la tolerancia, evaluada en atributos de crecimiento y desempeño de individuos de 6 meses de edad. Aunque se encontró que existen diferencias en características químicas en plántulas comparativamente con individuos adultos, se desconoce si estas tienen alguna participación en la defensa contra herbívoros.

## **CAPÍTULO V**

# **PRODUCCIÓN DE CUERPOS MÜLLERIANOS**

## INTRODUCCIÓN

Los resultados del primer capítulo indican que las plantas de *C. obtusifolia* sufren un aumento considerable en el daño por herbívoros como consecuencia de la pérdida de su colonia de hormigas. Este mayor daño en las plantas sin colonia defensiva se traduce en un menor crecimiento de las mismas, a diferencias de aquellas que conservan su colonia. Estos datos, así como los obtenidos por Schupp (1986) y los resultados similares que se han obtenido con algunas otras especies mirmecófilas (Janzen 1966, Schemske, 1982, etc., consultar además la tabla 2 del presente trabajo), señalan la ventaja que para la planta puede tener la interacción mirmecofílica. En contraste, la ventaja argumentada para las hormigas se ha considerado o supuesto ser de dos tipos: albergue en la planta y provisión de alimento. Bajo este escenario, se podría argumentar que, en el caso de *Cecropia obtusifolia* el papel defensivo de la colonia de hormigas reduce el daño que pudiera sufrir la planta por razones de su propio beneficio, ya que una planta defendida estará en mejores condiciones potenciales de ofrecer el recurso que las hormigas requieran para su propia sobrevivencia. Es de esperar que esto sea particularmente cierto en el caso de provisión de alimento, más que del albergue (ya que el primero es un atributo más dependiente del ambiente, mientras que el segundo es previsible que sea un atributo(s) menos plástico(s), o más fijo). Este aspecto de la interacción mirmecófila se ha analizado muy pobremente.

En el caso concreto de *Cecropia-Azteca*, esto se traduciría en evaluar cómo se afectaría la colonia de hormigas por un "mal funcionamiento" de su planta y, más

concretamente, equivaldría a preguntarse ¿De que manera se verá afectada la colonia de hormigas por los estragos ocasionados a la planta por los herbívoros naturales de la misma? Una manera de valorar esto último en la práctica, es medir la producción de cuerpos Mülllerianos (CM.) generados en plantas que han sufrido daño, y comparar esta producción con plantas testigo. La producción de CM podría ser el factor próximo con el que las plantas y las hormigas están conectadas en la respuesta al ataque de herbívoros. El corolario de ésto es que sería esperable, bajo una óptica Darwiniana, que la hormiga haga una defensa eficiente de la planta por su propio interés: el mantener una fuente activa de producción de cuerpos alimenticios.

El objetivo del presente capítulo es evaluar cómo es la respuesta de plantas de *Cecropia obtusifolia* al daño experimental (defoliación) en la generación de CM bajo condiciones controladas. Además, con el objeto de explorar la variación natural en la respuesta de las plantas, y debido a la disponibilidad de semillas provenientes de madres conocidas (las mismas que proveyeron las semillas para el experimento del Capítulo IV), se hicieron experimentos de defoliación experimental con plantas de 9 familias genéticas.

## MÉTODOS

El experimento de producción de CM se realizó utilizando las mismas plantas de la cohorte sembrada en el mes de septiembre del 1991 (ver Capítulo III). Una vez que se terminaron de tomar los datos del experimento del efecto de la herbivoría se esperó a que las plantas desarrollaran trichilia activos.

Las familias utilizadas en este experimento, las mismas que se utilizaron para los experimentos de herbivoría inducida en plántulas, a excepción de la familia 5 que se excluyó del experimento debido a que presentaba pocos individuos.

Después del experimento de herbivoría experimental, se procedió a trasplantar a bolsas más grandes todas las plantas del invernadero. Esto con la finalidad de que las plantas tuvieran suficiente tierra donde crecer. Continuamente eran eliminadas las malezas que crecían en la tierra de las bolsas. Además, cinco meses antes de este experimento, todas las plantas fueron fertilizadas. El fertilizante que se utilizó fue "Triple 17". La cantidad aplicada fue aproximadamente 10 g por cada bolsa de tierra. Esto se realizó en dos ocasiones separadas por un mes de diferencia.

A principios de marzo de 1993 se seleccionaron todas las plantas que presentaban trichilia activos. Las restantes, que aún no los tenían, fueron descartadas este experimento.

A cada una de las plantas utilizadas en este experimento se les midieron los siguientes parámetros: altura, diámetro basal y área foliar. Todas estas características fueron medidas de igual forma que en experimentos anteriores (capítulos III y IV).

Se aplicó un tratamiento de herbivoría consistente en la remoción manual del 40% del área foliar de cada hoja en cada planta de este tratamiento. La elección de

este nivel de daño se hizo con base en los resultados obtenidos con los experimentos de campo, en los que una herbivoría del 40% fue de los niveles más altos encontrados, que se da en condiciones naturales (ver capítulo II del presente trabajo). Una vez aplicados los tratamientos, se precedió a limpiar de CM, cada trichilia de todas las plantas, con el objetivo de que todos los CM contados en adelante fueran los producidos después de aplicado el tratamiento.

Se marcó cada una de las hojas de cada planta. La hoja más vieja y más alejada del ápice de crecimiento tenía siempre el número 1, aumentando la numeración en dirección del ápice de crecimiento de la planta, de tal forma que la hoja más joven tenía siempre el número más grande.

Se colocó bajo cada trichilia un recipiente hecho de papel aluminio. Esto se hizo con la finalidad de detectar la caída de CM en períodos menores a los transcurridos entre dos colectas.

