

1062Ej.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

COMPARACION QUIMICA DE HOJAS DE ADULTOS Y PLANTULAS DE UNA ESPECIE ARBOREA (Nectandra ambigens), EN UNA SELVA ALTA PERENNIFOLIA.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G A
P R E S E N T A :
MARIA ELENA SANCHEZ HIDALGO

24175

DIRECTOR: DR. FRANCISCO JAVIER ESPINOSA GARCIA
CODIRECTOR: DR. MIGUEL MARTINEZ RAMOS



TESIS CON FALLA DE ORIGEN

1999



FACULTAD DE CIENCIAS SECCION ESCOLAR



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

M. en C. Virginia Abrín Batule
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
P r e s e n t e

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

"Comparación química de hojas de adultos y plántulas de una especie arborea
(*Nectandra ambigens*), en una selva alta perennifolia."

realizado por **María Elena Sánchez Hidalgo**

con número de cuenta **8633088-4** , pasante de la carrera de **Biólogo**

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis
Propietario

Dr. Francisco Javier Espinosa García

Propietario

Dr. Miguel Martínez Ramos

Propietario

Dra. Ana Luisa Anaya Lang

Suplente

Dra. Rocío Cruz Ortega

Suplente

Biol. Horacio Bonfil Sánchez

Edna María Suárez Díaz
Consejo Departamental de Biología
Dra. Edna María Suárez Díaz

FACULTAD DE CIENCIAS
U.N.A.M.



DEPARTAMENTO
DE BIOLOGIA

INDICE	Pag.
AGRADECIMIENTOS.....	I
RESUMEN.....	i
CAPÍTULO 1	
INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivos.....	2
Hipótesis.....	3
ANTECEDENTES	
Hipótesis de diversidad.....	3
<i>Nectandra ambigens</i>	7
Tipos de defensa.....	9
Terpenos y defensa.....	11
Variabilidad química y sus efectos en los herbívoros.....	13
CAPÍTULO 2	
Diferenciación química entre hojas de plántulas y árbol adulto cercano de una especie de selva alta perennifolia <i>Nectandra ambigens</i> (Lauracea): una prueba alternativa al modelo de Janzen-Conell.	
Summary.....	16
Introduction.....	17
Materials and methods.....	19
Results.....	23
Discussion.....	31
Concluding remarks.....	33
References.....	34
APÉNDICE 1. Detalles del método no incluidos en el artículo.....	38
APÉNDICE 2. Resultados adicionales no incluidos en el artículo.....	40
BIBLIOGRAFÍA.....	53

A mis Papás con cariño Yolanda y Gildardo,

gracias por su amor, apoyo y motivación durante toda la vida y porque los quiero mucho.

A mis Hermanos Gildardo, Daniel, Eli y Alicia,

por su apoyo y cariño durante todos estos buenos años compartidos,

A mis Abuelitos.

por los buenos momentos vividos

A mis Tíos y Primos,

que con su interés motivaron el término de la presente,

A Ti Humberto,

por muchas cosas mas...

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer enormemente al Dr. Francisco J. Espinosa García por su empeño, su entusiasmo, su apoyo y confianza, mostrados durante todo el proceso, permitiendo que llegara a feliz término ésta obra. Al Dr. Miguel Martínez Ramos por su motivación, apoyo y entusiasmo en el campo y su codirección en éste trabajo.

A la Dra. Ana Luisa Anaya Lang, a la Dra. Rocío Cruz Ortega y al Biol. Horacio Bonfil Sánchez por formar parte del comité evaluador, por su revisión y comentarios a la presente. También a Horacio por los buenos ratos en el Lab.

Al Biol. Jorge Rodríguez-Velázquez, por su asistencia técnica en el campo, al Sr. Lucio Sinaca, que me ayudó a coleccionar las hojas de los árboles.

Al personal de la Estación de Biología "Los Tuxtlas", que facilitaron mis días de campo.

Al Dr. Luis Bojórquez, que me facilitó una adaptación a un programa de estadística.

A Margarito y David Delgado, que me ayudaron a resolver algunas dudas de estadística.

A mis compañeros y amigos del Lab.; a Elia, Adriana, Lidice, a la Maestra Rosario V., a Lety, a Nacho, a Horacio, a Lucero, Cristi, que hicieron mas agradables las estancias en el Lab. A Cristi, a Lucero y a la Dra. Marisa M por su amable apoyo en éstos últimos momentos.

A los vecinos de otros Lab. pero que igual hicieron agradable este recorrido e hicieron comentarios sobre este trabajo: a Noé, Leopoldo, Héctor, Aída, Ángeles, Saúl, Raúl, Mario, Ricardo, Cecilia y a Jaina, por sus recomendaciones y ánimo en los últimos momentos.

A la Sra. Consuelo, Carolina y Alicia del Instituto de Ecología, siempre amables y atentas.

A Alejandro González y a Gaby que amablemente me ayudaron, con los attachments.

A Fundación UNAM por la beca otorgada durante 12 meses.

A mis amigos de la Fac.; Raulillo, Normilla, Gris, Rogelio, Lulumbricus, Fabio, Rivelino, Leonel., Mary, Lety, Vero, Claudia, Rosalba, Ángela, Elvira, Juanita, Alicia, Alett, Panchito, Álvaro y Jesús por los tiempos compartidos y esas reuniones inolvidables.

A mis amigos del Museo, por las noches con estrellas; a Julian, Tony, Lidia, Cristiani, Rocío, Luis Miguel, Juan, Saúl, Primo, Fabián, Jesús, Jorge, Celeste, Ana, Emilia, Sarah, Miguel Angel, Lupita, Ezequiel, Chela, Marti, Alejandro...

A Juanita A. y Viridiana A., por su amistad desde hace un buen rato.

Y a la UNAM, por los fabulosos momentos que he vivido en tus espacios.

RESUMEN

Janzen y Connell (1970 y 1971) propusieron que en las selvas altas perennifolias la mortalidad de las plántulas es más alta bajo los árboles de la misma especie, que lejos de ellos. Esta mortalidad se atribuyó a herbívoros y/o patógenos que habían colonizado al adulto, y que atacaron a las plántulas cercanas. Este modelo no se ha generalizado en las selvas altas perennifolias (SAP), porque algunas plántulas pueden sobrevivir bajo árboles de la misma especie. Langenheim y Stubblebine (1983) propusieron que esas plántulas sobreviven bajo la copa de su árbol parental porque son químicamente diferentes al adulto y por lo tanto, pueden resistir el ataque de herbívoros especializados y patógenos. *Nectandra ambigens* es un árbol de las SAP, con plántulas que pueden sobrevivir debajo de adultos conespecíficos. En este trabajo se investigaron los perfiles químicos de árboles adultos y plántulas bajo sus doseles, para determinar si éstos eran diferentes como predijeron Langenheim y Stubblebine. Se estudiaron extractos hexánicos foliares de *N. ambigens*, en 12 grupos formados por un árbol adulto y 9 ó 12 plántulas de edad desconocida bajo y en la vecindad de su copa. También se estudiaron hojas de otros tres grupos con plántulas de menos de un año y uno o dos años de edad. El extracto hexánico se analizó, usando cromatografía de gases, obteniendo de 69 a 90 picos (>1%) de cada muestra. Los perfiles cromatográficos para las plántulas y árboles fueron estandarizados y comparados con métodos de ordenación y con distancias euclidianas. Las plántulas fueron generalmente diferentes de los árboles que las cubrían. La distancia química al árbol adulto fue independiente de la edad de la plántula. El análisis estadístico mostró que las plántulas se parecen químicamente más entre ellas que a sus árboles adultos ($p < 0.000001$) independientemente de su posición espacial respecto al árbol. Los árboles fueron químicamente diversos. Muchos picos (compuestos) estuvieron ausentes en los árboles, pero presentes en las plántulas y viceversa. Algunos de los picos comunes tuvieron baja concentración en las plántulas, pero alta en los árboles y viceversa. Este trabajo sugiere que cuando se crece bajo los progenitores en una SAP, el ser químicamente diferente es ventajoso.

CAPÍTULO 1

Introducción y antecedentes.

INTRODUCCIÓN

En las selvas tropicales existe una diversidad extraordinaria de seres vivos. En particular hay una gran diversidad de especies arbóreas, por unidad de área estos bosques poseen muchas más especies que sus contrapartes templadas (Gentry, 1988 y 1990; en Martínez-Ramos, 1994). Sin embargo pocas especies tienen abundantes árboles maduros, la mayoría de ellas poseen pocos y generalmente muy distantes entre sí (Hubbel & Foster, 1986).

Existen varias hipótesis para explicar la gran diversidad de árboles y su distribución espacial (Pianka, 1978). Una de ellas es la que Janzen (1970) y Connell (1971) independientemente sugirieron, que la depredación de semillas y plántulas puede explicar la coexistencia de muchas especies en bosques tropicales; y propusieron la hipótesis de que la sobrevivencia de la progenie puede aumentar mientras mas grande sea la distancia del árbol madre. Los autores proponen que la diversidad se incrementa, debido a que el espacio dejado por las semillas o plántulas eliminadas por consumidores específicos podrá ser ocupado por plántulas de otras especies. En los ecosistemas tropicales hay una gran abundancia y diversidad de herbívoros (Langenheim & Stubblebine, 1983; Langenheim, 1984). Así, la presión de éstos depredadores llega a evitar que los árboles conoespecíficos lleguen a ser suficientemente abundantes para excluir a otras especies del bosque tropical.

Varios estudios muestran que los agentes bióticos de mortalidad de semillas y plántulas actúan con mayor intensidad bajo la copa de los árboles progenitores que lejos de ellos, en concordancia con las hipótesis de Janzen-Connell (Clark & Clark, 1984). Se detecta mayor mortalidad de árboles juveniles en la cercanía de árboles conoespecíficos que lejos de ellos (Clark & Clark, 1984; Hubbell & Foster, 1990; Condit *et al.*, 1992). Sin embargo, también hay varias especies de árboles donde esta hipótesis no se cumple, pues hay plántulas bajo la copa de un árbol conoespecífico (Córdova, 1979; Langenheim & Stubblebine, 1983; Clark & Clark, 1984).

Una explicación para esta discrepancia puede residir en los fenotipos químicos de las plántulas que sobreviven bajo sus progenitores, como es el caso de la leguminosa

tropical del género *Hymenaea* en Brasil. Langenheim & Stubblebine (1983), sugieren que las resinas de las hojas de *Hymenaea* pueden ser uno de los factores que proveen suficiente protección contra los depredadores. Y esto puede ayudar a explicar la gran abundancia de plántulas bajo o cerca de los árboles parentales en una selva alta perennifolia. Estos autores al detectar una gran variación cuantitativa discreta en las resinas de sus hojas entre los árboles parentales y sus plántulas, fue más pronunciada la diferencia en zonas tropicales que en la sabana y los bosques secos.

Esta variación química entre árboles adultos y su progenie, se detectó también en *Copaifera lansdorfii* donde la composición de compuestos de las hojas no cambia, pero su concentración sí. Macedo y Langenheim (1989) encontraron concentraciones significativamente más altas de sesquiterpenos en las plántulas que en los adultos, y una mayor mortalidad de los insectos que las consumen.

En *Nectandra ambigens* existen diversos terpenos, en los aceites esenciales foliares, que inhiben el crecimiento de tres géneros de hongos (*Phomopsis sp.*, *Alternaria sp.* y *Colletotrichum sp.*) (Nava et al., 1985).

Así, si se analiza la hipótesis de Janzen-Conell en términos de fenotipos químicos (sensu Langenheim & Stubblebine, 1983), esta postularía que las plántulas con fenotipo químico igual o similar al del adulto, bajo cuya copa germinaron, morirán, mientras que aquellas con fenotipo diferente sobrevivirán.

El objetivo de este trabajo fue encontrar si existían diferencias químicas entre las plántulas de *N. ambigens*, y sus adultos, según la hipótesis de Janzen-Conell modificada para los fenotipos químicos según Langenheim & Stubblebine (1993). Esta variación química sería una importante defensa contra los herbívoros, que permitiría el establecimiento de plántulas bajo los árboles parentales.

OBJETIVOS

Comparar el perfil químico de árbol adulto y plántulas que estén debajo de su copa y fuera de ella.

Comparar el perfil químico del árbol adulto con sus plántulas bajo su copa de menos de 1 año, 1 y 2 años de edad.

HIPÓTESIS

La sobrevivencia de las plántulas de *Nectandra ambigens* cubiertas por la copa de un árbol adulto de su misma especie, se debe a un fenotipo químico diferente al de ese árbol adulto.

Esta tesis esta dividida en las siguientes partes; los antecedentes, un artículo en inglés (que fue escrito como producto de este trabajo de tesis, y que se envió a una revista internacional, misma que lo aceptó para su publicación), y un apéndice donde encuentran detalles del método y resultados no incluidos en el artículo.

ANTECEDENTES

HIPÓTESIS DE DIVERSIDAD

Los bosques tropicales (Richards, 1957), selvas altas perennifolias (Miranda & Hernández-X, 1963), bosques tropicales perennifolios (Rzedowski, 1978), o simplemente selvas húmedas, son sistemas biológicos notablemente diversos y dinámicos (Martínez-Ramos, 1994). Uno de los enigmas en la biología tropical es precisamente entender como se mantiene la enorme cantidad de especies arbóreas en escalas locales tan pequeñas como una hectárea en una selva alta perennifolia (SAP). Pueden existir mecanismos (evolutivos y ecológicos) que facilitan el mantenimiento de tan extraordinaria diversidad. Para explicar el origen de la diversidad en las SAP, se han dado explicaciones históricas (de índole evolutivo y biogeográfico).

Se cree que existen factores que promueven una elevada diversidad de especies en la comunidad de plántulas y árboles jóvenes que crecen bajo los árboles maduros. Y que favorecen a su vez, una alta frecuencia de reemplazos entre árboles heteroespecíficos y por lo tanto facilitan el mantenimiento de la diversidad de especies en el dosel (Martínez-Ramos, 1994). Dos de estos factores son, los animales frugívoros que promueven la diversidad en la lluvia de semillas, por un lado, y los agentes bióticos

de mortalidad de semillas, plántulas y árboles jóvenes que actúan principalmente sobre especies abundantes por el otro (Martínez-Ramos, 1994).

La existencia de disyuntivas (posibilidades) en los atributos de vida (amplitud de dispersión de las semillas, sobrevivencia en la sombra y crecimiento en los claros), de los árboles contribuye al mantenimiento de la diversidad favoreciendo a los árboles con diferentes historias de vida, porque los espacios dejados por unas especies son cubiertos por otras. Por ejemplo; algunas especies pueden crecer rápidamente en claros y tener baja sobrevivencia en la sombra. Otras especies producen gran cantidad de semillas pequeñas, que se diseminan ampliamente (y colonizan muchos parches) y dan lugar a plántulas que no sobreviven en la sombra, pero que crecen rápido en los claros. Por el contrario las especies que podrían dominar en abundancia la regeneración de avanzada [plántulas y árboles jóvenes generalmente menores de 5 cm de diámetro a la altura del pecho (dap) con atributos que confieren alta sobrevivencia en la sombra], tienen poca capacidad de colonización de nuevos parches porque la dispersión de sus semillas es muy limitada (Martínez-Ramos, 1994).

