

## Cynthia L. Sagers<sup>2</sup> y Phyllis Coley<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Reimpreso con la autorización correspondiente del autor o casa editora: Benefits and costs of defense in a Neotropical shrub. *Ecology* 76: 1835-1843, 1995. © 1995 by the Ecological Society of America. Manuscrito recibido: marzo 29, 1994; revisado: diciembre 21, 1994; aceptado: febrero 21, 1995 (sic); versión final recibida: abril 6, 1995.

<sup>2</sup> Dirección actual: Department of Biological Sciences, University of Arkansas, Fayetteville, Arkansas 72701, USA.

<sup>3</sup> Departamento de Biología, Universidad de Utah, Salt Lake City, Utah 84112, USA.

**RESUMEN:** Los beneficios y costos son de importancia capital para las teorías de optimización de las defensas de las plantas. El beneficio es la ganancia de aptitud para reducir el herbivorismo; el costo es la pérdida de aptitud al comprometer recursos en defensa. Evaluamos los beneficios y los costos de defensa, en el arbusto neotropical *Psychotria horizontalis*. Las plantas estuvieron expuestas a los herbívoros, o protegidas dentro de una malla, en tres jardines situados en un claro grande de luz, en la isla de Barro Colorado, en Panamá. Se sembraron dos esquejes de cada uno de 35 clones, por parejas, según la masa inicial, y se asignaron al azar a un jardín y al tratamiento de exposición o de protección. La tasa anual de herbivorismo fue de 37% en las plantas expuestas y de 17%, en las protegidas. Entre las plantas expuestas, la elevada concentración de taninos y las hojas duras redujeron el herbivorismo. Veinte meses después de sembradas, las plantas protegidas mostraron una tasa de crecimiento diez veces mayor y 5.5 veces mayor área foliar y masa seca, que las plantas expuestas. El veintidós por ciento de las plantas protegidas florecieron, mientras que ninguna de las expuestas lo hizo. En el tratamiento de protección, el contenido de taninos y la dureza de las hojas variaron de un clon a otro, lo que sugiere que estas características son hereditarias. La concentración total de taninos (pero no la dureza) y el crecimiento se correlacionaron negativamente en las plantas protegidas, lo que implica un costo en la producción de taninos. La elevada concentración de taninos y las hojas duras redujeron el herbivorismo; sin embargo, estos beneficios de defensa se balancearon con los costos, así que no hubo diferencias significativas de crecimiento entre las plantas expuestas. Estos resultados concuerdan con la hipótesis de que estar defendido resulta benéfico, que la defensa puede ser costosa y que los herbívoros actúan como agentes de selección en la evolución de las defensas de las plantas.

**PALABRAS CLAVES:** Isla de Barro Colorado, costos de defensa, celdas de exclusión, experimentos de campo, herbivorismo, Panamá, defensa de las plantas, *Psychotria horizontalis*, Rubiaceae, taninos, dureza, trópicos.

### INTRODUCCIÓN

La teoría de optimización sostiene que la distribución de recursos para la defensa de las plantas se basa en las concesiones entre los beneficios y los costos de reducir el herbivorismo. Las teorías generales predicen que las plantas deberán invertir en defensa hasta que el beneficio de la inversión resulte restringido por los costos (Janzen, 1973; Feeny, 1976; Rhoades y Cates, 1976; Lubchenco y Games, 1981; Coley y otros, 1985). Las teorías también sugieren que las plantas pagan un precio metabólico al destinar nutrientes restrictivos a la defensa y no al crecimiento o a la reproducción (McKey, 1979; Chew y Rodman, 1979; Mooney y Gulmon, 1982; Gulmony Mooney, 1986), y que pagan un costo adicional de oportunidad, cuando los recursos comprometidos en la defensa no se encuen-

tran disponibles para inversiones futuras (Coley y otros, 1985; Baldwin y Ohmmeiss, 1994). En el curso de la vida de la planta, las asignaciones a la defensa pueden convertirse en un componente sustancial del presupuesto de recursos de la planta (Bazzaz y otros, 1987).

El costo de la defensa influirá en el resultado evolutivo de las interacciones planta-herbívoro. Si existe una base genética para invertir en defensa, los herbívoros deberían eliminar, en forma selectiva, los genotipos en que la relación costo/beneficio resulte desfavorable. El beneficio por costo unitario debería optimizarse en algún punto intermedio de la inversión (McKey, 1984; Coley y otros, 1985; Fagerström y otros, 1987; Simms y Rausher, 1987; Rausher y Simms, 1989), y debería evolucionar una defensa óptima. Donde no existen los costos, la ganancia por unidad de inversión no tendrá

control, y la selección direccional continuará hasta que todos los individuos se encuentren protegidos al máximo, todas las otras cosas se mantienen igual (Ehrlich y Raven, 1965; Simms, 1992).

Los problemas prácticos surgen al elegir un factor con el cual medir los costos con objetividad (Chapin, 1989; Simms, 1992). Los factores de metabolismo (Mooney, 1972; Williams y otros, 1987; Chapin, 1989; Evans y Black, 1993) y de aptitud (Coley, 1986; Simm y Rausher, 1987) tienen, cada uno, sus ventajas. Los factores metabólicos reflejan las concesiones fisiológicas involucradas en la defensa de las plantas, pero es difícil expresar los beneficios en estas mismas unidades (Zangerl y Bazzaz, 1992). Los factores de aptitud reflejan con mayor efectividad las concesiones evolutivas entre los beneficios y los costos (Coley, 1986), pero la aptitud de toda una vida es, con frecuencia, difícil de medir en forma confiable, y debe calcularse a partir de sus componentes. Sin embargo, la respuesta de los componentes de aptitud a la selección podría ofrecer una comprensión parcial de los mecanismos de evolución.