Se contaron (con ayuda de un contador mecánico) todos los CM producidos diariamente por cada trichilia. Una vez contados, se bajaron con un pincel al contenedor de aluminio ubicado bajo cada trichilia. Dichos conteos se realizaron siempre por la mañana entre las 6:00 y las 9:00 AM, siendo el tiempo transcurrido entre cada conteo de aproximadamente 24 horas.

Se hicieron conteos en dos ocasiones. La primera inmediatamente después (1 día) de aplicada la herbivoría. En esta ocasión se contaron los CM diariamente durante 9 días (del 10 al 18 de marzo de 1993). Aunque no era esperable un efecto a tan corto plazo, este conteo inmediato permitiría ver si existían diferencia en la producción de CM intrínseca a las plantas. El segundo conteo se realizó aproximadamente 6

semanas después de aplicado el tratamiento y los CM se contaron también diariamente durante 9 días (del 9 al 17 de Mayo de 1993).

## RESULTADOS

El análisis de los resultados (producción de CM) en los dos muestreos se realizó con análisis de varianza de dos vías (MANOVA's). Las fuentes de variación consideradas en el experimento fueron la familia y los tratamientos (defoliación al 40% y testigos).

Las plantas de ambos tratamientos produjeron alrededor de 300 CM durante nueve días en el mes de marzo y cerca de 1400 (en los mismos nueve días) en el mes de mayo. No se encontraron diferencias entre tratamientos en ninguno de los dos muestreos (Figura 13), ni tampoco analizando los datos en conjunto (Tabla 11). En el mes de marzo las plántulas de las diferentes familias produjeron en promedio entre 300 (familia 9) y 450 (familia 3) CM por 9 días (Figura 14a). No obstante hubo variación considerable dentro de las familias analizadas, y el ámbito de variación entre familias es estadísticamente no significativo (Tabla 11), de igual manera como tampoco resulto significativa la interacción (Familia x Tratamiento). En el mes de mayo los resultados fueron semejantes al muestreo anterior; aunque la producción de CM aumentó casi cuatro veces con respecto a marzo, no se encontraron diferencias significativas entre las diferentes familias genéticas (Tabla 11, Fig. 14b).

Tabla 11. Resultados del análisis de varianza sobre la producción de cuerpos Müllerianos en plantas juveniles de *Cecropia obtusifolia* (ANOVA multiple) registrados en dos ocasiones (marzo y mayo), y mostrando las dos fuentes: tratamiento (40% de defoliación artificial y testigo) y familia genética.

Fuente	Marzo		Mayo	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Tratamiento	0.22	0.64	0.05	0.82
Familia	0.88	0.53	1.31	0.24
Interacción (T x F)	1.15	0.34	1.84	0.07

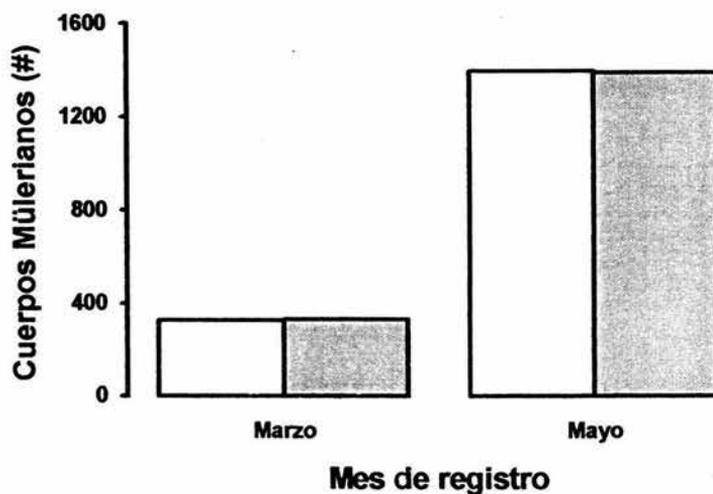


Figura 13. Producción de cuerpos Müllerianos en 9 días, en plantas juveniles de *Cecropia obtusifolia* bajo dos tratamientos de defoliación: 40% del área foliar removida (□) y testigo (■). Se muestran los promedios de producción de cuerpos Müllerianos en dos conteos independientes

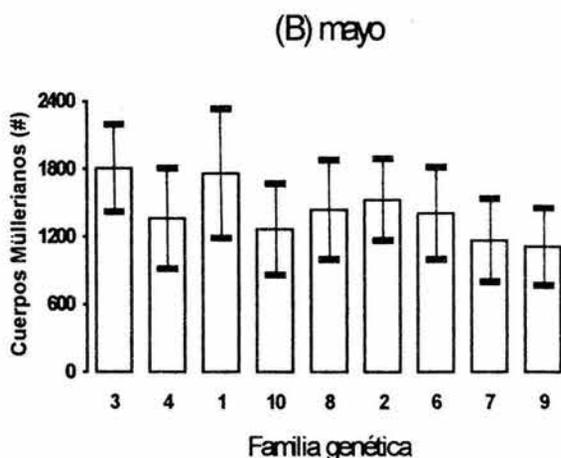
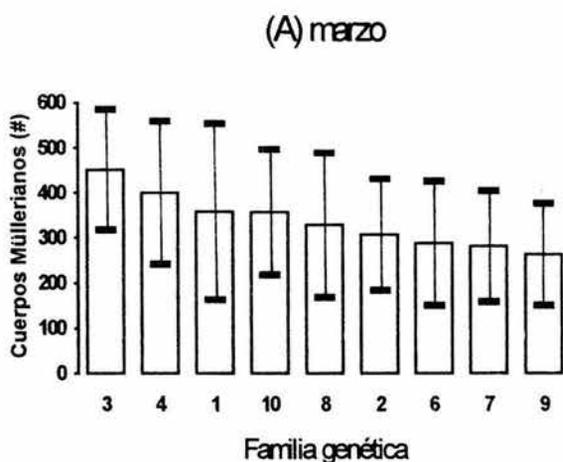


Figura 14. Producción de cuerpos Müllerianos en plantas juveniles de *Cecropia obtusifolia* de 9 familias genéticas estudiadas en dos tiempos de registro (marzo y mayo). Se muestran los promedios de cuerpos Müllerianos producidos ( $\pm$  desviación estándar) por individuo de cada familia durante los 9 días que duró cada registro.