Para explicar en que medida los eventos históricos, estocásticos y los ecológicos, favorecen el mantenimiento de la diversidad, se generaron hipótesis que pueden dividirse en dos grandes grupos: las hipótesis de "equilibrio" y las de "no equilibrio".

Dentro del primer grupo por un lado hay hipótesis que se relacionan con la "teoría clásica" de la competencia, y por otro, hay una hipótesis que pone como factor de regulación de las poblaciones y como elemento clave de coexistencia a organismos depredadores.

Las hipótesis relacionadas con la "teoría clásica" de la competencia proponen que las especies coexisten porque el crecimiento poblacional de las especies es regulado por fenómenos de competencia intraespecífica. Tal regulación debería mantener a las poblaciones por debajo de los umbrales de densidad en las que ocurrirían fenómenos de exclusión competitiva entre especies (Chesson & Casse, 1986).

Y la hipótesis que pone como factor de regulación de las poblaciones y como elemento clave de la coexistencia a organismos depredadores; propone que muchas especies competidoras (presas) pueden coexistir si la tasa de depredación que opera

sobre ellas determina que los recursos usados por las presas no se agoten. La coexistencia puede facilitarse si los depredadores actúan de manera más intensa sobre las especies más abundantes, las que presumiblemente poseen mayor habilidad competitiva (Connell *et al.*, 1984).

El otro grupo de hipótesis, llamadas de “no equilibrio”, considera que las poblaciones tienen una dinámica que es gobernada por fenómenos azarosos, tales como disturbios físicos y bióticos. Un disturbio ocasiona una reducción importante en la densidad de la población y permite que los recursos aumenten en su disponibilidad. Después de un disturbio las poblaciones pueden crecer rápidamente pero la ocurrencia de nuevos disturbios mantienen a las poblaciones por debajo de la densidad que genera competencia entre especies (Martínez-Ramos, 1994).

Respecto a las hipótesis que apoyan los escenarios de equilibrio y de no equilibrio, varios estudios han mostrado que agentes bióticos que propician la mortalidad de semillas y de plántulas actúan con mayor intensidad bajo la copa de los árboles progenitores que lejos de ellos. La hipótesis propuesta por Janzen en 1970 menciona que el número de semillas de una especie dada usualmente declina con la distancia al árbol adulto y que estas semillas y las plántulas que se originan de ellas, son consumidas por muchos patógenos y depredadores específicos del árbol adulto. Así, el efecto negativo de esos enemigos específicos en el reclutamiento de la población, declina al incrementarse la distancia entre los árboles juveniles y sus padres y otros árboles adultos de la misma especie (Figura 1). El producto entre el número de semillas por unidad de área y la probabilidad de sobrevivencia, produce una curva de reclutamiento de la población, con un pico a una distancia del árbol adulto donde es más probable que un nuevo adulto se establezca. Entonces, la probabilidad de sobrevivencia de una semilla o una plántula es función de la distancia de ésta al árbol adulto y de la densidad de su población. La probabilidad de sobrevivencia no puede llegar a ser 100% debido a la existencia de la depredación no específica y la competencia con otras plantas independientemente de la distancia al padre. Estas ideas surgieron de observaciones hechas por Janzen en bosques en América Central y América del Sur.

Connell (1971) al trabajar con selvas altas perennifolias en Australia, llegó a ideas similares. Argumentó que los enemigos naturales, como un grupo, no podrían evitar la competencia entre los árboles, ya que éstos compiten por la luz y posiblemente por otros recursos. Sin embargo, estos enemigos si pueden evitar la exclusión competitiva de unas especies de árboles por otras, evitando la formación de agregados de especies únicas y/o el desplazamiento de otras especies desde una área particular. Connell propuso también que los herbívoros específicos, principalmente folívoros atraídos por los árboles adultos, pueden también descubrir, defoliar y matar todas las plántulas en la vecindad de los árboles adultos. Las plántulas son menos resistentes a la defoliación que los árboles adultos porque tienen pocas reservas para la formación de nuevas hojas. Así, sólo las plántulas que crecen distantes a un árbol conespecífico adulto podrían escapar de la defoliación y sobrevivir. De este modo, el hábitat de la vecindad de los adultos de una especie de árbol puede ser abierta a la colonización por juveniles de otras especies, y así, la diversidad puede mantenerse.

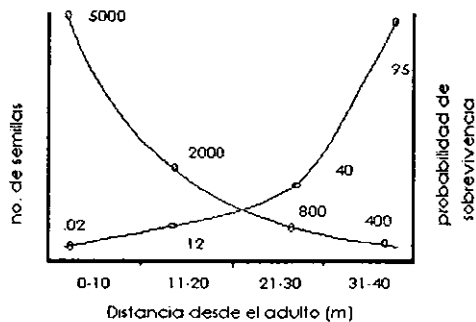


Figura 1. Ejemplo hipotético de las condiciones que llevan al espaciamiento. La progenie está dada por el número de semillas (postdispersión) al incrementar la distancia desde el adulto. La probabilidad de supervivencia incrementa grandemente al aumentar la distancia.

Uno de los casos donde se cumple la hipótesis de Janzen-Connell, es con *Ocotea whitei* (Lauraceae) que exhibe un notable espaciamiento entre los juveniles y los adultos, el cual es causado por una enfermedad que causa úlceras en los troncos y que infecta (y mata) con mayor incidencia a los juveniles cercanos a los árboles adultos infectados (Gilbert *et al.*, 1994).

También existe evidencia a favor de las hipótesis de no equilibrio. Hay un número considerable de estudios que han evaluado la hipótesis de Janzen y Connell y la han rechazado (Córdova, 1985; Martínez-Ramos, 1994). Por ejemplo, muchas de las especies en la Isla de Barro Colorado, Panamá, parecen reclutar juveniles independientemente de la densidad de conespecíficos y de la distancia a los árboles conespecíficos (Hubbell & Foster, 1990; Condit *et al.*, 1992). Existe evidencia circunstancial de que las especies más abundantes tienen mayor posibilidad de quedar representadas en la regeneración de avanzada que las menos abundantes (Martínez-Ramos & Soto-Castro, 1993). Sin embargo esta observación no distingue entre la posibilidad de que existan factores de mortalidad biótica que operan principalmente sobre especies de baja abundancia y la posibilidad de que las especies de baja abundancia desaparezcan de la comunidad al ocurrir algún evento aleatorio de mortalidad (como la caída de una rama) (Martínez-Ramos, 1994).

***Nectandra ambigens* (Blake) C. K. Allen**

Otro de los casos donde no se cumple la hipótesis de Janzen-Connell, se encuentra en la selva alta perennifolia de "Los Tlaxtlas" Veracruz, México; se trata de una especie arbórea, *Nectandra ambigens* (Lauraceae) que en condiciones ambientales estables, muestra mayor mortalidad de plántulas en las zonas alejadas del árbol progenitor; se sugiere que los daños físicos (mecánicos) sean el principal factor de mortalidad, aunque no se excluye la posibilidad de que se deba a la depredación (Córdova, 1979). En otro estudio se observó que en dos parches maduros, cuyo dosel estuvo dominado por el árbol *N. ambigens*, la comunidad de plántulas fue muy abundante y de muy baja diversidad, ya que entre el 40 y 80% de las plántulas fueron de *N. ambigens* (Martínez-

Ramos, 1991). También se observó que en los casos donde los árboles maduros de *N. ambigens* son dominantes, en condiciones de exclusión de vertebrados, la diversidad aumentó respecto a la situación natural. Bajo las copas de los árboles maduros de *N. ambigens*, los vertebrados tienden a comerse las semillas de las plántulas de otras especies y no aquellas de *N. ambigens*.

Las plántulas de *N. ambigens* exhiben daños foliares notorios (necrosis, amarillamiento) causados por microorganismos, y daños al tallo causado por insectos. Al parecer, estos agentes son responsables de que a pesar de existir una enorme cantidad de plántulas, muy pocas logran sobrevivir hasta el estadio juvenil bajo la copa de los árboles adultos. En efecto, de 1054 plántulas marcadas en 1988 (equivalente a una densidad promedio de 12.9 plántulas/m²), menos del 15% quedaron vivas tres años después (Martínez-Ramos, 1994).

N. ambigens tiene un periodo marcado de producción de hojas nuevas en los meses más secos (marzo-mayo). En esta época decrece, el porcentaje de hojas seniles y es importante la caída de hojas. *N. ambigens* florece en época de secas y en los primeros meses de las lluvias. Tiene una fructificación ya sea durante la época de secas y la primera y segunda mitad de la de lluvias. La diferencia se debe a la composición florística en uno y otro sitio (Carabias & Guevara Sada, 1985).

Los árboles de *N. ambigens* pertenecen al dosel maduro, son árboles primarios. Su característica más típica es la producción de semillas grandes, de corta viabilidad, que tienden a germinar rápidamente en forma más o menos sincrónica, y producen carpetas de plántulas coetáneas que pueden permanecer latentes hasta morir o crecer lenta o rápidamente, dependiendo de los recursos disponibles, principalmente la cantidad de energía incidente debida a aberturas en el dosel (Vázquez & Guevara, 1985). Y bajo la copa de los progenitores no se encuentran árboles jóvenes de *N. ambigens* (Martínez-Ramos, 1994). Sin embargo si se llega a producir la caída de uno de estos árboles, sus plántulas probablemente lo reemplazarían pues su banco de plántulas se renueva con cada evento reproductivo.

En *N. ambigens* la probabilidad de remoción postdispersión de semillas o frutos es dependiente de la densidad, es decir a mayor densidad de frutos o semillas mayor será la remoción de éstos. Al comparar el contenido energético, y nutricional de sus semillas con el de otras semillas de la SAP de “Los Tuxtlas”, las de *N. ambigens* tuvieron un valor nutricional y energético mayor (Martínez-Gallardo, 1995).

Otro de los casos donde no se cumple la hipótesis de Janzen, se encuentra en los estudios realizados por Langenheim & Stubblebine (1983), en América del Sur, con *Hymenaea spp.* donde encontraron que las plántulas de estas especies arbóreas eran por lo general abundantes bajo los árboles adultos. En estos estudios se realizó un hallazgo importante, las plántulas de *Hymenaea spp.* eran diferentes en su perfil de sesquiterpenos al árbol adulto más cercano. También se sugirió que la variación cuantitativa discreta en la composición de los terpenos de las hojas, puede ser una característica que provee la suficiente protección contra herbívoros lepidópteros, lo que permite explicar la abundante presencia de plántulas bajo o cerca de los árboles parentales en las selvas altas perennifolias. En los ecosistemas tropicales los altos niveles de humedad han mostrado estar significativamente correlacionados con una abundancia alta de insectos y hongos. Generalmente se ha considerado que la presión de herbivoría es más grande en ecosistemas tropicales que en templados debido a la alta abundancia y diversidad de los herbívoros tropicales (Langenheim & Stubblebine, 1983; Langenheim, 1984). Esto se ha correlacionado con el hecho de que la diversidad y concentración de algunos metabolitos secundarios llega a ser más grande en ecosistemas tropicales que en templados y en ecosistemas húmedos que en secos (Langenheim, 1984).

TIPOS DE DEFENSA

Las plantas durante todo su ciclo de vida pueden estar sujetas a enfermedades y plagas causadas por virus, bacterias, hongos, nemátodos, insectos, herbívoros mayores y también por otras plantas (Levin, 1976; Grubb, 1992). Bajo la presión de selección de los consumidores, se han desarrollado patrones defensivos muy variados en las plantas (Bonfil, 1995). La resistencia de las plantas se debe en parte a sus características físicas como, dureza de la cutícula y la corteza, espinas, pelos, textura, etc. Otro de los

patrones defensivos radica en los caracteres fenológicos, algunos eventos importantes de la historia de vida de la planta, tienden a ocurrir en los momentos en que la población de consumidores se encuentra baja. Otra parte de la resistencia está basada en asociaciones mutualistas con otros organismos, a los que las plantas “otorgan” alimento y cobijo a cambio de protección (Vasconcelos, 1993). Hay otro tipo de mecanismos defensivos que se basan en la presencia de sustancias del metabolismo secundario de las plantas. Estas sustancias pueden ser tóxicas y/o repelentes al consumidor reduciendo así el daño a las plantas (Ehrlich & Raven, 1964; Rhoades, 1985; Langenheim, 1994).

Los metabolitos secundarios son definidos generalmente como compuestos cuyas funciones en el metabolismo primario no son bien conocidas, aunque probablemente desempeñen una multiplicidad de papeles en la sobrevivencia de las plantas dentro de los ecosistemas (Langenheim, 1984). Los metabolitos secundarios contrastan con los metabolitos primarios de las plantas por su alta diversidad estructural y en algunos por su limitada distribución, a veces pueden estar restringidos a unas cuantas especies, y por la ausencia y papel claramente definido en el proceso metabólico de la planta. Algunos funcionan como atrayentes de polinizadores, otros como agentes dispersores de semillas. En unos su posible función es la alelopatía (donde la competencia es limitada evitando el crecimiento de otras plantas a los alrededores) (Waterman & McKey, 1989). O como señales químicas en relaciones simbióticas, por ejemplo entre cianobacterias fijadoras de nitrógeno y hepáticas (Knight & Adams, 1996).

En las interacciones planta-animal los compuestos secundarios que se encuentran en mayor cantidad son los siguientes: los compuestos nitrogenados (alcaloides, aminas, glucósidos no proteínicos, glucosinolatos y aminoácidos no proteínicos), fenoles (fenoles simples, flavonoides y quinonas), isoprenoides (monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, esteroides, saponinas limonoides, cucurbitacinas y cardenólidos) y otros (poliacetilenos) (Harborne, 1982). De estos metabolitos secundarios los más relacionados con la resistencia a patógenos han sido los compuestos fenólicos y los terpenos (del Amo *et al.*, 1986).

La resistencia química al ataque puede ser clasificada como. 1) resistencia constitutiva, la que está basada en la presencia de inhibidores antes del contacto con el

herbívoro, y 2) la resistencia inducida que está basada en la acumulación y modificación de los metabolitos normales del hospedero como una consecuencia de interacciones físicas y químicas entre la planta y el herbívoro; mucha de la resistencia a bacterias, virus, hongos y nemátodos es inducida. Las líneas de demarcación entre las dos clases no están claramente definidas, aunque reflejan diferentes aproximaciones a la teoría de la defensa de las plantas (Levin, 1976).

TERPENOS Y DEFENSA

Los terpenos son sustancias que se distinguen de otros metabolitos secundarios por tener un origen biosintético común, el mevalonato y el isopentil pirofosfato y por su amplia naturaleza lipofílica. Son usualmente hidrocarburos cíclicos insaturados, con grados variables de oxigenación en los grupos sustituyentes (alcohol, aldehído, lactona, etc.), agregados al esqueleto básico (Harborne, 1991). Todos los terpenos tienen como base la molécula de isopreno $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)\text{-CH}=\text{CH}_2$, y su esqueleto de carbono es construido con la unión de dos o más de esas unidades de C_3 . Ellos son entonces clasificados dependiendo si ellos contienen dos (C_{10}), tres (C_{15}), cuatro (C_{20}), seis (C_{30}) u ocho (C_{40}) de tales unidades de isopreno. Los terpenos son desde aceites esenciales, monoterpenos volátiles y sesquiterpenos (C_{10} y C_{15}), pasando por los diterpenos, los menos volátiles (C_{20}), a los triterpenos no volátiles y los esteroides (C_{30}) y los pigmentos carotenoides (Harborne, 1973).