Los costos de aptitud para las características de defensa se han demostrado en diversas especies de plantas (Chapin, 1970; Crawley, 1985; Coley, 1986; Loehle y Namkoong, 1987), y se ha encontrado que varían en los individuos dentro de la misma especie (Hannover, 1966; Tester, 1977; Edmunds y Alstad, 1978; Marquis, 1984; Berenbaum y otros, 1986; Zangerl y Berenbaum, 1990). Estos resultados sugieren que el costo podría ser genéticamente variable y estar sujeto a la selección. Sin embargo, en estudios recientes se ha tenido algún éxito al demostrar variación genética en el costo de la defensa, pero el interrogante sobre la importancia de los costos, aún persiste al determinar la inversión en las defensas (Gould, 1983; Simms y Rausher, 1987, 1989; Brown, 1988; Rausher y Simms, 1989; Baldwin y otros, 1990).

Evaluamos los costos y beneficios para los componentes de aptitud en una serie de experimentos efectuados en un jardín comunal. Se examinaron los beneficios y los costos manipulando la densidad de herbívoros en los clones de *Psychotria horizontalis* Sw. (Rubiaceae), según un diseño sugerido en parte, por Marquis (1984), Berenbaum y otros (1986), y Simms y Rausher (1987). Se evaluó el impacto del herbivorismo en las plantas que crecieron en la ausencia de herbívoros, comparándolas con otras, del mismo clon, expuestas a los herbívoros. Los beneficios de la defensa se evaluaron al comparar el herbivorismo en clones expuestos que te-

nían diferentes atributos de defensa. El costo de defensa se midió por medio de la correlación de los atributos de defensa y la aptitud. Si los recursos son escasos y la defensa es costosa, las plantas que invierten mucho en defensa deberían mostrar mayor aptitud, en presencia de los herbívoros, y menor, en ausencia de ellos. Además, como la variabilidad genética es necesaria para la evolución de las defensas, comparamos las correlaciones familiares para la inversión en los atributos de defensa entre los clones.

## MÉTODOS

### Lugar del estudio

Esta investigación se llevó a cabo en la isla de Barro Colorado (BCI) (9°09' N, 79°51' O), dentro del Monumento a la Naturaleza, Barro Colorado, en la República de Panamá (descrita por Leigh y otros, 1982; Gentry, 1990). El clima es estacional, con fuerte precipitación de lluvia (2600 mm), desde mayo hasta mediados de diciembre, y con lluvias ocasionales (88 mm) durante el resto del año (Rand y Rand, 1982). El promedio anual de temperatura es de 27°C, con las temperaturas mínimas en el sotobosque, durante la estación lluviosa, y las máximas, en el claro del laboratorio, durante la estación seca (Croat, 1978). El promedio anual del potencial de evapotranspiración es de 146.4 cm (Dietrich y otros, 1982). El suelo de Barro Colorado consiste principalmente en oxisoles meteorizados pobres en nitrógeno, fósforo y potasio (Leigh y Wright, 1990). La vegetación natural se considera de bosque húmedo tropical (Holdridge y otros, 1971) o de bosque húmedo semicaducifolio (Foster y Brokaw, 1982). No han ocurrido perturbaciones importantes durante este siglo, pero el tercio oriental de la isla permaneció deforestado hasta 1905, y algunas porciones reducidas de la isla fueron taladas para la agricultura hasta 1923 (Croat, 1978).

La luz es, con toda probabilidad, el principal factor abiótico que influye en el comportamiento de las plantas en este bosque (Chazdon, 1988). Los claros de luz se forman con mayor frecuencia durante la estación lluviosa, y los claros de mayor tamaño se forman en el bosque maduro (Brokaw, 1982). El promedio de tiempo entre caídas de árboles en un sitio dado en Barro Colorado, es de 114 años en el bosque maduro y de 159, en el bosque joven (Brokaw, 1982). Las plantas que crecen en los grandes claros de luz

pueden recibir un 80% de sol pleno, mientras que las plantas del sotobosque sólo reciben menos de un 2% (Chazdon y Fetcher, 1984). Además, la temperatura, la humedad del suelo y la velocidad del viento son elevadas en los claros de luz, y la humedad relativa es reducida, en comparación con la del sotobosque (Denslow y otros, 1990). Los herbívoros pueden ser más abundantes en los claros de luz donde la productividad primaria es mayor (Coley, 1983a; Aide y Zimmerman, 1990; Marquis y Braker, 1994). Por consiguiente, el crecimiento y la reproducción de las especies del bosque tropical dependen en gran medida, de la dinámica de los claros de luz (Denslow y otros, 1990; Sagers, 1993a).

### Especies estudiadas

El género *Psychotria* (Rubiaceae) consiste en más de 1600 especies distribuidas en todo el trópico (Hamilton, 1989). *Psychotria horizontalis* es un arbusto abundante, tolerante de la sombra (Croat, 1978), que puede vivir hasta 100 años (R. Foster, *comunicación personal*). La población produce flores heterostilias a comienzos de la estación lluviosa (en mayo) y produce frutos hasta noviembre. Las plantas tienden a producir un brote de hojas en sincronía, a comienzos de la estación lluviosa y continúan produciendo hojas con mayor lentitud durante el resto del año (Aide, 1993). Las tasas de herbivorismo son elevadas en comparación con las de otros arbustos del sotobosque, en especial en los claros de luz (C. L. Sagers, *observación personal*). *Psychotria horizontalis* hospeda gran cantidad de herbívoros consumidores de hojas, pero el mayor daño lo causan dos orugas, una pirálida y una ctenúchida (A. Aiello, *comunicación personal*), que pueden devorar arbustos enteros (Sagers, 1992). *Psychotria horizontalis* puede propagarse con facilidad en el invernadero a partir de tallos, hojas y partes de hojas, y así lo hace con frecuencia también en el bosque (Sagers, 1993b).

*Psychotria horizontalis* produce pocos compuestos secundarios. Encontramos taninos condensados e hidrolizables, pero no hallamos alcaloides, saponinas, glicósidos cianógenicos ni terpenos (C. L. Sagers, *datos inéditos*). El consumo de taninos por parte de los herbívoros, en general, está relacionado con tasas reducidas de crecimiento, y menor eficacia en la utilización del alimento (Hagerman y Butler, 1991), pero el mecanismo de acción de los taninos aún no se ha comprendido del todo.