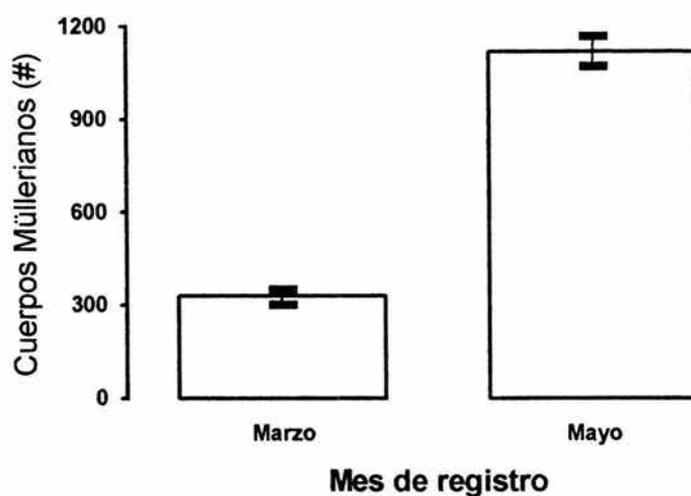


Figura 15. Promedios ( $\pm$  desviación estándar) de la producción de cuerpos Müllerianos para plantas juveniles de *Cecropia obtusifolia* en dos fechas de registro (marzo y mayo). El tiempo transcurrido entre ambos registros es de seis semanas.

Se observó (Fig. 15) que en el mes de mayo aumento notablemente la producción (con un promedio de 1118 CM. producidos por planta) con respecto a Marzo (329).

Aunque la diferencia es muy marcada, se analizó el número de CM producidos en los dos diferentes muestreos para detectar si las diferencias eran significativas (ANOVA de medidas repetidas). Los resultados de este análisis mostraron que las diferencias son altamente significativas ( $F= 202.51$ ,  $P<0.001$ ). Para este análisis se consideró solo al mes de colecta, no tomándose en cuenta la familia genética ni el tipo de tratamiento ya que, como se vio más antes, estos factores no afectaron la producción de CM.

## DISCUSIÓN

La producción de cuerpos Mülllerianos no se vio afectada por un daño artificial de 40% de pérdida de área foliar. Este fue un resultado inesperado, debido a que en trabajos recientes (Folgarait *et al.* 1994) se ha evaluado cómo se ve afectada la producción de CM a diferentes niveles de disponibilidad de nutrientes y de luz, observándose incrementos significativos en la producción de estos corpúsculos conforme aumenta la oferta de los recursos. Con este antecedente, el resultado esperado era una disminución en la producción de CM por efecto de la pérdida del área foliar. Este resultado también era esperable bajo la hipótesis seleccionista de que las hormigas hacen la defensa por razones de su beneficio intrínseco (contar con un alta producción de alimento).

Una de las posibles causas que explican el nulo impacto que tiene la defoliación sobre la producción de los cuerpos Müllermanos, podría ser que los niveles de daño aplicados a las plantas no fueron lo suficientemente altos. Esto es, que el nivel de daño aplicado no llegó a un umbral importante para afectar la producción de CM. A este respecto podemos decir que un daño del 40% es un nivel alto pero que ocurre en condiciones naturales (Nuñez-Farfán y Dirzo 1988, Schupp 1986, de la Cruz y Dirzo 1987, datos del capítulo II del presente estudio). Por razones de espacio físico en el invernadero y de disponibilidad de material biológico (plantas) no fué posible utilizar más categorías de daño, aunque habría sido interesante aplicar grados mayores de daño que también se advierten en el campo (obs. pers.). Probablemente niveles de daño mayores a los utilizados podrían marcar diferencias en la producción de CM.

Otra causa probable de que no se presenten diferencias es que éstas no se detectan en el número de CM producidos sino en su calidad. A este respecto podemos argumentar que la producción de CM se evaluó por conteo directo y no se empleó ninguna técnica para evaluar su calidad nutricional. Por efecto de la defoliación aplicada se pudieron haber modificado propiedades nutricionales de los c. Müll. importantes para la colonia defensora. Si esto llegó a ocurrir, no se puede detectar con el presente estudio. En trabajos posteriores se intentará responder a esta pregunta, ya que se cuenta con los CM colectados durante el experimento. De cualquier manera, y como una primera aproximación para la evaluación de la calidad, se buscaron diferencias en el peso de CM producidos por plantas control y plantas defoliadas sin detectar ninguna diferencia (análisis de varianza,  $F=0.032$ ,  $P > 0.8$ ). Por lo tanto, en lo

que se refiere al peso como una medida de calidad no parece haber diferencias entre los dos grupos de plantas.