El perfil de terpenos de una especie está regulada por un estricto control genético, cuyo valor de heredabilidad es muy alto (Hanover, 1966; Squillace, 1971; en Nava 1996; Fady, 1992).

Los perfiles de terpenos pueden variar cualitativamente ó cuantitativamente, entre órganos y durante el desarrollo del órgano, además puede haber variación ontogénica (entre plantas juveniles y adultos) y en la composición del perfil de la hoja de los árboles. La variación se ve grandemente incrementada en las selvas altas perennifolias, comparada con la de los bosques tropicales secos (Langenheim, 1994). También puede variar en diferente grado dependiendo del área geográfica. Por ejemplo, Sturgeon & Mitton (1986), al comparar la composición de monoterpenos de las resinas

del xilema de árboles infestados y no, de una población de pino ponderosa, no encontraron diferencias significativas en su diversidad química; al comparar dos poblaciones de pino ponderosa de dos áreas geográficas (Colorado y California), encontraron que tenían diferente diversidad bioquímica. Además, esta diferencia estaba asociada con especies de escarabajos que exhibían diferentes hábitos de alimenticios. Estos autores encontraron que la diversidad bioquímica del pino ponderosa de California era tres órdenes de magnitud mas variable que en las poblaciones de Colorado. En California los escarabajos discriminaban entre las variantes químicas de monoterpenos y seleccionaban los árboles que contenían bajas concentraciones: limoneno y altas concentraciones de α -pineno (precursor de una ferromona). Aquí la diversidad bioquímica había sido importante para que los escarabajos pudieran elegir. En cambio en Colorado, la menor diversidad bioquímica podía explicar la no discriminación de los escarabajos.

Snyder (1992), sugirió que las ardillas Abert's (*Sciurus aberti*) son probablemente agentes de selección natural en poblaciones de pino ponderosa, porque la herbivoría está asociada con sus hospederos con una dramática reducción en su adaptación. Porque las ardillas probablemente seleccionan a los árboles que 1) sus defensas químicas y fisiológicas son insuficientes para disuadir la alimentación, 2) y el valor nutritivo del floema hace útiles las ramitas podadas. Una de las consecuencias que infiere sobre el estudio es que, por lo menos dos de las más importantes características que afectan la selección del árbol blanco (el grado de flujo de la oleoresina del xilema y la composición de los monoterpenos de la resina del xilema), están aparentemente bajo un fuerte control genético.

VARIABILIDAD QUÍMICA Y SUS EFECTOS EN LOS HERBÍVOROS

Dentro de una especie de planta hay una considerable variación en la morfología y química entre individuos de una misma población. Las plantas no son substratos homogéneos donde las interacciones ecológicas ocurren, son participantes heterogéneos. Tal variabilidad actúa como un filtro, imponiendo mayor restricción cuando o donde un herbívoro colonice una planta (Denno & McClure, 1983).

En una población natural, la variación fenotípica puede afectar a los herbívoros invertebrados. Esta variación puede ser causada por diferencias genéticas o ambientales entre los individuos de plantas. Características como microambiente, competidores, depredadores, parásitos, patógeno, tamaño de la planta, edad e historia de vida, pueden también afectar la variación de las poblaciones de plantas (Karban, 1992). En muchos estudios revisados por Karban (1992) se reportaron efectos significativos del genotipo de las plantas sobre las poblaciones de herbívoros. Y que los diferentes genotipos tienden a variar sus efectos sobre los herbívoros en diferentes años, aunque la magnitud de esa variación fue frecuentemente pequeña.

Otro ejemplo donde se ha visto que la variación ha sido importante, se refiere a un experimento con moscas *Musca domestica* y plantas hospederas simuladas (Pimentel & Bellotti, 1976). Ellos simularon seis plantas hospederas, cada una como una copa con un tóxico disuelto en agua azucarada, y expusieron a poblaciones de moscas a diferentes poblaciones de "plantas". Al principio del experimento, la concentración de los tóxicos en las copas fue ajustada para causar un 75% de mortalidad en las moscas. Después de 7 o 10 generaciones de alimentación en "poblaciones" con un solo tóxico, la mortalidad descendió a los niveles de las poblaciones alimentadas sin compuestos tóxicos. Cuando las moscas fueron expuestas a una "población" con los 6 tipos de tóxicos, la mortalidad siempre se mantuvo en 75%. Esto implica que la adecuada diversidad genética (caracteres resistentes) en la población hospedera es uno de los ingredientes para tener una estabilidad genética en un sistema de poblaciones parásito-hospedero (Pimentel & Bellotti, 1976).

Zhang & States (1991), al reexaminar el papel de los terpenos en la herbivoría selectiva de pino ponderosa, trabajaron con éste y ardillas *Sciurus aberti*, que depende del pino ponderosa para alimentarse. Se encontró que las altas concentraciones totales de terpenos y la gran diversidad de los mismos, mas la presencia y concentración de mirceno, sabineno y terpineno en pino ponderosa, estuvieron relacionados con la ausencia de consumo por ardillas.

Del Amo *et al.* (1986), evaluaron cuantitativa y cualitativa algunos constituyentes químicos, particularmente fenoles y terpenos, de estados juveniles de tres especies primarias de selva alta perennifolia, entre ellas *Nectandra ambigens*. En este trabajo se consideraron los grados de infección y la época del año. Se realizaron también ensayos biológicos para evaluar el potencial fungicida de los extractos de las plantas estudiadas, contra hongos fitopatógenos aislados de las hojas de las mismas plantas, como *Phomopsis*, *Alternaria* y *Colletotricum*. En *N. ambigens* encontraron mayor cantidad de fenoles en plantas dañadas que en plantas sanas. Pocas diferencias fueron detectadas entre poblaciones dañadas y sanas en la estación seca, como por ejemplo la presencia de terpineol en las plantas dañadas y su ausencia en algunas de las sanas. Los resultados mostraron diferencias significativas en la composición química de las especies estudiadas (*N. ambigens*, *Omphalea oleifera* y *Licaria alata*) lo que estaba relacionado a la época del año y al grado de infección. Esas diferencias pueden estar relacionadas también con su resistencia intrínseca a la infección y su habilidad para crecer hasta el estado adulto.

Edwards *et al.* (1993), estudiaron la variación en la composición de terpenos en el follaje de 6 especies de *Eucalyptus*, en relación a sus efectos sobre escarabajos herbívoros (*Anoplognathus spp.*). Todas las 6 especies de eucalipto mostraron considerable variación intraespecífica en la composición de terpenos. No fue posible determinar cuales compuestos afectaban directamente la defoliación, porque muchos estuvieron significativamente inter-correlacionados. La variación intraespecífica o polimorfismo, en la química de la planta puede representar una protección adicional contra insectos, ya que la impredecibilidad química de una especie puede impedir la

selección de contraadaptación en insectos, particularmente cuando un complejo de químicos está involucrado.

Se sabe que los terpenos de muchas especies de plantas, influyen sobre los herbívoros y que hay un incremento en el número de ejemplos reportados de especies que son polimórficas para composición de terpenos (Edwards *et al.*, 1993). Los árboles del género *Eucalyptus* de Australia contienen altos niveles de terpenos o aceites esenciales. Los escarabajos no son capaces de anular la toxicidad de algunos terpenoides y algunas veces evitan los árboles con componentes desfavorables o tóxicos. La evidencia de esto, es que hubo una fuerte preferencia hacia el hospedero asociada con la composición de terpenos. La biosíntesis de terpenos en Eucalipto depende de un control genético cerrado.

Rice y colaboradores (1978), trabajaron con *Satureja douglasii* y su herbívoro nativo, la babosa *Ariolimax dolichophallus*. En este estudio se observó una herbivoría diferencial en los tipos composicionales, en condiciones de campo, y se sugirió que la herbivoría diferencial pudo haber sido importante para determinar los modelos de variación de monoterpenos y su distribución en esta especie de planta perenne.

Se ha sugerido que la variación intraespecífica en compuestos secundarios puede tener bases ecológicas. Hay evidencias de que los monoterpenos están presentes en una variedad de interacciones ecológicas, que incluyen alelopatía, atracción y también inhibición de parasitismo y depredación.

CAPITULO 2

Diferenciación química entre hojas de plántulas y árbol adulto cercano, de una especie de selva alta perennifolia, *Nectandra ambigens* (Lauracea): una prueba alternativa al modelo de Janzen-Conell.

Artículo aceptado para su publicación en *Functional Ecology*.

**CHEMICAL DIFFERENTIATION BETWEEN LEAVES OF SEEDLINGS AND
SPATIALLY CLOSE ADULT TREES FROM THE TROPICAL RAIN FOREST
SPECIES *Nectandra ambigens* (LAURACEAE): AN ALTERNATIVE TEST OF
THE JANZEN-CONNELL MODEL**

Summary

1. We tested the hypothesis Langenheim and Stubblebine which try to explain that differences in chemical composition between maternal trees and the seedlings under them arise from differential mortality; only seedlings different from the mother survive. Such mortality could explain at least some of the cases where seedlings accumulate under adult conspecifics, contrary to the extreme form of the Janzen-Connell hypothesis.
2. We investigated *Nectandra ambigens* Black (Lauraceae), an upper canopy tree at Los Tuxtlas tropical rain forest, Mexico, whose seedlings survive under the canopy of conspecific trees. We analysed leaf terpenoid chromatographic profiles of 15 groups, each formed by an adult tree and its surrounding seedlings.
3. We predicted that seedlings chemically similar to the adult would be absent under the tree canopy and that they could be present outside that canopy. We also predicted that younger seedlings would be more similar to the adult than the older ones.
4. Chemical similarity analyses showed that most seedlings were significantly different from their closest adult, and thus supported the Langenheim and Stubblebine hypothesis. However, we did not find chemical differentiation among seedlings regarding their age or their position inside or outside the tree canopy.

Key-words: Langenheim and Stubblebine hypothesis, Seedling survival, Terpenoid leaf profile.

Introduction

Tropical rainforests are well known by their high tree species diversity and the large distances among most conspecific adult trees (Martínez-Ramos 1994). Janzen (1970) and Connell (1971) independently proposed similar hypotheses to explain this pattern. They proposed that seed and seedling predation by specialised herbivores and pathogens greatly reduce the chances of establishment and survival the establishment and survival of seedlings under the canopies of their conspecific trees. Thus, spaces will be left under these canopies which may be occupied by seedlings of other species. Greater rates of mortality under conspecific trees have been recorded for a range of species (Clark & Clark 1984), but not for all those tested (Córdova 1979; Martínez-Ramos 1994). In the most comprehensive test, that in the 5-ha plot in Barro Colorado Island, Panama, early analyses suggested that Janzen-Connell effects among saplings (> 1 cm dbh) were rare (Hubbell & Foster 1990; Condit, Hubbell & Foster 1992), but a recent analysis has suggested that they are all-pervasive (Wills et al. 1997).

Langenheim and Stubblebine (1983) found that in various *Hymenaea* spp. from tropical rain forests in Amazonia, seedlings and saplings were abundant under the canopy of conspecific trees. They investigated the sesquiterpene profile of seedlings and their closest conspecific trees finding that seedlings and saplings were chemically different from the trees. They proposed that this chemical differentiation under the tree canopy arose by differential mortality, with only surviving the seedlings that were different from the closest trees. Terpenoid and sesquiterpenoid leaf profiles have been shown to be important in determining differential herbivory in tropical and temperate trees (Sturgeon & Mitton 1986; Macedo & Langenheim 1989). Thus, the Langenheim and Stubblebine's hypothesis would be an alternative to the Janzen-Connell hypothesis to explain the cases where seedlings survive under the canopy of conspecific trees.

Nectandra ambigens (Blake) C. K. Allen (Lauraceae) is an upper canopy tropical rain forests tree which has abundant seedlings under conspecific canopies. Moreover, seedling mortality close to conspecific trees can be the same as that found away from conspecifics (Córdova 1979). Less than 15% of the seedlings of the same cohort under the canopy of adult trees survive after three years, and no saplings are found under these trees (Martínez-Ramos 1994). However, the seedling bank is renewed with each reproduction episode and in the event of an adult tree fall, the most likely replacement would be another *N. ambigens* tree recruited from the seedling bank (Martínez-Ramos 1994). Under conspecific trees, *N. ambigens* is both, the most abundant seedling species, and one of the seven most dominant species in the sapling community (Martínez-Ramos & Soto-Castro 1993). If there is a gap opening, the *N. ambigens* seedlings develop vigorously reaching rapidly sapling stages, which result in a demographic regeneration wave dominated by *N. ambigens* (Córdova 1985). This would explain the mostly clumped distribution of this species in the rain forests, in contrast with the common pattern of widely spaced adult trees for other species (Martínez-Ramos & Álvarez-Buylla 1995). *N. ambigens* is attacked by various foliar pathogens (García-Guzmán 1990) and insects (Dirzo 1984; De la Cruz & Dirzo 1986). However, the leaves have terpenoids which may inhibit foliar fungal pathogens or antagonist insects (Del Amo *et al.*, 1986; Langenheim 1994).

We decided to investigate whether *Nectandra ambigens* seedlings under and outside the canopy of conspecific trees were chemically different from adult trees as predicted by the Langenheim and Stubblebine hypothesis. We analysed the leaf terpenoid chromatographic profile of seedlings and isolated trees to accomplish our objective. We expected that the seedlings chemically similar to the adult would be absent under the tree canopy and that they could be present outside that canopy. We also explored the patterns of differentiation within seedlings of pairs of neighbouring adult trees. Our expectation was that the seedlings chemically similar to one mature tree

would be absent under its canopy but present under the canopy of the neighbour tree and vice versa. We also expected that the younger seedlings were more similar to the adult than the older ones, if the differential mortality predicted by the hypothesis occurs.

Materials and Methods

Study site

The field work was carried out at the Los Tuxtlas Tropical Field Station, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, in the state of Veracruz, Southeastern México (18° 36' N, 95° 07' W). The vegetation is tropical rainforest; mean annual rainfall is about 4500 mm and no month has less than 100 mm of rain; mean annual temperature is 23.7° C (mean extreme temperatures of 19 and 29° C) (Estrada, *et al.*, 1985). The terrain of the 700 ha reserve is mountainous; medium and steep slopes are common, although flat sites can also be found. More than 200 tree species grow within the station, where the upper canopy attains heights in excess of 30 m (Ibarra-Manríquez & Sinaca-Colín 1997; Bongers, *et al.*, 1988). This forest has an estimated turn-over rate of 50 ± 42 yrs (Martínez-Ramos, *et al.*, 1988).