### Jardines comunales

Los jardines se establecieron para estudiar las correlaciones fenotípicas y genotípicas relacionadas con los beneficios y costos de la defensa. El 11 de septiembre de 1989, a fines de la estación lluviosa, cortamos 12 extremos de retoños de cada uno de 36 individuos de *P. horizontalis* en el sotobosque, que se encontraron >100 m aparte, con el fin de minimizar la probabilidad de tomar las muestras en clones naturales. Luego de retirarles las hojas a los esquejes, se pesaron y marcaron. La masa inicial de los esquejes se estandarizó por genotipos ( $F_{35,396} = 1.23$ ,  $P > 0.05$ ). Los extremos cortados se trataron con un funguicida/hormona para raíces (Rootone) y se sembraron a la sombra en un banco de arena húmeda, dentro de un vivero cubierto con una malla. Ocho semanas más tarde (10 de noviembre, 1989), se transplantaron los esquejes a los jardines.

Para nuestro jardín, elegimos tres claros de luz amplios, que tuvieran un área de al menos 250 m<sup>2</sup>, en el bosque joven entre los senderos Van Tyne y Barbour (Foster y Brokaw, 1982). No hicimos nada para preparar el lugar, aparte de retirar las ramas secas del suelo. Creamos una celda de exclusión, libre de herbívoros, como tratamiento protegido, suspendiendo una malla fina (11 x 1.5 x 1.5 m) en cada claro de luz. La zona tenía las dimensiones necesarias para contener 72 esquejes.

Los esquejes en el tratamiento de exposición se sembraron justo afuera de la celda de exclusión. La parte superior de la malla se extendió 1.5 m a cada lado, para asegurar igual cantidad de sombra para los esquejes protegidos y los expuestos. Los esquejes de cada clon se sembraron por parejas según el tamaño que tenían el día del trasplante, y se colocaron al azar en cada uno de los tres jardines en los claros de luz. Se sembraron dos pares de esquejes de cada clon en cada jardín; se sembró uno de cada par en la zona protegida y el otro, en la zona expuesta, a 30 cm de distancia.

Medimos la disponibilidad de luz, la temperatura y la humedad relativa, dentro y fuera de las exclusiones. La disponibilidad de luz se midió en 10 puntos dentro y fuera de la exclusión, con una sonda quantum LI-COR LI-1905SA (LI-COR, Lincoln, Nebraska, USA), atada a un radiómetro fotómetro quantum LI-189. Se midió la humedad relativa en 5 puntos con un psicrómetro de colgar; la temperatura, se tomó en tres puntos, dentro y fuera de cada exclusión, en cada jardín.

## Defensas de las plantas

Evaluamos tres posibles defensas de *P. horizontalis*: taninos totales, taninos condensados y dureza de las hojas. Todas las pruebas de valores se ejecutaron en hojas totalmente expandidas, de seis semanas de edad. En abril de 1991, marcamos yemas de hojas en expansión en el campo, rodeando el tallo con alambre de color, por debajo de las yemas. Las hojas se cosecharon 6 semanas después, para evaluar el contenido de taninos y la dureza. Las hojas se recolectaron en bolsas plásticas y se almacenaron en un enfriador portátil por < 1 hora, antes de la extracción. Una mitad de cada hoja fresca se usó para medir la dureza; se pesó, se secó en el horno a 60° C, por 72 horas, y se pesó de nuevo para medirle el contenido de humedad. La otra mitad de la hoja se trituró en metanol al 80%, con un homogeneizador de tejidos Polytron (Brinkmann, New York, New York, USA). El extracto homogéneo se centrifugó a alta velocidad, en una centrífuga de sobremesa, antes de analizarla.

Utilizamos una prueba de enlace de proteínas para caracterizar la concentración total de taninos (Hagerman, 1987) y un procedimiento de BuOH-proantocianidina para medir los taninos condensados (Mole y Waterman, 1987). Para la prueba de enlace de proteínas se colocaron 40 µl del extracto vegetal dentro de una depresión, en un plato Petri conteniendo una mezcla de agar-agar y proteína. Los taninos del extracto reaccionaron con la proteína y formaron un área de precipitado opaco, que fue proporcional a la concentración de taninos del extracto (Hagerman, 1987). Utilizamos un estándar de ácido tánico (Sigma Chemical Company, St. Louis, Missouri, USA, Lote número 87H0268) y expresamos los resultados en unidades de miligramos por gramo ETA (equivalente de ácido tánico). Para las medidas de taninos condensados utilizamos la prueba de BuOH-proantocianidina (Swain y Hillis, 1959) con un estándar de tanino quebracho (*P. Coley, suministros personales*) y expresamos los resultados en unidades de miligramos por gramo ETQ (equivalentes de tanino quebracho). Los problemas relacionados con la elección de un estándar apropiado de taninos son mínimos, puesto que las comparaciones de interés se encuentran dentro de una sola especie (Mole y Waterman, 1987).

En algunas especies, la producción de taninos es inducida por los daños en las hojas (Feeny, 1970; Karban y Meyers, 1989), pero éste no parece ser el caso en *P. horizontalis*. No hubo diferencias significativas en la concentración de taninos entre cinco individuos

ilesos y cinco dañados en forma artificial 2, 24, 96, o 720 h después de dañarlos (pruebas de dos muestras Kolmogorov-Smirnov,  $N = 10$ ,  $P > 0.10$ , en cada caso).

*Psychotria horizontalis* no tiene ni pelos ni espinas, pero la dureza de las hojas podría constituir una defensa, como es el caso en muchas otras especies tropicales (Coley, 1983b). La dureza de las hojas se cuantificó por pura fuerza, medida con un medidor de 'tíre y empuje' (Master Gauge Company, Chicago, Illinois, USA). Este medidor registra la masa necesaria para perforar una hoja con un cilindro de 3 mm de diámetro. Cada hoja fue perforada 10 veces y se usó el promedio de cada una para el análisis estadístico.

El herbivorismo se midió como la proporción del área foliar removida desde el primer brote de hojas de mayo de 1990 hasta 12 meses después. Se midió el área de las hojas y el área del daño, con una cuadrícula acrílica de 0.25 cm<sup>2</sup>. Si faltaba una hoja completa en una yema, el área removida fue aproximada a aquella de la hoja del lado contrario. Para calcular la tasa de herbivorismo, se dividió el total del área removida por el total calculado de área producida durante 12 meses. Este cálculo promedia el daño durante todas las estaciones, en todas las hojas producidas, y equivale a una tasa de pérdida anual por herbivorismo. Para el análisis estadístico, estos porcentajes se transformaron en:  $\ln [(\% \text{ hoja perdida durante 12 meses} \cdot 1000) + 1]$  (Coley, 1983b).