Otra posible explicación de estos resultados es que el daño aplicado a la planta solo representa una pérdida de área foliar y no, necesariamente, el efecto de los herbívoros. Aspectos como el tipo de corte, o la acción de las secreciones del herbívoro en el tejido seccionado son factores que no pueden ser imitados en los experimentos de remoción de área foliar. Se ha probado experimentalmente que se puede inducir la defensa en algunas plantas colocando secreciones del herbívoro (como la saliva) en los sitios donde fue cortada la hoja (Dettleing, et al. 1980). Si este tipo de inducción está presente en *Cecropia*, y si además tomamos en cuenta que los CM son estructuras de la planta involucradas en la defensa, los resultados podrían estar enmascarando un impacto real del ataque por herbívoros a las plantas. Si esto fuera cierto, los resultados estarían ponderados por la pérdida del área foliar, y no por el efecto de herbivoría, además de que, como ya se vió en el Capítulo IV, *Cecropia* puede soportar niveles considerables de defoliación sin aparentes efectos negativos en la etapa de plántulas. Hay que recordar también que para este experimento las plantas de *Cecropia* no habían tenido ninguna experiencia previa de colonización por hormigas defensoras, y aunque ya eran activas en la producción de CM, aun no se presentaba defensa por hormigas, manifestándose, en alguna medida tal vez, la tolerancia encontrada en plántulas.

De manera alternativa, sería importante considerar que la producción de CM pudiera ser un carácter adaptativo fijo en *Cecropia*, explicado en parte debido a que la herbivoría resulta muy costosa para la planta y que podría comprometer a la

interacción. Si esto es cierto, la evolución de la planta pudo haber estado dirigida a fijar el carácter de producción de CM, pudiéndose ver reflejado el impacto del daño en otros atributos de desempeño de la planta, no arriesgando así ninguna de las características que mantienen la interacción y esperando, además, que la colonia de hormigas pudiera llegar en cualquier momento a establecerse en la planta (C. Horvitz, com. pers.).

Considerando la aplicación de daños de 40% de defoliación se puede afirmar que *Cecropia obtusifolia* es sobreproductora de CM. Esto podría explicarse si niveles de 40% de pérdida del área foliar no afectan negativamente los recursos con los que cuenta la planta, por lo tanto, la hormiga estaría sobredefendiendo a la planta y teniendo un desempeño subóptimo debido a que la hormiga podría estarse alimentando y viviendo en la planta sin aparentemente realizar ninguna actividad de defensa. De acuerdo con la teoría de juegos y estrategias evolutivamente estables (Maynard-Smith 1982), este tipo de sistemas podrían dar pie a la invasión de "tramposos" ("cheaters") en el sistema, debido a que las hormigas que no defendieran a la planta podrían estar viviendo, alimentándose y posiblemente desplazando a colonias potencialmente defensoras. La presencia de colonias poco agresivas fue un hecho observado recurrentemente en el campo. Estas observaciones, aunque anecdóticas, sugieren la existencia de "aprovechados" (*sensu* Soberón y M. del Río 1985) dentro de la interacción.

Un resultado interesante e inesperado en este experimento fue que entre las dos fechas de conteo (6 semanas entre una y otra) aumentó la producción de CM casi

4 veces. Por lo que respecta a este resultado, no se tenía ninguna hipótesis *a priori*, y considero que, además de los cambios ambientales que pudieran ser responsables de este aumento, está también la acción de remover los CM de los trichilia. Resulta claro que para poder afirmar ésto con seguridad se debió haber contado con un experimento específico, no obstante, el cambio en la producción de CM surge como una observación emergente, pero lo suficiente robusta como para expresar una serie de ideas acerca de su interpretación.

Es un hecho notable que el promedio de la producción de CM en Mayo (1118 /planta) aumentó casi cuatro veces con respecto a Marzo (329 /planta), sin que se detectaran diferencias significativas en los tamaños o número de hojas de las plantas, entre estas dos fechas. Se puede especular que la remoción de CM podría ser la manera como la planta "percibe" que ha sido colonizada por hormigas. Una interpretación relacionada con ésto es que las plantas antes de ser colonizadas producen una cantidad de CM como atrayentes de las hormigas reinas que fundan las colonias. Una vez que comienza la actividad de las hormigas, la remoción se vuelve continua. El aumento en la producción de CM puede estar favoreciendo que la colonia se establezca y crezca, siendo la baja producción previa a la remoción una forma de economizar recursos, que cuando no tienen consumidores, en este caso la colonia de *Azteca*, se pierden. (Se observó en el campo que los CM se pierden por caída al suelo, invasión por hongos en los trichilia, robo por hormigas oportunistas, robo por aves, y por consumo de la larva de un escarabajo que se establece directamente sobre el trichilia.)

Un punto importante que hay que recalcar, es el hecho que en este experimento ninguna planta había tenido experiencia previa de colonización, ya que todas las plantas se mantuvieron en el invernadero desde su germinación. Esto, aunado a los resultados del capítulo IV, podría sugerir que la tolerancia, que puede estar presente en plántulas, también se encuentra en plantas juveniles precolonizadas, evaluando esta tolerancia como la producción de CM.

En base a la última observación, resulta interesante preguntarse en qué momento de su desarrollo la planta cambia (si es que lo hace) de mecanismo de defensa, y si se abandona por completo la tolerancia, en presencia de la defensa por hormigas.