Study species

Nectandra ambigens is found in Mexico, Guatemala and Honduras (Dirzo, *et al.*, 1997) and it is the most abundant canopy tree (>20 m height) in the Los Tuxtlas rainforest with about twelve trees (> 10 cm dbh) per hectare (Martínez-Ramos & Álvarez-Buylla 1995). It has a mostly clumped distribution with six to twelve mature trees spaced about

10 m among them; sometimes the trees are solitary or they are completely absent in various hectares. The tree is hermaphrodite and little is known about its pollination, although unidentified bees are frequent visitors to their flowers (Dirzo *et al.* 1997). Seed production in individual trees occurs from September to November every two or three years, where many mature trees produce seeds simultaneously (Dirzo *et al.* 1997). In a reproductive event an individual may produce hundreds of thousands of drupes 2.5-3.5 cm long and fresh mass 4-7 g (Ibarra-Manríquez & Martínez-Ramos, unpublished data); 60% of them fall within a distance not larger than twice the radius of the canopy of the parent tree (González-Méndez 1995). Seedling emergence occurs within a month after seed fall producing a high density seedling carpet (in some places with more than 100 seedlings per square meter) under the canopy of the parent tree (Martínez-Ramos 1991). The cotyledons are hypogeal and 1-3 post-cotyledonary leaves remain attached more than one year while the seedling stays in the seedling bank where it reaches up to 50 cm height (Martínez-Ramos, personal observations). Because most *N. ambigens* seeds fall beneath the parent canopy we will assume that seedlings under the canopy of a mature tree are their progeny (Córdova 1979; González-Méndez 1995). This would be more accurate in the case of the isolated trees.

Leaf sampling design

To test our hypothesis we collected leaves from seedlings of unknown age under and outside the canopy (at least 5 m away) of adult trees. We made a second sampling in a different date but with seedlings of known age to find out whether the younger seedlings were more similar to the adult than the older ones.

For the first sampling (collected in October 1993), twelve groups were selected. Each group was formed by one mature tree and ten of their surrounding seedlings. Six of these trees were forming three couples with their canopies separated by one to five meters; we denominated them "neighbour trees". According to our hypothesis, we

expected that seedlings chemically similar to one tree from the couple would be absent under its canopy but may be present under the canopy of the neighbour. The six remaining groups were formed by trees isolated from any other conspecific tree by at least 45 m; we called them "isolated trees". We selected randomly a branch from the lower canopy of each tree collecting the third and the fourth leaves (both mature); from each seedling we collected three mature leaves. We completed 132 leaf samples from trees and seedlings, 9 samples was lost, then only 123 samples was analysed.

For the second sampling (collected in December 1994) we used three trees with cohorts of seedlings that have been marked and followed annually from 1988 to 1994 by one of us (MMR). Annual seedling mortality in these sites had been 50% and we only found enough seedlings from 1992, 1993 and 1994. Two leaves from each seedling were collected; all of them were under the canopy of the trees. Although many terpene producing trees have a uniform chemical profile within its canopy (see Langenheim 1994), we decided to confirm this with *Nectandra ambigens* in the second sampling. Three equidistant branches within the lower canopy of each tree were selected and the third leaf of each one was collected. Nine marked seedlings were sampled under one tree; 14 were sampled under a second one and 16 seedlings under the third tree.

Sample processing

For the first sampling, leaves were weighed few minutes after collection: one leaf was dried four days at 70 °C to obtain dry weight and the other was put in a 75 ml amber flask with 50 ml of hexane. For the second sampling, leaves were transported to Mexico City in ice and within 24 hours they were weighed and processed as follows: each leaf was cut longitudinally by half; one part was used to obtain dry weight and the other was put into 75 ml amber flasks with 50 ml of hexane. Leaves remained in hexane at least 72 hours before they were processed for chromatographic analysis: 1 mg of n-tetradecane was delivered in 1 ml of hexane as an internal standard to each flask with leaves. Leaves were ground with chromatographic grade sand and hexane, the extract

was dried with magnesium sulphate and concentrated to 0.2 ml under a N_2 current. Of this extract, 1 μ l was injected in the chromatograph (GC).

Each sample was injected in a Perkin-Elmer 8410 gas GC equipped with a 30 m length, 0.25 mm ID DB-17 column (J&W scientific) and a flame ionisation detector (FID). Conditions in the GC were as follows: injector at 220 °C, detector at 330 °C, carrier gas Helium, at 1.76 kg cm^{-2} at 0.31 $m s^{-1}$; initial oven temperature at 50 °C, then increasing at 15 °C/min to reach 280 °C and keeping that temperature for 5 min.

Data analysis

A chromatogram for each sample was obtained and the area under each peak was standardised as mg g^{-1} dry weight relative to the internal standard. The resulting chromatographic profiles were compared among themselves using the peak retention times. All peaks $\geq 1\%$ of the total area of at least one chromatogram were included in the analysis; 105 of these peaks were numbered for mature trees and 112 for seedlings. A matrix with peaks and their concentration for each seedling and their tree was formed; another matrix with only trees was also formed, completing 12 matrices for unknown age seedlings, three matrices for known age seedlings and one matrix for mature trees only.

In order to position each seedling with respect to their closest mature tree using their chromatographic profile, we performed a varimax Principal Component Analysis (PCA) for each matrix with the program Statistica (CSS 1993). We calculated Euclidean distances (Ludwig & Reynolds 1988) among the seedlings of a group and between each seedling and its closest mature tree using the relative concentrations to tetradecane for each peak of their chromatographic profile. Because different compounds have different responses to the FID, the mg/g obtained for one peak are not comparable to those obtained for peaks with different retention times, nor they necessarily represent the actual concentration of the compound in the leaf. However, this measurement allows comparison of peaks with the same retention times among chromatograms, and therefore the measurement is fit to calculate Euclidean distances.

We used non-parametric U-Mann Whitney and Kruskal-Wallis tests to assess statistical differences between the median chemical distance among seedlings and that of seedlings compared with their tree.

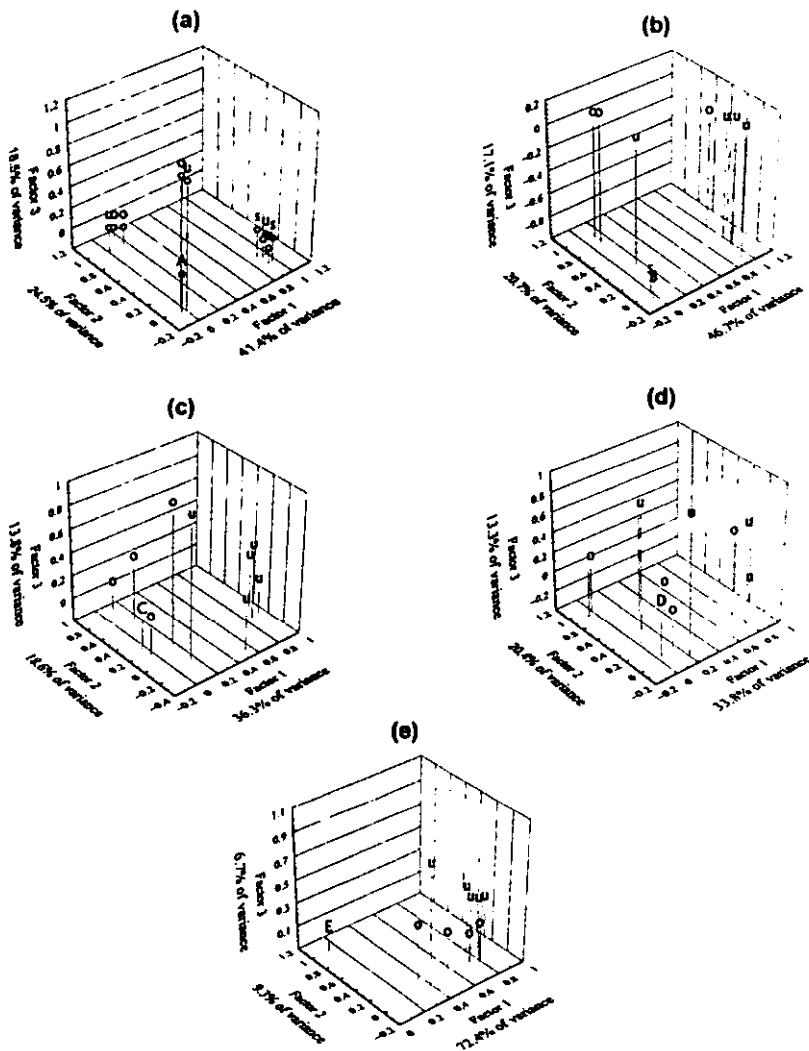
Results

Chromatograms of leaves of *Nectandra ambigens* seedlings and mature individuals showed a great number and diversity of leaf chemical compounds. The number of peaks identified in the chromatograms varied among 65 and 99. Although some seedlings have chemical profiles that resembled those of parental tree, most of them were clearly different from those of parental trees (see ahead).

Chemical similarity between parental trees and unknown age seedlings

Principal component analysis segregated most seedlings from clumped or isolated parental trees. In all analyses performed, the three first components explained more than 67.44% of total variance. In one of the six cases where mature trees were neighbours, two seedlings very similar to one of the neighbours were growing outside of the canopy of the other neighbour (Fig. 1a). In other of these cases, a single seedling was chemically close to the parental tree (Fig. 1b). This seedling was located on the edge of the two neighbouring mature canopies. In two of the six cases where mature trees were isolated, only one or two seedlings were chemically close to the parental tree (Figs. 1c and 1d). These seedlings were located outside of the parental tree canopy. All other seedlings, in these and other groups, were chemically very different to their closest mature tree (Fig. 1e). In eleven of twelve groups, most seedlings were clumped away from the adult in one to three clusters (e.g., Fig. 1).

Figure 1. Arrangement according PCA based on chemical profiles of *Nectandra ambigens* trees and their seedlings. Trees in uppercase and seedlings in lowercase, u = under the canopy, o = outside of the canopy, s = in between two canopies. In many cases the symbols for seedlings do not appear because they overlap with others.



- (a) Neighbour tree [A] with its seedlings, the PCA explained 84.5% of the variance with three factors.
- (b) Neighbour tree [B] with its seedlings, the PCA explained 84.5% of the variance with three factors; only one seedling [s, behind the letter B, overlap] was chemically close to the parent tree [B].
- (c) Isolated tree [C] with its seedlings, the PCA explains 68.7% of the variance with three factors; one seedling [o] was chemically close to the parent tree [C].
- (d) Isolated tree [D] with its seedlings, the PCA explains 67.4% of the variance with three factors; two seedlings [o] were chemically close to the parent tree [D].
- (e) Isolated tree [E] with its seedlings, the PCA explains 87.5% of the variance with three factors.

The mean (\pm sd) chemical Euclidean distance among seedlings (3.0 ± 1.9 , $N = 461$) was significantly smaller than the distance among mature trees and seedlings (4.8 ± 2.6 , $N = 111$; $U = 13175.5$, $P < 0.00001$). There was no difference between the mean distance among the mature tree and the seedlings under its canopy (4.8 ± 2.6 , $N = 48$) and the mean distance among the tree and the seedlings outside of its canopy (4.8 ± 2.8 , $N = 53$; $U = 1245.0$, $P > 0.854$).

We expected that in neighbour trees the seedlings chemically similar to one mature tree would be absent under its canopy but present under the canopy of the neighbour tree and vice versa. This case only occurred partially with one pair of neighbour trees (Fig. 2) where two seedlings similar to one adult were growing under the other adult. In the other two groups of neighbours, most seedlings were away from both adult trees.

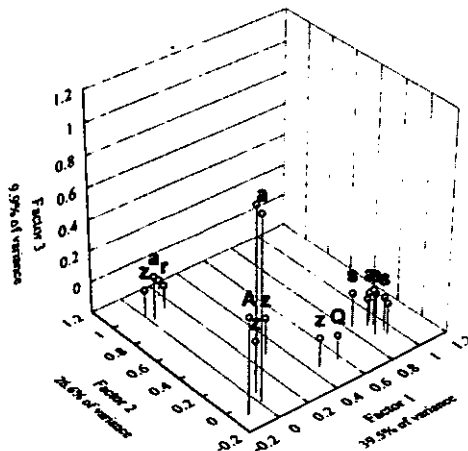
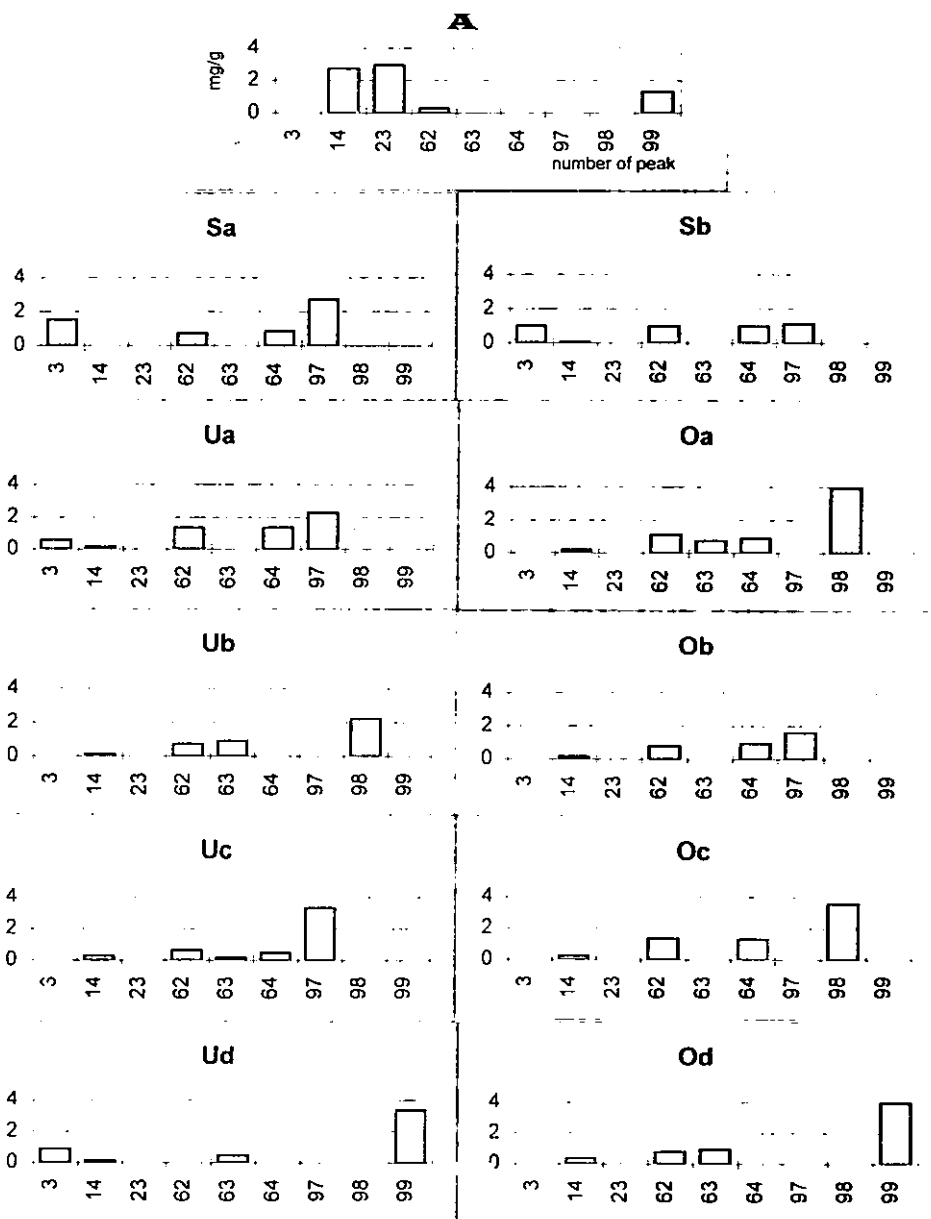