## Beneficios y costos de la resistencia

Durante los experimentos, se midieron varios componentes de aptitud, los cuales incluyeron crecimiento, número de flores, producción de hojas y biomasa final. El crecimiento de las plantas de tamaño semejante fue un buen cálculo de aptitud. Las plantas de mayor tamaño tuvieron mayores probabilidades de sobrevivir (Prueba de dos muestras Kolmogorov-Smirnov,  $N = 245$ ,  $P < 0.05$ ). Además, el crecimiento y el tamaño de las plantas se correlacionan con el número de meristemas reproductivos, en general, (Bloom y otros, 1985; Samson y Werk, 1986). La tasa relativa de crecimiento desde la fecha de siembra hasta la fecha de cosecha, se midió como:  $[(\ln \text{ masa inicial}) - (\ln \text{ masa final})] / \text{número de días}$  (Chiarello y otros, 1989). El tamaño de las plantas se midió como el cambio en el área de las hojas y el cambio en la biomasa, y todas las medidas fueron transformadas en logaritmo para analizarlas. La supervivencia de cada clon se calculó como el porcentaje de tallos vivos en la fecha de cosecha. Las tasas de supervivencia se transformaron como: su-

pervivencia =  $2 \arcsen$  (raíz cuadrada %) (Neter y otros, 1985). Todas las plantas se cosecharon 20 meses después de sembradas (mayo-junio, 1991).

El impacto del herbivorismo se midió comparando el comportamiento de las plantas en el tratamiento expuesto con las del tratamiento protegido. Como no hubo evidencia de inducción de defensa, la diferencia crítica entre un tratamiento y otro, se debió a la reducción experimental del herbivorismo. La variación hereditaria de la inversión en la defensa se comprobó mediante la comparación entre los grados de defensa en diferentes clones dentro de un mismo tratamiento. Para evaluar los beneficios de la inversión en la defensa, se compararon las tasas de herbivorismo entre los clones expuestos, con diferentes grados de defensa. Una correlación negativa entre las características de defensa y el herbivorismo, sugeriría un beneficio de defensa. El costo de defensa para las plantas dentro de la zona protegida se evaluó al examinar la correlación entre el cambio de la masa seca (biomasa) y el grado de defensa medido. Una relación negativa entre la biomasa y el grado de defensa concordaría con la hipótesis de un costo de defensa. Se efectuó una comparación semejante en las plantas expuestas para evaluar la variación entre individuos en el balance de beneficios y costos.

### Análisis

Para realizar todas las comparaciones estadísticas, se usó el procedimiento Lineal General para Modelos (General Linear Models) del Sistema de Análisis Estadístico (SAS, 1985). La variación del herbivorismo, las características de defensa, y los componentes de

aptitud entre los clones se analizaron con ANOVA, como un diseño de bloque al azar (Neter y otros, 1985).

Usamos correlaciones parciales entre las propiedades de las hojas (tanino total, tanino condensado o dureza) y el herbivorismo para definir cuáles características estaban relacionadas con el herbivorismo reducido y el crecimiento de la planta. Las correlaciones parciales miden el aporte marginal de alguna variable cuando todas las demás variables ya se han incluido en el modelo (Neter y otros, 1985). Una correlación parcial se calcula a partir de los residuos de la primera regresión.

En este estudio, la variación genética se aproximó mediante el análisis de las diferencias entre clones y no mediante las diferencias fraternas. La interpretación genética requiere cautela, puesto que las semejanzas entre los esquejes dentro de un clon pueden estar afectado por efectos maternos, además de por diferencias del ADN nuclear (Libby y Jund, 1962).

## RESULTADOS

### Efectos del herbivorismo

Las exclusiones redujeron el herbivorismo sin afectar el microclima. El herbivorismo en las plantas protegidas (17%) fue significativamente menor que en las expuestas (37%) ( $P < 0.001$ ) (Cuadro 1, Figura 1), pero no hubo diferencias significativas entre clones del mismo tratamiento. Ni la disponibilidad de la luz, ni la humedad relativa ni la temperatura fueron significativamente diferentes, dentro o fuera de las exclusiones (Kolmogorov – Smirnov, prueba de dos muestras ( $P < 0.05$  en cada caso).

**Cuadro 1.** Análisis de resultados de varianza para los efectos de jardín, clon y tratamiento sobre herbivorismo, supervivencia y tasa relativa de crecimiento. Promedio de errores al cuadrado procede de sumas de cuadrados Tipo III (SAS, 1985). Herbivorismo =  $\ln [(\% \text{ de área de hoja perdida en 12 meses } 1000) + 1]$  (Coley 1983b); supervivencia =  $2 \arcsen$  [raíz cuadrada (% de supervivencia por genotipo)] (Neter y otros, 1985); tasa relativa de crecimiento =  $[(\ln \text{ masa seca final}) - (\ln \text{ masa seca inicial})] / \text{número de días}$  (Chiariello y otros, 1989).

Origen	Herbivorismo (%)			Supervivencia (%)			Tasa relativa de desarrollo (g/d)		
	gl	MS	F	gl	MS	F	gl	MS	F
Jardín	2	28.31	23.57***	2	5.68	4.99**	2	4.25	2.28
Clon	35	0.88	0.7	35	1.68	1.47	35	2.28	1.22
Tratamiento	1	23.12	19.25***	1	0.28	0.25	1	298.00	159.69***
Tratamiento x clon	34	0.62	0.52	34	1.14	1.00	34	2.20	1.17
Error	143	1.20		215	0.11		258	1.87	

\*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.0001$ .