Una visión alternativa de lo que podría estar ocurriendo en el proceso de establecimiento de una colonia en una planta, surge si consideramos a la planta como un recurso para la colonia. De esta manera, las colonias de *Azteca* tendrían que competir por el recurso, en este caso, las plantas de *Cecropia* (Davidson, et al. 1989). El número de plantas colonizables es limitado, mientras que el número de reinas de *Azteca* que vuelan cada temporada de lluvias es excesivo. Todas las plantas de *Cecropia* juveniles serían colonizadas, mientras que muchas de las reinas potencialmente colonizadoras morirían sin fundar una colonia. Desde este punto de vista, *Cecropia* podría tener colonias de sobra, como de hecho está ocurriendo. En el campo, he observado que individuos juveniles de *Cecropia* con una altura entre 1 y 1.5 m pueden llegar a tener hasta 18 colonias de hormigas coexistiendo al mismo tiempo. Dan Perlman (com. pers.) ha llegado a contar 21 colonias también en plantas juveniles,

pero a la edad adulta (aproximadamente 10 m de altura) sólo se mantiene una colonia de hormigas en cada planta (D. Perlman, coms. pers.). Estas observaciones hacen reflexionar acerca lo importante que es *Cecropia* como recurso para la colonia de *Azteca*. Un área de interés que surge de estas observaciones puede ser el estudio de las características que presentan las colonias que finalmente logran establecerse en un árbol. La aparente sobre abundancia de reinas colonizadoras potenciales es compatible con la interpretación de que la producción de CM es un atributo que dada su importancia adaptativa, no despliega variación inducible por factores tales como la herbivoría (hasta un 40%)

Así pues, el papel de los cuerpos Mülllerianos en un principio de la interacción podría ser la de proveer recursos alimenticios a la colonia, mientras que la competencia entre las hormigas es el factor que favorece a la colonia que mejor protege a la planta.

Considerando los resultados y datos arriba presentados, el panorama general que se nos muestra es el de una interacción poco obligada desde el punto de vista de la hormiga. Si la planta está produciendo los CM sin al parecer ningún "compromiso" por parte de la colonia, surge como una duda el papel evolutivo de la hormiga dentro de la interacción. O bien, la mirmecofilia entre *Cecropia* y *Azteca* es relativamente joven en el escenario evolutivo como para que se encuentren desarrollados mecanismos de regulación tan específicos como los que esperaban detectarse. Un estudio que apoya esta reflexión es el de Janzen (1973), quién ha demostrado la plasticidad de la interacción *Cecropia-Azteca* observando plantas de la misma especie

en sitios con presencia de enemigos naturales, y en sitios de reciente colonización donde aún no han llegado esos enemigos (continentes e islas respectivamente). Lo que Janzen observa es que en plantas establecidas en islas los trichilia son mas pequeños o incluso desaparecen, comparativamente con las plantas del continente, rompiéndose la interacción con las hormigas. Algo semejante ocurre con plantas introducidas a sitios donde originalmente no se les encontraba (e.g. Malasia). Los efectos más notorios son la variación en la producción de CM y trichilia y que está asociada a la ausencia de hormigas mutualistas. Estas variaciones, se argumenta, pueden quedar no evidentes en sitios como los neotrópicos (Putz y Holbrook 1988).

## **LITERATURA CITADA**

- Alvarez-Buylla, E. *Cecropia obtusifolia* Bertol. (Moraceae): un árbol pionero neotropical. Historia Natural de Los Tuxtlas (en prensa).
- Barnwell, F. H. 1967. Daily patterns in the activity of the arboreal ant *Azteca alfari*. Ecology 48: 991-993.
- Beattie, A. J. 1985. The evolutionary ecology of ant-plant mutualism. Cambridge University Press, Cambridge.
- Bentley, B.L. 1976. Plants bearing extrafloral nectaries and the associated ant community: Interhabitat differences in the reduction of herbivore damage. Ecology 57:815-820.
- Bentley, B.L. 1977. Extrafloral nectaries and protection by pugnacious bodyguards. Ann. Rev. Ecol. Syst. 8:407-427.
- Bernstein, R.A. 1979(a). Evolution of niche breadth in populations of ants. The American Naturalist. 114 (4):533-544.
- Bernstein, R.A. 1979(b). Schedules of foraging in species of ants. Journal of Animal Ecology. 48: 921-930.
- Bernays, E. S. 1991. Evolution of insect morphology in relation to plants. En: Chaloner, W.G., J.L. Harper & J.H. Lawton (Eds.). The evolutionary interaction of animals and plants. The Royal Society. London.
- Blom, P.E. y W.H. Clark. 1980. Observations of ants (Hymenoptera: Formicidae) visiting extrafloral nectaries of the barrel cactus, *Ferocactus gracilis* Gates (Cactaceae), in Baja California, Mexico. The Southwestern Naturalist 25(2):181-196.
- Boucher, D.H., S. James, K.H. Keeler. 1982. The ecology of Mutualism. Ann. Rev. Ecol. Syst. 13:315-347.
- Brattsten, L.B. 1979. Biochemical defense mechanisms in herbivore against plant allelochemicals. En: Rosenthal, G. A. y D. H. Janzen (Eds.). Herbivores: Their interaction with secondary plant metabolites. Academic Press. New York.
- Brower, L. P. 1969. Ecological Chemistry. Scientific American 220: 22-29.
- Buckley, R.C. 1987. Interactions involving plants, homoptera and plants. Ann. Rev. Ecol. Syst. 18:111-135.
- Cargill, S.M. & R.L. Jefferies. 1984. The effects of grazing by lesser snow geese on the vegetation of a sub-arctic saltmarsh. J. appl. Ecology 21: 669-686.