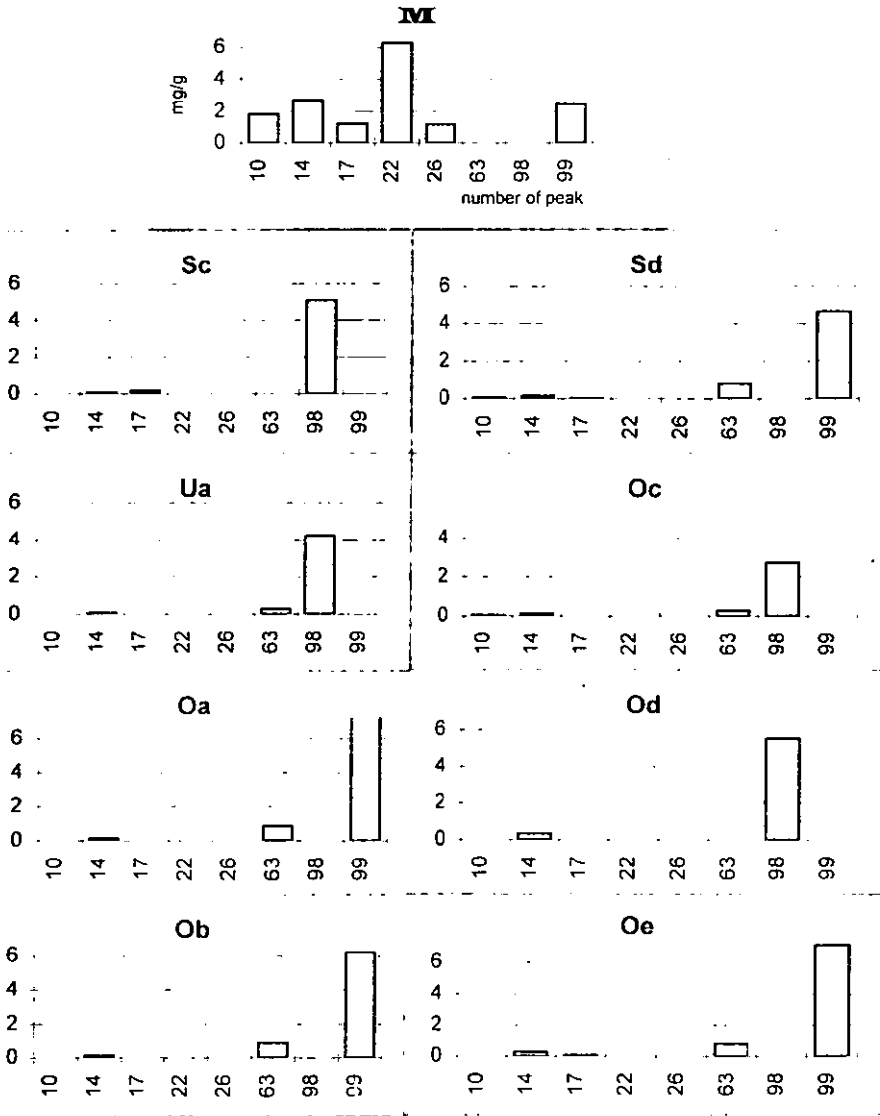
Figure 2. Arrangement according PCA based on chemical profiles of two neighbour trees [A, Q] with their 19 seedlings (letters in lower case). The PCA explains 75.9% of the variance with three factors. Two seedlings [z] that were collected away canopy of the tree [Q], were chemically close to the other mature tree [A]. Seedlings [a] were collected under canopy of [A], seedlings [x] were collected far from [A]; seedlings [r] were collected under canopy of [Q].

Using the PCA results, we selected the determinant chromatographic peaks in the grouping of seedlings and their mature trees. Considering only these peaks, the chemical profile of the mature tree is clearly different from those of their seedlings (e.g., Fig. 3). In most cases the typical compounds of the adult were absent or in different proportions than those typical in their seedlings (Figs. 3a and 3b), although in some cases the chemical profiles of one or few seedlings were very similar to that of their adult (Fig. 3c).

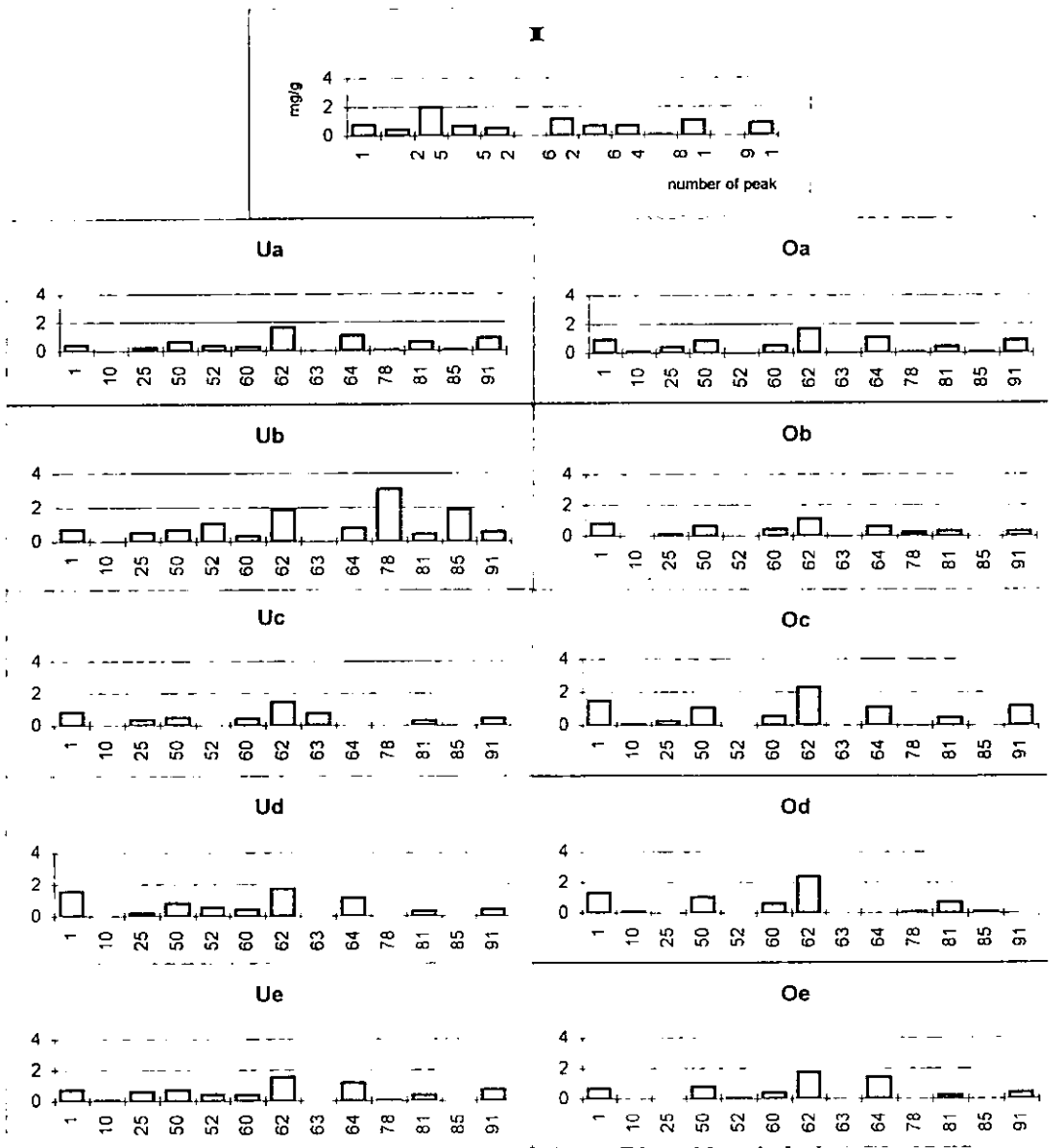
Figure 3. Chromatographic profiles using selected peaks for a groups of seedlings and their closest conspecific tree. The peaks were selected because of their high factor score in the PCA.



(a) Neighbour tree [A] and its seedlings collected under the canopy [Ua, Ub, Uc and Ud] and away from the canopy [Oa, Ob, Oc, and Od]; seedlings in between the canopies of [A] and its neighbour [Sa and Sb].



(b) Neighbour tree [M] and its seedlings collected under the canopy [Ua] and away from the canopy [Oa, Ob, Oc, Od and Oe]; seedlings in between the canopies of M and its neighbour A [Sc and Sd].



(c) Isolated tree [I] and its seedlings collected under the canopy [Ua, Ub, Uc, Ud and Ue] and away from the canopy [Oa, Ob, Oc, Od and Oe].

Chemical similarity between parent trees and seedlings of known age

Seedlings of known age showed a similar chemical differentiation pattern than that found in unknown age seedlings (Fig. 4). Besides of being chemically away from the mature trees, seedling age did not increase along systematically with the chemical distance to the adult. As predicted by the differential mortality hypothesis, the mean distance (\pm sd) seedling-mature tree between seedlings less than one year old (28.5 ± 6.1 , $N = 4$) and those of 2 to 3 years old (27.6 ± 24.4 , $N = 14$) were not statistically different while the seedlings of 1-2 years old (19.2 ± 4.96 , $N = 20$) were closer to the mature tree than the other two categories (Kuskall-Wallis test, $H = 5.94$ 2,38, $P = 0.051$). The leaves sampled within a single mature tree canopy were almost identical (Fig. 4).

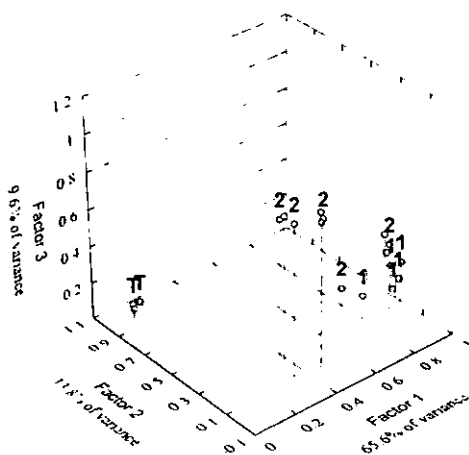


Figure 4. Arrangement according PCA based on chemical profiles of an isolated tree, with three foliar samples [T], and 16 seedlings with one year-old [1] and two years-old seedlings [2]. The PCA explains 89.0% of the variance with three factors.

Discussion

The clear differentiation between chemical profiles of seedling and adult leaves agrees with the Langenheim and Stubblebine's hypothesis. Because the chemical phenotype for terpenoid-producing trees has an strong genetic control (Langenheim 1994), our results could indicate that this pattern of chemical differentiation enhances genetic variability within the *Nectandra ambigens* population. The difference in seedling-mature chemical distance among age categories, although marginally significant, could suggest that there is an increasing distance to the mature tree from young to old seedlings. However, the fact that the <1-yr-old seedling group was equally distanced to mature tree to the same extent as the 2-3-yr-old category is at odds with this suggestion. We believe that the very small sample size in the youngest category ($n = 4$) prevents us to arrive at a definitive conclusion; the four seedlings we could find might not have been an unbiased sample of that age category.

The lack of differentiation among seedling with different spatial position could mean that our sample size was not big enough. However, the chemical distance between trees and their seedlings was clear with the same sample sizes. This indicates that chemical differentiation among seedlings may exist but with a magnitude much more smaller than that of the tree and its seedlings. An indication against this possibility is that seedlings very similar to one neighbour tree survived outside its canopy or under the canopy of the other neighbour tree (Figs. 1a and 2). Still we need to demonstrate experimentally whether chemical differentiation among seedlings occurs at tree-seedling distances larger than those used in our sampling design. If our sampling size and design were correct, this would mean that differential mortality among seedlings occurs during the first year of their life and that the seedlings most similar to the adult die soon. This would imply a minimum chemical distance to insure seedling survival under the canopy of its parental tree. The chemical differentiation between seedlings and their closest adult tree might have alternative explanations to differential mortality that could be grouped in genetic, ontogenetic and environmental causes.

Genetic vs. environmental sources

There is a possibility that the adult canopy leaves vary chemically among themselves and thus the seedlings are not really different from their closest adult, because they only reflect the natural variation of the canopy. An argument against this possibility is that our results show that leaves from three equidistant points of the lower canopy are almost identical (Fig. 4), and that many seedlings are very similar among them (e.g., Fig. 2) suggesting that they were full siblings. The uniformity of the chemical profile, or chemotype, within a canopy has been demonstrated for other temperate and tropical trees (Langenheim, 1994; Hanover, 1966), implying a strong genetic control of the chemical phenotype.

Another possibility to explain the chemical differentiation between the tree and its seedlings is that *Nectandra ambigens* adults cannot produce its own chemical phenotype because all seeds arise from outcrossing. This possibility does not seem to occur in our study system because some seedlings closely resembled the chemical phenotype of their presumed parental trees (Figs 1a, 1d). Langenheim and Stubblebine (1983) found that their *Hymenaea* trees were able to reproduce their own chemotype, although none of these chemotypes were found surviving under their parental trees.

Ontogenetic causes

In some terpene producing trees, such as *Umbellularia californica*, leaves from sprouts have a chemical profile different from that of leaves from the sprouting tree (Goralka & Langenheim, 1996). Once that the sprouts reach certain height, the leaf chemical profile becomes similar to that of the sprouting tree. This may suggest that seedlings in *Nectandra ambigens* could have a similar chemical ontogenetic variation and thus we did not detect differentiation due to differential mortality among seedlings. The fact that some of our seedlings closely resembled the chemical phenotype of their presumed parental trees argues against this possibility.

Concluding remarks

Our results suggest that the cause of chemical differentiation between seedlings and their closest adult tree is differential mortality among seedlings due to biological agents, much in the way as Langenheim and Stubblebine (1983) proposed. We detected dozens of compounds in the individual chromatograms, but few of them were the determinants in separating chemically seedlings from their closest adult. Although we did not identify any compound from the chromatograms, we do know that *Nectandra ambigens* leaves have terpenoids and phenylpropanoids (Del Amo *et. al.* 1986) which are well known for their antagonistic activity against insects and fungal pathogens (see Langenheim 1994). Of course, we need experiments to demonstrate that the compounds that differentiated seedlings from their closest adult have antagonistic function against plant enemies that attack *N. ambigens*. The ultimate test of the differential mortality according to the chemical phenotype hypothesis will need of the chemical phenotypes of seedlings before they are placed and followed in time under and away from the canopy of the parental tree.