El crecimiento y la reproducción mostraron diferencias significativas entre el tratamiento expuesto y el protegido (Cuadro 1, Figura 1). La tasa relativa de crecimiento fue sustancialmente superior en el tratamiento protegido que en el expuesto (Cuadro 1, Figura 1). Las mediciones del tamaño de las plantas que, se correlacionan en gran medida con la tasa relativa de crecimiento (área final de hoja:  $R^2 = 0.92$ ,  $P < 0.0001$ ; cambio en biomasa:  $R^2 = 0.97$ ,  $P < 0.0001$ ) mostraron respuestas semejantes a la exposición al herbivorismo (Figura 1). Además, el 22% de las plantas protegidas

florecieron, pero ninguna de las expuestas lo hizo. No hubo diferencias de crecimiento ni de reproducción entre un clon y otro, dentro de cada tratamiento (Cuadro 1).

En general, la supervivencia no fue diferente entre tratamientos ( $P < 0.05$ ) (Cuadro 1, Figura 1), ni entre un clon y otro ( $P < 0.05$ ) (Cuadro 1, Figura 1). El patrón de mortalidad fue bimodal con un pico (38%), en diciembre de 1989, al comienzo de la estación seca y otro (38%), en mayo de 1990, al final de la estación seca, lo que sugiere que la mayor parte de la mortalidad se debió al estrés ambiental.

### Beneficios de las defensas

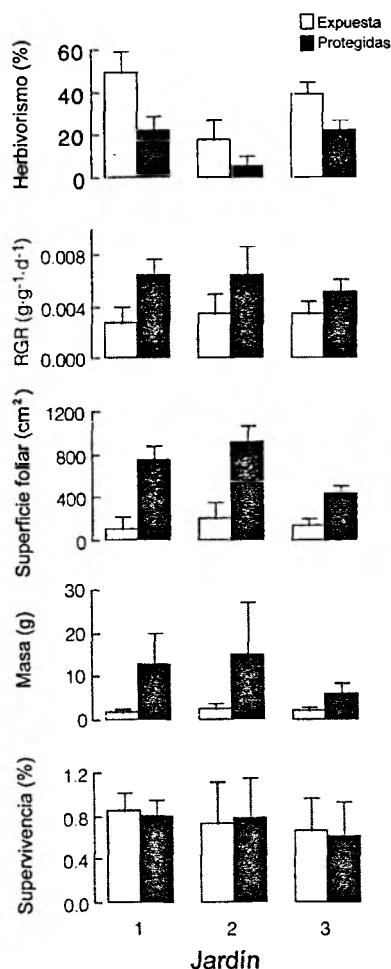
La dureza y los taninos son defensas eficaces, ya que los aumentos se relacionaron con la disminución del herbivorismo. Las correlaciones parciales entre la dureza y los taninos totales, respecto del herbivorismo, fueron negativas y significativas en las plantas con tratamiento de exposición (Figura 2). Los taninos totales y la dureza no se correlacionaron ( $P = 0.89$ ,  $N = 215$ ) y, por tanto, pueden tratarse como características independientes. Además, en pruebas de consumo efectuadas con *P. horizontalis*, las orugas de pirálidos prefirieron las hojas tiernas, con baja concentración de taninos (Sagers, 1992). Los taninos condensados no parecen tener relación alguna con el herbivorismo, puesto que al incluirlos en el modelo de regresión no mostraron efectos significativos (Figura 2).

### Variación de las defensas en los clones

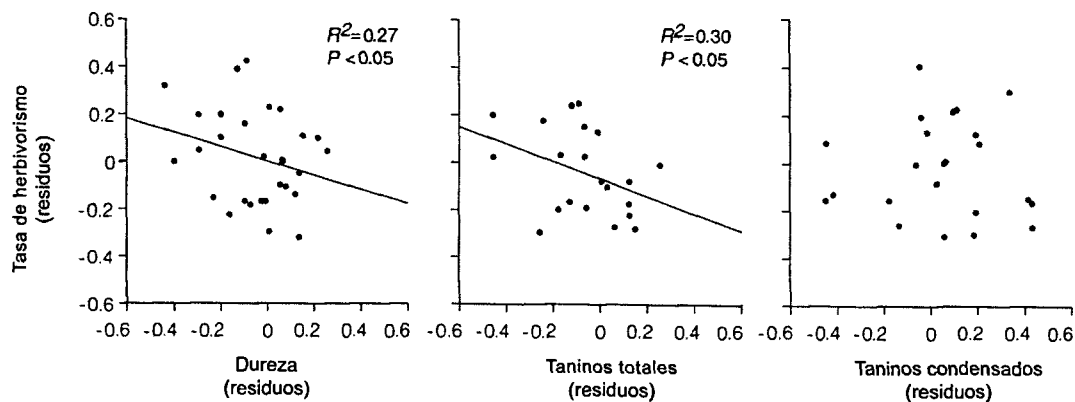
Utilizamos pruebas ANOVA para evaluar el efecto del jardín y del clon, en la inversión en defensa y encontramos que los clones variaban en forma significativa en cuanto a taninos totales y dureza (Cuadro 2). También encontramos un término significativo de interacción del genotipo con los taninos totales (Cuadro 3), lo que sugiere que el costo de invertir en taninos totales varía entre los clones. Estas diferencias entre los clones sirven de base para esperar variación genética en la inversión en defensa.

### Costos de la defensa

El crecimiento, los taninos totales y la dureza variaron entre las plantas protegidas del herbivorismo. Como la dureza y los taninos totales no se correlacionan, pueden tratarse como variables independientes en el análisis de varianza. En las plantas protegidas del



**Figura 1.** Efectos del tratamiento de herbivorismo sobre los promedios de herbivorismo, supervivencia, tasa relativa de desarrollo, área foliar final y masa seca, en tres jardines experimentales. Las plantas protegidas (barras sombreadas) se cultivaron bajo exclusiones de malla. Las plantas expuestas (barras claras) se cultivaron por fuera de las jaulas. Las barras de error representan 1 SE del promedio.