- Carroll, C.R. 1991. Hormigas Azteca. En: D. H. Janzen (Editor). *Historia Natural de Costa Rica*. Editorial de la Universidad de Costa Rica. San José de Costa Rica, pp. 703-704
- Carroll, C.R. y D.H. Janzen. 1973. Ecology of foraging by ants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 4:231-257.
- Chaloner, W.G., A.C. Scott & J.C. Stephenson. 1991. Fossil evidence for plant - arthropod interactions in the paleozoic and mesozoic. En: Chaloner, W.G., J.L. Harper & J.H. Lawton (Eds.). *The evolutionary interaction of animals and plants*. The Royal Society. London.
- Chaloner, W.G., J.L. Harper & J.H. Lawton (Eds.). 1991. *The evolutionary interaction of animals and plants*. The Royal Society. London.
- Clark, D.A., R. Dirzo y N. Fetcher (eds.). *Ecología y ecofisiología de plantas en los bosques mesoamericanos*. *Revista de Biología tropical* 35, suplemento 1.
- Coley, P.D. 1983a. Intraspecific variation in herbivory on two tropical tree species. *Ecology* 64(3) 426-433.
- Coley, P.D. 1983b. Herbivory and defensive characteristic of tree species in lowland tropical forest. *Ecological Monographs* 53(2):209-233.
- Coley, P. D., J. P. Bryant, y F. S. Chapin III. 1985. Resource availability and plant anti-herbivore defense. *Science*, 230: 895-899.
- Coley, P.D. 1987. Patrones en las defensas de las plantas: ¿Porque los herbívoros prefieren ciertas especies? En: Clark, D.A., R. Dirzo y N. Fetcher (eds.). *Ecología y ecofisiología de plantas en los bosques mesoamericanos*. *Revista de Biología tropical* 35, suplemento 1.
- Connell, J.H. 1971. On the role of natural enemies in preventing competitive exclusion in some marine animals and in rain forest trees. En: *Dynamics of populations* ( P. J. den Boer y G. R. Gradwell eds). *Proceedings of the advanced study institute in dynamics of number of populations*, Oosterbeck. Centre for agricultural Publishing and documentation, Wageningen.
- Crawley, M.J. 1983. *Herbivory*. University of California Press, Berkeley.
- Davidson, D.W. 1988. Ecological studies of neotropical ant gardens. *Ecology* 69 (3):1138-1152.
- Davidson, D.W., R.R. Snelling y J.T. Longino. 1989. Competition among ants for myrmecophytes and the significance of plant trichomes. *Biotropica* 21 (1):64-73.

- de la Cruz, M. y R. Dirzo. 1987. A survey of the standing levels of herbivory in seedlings from a mexican rain forest. *Biotropica* 19 (2): 98-106.
- Dethier, V. G. 1954. Evolution of feeding preferences in phytophagous insects. *Evolution* 8 : 33 - 54
- Detleing, J.K., D.T. Winn, C. Prector-Gregg, & E.L. Painter. 1980. Effects of simulated grazing by below-ground herbivores on growth, CO<sub>2</sub> exchange and Carbon allocation paterns of *Bouteloa gracilis*. *J. Appl. Ecol.* 17: 771-78.
- Dirzo, R y J.L. Harper. 1982. Experimental studies of slug-plant interactions. III. Differences in the acceptability of individual plants of *Trifolium repens* to slugs and snails. *Journal of Rcology.* 70: (3) 101-118.
- Dirzo, R y J.L. Harper. 1982. Experimental studies of slug-plant interactions. IV. The performance of cyanogenic and acyanogenic plants of *Trifolium repens* in the field. *Journal of Ecology* 70: (4) 119-128.
- Dirzo, R. 1983. Sobre el significado de "co" en co-evolución. *Boletín de la Sociedad Botánica de México.* 44: ) 91-94.
- Dirzo, R. 1984. Herbivory: A phytocentric overview. En: Dirzo, R. & J. Sarukhan (eds.) *Perspectives in plant population ecology.* Sinauer, Sunderland, Massachusetts.
- Dirzo, R. 1985. Metabolitos secundarios en las plantas: ¿Atributos panglosianos o de valor adaptativo?. *Ciencia* 36: 137-145.
- Dirzo, R. 1986. *Insectos y plantas: Protagonistas de una historia de la vida.* Secretaria de Educación Pública - UNAM. México
- Dirzo, R. 1987. Estudios sobre interacciones planta-herbívoro en Los Tuxtlas, Veracruz. En: Clark, D.A., R. Dirzo y N. Fetcher (eds.). *Ecología y ecofisiología de plantas en los bosques mesoamericanos.* *Revista de Biología tropical* 35, suplemento 1.
- Dirzo, R. 1991. Rescate y restauración ecológica de la selva de Los Tuxtlas. *Ciencia y Desarrollo* XVII:(97) 33-45.
- Dirzo, R. y F.S. Chapin III. 1987. Algunos problemas importantes en el estudio de las interacciones planta-herbívoro en los bosques tropicales. *Rev. Biol. Trop.*, 35 (supl.1) 207-211.
- Dirzo, R. y A. Miranda. 1991. Altered patterns of herbivory and diversity in the forest undertory: a case of the possible consequences of contemporary defaunation. En: Price, P. W., T. M. Lewinsohn, G. W. Fernandes & W.W. Bemson (Eds.) *Plant-*

Animal interactions: Evolutionary ecology in tropical and temperate regions. Wiley and sons Pub. USA.

- Dominguez, C., R. Dirzo y S. H. Bullock. 1989. On the function of floral nectar in *Croton suberosus* HBK (Euphorbiaceae). *Oikos* 54: (15) 71-74
- Dominguez, C., R. Dirzo. 1995. Plant herbivore interactions in Mesoamerican tropical dry forest. En Bullock, S. H.A. Mooney, y E. Medina: Seasonally dry tropical forest. Cambridge University Press. Cambridge.
- Dobzhansky, T. 1951. Genetics and the origen of the species (3a. ed). Columbia University Press, New York.
- Ehrlich, P.R. y P.H. Raven. 1964. Butterflies and Plants: A study on coevolution. *Evolution* 18:586-608.
- Fenny, P. 1976. Plant apparency and chemical defense. En: Wallace, J. (Edit). Recent advances in phytochemistry, Biochemical interactions between plants and insects. v 10. Plenum, London, New York.
- Folgarait, P.J., H. L. Johnson y D. W. Davidson. 1994. Responses of *Cecropia* to experimental removal of Müllerian bodies. *Fuctional Ecology* 8: 1.
- Font Quer, P. 1973. Diccionario de botánica. Ed. Labor, Barcelona.
- Fraenkel, G. S. 1959. The raison d' etre of secondary plants sustancies. *Science* 129: 473-486.
- Fritz, R.S. & E.L. Simms (Eds.). 1992. Plant resistance to herbivores. Chicago University Press. Chicago.
- Futuyma, D. D. 1986. Evolutionary biology. Second edition. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Green, T. R. y C. A. Ryan. 1972. Wound-induced proteinase inhibitor in plant leaves: a posible defense mechanism against insects. *Science* 175: 776-77.
- Harper, J. L. 1977. Population Biology of plants. Academic Press, London.
- Haukioja, E. 1991. The influence of grazing on the evolution, morphology and physiology of plants as modular organisms. En: Chaloner, W. G., J. L. Harper & J. H. Lawton (eds.) The evolutionary interaction of animals and plants. The Royal Society, London.