We agree with Janzen's assertion (personal communication) that herbivores or pathogens do not eat Latin binomials. Our study with *Nectandra ambigens* seems to agree with this. This insight applied to the Janzen-Connell hypothesis may help to explain cases where its predictions have been rejected.

Acknowledgments

We thank Jorge Rodríguez-Velázquez for his technical assistance in the field and the Los Tuxtlas field station staff for the use of their facilities. Leaves from adult trees were collected by Mr. Lucio Sinaca. M.E. Sánchez-Hidalgo thanks the Fundación UNAM for the fellowship received for twelve months. This project was supported partially by CONACyT with a grant to MMR.

References

- Bongers, F., Pompa J., Meave, J. & Caravias J. (1988) Structure and floristic composition of the lowland rain forest of Los Tuxtlas, México. Vegetatio 74: 55-88.
- Clark, D. A. & Clark, D. B. (1984) Spacing dynamics of a tropical rain forest tree: evaluation of the Janzen-Conell model. American Naturalist 124: 769-788.
- Condit, R., Hubbel, S. H. & Foster R. B. (1992) Recruitment near conspecific adults and the maintenance of tree and shrub diversity in a neotropical forest. American Naturalist 140: 261-286.
- Connell, J. H. (1971) On the role of natural enemies in preventing competitive exclusion in some marine animals and in rain forest trees. In Dynamics of Populations (eds. P.J. den Boer & G. R. Gradwell) pp. 298-312. Centre for Agricultural Publishing and documentation, Wageningen.
- Córdova, C. B. (1979) Efectos de la densidad, la distancia al árbol y la depredación, en el crecimiento y sobrevivencia de plántulas de *Nectandra ambigens* (Blake). BSc Thesis, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Córdova, B. (1985) Demografía de árboles tropicales. En Investigaciones sobre la regeneración de selvas altas en Veracruz, México II (edrs. A. Gómez-Pompa y S. Del Amo) pp. 103-128. Edit. Alhambra, México, D. F., México.
- CSS (1993) Statistica. Statsoft Inc. New York, U.S.A.
- De la Cruz, M. & Dirzo, R. (1986) A survey of standing levels of herbivory on seedlings from Mexican rainforests. Biotropica 19: 98-106.

- Del Amo, R. S, Ramírez, J. G. & Espejo, O. (1986) Variation of some secondary metabolites in juvenile stages of three plant species from tropical rain forest. Journal of Chemical Ecology 12: 2021-2038.
- Dirzo, R. (1984) Herbivory: a phytocentric overview. In Perspectives on Plant Population Ecology (eds. R. Dirzo & J. Sarukhán), pp. 141-165. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts, U.S.A.
- Dirzo, R., Ibarra-Manríquez, G. & Sánchez-Garduño, C. (1997) *Nectandra ambigens* (laurel chilpatillo). *Historia Natural de Los Tuxtlas* (eds. E. González-Soriano, R. Dirzo & R. C. Vogt), pp. 124-129. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. México.
- Estrada, A., Coates-Estrada, R. & Martínez-Ramos, M. (1985) La Estación de Biología "Los Tuxtlas": un recurso para la conservación y estudio del trópico húmedo de México. Investigaciones Sobre la Regeneracion de Selvas en Veracruz, México II (eds. A. Gómez-Pompa & S. del Amo). pp. 379-393. Edit. Alhambra, México, D. F., México.
- García-Guzmán, G. (1990) Estudios sobre la ecología de patógenos en el follaje de plantas de la selva de los Tuxtlas. MSc Thesis, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- González-Méndez, M. A. (1995) Consecuencias ecológicas de la variación interespecífica en las curvas de dispersión de semillas en una selva alta perennifolia. BSc. Thesis. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México, México.

- Goralka, R. & Langenheim, J. L. (1996) Implications of foliar monoterpenoid variation among ontogenetic stages of California Bay Tree (*Umbellularia californica*) for deer herbivory. Biochemical Systematics and Ecology **24**: 13-23.
- Hanover, J. W. (1966) Genetics of terpenes I. Gene control of monoterpene levels of *Pinus monticola*. Heredity **21**: 73-84.
- Hubbell, S. P. & Foster, R. B. (1990) Presence and absence of density dependence in a neotropical tree community. Philosophical Transactions of the Royal Society London. B **330**:269-281.
- Ibarra-Manríquez, G. & Sinaca-Colín, S. (1997) Fanerógamas. *Historia Natural de Los Tuxtlas* (eds. E. González-Soriano, R. Dirzo & R. C. Vogt), pp. 162-174. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- Janzen, D. H. (1970) Herbivores and the number of tree species in tropical forests. American Naturalist **104**: 501-528.
- Langenheim, J. H. (1994) Higher plant terpenoids: a phytocentric overview of their ecological roles. Journal of Chemical Ecology **20**: 1223-1280.
- Langenheim, J. H. & Stubblebine W. H. (1983) Variation in leaf resin composition between parent tree and progeny in *Hymenaea*: implications for herbivory in the humid tropics. Biochemistry Systematics and Ecology **11**: 97-106.
- Ludwig, D. & Reynolds J. F. (1988) Statistical Ecology. Wiley, New York.
- Macedo, C. A. & Langenheim J. H. (1989) Microlepidopteran herbivory in relation to leaf sesquiterpenes in *Copaifera langsdorfii* adult trees and their seedling progeny in a Brazilian Woodland. Biochemical Systematics and Ecology **17**: 217-224.

- Martínez-Ramos, M. (1991) Patrones procesos y mecanismos en la comunidad de plántulas de una selva húmeda neotropical. Tesis doctoral. UACPyP-CCH, Centro de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Martínez-Ramos, M. (1994) Regeneración natural y diversidad de especies arbóreas en selvas húmedas. Boletín de la Sociedad Botánica de México 54: 179-224.
- Martínez-Ramos, M. & Alvarez-Buylla, E. (1995) Ecología de poblaciones de plantas en selvas húmedas de México. Boletín de la Sociedad Botánica de México 56: 121-153.
- Martínez-Ramos, M.; Alvarez-Buylla, E.; Sarukhán, J. & Piñero D. (1988) Treefall age determination and gap dynamics in a tropical forest. Journal of Ecology 76: 700-716.
- Martínez-Ramos, M. & Soto-Castro, A. (1993) Seed rain and advanced vegetation in a tropical rain forest. Vegetatio 107/108, 299-318.
- Sturgeon, K. B. & Mitton J. B. (1986) Biochemical diversity of Pine and predation by bark beetles (Coleoptera: Scolytidae). Journal of Economic Entomology 79: 1064-1068.
- Wills, C., Condit, R., Foster, R. B. & Hubbell, S. P. (1997) Strong density- and diversity-related effects help to maintain tree species diversity in a neotropical forest. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 94: 1252-1257.

APÉNDICE

I Detalles del método no incluidos en el artículo.

II Resultados adicionales no incluidos en el artículo.

APÉNDICE I. Detalles del método no incluidos en el artículo.

A continuación se describe la forma de transporte de las muestras de hojas de *Nectantra ambigens* desde la Estación de Biología "Los Tuxtlas". En seguida se muestra número de compuestos (picos), obtenidos por grupo en los análisis de componentes principales y la fórmula de las distancias euclidianas utilizadas en los datos, para realizar la prueba de Kruskal-Wallis que se utilizó.

OPTIMIZACIÓN DE LA FORMA DE TRANSPORTE

La forma de transporte elegida, fue la que produjo la menor pérdida de compuestos químicos foliares. Para ello se seleccionaron 15 árboles de *N. ambigens* y se tomaron 3 hojas maduras de cada uno, mismas que se revolviéron y se separaron en tres grupos de 15 hojas cada uno. Un grupo fue transportado en papel estraza, otro se metió en una bolsa y se llevó en hielo y el último en hexano. Luego en el laboratorio cada grupo fue repartido en tres frascos, cortando cada hoja sin peciolo en tres partes (ápice, parte intermedia y base), repartidos al azar, sin repetir dos partes de una misma hoja en un frasco. Se molieron con hielo seco y se les agregó hexano en frascos ámbar de 75 ml. dejándose "reposar" durante 24 hrs. en el refrigerador. Luego se filtraron con papel filtro Whatman No.1 y a través de sulfato de magnesio (para eliminar el agua). Después se concentraron bajo una corriente de N_2 gaseoso y se inyectaron en el cromatógrafo de gases. Las hojas transportadas en papel tuvieron menor cantidad de compuestos y las transportadas en hexano mayor cantidad de compuestos. Así que se eligió el hexano para transportar las muestras.

Cálculo de distancias Euclidianas.

Se calcularon las distancias euclidianas para obtener la distancia química entre árbol adulto-árbol adulto, árbol adulto-plántula y plántula-plántula. Se formaron dos grupos, los de plántulas con edad desconocida y los de plántulas con edad conocida. Se obtuvieron las DE, según las fórmulas en Ludwig y Reynolds, 1988:

$$DE_{jk} = \sqrt{\sum_{i=1}^S (X_{ji} - X_{ki})^2}$$

donde X_{ji} es la respuesta del compuesto químico en el cromatógrafo, de una muestra de hojas.

Luego las DE se compararon con las pruebas no paramétricas de U-Mann Whitney y Kruskal-Wallis.

APÉNDICE 2. Resultados adicionales no incluidos en el artículo.

A continuación se presentan resultados y datos que no fueron incluidos en el capítulo 2. Esto se debió a que el artículo enviado a una revista científica no podía ser muy extenso y a que los patrones que se observan en las figuras de este apéndice son los mismos que se ejemplifican en el capítulo 2. La inclusión de este apéndice únicamente busca ilustrar con mas amplitud lo que se discute en el capítulo 2. El único resultado que no esta incluido en el artículo es un análisis de componentes principales realizado comparando 12 árboles adultos entre sí. Esta comparación fue exploratoria y periférica a la hipótesis principal. Aunque brindó un resultado interesante, su alcance limitado no justificaba la adición de un capítulo aparte en este trabajo, de aquí que quedó incluido en este apéndice, donde la discutimos muy brevemente al final de esta sección.

ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES.

El análisis de componentes principales (ACP) se aplicó a las 12 matrices de grupos de plántulas de edad desconocida; la de árboles cercanos por separado (Figuras 1,2 y 3), a los tres pares de árboles cercanos (Figura 4, 5 y 6), y a los árboles aislados (Figura 7). También se aplicó el ACP a las 3 matrices de los grupos de plántulas de edad conocida (Figura 8, 9 y 10). Con los doce árboles de las plántulas de edad desconocida se hizo una matriz y se les aplicó ACP (Figura 11).

Se utilizó rotación máxima (varimax). Con el paquete Statistica.

La cantidad de picos que tuvieron cada una de las matrices fue diferente, pues algunos picos no se encontraron en algunos grupos y otros si fueron compartidos:

EDAD DESCONOCIDA			EDAD CONOCIDA		
Grupos cercanos	no. de picos	Grupos aislados	no. de picos	Grupos	no. de picos
I	82	VII	58	A	73
II	70	VIII	79	B	99
III	65	IX	82	C	90
IV	77	X	75		
V	72	XI	89		
VI	65	XII	85		

A continuación se presentan las gráficas obtenidas para los ACP basados en los perfiles químicos de todos los árboles de las plántulas con *edad desconocida*. Luego se presentan a los ACP de los árboles cercanos [A, B, C, D, E y F] y sus plántulas de *Nectandra ambigens*. Los árboles en mayúsculas y sus plántulas en minúsculas, c = colectadas bajo la copa, f = colectadas fuera de la copa y co = colectadas entre las copas de dos árboles cercanos (Fig. A) En muchos casos los símbolos de las plántulas no aparecen porque se superponen con otros.

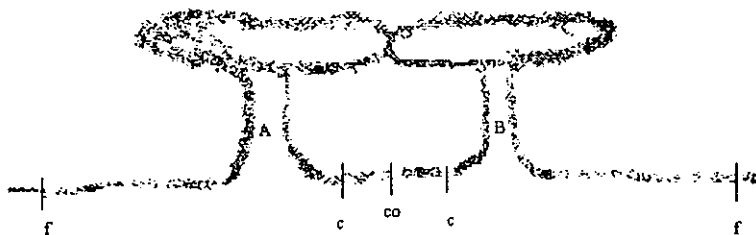


Figura A. Esquema de dos árboles vecinos (letras mayúsculas) señalando las posiciones donde las plántulas (minúsculas) fueron colectadas. Se usó el mismo tipo de símbolos para los esquemas que acompañan a las figuras que muestran resultados de ACP:

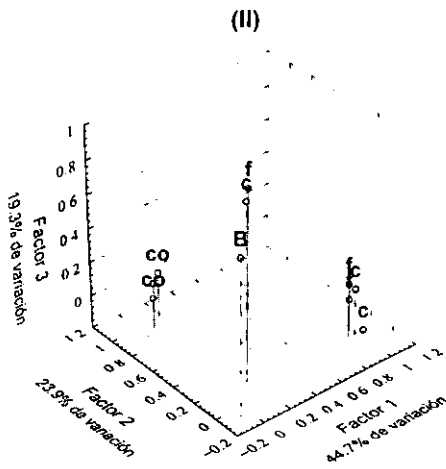
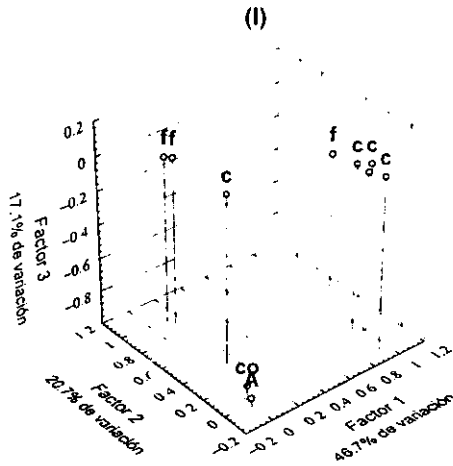


Figura 1. ACP de los árboles cercanos del 1er. par. (I) Árbol cercano A con 9 plántulas, una co muy cerca del adulto. Hay cuatro f lejanas repartidas en dos grupos. Con 84.5% de variación explicada por los 3 primeros factores. (II) Árbol cercano B con 10 plántulas, una c y una f muy cercanas a B. Dos grupos lejanos de B. Uno con dos co y una c forman un grupo. Con 88.0% de variación explicada con los 3 primeros factores.