**Figura 2.** Correlaciones parciales entre las tasas de herbivorismo y las características de las hojas de plantas expuestas a los herbívoros. Las correlaciones parciales se calcularon a partir de los residuos de la regresión múltiple de dureza, de taninos totales, o de taninos condensados sobre el herbivorismo. Los residuos son la variación no explicada, cuando la variable que interesa no se ha incluido en el modelo.

herbivorismo, la tasa relativa de crecimiento y la dureza no se correlacionaron (Cuadro 3, Figura 3), lo que sugiere que no hay costos mensurables de crecimiento relacionados con la dureza. Por el contrario, encontramos una correlación parcial, negativa, significativa entre la tasa de crecimiento y los taninos totales (Cuadro 3, Figura 3). Esta relación negativa se hizo evidente luego de sólo 20 meses, tiempo relativamente breve en la vida de una planta perenne.

#### *Balance de beneficios y costos*

Las consecuencias combinadas de los beneficios y costos de la defensa se pueden evaluar al comparar el crecimiento entre los clones expuestos. En éstos, no aparecen efectos significativos del clon, los taninos totales ni la dureza sobre el crecimiento (Cuadro 3), lo

que sugiere que los costos y los beneficios son iguales para todos los clones. Aunque el crecimiento de las plantas expuestas fue significativamente inferior al de las protegidas, no hay relación entre el crecimiento y los grados de defensa (Figura 4). De nuevo, esto sugiere que todas las plantas tienen relaciones semejantes costo/beneficio. Por tanto, bajo condiciones de herbivorismo natural, los costos de defensa de producir taninos (Figura 3) se balancean por los beneficios del herbivorismo reducido (Figura 2); por tanto, la aptitud es constante en todos los grados de defensa (Figura 4). Por el contrario, los clones protegidos mostraron una relación negativa entre los taninos totales y el crecimiento (Figura 3). Bajo exposición natural al herbivorismo, este costo de defensa de taninos totales parece estar balanceado por los beneficios del herbivorismo reducido (Figura 2).

**Cuadro 2.** Análisis de los resultados de varianza para los efectos de jardín y clon sobre los taninos totales y la dureza, en plantas protegidas del herbivorismo. El promedio de errores al cuadrado resulta de las sumas de los cuadrados Tipo III (SAS, 1985).

Origen de la variación	Tanino total			Dureza		
	gl	MS	F	gl	MS	F
Jardín	2	0.04	0.52	2	0.08	4.1*
Clon	35	0.20	2.53*	35	0.04	2.26*
Error	172	0.08		172	0.02	

\*  $P < 0.05$

## DISCUSIÓN

Hemos demostrado que el herbivorismo tiene gran influencia sobre la reproducción y sobre el crecimiento de las plantas. En este estudio, un aumento del herbivorismo de dos veces, bastó para retrasar la reproducción, y reducir la tasa de crecimiento en un 40% (Cuadro 1, Figura 1). Parecería que reducir el herbivorismo por medio de la inversión en defensas es benéfico en extremo. Los clones variaron en forma significativa en la inversión en defensa; los clones con mayor contenido de taninos totales y mayor dureza se protegieron mejor del herbivorismo. Sin embargo, la inversión en

**Cuadro 3.** Análisis de los resultados de varianza correspondientes a los efectos del jardín, familia y características de las hojas sobre la tasa relativa de desarrollo de las plantas protegidas del herbivorismo, comparadas con las plantas expuestas al mismo.

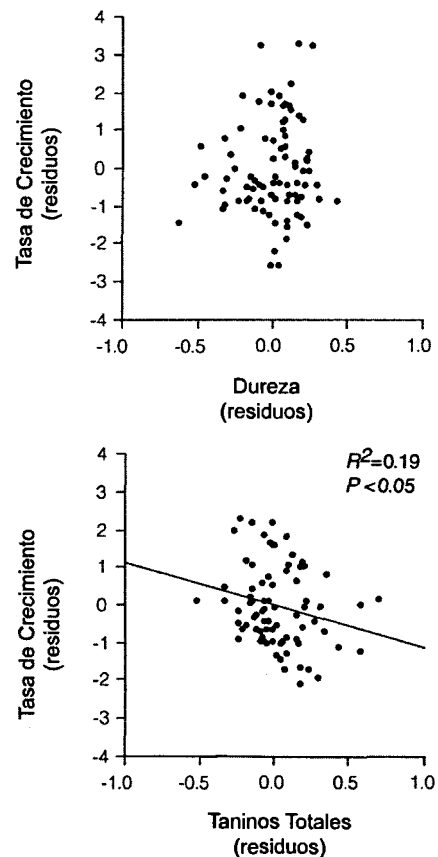
Origen de la variación	Protegidas			Expuestas		
	gl	MS	F	gl	MS	F
Jardín	2	29.41	12.9*	2	6.86	6.19**
Clon	32	13.91	6.1*	30	0.80	0.72
Tanino total	1	12.77	5.6*	1	1.81	1.63
Dureza	1	4.79	2.1	1	2.36	2.13
Tanino total x dureza	1	3.65	1.6	1	3.4	3.07
Clon x tanino total	32	3.92	1.72*	30	1.52	1.37
Clon x dureza	32	3.35	1.47	30	1.00	0.91
Clon x tanino total	32	2.26	0.99	30	1.57	1.42
Error	76	2.28		82	1.11	

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

defensa puede verse restringida por los costos. Hemos demostrado que la inversión en taninos totales está relacionada con menor crecimiento en las plantas protegidas. Esta relación no se manifiesta en las plantas que crecen en presencia del herbivorismo natural, lo que sugiere que en *P. horizontalis*, bajo altos grados de herbivorismo, los costos de defensa balancean los beneficios del menor herbivorismo.