- Herrera, C.M. 1989. Seed dispersal by animals: A role in angiosperm diversification. *Am. Nat.* 133:309-322.
- Hölldobler, B. y E.O. Wilson. 1990. *The ants*. The belknap Press of Harvard University Press.
- Horvitz, C.C. y D.W. Schemske. 1984. Effects of ant and ant-tended herbivore on seed production of neotropical herb. *Ecology* 65 (5):1369-1378.
- Howe, H. F. y L. C. Westley. 1988. *Ecological Relationships of Plants and Animals*. Oxford University Press.
- Huxley, C.R. 1986. Evolution of benevolent ant plant relationships. En: Juniper, B. y R. Southwood (eds.). 1986. *Insects and the plant surfaces*. Edward Arnold LTD. London.
- Ibarra-Manríquez, G. y R. Dirzo. 1990. Plantas mirmecófilas arbóreas de la Estación de Biología "Los Tuxtlas", Veracruz, México. *Rev. Biol. Trop.* 38(1):79-82.
- Inouye, D.W. y O.R. Taylor Jr. 1979. A temperate region plant-ant-seed predator system: consequences of extrafloral nectar secretion by *Helianthella quinquenervis*. *Ecology* 60 (1):1-7.
- Janzen, D.H. 1966. Coevolution of mutualism between ant and acacias in Central America. *Evolution* 20:249-275.
- Janzen, D.H. 1969. Allelopathy by myrmecophytes: The ants *Azteca* as an allelopathic agents of *Cecropia*. *Ecology* 50:147-153.
- Janzen, D.H. 1973. Evolution of polygynous obligate acacia-ants in western Mexico. *Journal of Animal Ecology* 42: 727-750.
- Janzen, D.H. 1973 (b). Dissolution of mutualism between *Cecropia* and its *Azteca* ants. *Biotropica* 5(1):15-28.
- Janzen, D. H. 1979. New horizons in the biology of plant defenses. En: Rosenthal, G. A. y D: H. Janzen (Eds.). *Herbivores: Their interaction whit secondary plant metabolites*. Academic Press. New York.
- Janzen, D. H. 1980. When is it coevolution. *Evolution* 34: 611-612
- Janzen, D.H. 1986. Chihuahuan desert nopaleras: Defaunated big mammal vegetation. *Annual review of ecology and systematics* 17: 595-636.

- Janzen, D. H. (Ed.) 1991. Historia Natural de Costa Rica. Editorial de la Universidad de Costa Rica. San José de Costa Rica.
- Janzen, D. H. y P. Martin. 1982. Neotropical anachronisms: What the gomphotheres ate. *Science* 215: 19-27.
- Jimenez-Sierra, C. L. 1988. Estudios experimentales sobre la aceptabilidad del follaje de plantas tropicales a insectos fitófagos. Tesis Maestría. Facultad de Ciencias, UNAM.
- Koptur, S. 1984. Experimental evidence for defense of *Inga* (Mimosoideae) saplings by ants. *Ecology* 65 (6): 1787-1793.
- Mackay, D.A. 1991. The effects of ants on herbivory and herbivore numbers on foliage of the mallee eucalypt, *Eucalyptus incrassata* Labill. *Australian Journal of Ecology* 16:471-483.
- Marquis, R. J. 1987. Variación en la herbivoría foliar y su importancia selectiva en *Piper arieianum* (Piperaceae). En: Clark, D.A., R. Dirzo y N. Fetcher (eds.). *Ecología y ecofisiología de plantas en los bosques mesoamericanos*. *Revista de Biología tropical* 35, suplemento 1.
- Maynard Smith, J. 1982. *Evolution and the theory of games*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Meyer, G.A. y M.E. Montgomery. 1987. Relationships between leaf age and the food quality of cottonwood foliage for the gypsy moth, *Limntria dispar*. *Oecologia* 72:527-532.
- Miranda, F. y E. Hernandez Xolocotzi. 1963. Los tipos de vegetación y su clasificación. *Boletín de la sociedad Botánica Mexicana* 28: 29-179
- Mossop, M.K. 1989. Comparison of seed removal by ants in vegetation on fertile and infertile soils. *Australian Journal of Ecology* 14: 367-374.
- Niemellä, P. y J. Tuomi. 1987. Does the leaf morphology of some plants mimic caterpillar damage? *Oikos*. 50: 2:256-257.
- Norris, D. M., y M. Kogan. 1980. Biochemical and morphological bases of resistance. En: Maxwell F. G. y P. R. Jennings, (Eds). *Breeding plants resistant to insects*. Jhon Wiley and Sons, New York.
- Nuñez-Farfan, J. y R. Dirzo. 1988. Within-gap spatial heterogeneity and seedling performance in a Mexican tropical forest. *Oikos* 51:274-284.
- Nuñez-Farfan, J. y R. Dirzo. 1989. Leaf survival in relation to herbivory in two tropical pioneer species. *Oikos* 55:71-74.