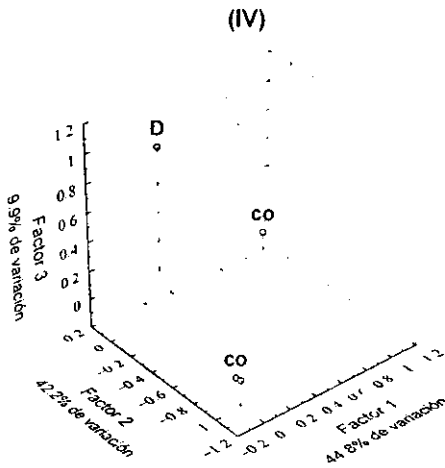
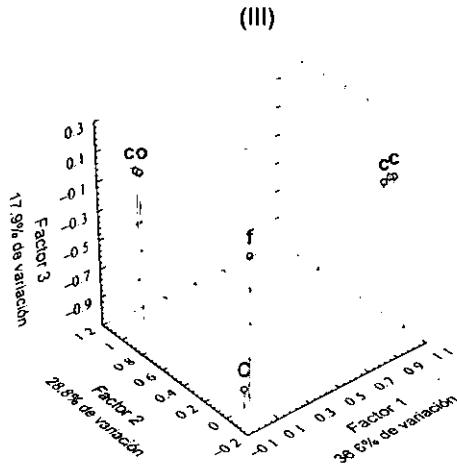


Figura 2. ACP de los árboles cercanos del 2o. par. (III) Árbol cercano C con 9 plántulas. Dos f cercanas químicamente a C una más que la otra. Dos grupos lejanos a C. Uno con una c, una f y una co. Con 83.3% de variación explicada con 3 factores. (IV) Árbol cercano D las 8 plántulas forman 2 grupos separados de D. Uno con tres f y una co. Y en el otro hay una c, dos f y una co. Con 97.0 % de variación explicada con los 3 primeros factores.

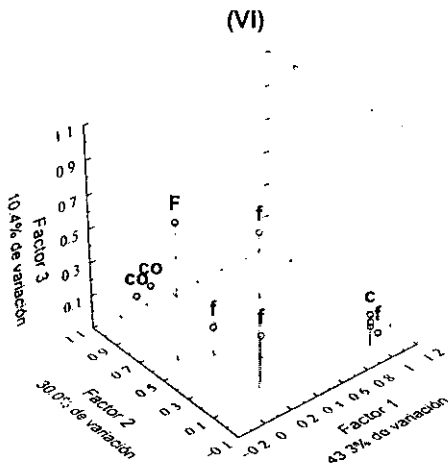
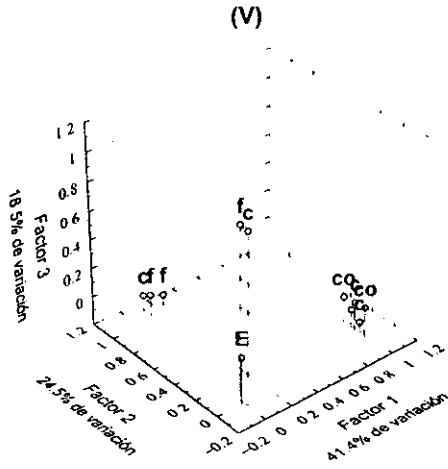


Figura 3. ACP de los árboles cercanos del 3er. par. (V) Árbol cercano E con 10 plántulas. Una c y una f un poco cercanas químicamente a E. Dos grupos lejanos de E. Uno con dos e, una f y dos co. El otro por una e y dos f. Con 84.5% de variación explicada con 3 factores. (VI) Árbol cercano F con 9 plántulas. Una f esta cercana de F. Un grupo con dos plántulas co, están un poco cerca de F, como otro con dos plántulas f. Otro grupo formado por dos c y dos f, están lejos de F. Con 83.7% de variación explicada con los 3 primeros factores.

En seguida se presentan las gráficas obtenidas para los ACP basados en los perfiles químicos de árboles y sus plántulas de *N. ambigens*, de los pares de árboles cercanos (A y B), (C y D) y (E y F). Sus plántulas en minúsculas, a = bajo la copa del 1er. árbol, x = fuera de la copa del 1er. árbol; b = bajo la copa del 2o. árbol, z = fuera de la copa del 2o. árbol y co = entre las copas de los árboles vecinos.

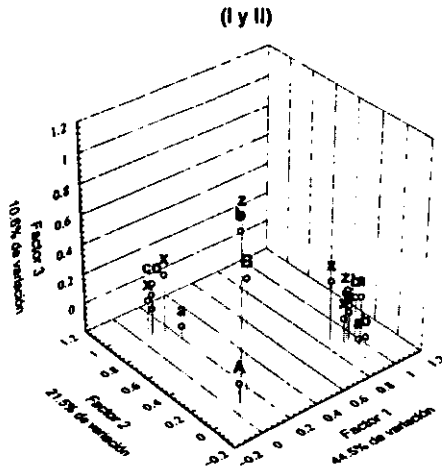
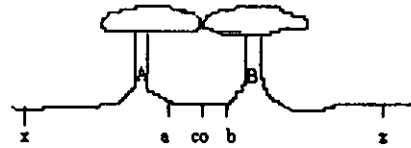
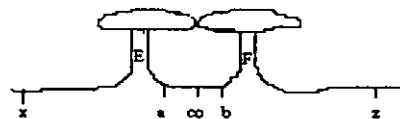
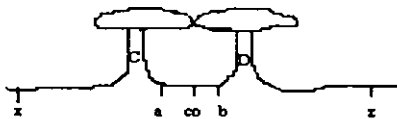


Figura 4. ACP del 1er. par de árboles cercanos (A y B). Con 77.6% de variación explicada por los 3 primeros factores. El árbol A y el B están un poco cerca químicamente. De las 19 plántulas, una co está sobrelapada con A. Una plántula b, y una z están más cerca de B. Las 16 restantes forman dos grupos lejanos químicamente de los adultos. En uno hay tres plántulas a, dos x, dos b y tres z. En el otro hay una plántula a, dos x, una b y dos co.



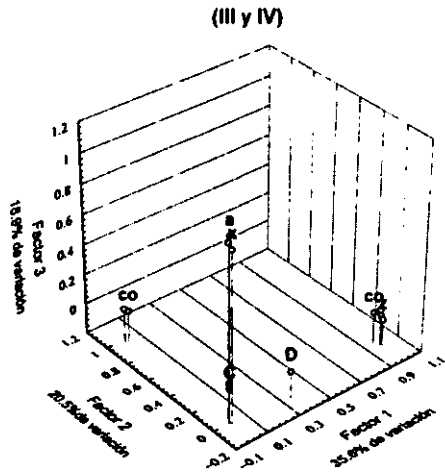


Figura 5. ACP del 2º par de árboles cercanos (C y D). Con 75.0% de variación explicada por los 3 primeros factores. El árbol C está un poco retirado químicamente del D. De las 17 plántulas, dos x están sobrelapadas con C y tres a y una x están un poco cerca de C. Y 11 plántulas forman dos grupos lejanos de los adultos. En uno hay una plántula a, una x, tres z y dos co. En el otro hay una b, dos z y una co.

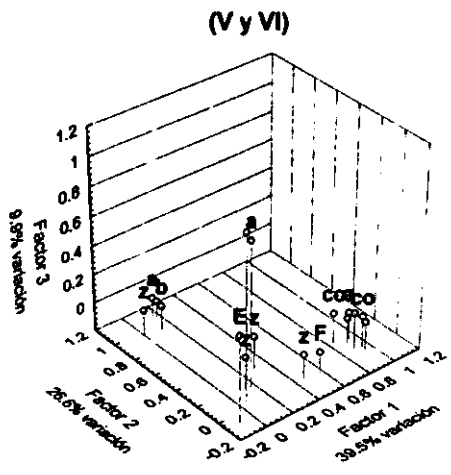
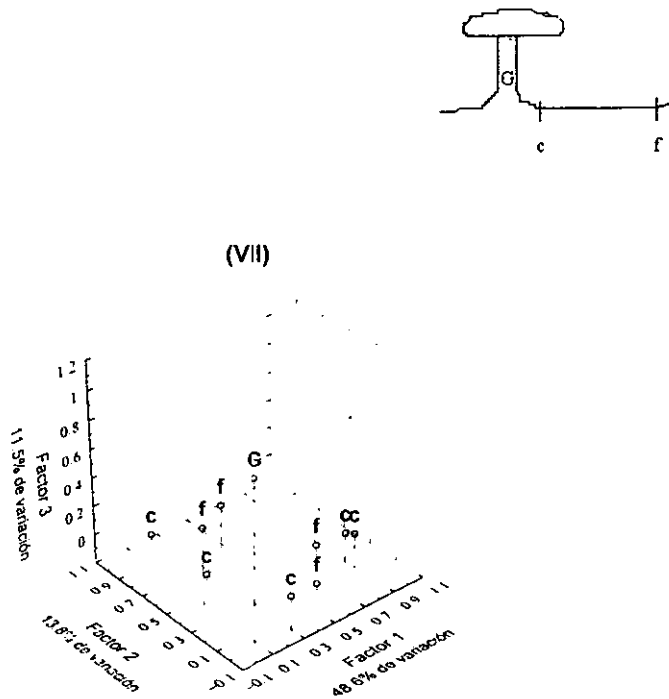


Figure 6. ACP del 3er. par de árboles cercanos (E y F). Con 75.9% de variación explicada por los 3 primeros factores. El árbol E está un poco retirado químicamente del F. De las 19 plántulas, dos z, están muy cercanas a E y una a con una x están un poco menos. Hay una z, muy cerca de F. Las 14 plántulas restantes forman dos grupos lejanos de los adultos. En uno de ellos hay dos a, una x, cuatro co. En el otro hay una a, dos b, dos x y dos z.

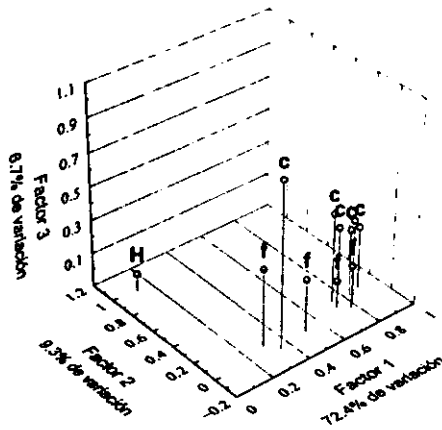
En seguida se presentan las gráficas obtenidas para los ACP basados en los perfiles químicos de árboles y sus plántulas de *N. ambigens*. De los árboles aislados (G, H, I, J, K y L). Los árboles en mayúsculas y sus plántulas en minúsculas, c = bajo la copa, f = fuera de la copa y co = entre las copas de dos árboles vecinos. En muchos casos los símbolos de las plántulas no aparecen porque se sobreponen con otros:

Figura 7. ACP de los árboles aislados:



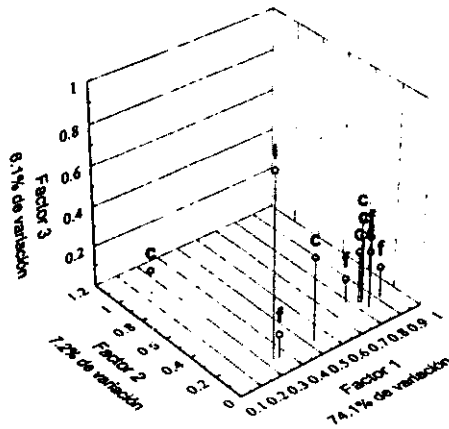
(VII) Árbol aislado G, con una variación explicada por 3 factores de 73.9%. Con 9 plántulas, que están alejadas químicamente del adulto G, parecen formar grupos heterogéneos, con plántulas c y f. Hay un par de plántulas c y una f lejanas de G y cercanas entre sí.

(VIII)

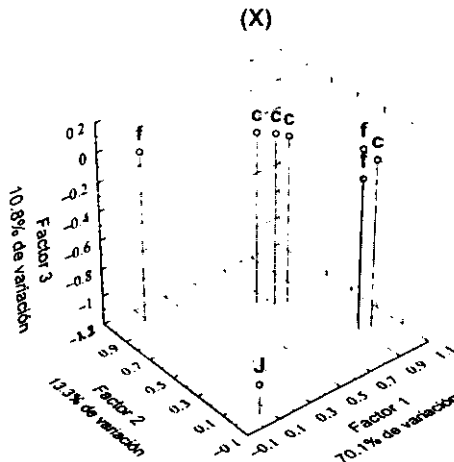


(VIII) Árbol aislado H, con una variación explicada por 3 factores de 87.5%. Con 10 plántulas, que están alejadas químicamente del adulto H. Forman dos grupos. Uno con dos plántulas f, con una plántula e un poco cercana. Y otro más retirado formado por cuatro e y tres f.

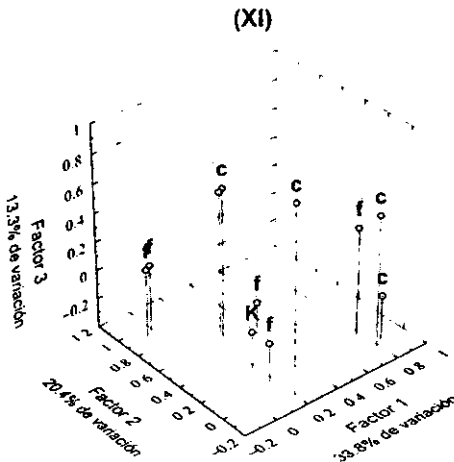
(IX)



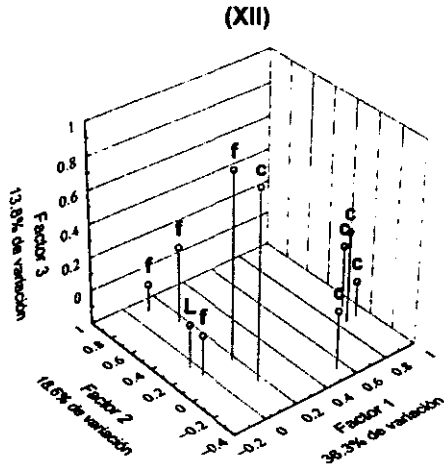
(IX) Árbol aislado I, con una variación explicada por 3 factores de 88.4%. Con 10 plántulas. Una plántula f un poco cerca del árbol adulto I y una e un poco menos cerca. Y siete plántulas alejadas de I, tres plántulas e y cuatro f. Y una plántula e alejada de todos.



(X) Árbol aislado J, con una variación explicada por 3 factores de 94.2%. Con 8 plántulas que forman dos grupos separados químicamente del adulto Un grupo formado por 3 plántulas f y una c. Otro grupo de 3 plántulas c. Y una plántula f alejada de todos.



(XI) Árbol aislado K, con una variación explicada por 3 factores de 67.4%. Con 10 plántulas forman tres grupos. Uno formado por dos plántulas f un poco cercanas al adulto y tres c un poco menos cercanas químicamente del adulto K. Otro grupo formado por dos plántulas c y una f. Y otro grupo de dos plántulas f.



(XII) Árbol aislado L, con una variación explicada por 3 factores de 68.7%. Con 9 plántulas, una f cercana químicamente a L. Dos plántulas f un poco menos cerca del adulto. Una c y una f menos cerca de L. Y cuatro plántulas c separadas químicamente del adulto.