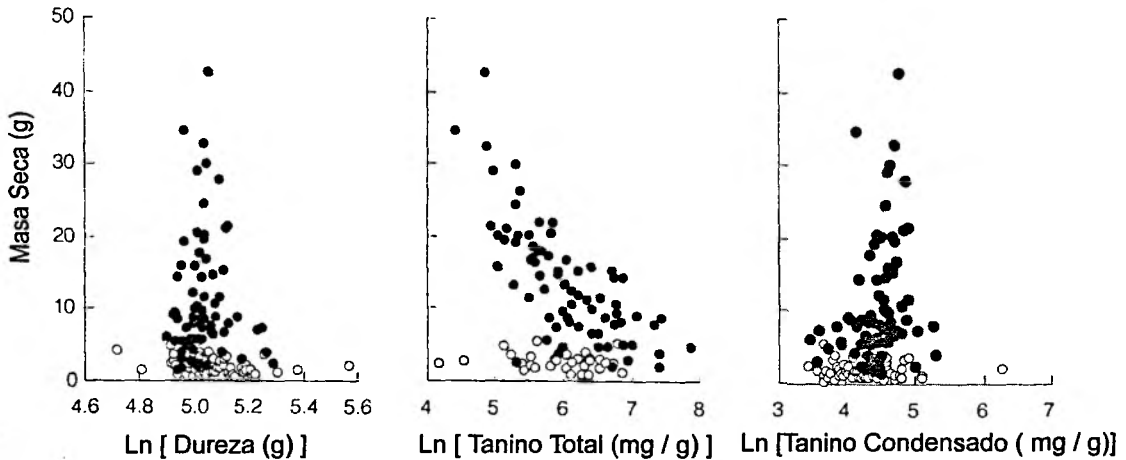
Este estudio complementa estudios anteriores, al demostrar la variabilidad de la inversión en taninos totales entre los clones, lo que sugiere que esta característica tiene una base hereditaria. Además, la producción y el mantenimiento de taninos parecen costosos en términos del crecimiento y la reproducción. Sin embargo, no encontramos concesiones entre la dureza y el crecimiento. Esto pudo ocurrir porque (1) el crecimiento y la dureza se encuentran restringidos por diferentes recursos, o (2) el endurecimiento de las hojas no cuesta, o (3) la selección ha reducido tanto el costo por unidad, que éste no se puede medir, o (4) la dureza tiene funciones benéficas auxiliares que reducen los costos de defensa (Sims, 1992). Las hojas se endurecen con fibra y lignina, compuestos metabólicos costosos (Gulmon y Mooney, 1986), que poseen propiedades defensivas y estructurales (Swain, 1979; Zucker, 1983; Stafford, 1988). Su beneficio estructural podría excluir el costo adicional de la función defensiva, lo que nos impediría detectar algún otro costo adicional, relacionado con la defensa.

Dado que la defensa de las plantas fue benéfica y los taninos totales, costosos, y se encontraron varia-



**Figura 3.** Correlaciones parciales entre las tasas relativas de crecimiento para las plantas protegidas de los herbívoros. Las correlaciones parciales se calculan a partir de los residuos de una regresión múltiple de dureza y taninos totales, sobre la tasa de crecimiento.





**Figura 4.** Correlaciones entre los cambios en la masa seca y el grado medio de dureza, los taninos totales y los taninos condensados, en plantas con tratamiento protegido (●) y expuesto (○).

ciones entre los clones, la selección de taninos debería estabilizarse al lograr un grado óptimo de defensa. La selección puede caracterizarse por la forma de la relación entre un carácter y la aptitud (Lande y Arnold, 1983). A partir de la selección estabilizadora, esperaríamos que la mayoría de los genotipos de la población mostraran la misma aptitud. Este parece ser el caso en los clones de *P. horizontalis*, bajo condiciones naturales de herbivorismo. Todos los clones expuestos al herbivorismo mostraron aptitudes semejantes (Cuadro 3, Figura 4). Los leves aumentos de los costos de defensa parecían compensarse con los beneficios relacionados con el menor herbivorismo. Presumiblemente, los genotipos con inversiones mucho más elevadas, o más reducidas, en la defensa, se encontraron en desventaja o bien, desaparecieron de la población, o bien, fueron demasiado raros para quedar incluidos en las muestras.

Las semejanzas entre los componentes de aptitud observadas en los clones bajo herbivorismo natural podrían deberse a la forma de la curva de las concesiones de costo-beneficio para las defensas, que se describe antes. Como alternativa, es posible que los genotipos mostraran aptitudes semejantes, debido a la selección fluctuante: los costos podrían variar en el espacio y en el tiempo, como recursos, y los herbívoros pueden ser más o menos abundantes (Gillespie y Tureli, 1989). La heterogeneidad espacial influyó en la inversión en defensas de *P. horizontalis*, como lo demostró el efecto

significativo de bloque del jardín sobre la inversión en defensas (Cuadro 3). Además, los grados de herbivorismo dictaron la magnitud del beneficio, que fue evidente en la comparación entre la biomasa de las plantas expuestas y la de las protegidas (Figura 4). La variabilidad temporal y espacial de los beneficios y costos de defensa podría impedir la optimización de la selección (Gillespie y Turelli, 1989).

#### RECONOCIMIENTOS

Agradecemos a N. Gómez, S. Travers y G. Fuller por su ayuda y aliento en el campo. El diseño experimental y los análisis mejoraron en forma significativa, luego de las discusiones con R.D. Evans, D. Feener, N. Garwood, M. Geber, K. Hogan, T. Kursar, y E.G. Leigh, Jr., F. Stermitz amablemente examinó las hojas, en busca de alcaloides, y A. Hagerman aportó consejos para las pruebas de taninos totales. Las bandas para aves, con que se marcaron las plantas, fueron obsequio de N. Garwood. Las observaciones de D. Davidson, S. Louda, J. Seger y dos críticos anónimos produjeron un mejor manuscrito. El apoyo económico se recibió en forma de becas predoctorales, a través del Smithsonian y becas predoctorales Fulbright, y una beca de NSF, para mejorar la disertación, BSR 9001329 (para C. L. Sagers) y BSR 911619 (para P. D. Coley). Este proyecto se llevó a cabo gracias al apoyo y cooperación de la Universidad de Utah, el Smithsonian Tropical Research Institute y la República de Panamá.