- Nuñez-Farfan, J. y R. Dirzo. 1991. Effects of defoliation on the saplings of a gap-colonizing neotropical tree. *Journal Of Vegetation Science* 2:459-464.
- Nuñez-Farfan, J. y R. Dirzo. 1994. Evolutionary ecology of *Datura stramonium* L. in central México: Natural selection for resistance to herbivorous insects. *Evolution* 48: (2) 423-436.
- O'Down, D.J. y M.E. Hay. 1980. Mutualism between harvester ants and a desert ephemeral: Seed escape from rodents. *Ecology* 61 (3):531-540.
- Paige, K.N. & T.G. Whitham. 1987. Overcompensation in response to mammalian herbivory: The advantage of being eaten. *Am. Nat.* 129: 407-416.
- Paine, R.T. 1966. Food web complexity and species diversity. *American Naturalist*, 100: 65-75.
- Pickett, C.H. y W.D. Clark. 1979. The function of extrafloral nectaries in *Opuntia acanthocarpa* (Cactaceae). *Amer. J. Bot.* 66(6):618-625.
- Price, P. W., T. M. Lewinsohn, G. W. Fernandes & W.W. Bemson (Eds.). 1991. *Plant-Animal interactions: Evolutionary ecology in tropical and temperate regions.* Wiley and sons Pub. USA.
- Putz, F.E. y N.M. Holbrook. 1988. Further observations on the dissolution of mutualism between *Cecropia* and its ants: the Malaysian case. *Oikos* 54(1):121-125.
- Rhoades, D. F. 1979. Evolution of plant chemical defense against herbivores. En: Rosenthal, G. A. y D. H. Janzen (Eds.). *Herbivores: Their interaction with secondary plant metabolites.* Academic Press. New York.
- Rhoades, F. E. y R. G. Cates. 1976. Toward a general theory of plant antiherbivore chemistry. En: Wallace, J. (Edit). *Recent advances in phytochemistry, Biochemical interactions between plants and insects.* v 10. Plenum, London, New York.
- Rice, B. y M. Westoby. 1986. Evidence against the hypothesis that ant-dispersed seeds reach nutrient-enriched microsites. *Ecology* 67(5):1270-1274.
- Rickson, F.R. 1971. Glycogen plastids in Müllerian body cells of *Cecropia peltata*- A higher green plant. *Science* 173:344-347.
- Rico-Gray, V. y L.B. Thien. 1989. Effect of different ant species on reproductive fitness of *Schomburgkia tibicinis* (Orchidaceae). *Oecologia* 81:487-489.

- Rosenthal, G. A. y D. H. Janzen. 1979. Herbivores: Their interaction with secondary plants metabolites. Academic Press, New York.
- Ryan, C. A. 1979. Proteinase inhibitors. En: Rosenthal, G. A. y D. H. Janzen (Eds.). Herbivores: Their interaction with secondary plant metabolites. Academic Press. New York.
- Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Ed. Limusa, México.
- Schemske, D.W. 1980. The evolutionary significance of extrafloral nectar by *Costus woodsonii* (Zingiberaceae): An experimental analysis of ant protection. *Journal of Ecology* 68:959-967.
- Schemske, D.W. 1982. Ecological correlates of a neotropical mutualism: Ant assemblages at *Costus* extrafloral nectaries. *Ecology* 64 (3):932-941.
- Schupp, E.W. 1981. Interactions between ants and Plants: Azteca protection of *Cecropia*. Master of Arts Thesis. University of South of Florida.
- Schupp, E.W. 1986. Azteca protection of *Cecropia*: ant occupation benefits juvenile trees. *Oecologia* 70:379-385.
- Smith, J.M.B. 1989. An example of ants-assisted plant invasion. *Australian Journal of Ecology* 14:247-250.
- Soberon, J.M. y C. Martinez del Rio. 1985. Cheating and Taking advantages in mutualistic associations. En: Boucher, D. (ed.). *The biology of mutualism. Ecology and Evolution*. Crom Helm.
- Stevens, G.C. 1987. Lianas as structural parasites: The *Bursera simaruba* example. *Ecology* 68:77-81.
- Strong, D., H. Lawton, and R. Southwood. 1984. *Insects on plants*. Blackwell Scientific, Oxford.
- Thompson, J.N. 1988. Coevolution and alternative hypotheses on insect / plant interactions. *Ecology* 69 (4):893-895.
- Vasconcelos, H.L. 1991. Mutualism between *Maieta guianensis* Aubl., a mirmecophytic melastome, and one of its ants inhabitants: ant protection against insect herbivores. *Oecologia* 87:295-298.
- Westoby, M., K. French, L. Hughes, B. Rice y L. Rodgerson. 1991. Why do more plant species use ants for dispersal on infertile compared with fertile soils? *Australian Journal of Ecology* 16:445-455.



**BIBLIOTECA**  
**INSTITUTO DE ECOLOGIA**  
*UNAM*

Whitham, J.G., J. Maschinski, K.C. Larson & K.N. Paige. 1991. Plant responses to herbivory: The continuum from negative to positive and underlying physiological mechanisms. En: Price, P. W., T. M. Lewinsohn, G. W. Fernandes & W.W. Berson (Eds.) Plant-Animal interactions: Evolutionary ecology in tropical and temperate regions. Wiley and sons Pub. USA.

Wilson, E. O. 1971. The insects societies. Belknap. Cambridge.

Zar, H.J. 1974. Bioestatistical Analysis. Prentice-Hall, Inc. USA.