Plántulas de edad conocida

Grupo 1

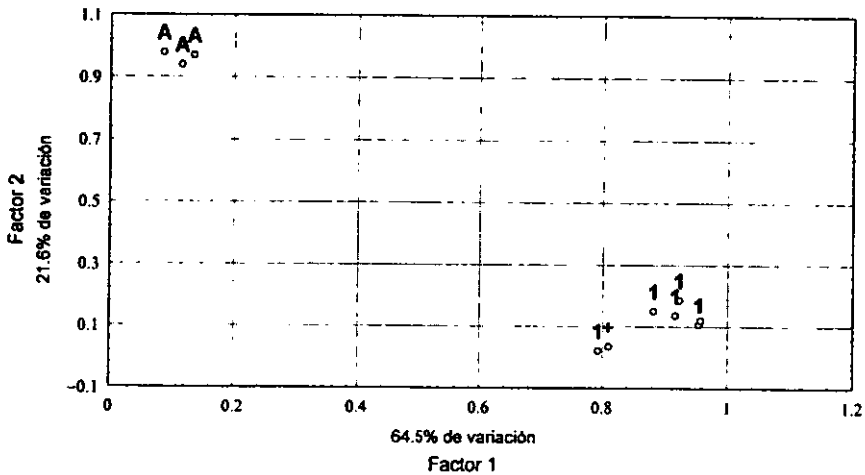


Figura 8. ACP del grupo 1 de plántulas de edad conocida. Con una variación explicada por los 2 primeros factores de 86.2%. Con 9 plántulas lejanas químicamente de las 3 muestras del árbol adulto (A). Formado un grupo lejano que se dividía en, un grupo de tres plántulas de menos de 1 año (+) con cuatro plántulas de un año de edad (1). Y otro grupo formado por una plántula (1) y una (+).

Grupo 2

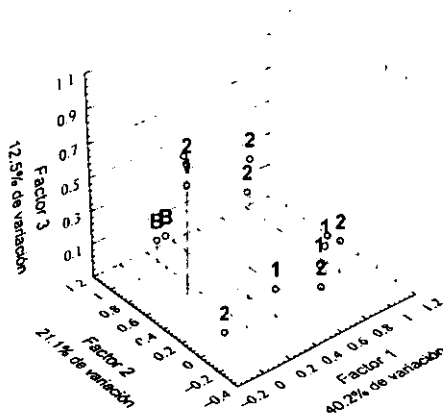


Figura 9. ACP del grupo 2 de plántulas de edad conocida. Con una variación explicada por los 3 factores de 73.8%. Las 13 plántulas forman dos grupos alejados químicamente de las 3 muestras del adulto (B). Uno de ellos está más lejano a (B) y está formado por cuatro plántulas de 1 año (1) y dos de 2 años de edad (2). El otro grupo está formado por dos plántulas de 1 año y tres de 2 años. Y hay una plántula de 1 año y otra de 2 años que no forman grupo y están lejos de (B).

Grupo 3

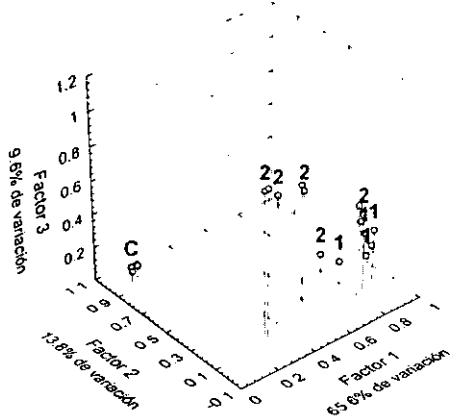


Figura 10. ACP, del grupo 3 de plántulas de edad conocida. Con una variación explicada por los 3 factores de 89.0%. Las 16 plántulas forman dos grupos alejados químicamente de las 3 muestras del adulto (C). El más lejano está formado por seis plántulas de 1 año de edad (1) y dos plántulas de 2 años de edad (2). El otro grupo un poco menos lejos (C), está formado por 5 plántulas de 2 años de edad y una de 1 año.

Los pares de árboles cercanos fueron químicamente diferentes entre sí (A'-B', C°-D° y E'-F') (Figura 11). Esto se esperaría si en un principio tuviéramos plántulas con diferentes fenotipos químicos y con el tiempo sólo sobreviven los fenotipos diferentes. Esta posibilidad parece plausible ya que hubo árboles lejanos espacialmente entre sí y cercanos químicamente (Figura 11; B', K; E', G, H y J). Esto apoya la hipótesis planteada en este trabajo y se podría especular que existe una diferenciación química mínima que permite que individuos conespecíficos cercanos físicamente, lleguen a la madurez.

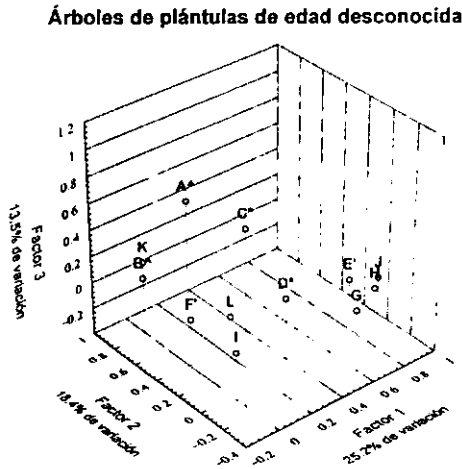


Figura 11. ACP de los 12 árboles de las plántulas de edad desconocida. Tres pares de árboles cercanos (A'-B', C°-D° y E'-F') y seis árboles aislados (G, H, I, J, K y L). Con 57.2% de variación explicada por los tres primeros factores.

BIBLIOGRAFÍA

- Bonfil, S. H. 1995. Efecto de la diversidad de metabolitos secundarios sobre la degradación de semillas artificiales en un suelo agrícola. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Carabias J. & Guevara S. 1985. Fenología de una selva tropical húmeda y en una comunidad derivada. Los Tuxtlas. Veracruz. En Investigaciones sobre la regeneración de selvas altas en Veracruz, México (eds. A. Gómez-Pompa y S. Del Amo) pp. 27-66. Vol II. Alhambra, México.
- Chesson, P. L. & Case, T. J. 1986. Overview: nonequilibrium community theories: chance, variability, history and coexistence. En Community ecology (eds. J. Diamond and J. Case) pp. 229-239. Harper and Row, New York.
- Clark, D. A. & Clark, D.B. 1984. Spacing dynamics of a tropical rain forest tree: evaluation of the Janzen-Connell model. American Naturalist 124: 769-788.
- Condit, R. Hubbel, S. H. & Foster R. B. 1992. Recruitment near conspecific adults and the maintenance of tree and shrub diversity in a neotropical forest. American Naturalist 140: 261-286.
- 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 (eds. P.J. den Boer & G.R. Gradwell) pp. 298-312. Centre for Agricultural Publishing and documentation, Wageningen.
- Connell J. H., Tracey J. G. & Webb J. J. 1984. Compensatory recruitment, growth, and mortality as factors maintaining rain forest tree diversity. Ecological Monographs 54: 141-164.

- Córdova, C. B. 1979. Efectos de la densidad, la distancia al árbol y la depredación, en el crecimiento y sobrevivencia de plántulas de *Nectandra ambigens* (Blake) Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México, México. D.F. 132 p.
- Córdova, C. B. 1985. Demografía de árboles tropicales. En Investigaciones sobre la regeneración de selvas altas en Veracruz, México. (edrs. A. Gómez-Pompa y S. Del Amo) pp. 103-128. Vol II. Alhambra, México.
- CSS 1993. Statistica. Statsoft Inc. New York, U.S.A.
- Del Amo, R. S., Ramírez, J. G. & Espejo, O. 1986. Variation of some secondary metabolites in juvenile stages of three plant species from tropical rain forest. Journal of Chemical Ecology 12: 2021-2038.
- Denno, R. F. & McClure M. S. 1983. Variable plants and herbivores in natural and managed systems. Academic Press. USA. 717 p.
- Edwards, P. B., Wanjura, W. J. & Brown, W. V. 1993. Selective herbivory by Christmas beetles in response to intraspecific variation in Eucalyptus terpenoids. Oecologia 95: 551-557.
- Ehrlich, P. & Raven, P. 1964. Butterflies and plants: A study in coevolution Evolution 18: 586-608.
- Fady, B., Arbez, M., & Marpeau, A. 1992. Geographic variability of terpene composition in *Abies cephalonica* Loudon an *Abies* species around the Aegean: Hypotheses for their possible phylogeny from the Miocene. Trees 6: 162-171.
- Gilbert, G. S., Hubbell, S. P. & Foster R. B. 1994. Density and distance-to-adult effects of a canker disease of trees in a moist tropical forest. Oecologia 98: 100-108.

- Grubb, P. J. 1992. A positive distrust in simplicity lessons from plant defences and from competition among plants and among animals. Journal of Ecology 80: 585-610.
- Hanover, J. W. 1966. Genetics of terpenes I. Gene control of monoterpene levels of *Pinus monticola*. Heredity 21: 73-84.
- Harborn, J. B. 1982. Introduction to Ecological Biochemistry. Academic Press INC. (London) LTD. USA. 278 p.
- Harborne, J. C. & Borberan, T. F. 1991. Ecological chemistry and biochemistry of plant terpenoids. Clarendon Press. Oxford. Great Britain. 439 p.
- Hubbell, S. P. & Foster, R. B. 1986. Commonness and rarity in a neotropical forest: implications for tropical tree conservation. En Conservation biology: science of scarcity and diversity (ed. M. Soulé) pp. 205-231. Sinauer Associates. Massachusetts.
- Hubbell, S. P. & Foster, R. B. 1990. The fate of juvenile trees in a neotropical forest: implications for the natural maintenance of tropical tree diversity. En Reproductive ecology of tropical forest plants. Man and the Biosphere Series (eds. K. S. Bawa and M. Hadley) pp. 317-344. Volume 7 UNESCO. Paris.
- Janzen, D. H. 1970. Herbivores and the number of tree species in tropical forests. American Naturalist 104: 501-528.
- Karban, R. 1992. Plant variation: Its effects on populations of herbivorous insects. En Plant Resistance to Herbivores and Pathogens (eds. R.J. Fritz and E.L. Simms) pp. 195-215. University of Chicago Press, Chicago, Illinois.
- Knight, C. D. & Adams, D. G. 1996. A method for studying chemotaxis in nitrogen fixing cyanobacterium-plant symbioses. Physiological and Molecular Plant Pathology 49(2): 73-77.

- Langenheim, J. H. 1984. The roles of plant secondary chemicals in wet tropical ecosystems. En Physiological Ecology of plants of the wet tropics (eds. E. Median, H. A. Money and C. Vazquez-Yanes) pp. 189-208. Dr. W. Junk Publishers. The Hague.
- Langenheim, J. H. 1994. Higher plant terpenoids: a phytocentric overview of their ecological roles. Journal of Chemical Ecology **20**: 1223-1280.
- Langenheim, J. H. & Stubblebine, W. H. 1983. Variation in leaf resin composition between parent tree and progeny in *Hymenaea*: Implications for herbivory in the humid tropics. Biochemistry Systematics and Ecology **11**: 97-106.
- Ludwig, J. A. & Reynolds J. F. 1988. Statistical Ecology. Wiley, New York.
- Levin, D. A. 1976. The chemical defenses of plants to pathogens and herbivores. Ann. Rev. Ecol. Syst. **7**: 121-59.
- Macedo, C. A. & Langenheim, J. H. 1989. Microlepidopteran herbivory in relation to leaf sesquiterpenes in *Copaifera langsdorfii* adult trees and their seedling progeny in a Brazilian Woodland. Biochemical Systematics and Ecology **17**: 217-224.
- Martínez-Gallardo, R. 1995. Remoción Postdispersión de semillas y frutos por mamíferos en diferentes grados de perturbación antropogénica de la Selva alta perennifolia en la región de los Tuxtlas, Ver. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Martínez-Ramos, M. 1991. Patrones, procesos y mecanismos en la comunidad de plántulas de una selva húmeda neotropical. Tesis doctoral. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Martínez-Ramos, M. 1994. Regeneración natural y diversidad de especies arbóreas en selvas húmedas. Bol. Soc. Bot. México **54**: 179-224.

- Martínez-Ramos, M. & Soto-Castro, A. 1993. Seed rain and advanced vegetation in a tropical rain forest. Vegetatio 107/108, 299-318.
- Miranda, F. & Hernández E. X, 1963. Los tipos de vegetación de México y su clasificación. Bol. Soc. Bot. México 28: 29-179.
- Nava, C. Y. G. 1996. Niveles y patrones de variación química en resinas de las hojas del género *Abies* del norte de México. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Nava, V.; Del Amo S. & Anaya, A. L. 1985. Efecto de los aceites esenciales de estados juveniles de especies primarias contra el ataque de hongos, como un mecanismo de defensa. En Investigaciones sobre Regeneración de selvas II (edrs. A. Gómez-Pompa y S. Del Amo) pp. 283-297. De. Alhambra, México. D.F.
- Pianka, E. R. 1978. Evolutionary Ecology. Harper & Row, publishers. U.S.A. 296. 299 pag.
- Pimentel D. & Bellotti, A. C. 1976. Parasite-host population systems and genetic stability. The American Naturalist 110: 877-888.
- Rhoades, M. J. C. 1985. The physiological significance of plant phenolic compounds. En Annual Proceedings of the Phytochemical Society of Europe (eds. C F. Van Sumere & P. J. Lea) pp. 99-117. Vol. 25, The Biochemistry of Plant Phenolics, Clarendon Press, Oxford
- Rice R. L., Lincoln, D. E. & Langenheim, J. H. 1978. Palatability of monoterpenoid compositional types of *Satureja douglasii* to a generalist molluscan herbivore, *Ariolimax dolichophallus*. Biochemical Systematics and Ecology 6: 45-53.
- Richards, P. W. 1957. The tropical rain forest. 2ª. Edición: Cambridge University Press. Cambridge.

- Rzedowski, J. 1978. *Vegetación de México*. Edit. Limusa. México 432 pag.
- Sánchez-Garduño, M. C. 1995. *Ecología de depredación predispersión en semillas de *Nectandra ambigens* en los Tuxtlas*. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Snyder, M. A. 1992. Selective herbivory by abert's squirrel mediated by chemical variability in ponderosa pine. *Ecology* 7 (5): 1730-1741.
- Sturgeon, K. B. & Mitton, J. B. 1986. Biochemical diversity of Pine and predation by bark beetles (Coleoptera: *Scolytidae*). *Journal of Economic Entomology* 79: 1064-1068
- Vasconcelos, H. L. 1993. Ant colonization of *Maieta guianensis* seedlings, an Amazon ant-plant. *Oecologia* 95: 439-444.
- Vázquez-Yanes, C. & Guevara-Sada, S. 1985. Carracterización de los grupos ecológicos de árboles de la selva húmeda. En *Investigaciones sobre Regeneración de selvas II* (eds. A. Gómez-Pompa y S. Del Amo) pp. 67-78. De. Alhambra, México. D.F.
- Waterman, P. G. & McKey, D. 1989. Herbivory and secondary compounds in rain-forest plants. En *Tropical Rain Forest Ecosystems. Biogeographical and ecological studies* (eds. H. Lieth. y M. J. A. Werger) pp 513-536. Elsevier Science Publishing Company. Inc. New York, USA.
- Zhang, X. & States, J. S. 1991. Selective herbivory of ponderosa pine by abert squirrels: a re-examination of the role of terpenes. *Bichemical Systematics and Ecology* 19(2):111-115.