## REFERENCIAS

- Aide, T. M. 1993. Patterns of leaf development and herbivory in a tropical understory community. *Ecology* **74**:455-466.
- Aide, T. M., and J. K. Zimmerman. 1990. Patterns of insect herbivory, growth, and survivorship in juveniles of a neotropical liana. *Ecology* **71**:1412-1421.
- Baldwin, I. T., and T. E., Ohnmeiss. 1994. Coordination of photosynthetic and alkaloid responses to damage in uninducible and inducible *Nicotiana sylvestris*. *Ecology* **75**:1003-1014.
- Baldwin, I. T., C. L. Simms, and S. E. Kean. 1990. The reproductive consequences associated with inducible alkaloidal responses in wild tobacco. *Ecology* **71**:252-262.
- Bazzaz, E. A., N. R. Chiariello, P. D., Coley and L. E. Pitelka. 1987. Allocating resources to reproduction and defense. *Bioscience* **37**:58-67.
- Berenbaum, M. R., A. R. Zangerl, and J. K. Nitao. 1986. Constraints on chemical coevolution: wild parsnips and the parsnip webworm. *Evolution* **40**:1215-1228.
- Bloom, A. J., F. S. Chapin, III, and H. A. Mooney. 1985. Resource limitation in plants—an economic analogy. *Annual Review of Ecology and Systematics* **16**:363-392.
- Brokaw, N. V. L., 1982. Treefalls: Frequency, timing and consequences. Pages 101-108 in E. G. Leigh, Jr., A. S. Rand, and D. M. Windsor, editors. *The ecology of a tropical forest*. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C., USA.
- Brown, D. G. 1988. The cost of plant defense: an experimental analysis with inducible proteinase inhibitors in tomato. *Oecologia* **76**:467-470.
- Chapin, F. S., III. 1989. The cost of tundra plant structures: an evaluation of concepts and currencies. *American Naturalist* **133**:1-19.
- Chaplin, J. E. 1970. Associations among disease resistance, agronomic characteristics and chemical constituents in flue-cured tobacco. *Agronomy Journal* **62**:87-91.
- Chazdon, R. 1988. Sunflecks and their importance to forest understory plants. *Advances in Ecological Research* **18**:1-63.
- Chazdon, R., and N. Fetcher. 1984. Photosynthetic light environments in a lowland tropical forest in Costa Rica. *Journal of Ecology* **72**:553-564.
- Chew, F. S., and J. E. Rodman. 1979. Plant resources for chemical defense. Pages 271-307 in G. A. Rosenthal and D. H. Janzen, editors. *Herbivores: their interaction with secondary plant metabolites*. Academic Press, New York, New York, USA.
- Chiariello, N. R., H. A. Mooney, and K. Williams. 1989. Growth, carbon allocation and cost of plant tissues. Pages 327-365 in R. W. Pearcy, J. Ehleringer, H. A. Mooney and P. W. Rundel, editors. *Plant physiological ecology: field methods and instrumentation*. Chapman and Hall, London, UK.
- Coley, P. D. 1983a. Intraspecific variation in herbivory on two tropical tree species. *Ecology* **64**:426-433.
- \_\_\_\_\_. 1983b. Herbivory and defensive characteristics of tree species in a lowland tropical forest. *Ecological Monographs* **53**:209-233.
- \_\_\_\_\_. 1986. Costs and benefits of defense by tannins in a neotropical tree. *Oecologia* **70**:238-241.
- Coley, P. D., J. P. Bryant, and F. S. Chapin. III. 1985. Resource availability and plant anti-herbivore: defense. *Science* **230**:895-899.
- Crawley, M. J. 1985. Reduction of oak fecundity by low density herbivore population. *Nature* **314**:163-164.
- Croat, T. B. 1978. *Flora of Barro Colorado Island*. Stanford University Press, Stanford, California, USA.
- Denslow, J. S. J. C. Schultz, P. M. Vitousek, and B. R. Strain 1990. Growth responses of tropical shrubs to treefall gap environments. *Ecology* **71**:165-179.
- Dietrich, W. E., D. M. Windsor and T. Dunne. 1982. Geology, climate, and hydrology of Barro Colorado Island. Pages 21-46 in E. G. Leigh, Jr., A. S. Rand, and D. M. Windsor, editors. *The ecology of a tropical forest*. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C., USA.
- Edmunds, G. E., and D. N. Alstad. 1978. Coevolution in insect herbivores and conifers. *Science* **199**:941-945.
- Ehrlich, P. R., and P. H. Raven 1965. Butterflies and plants a study in coevolution. *Evolution* **18**:586-608.
- Evans, R. D. and R. A. Black. 1993. Growth, photosynthesis and resource investment for vegetative and reproductive modules of *Artemisia tridentata*. *Ecology* **74**:1516-1528.
- Fagerström, T., S. Larsson, and O. Tenow. 1987. On optimal defense in plants. *Functional Ecology* **1**:73-81.
- Feeny, P. P. 1970. Seasonal changes in the oak leaf tannins and nutrients as a cause of spring feeding by winter moth caterpillars. *Ecology* **51**:565-581.
- \_\_\_\_\_. 1976. Plant apparency and chemical defense. Pages 1-40 in J. Wallace and R. I. Mansell, editors. *Biochemical interactions between plants and insects*. Recent Advances in Phytochemistry. Volume 10. Plenum Press, New York, New York, USA.
- Foster, R. B. and N. V. L. Brokaw, 1982. Structure and history of the vegetation of Barro Colorado Island. Pages 67-81 in E. G. Leigh, Jr., A. S. Rand, and D. M. Windsor, editor. *The ecology of a tropical forest*. Smithsonian Institution Press, Washington, D. C., USA.
- Gentry, A. H. 1990. *Four neotropical rainforests*. Yale University Press, New Haven, Connecticut, USA.
- Gillespie, J. H., and M. Turelli. 1989. Genotype-environment interactions and the maintenance of polygenic variation. *Genetics* **121**:129-138.
- Gould, F. 1983. Genetics of plant-herbivore systems: interactions between applied and basic studies. Pages 599-464 in R. F. Denno and M. S. McClure, editors. *Variable plants and herbivores in natural and managed systems*. Academic Press, New York, New York, USA.
- Gulmon, S. L., and H. A. Mooney. 1986. Costs of defense and their effects on plant productivity. Pages 681-698 in T. J. Givnish, editor. *On the economy of plant form and function*. Cambridge University Press, Cambridge, Massachusetts, USA.
- Hagerman, A. E. 1987. Radial diffusion method for determining tannin in plant extracts. *Journal of Chemical Ecology* **13**:437-449.
- Hagerman, A. E., and L. Butler. 1991. Tannins and lignins. Pages 355-388 in G. A. Rosenthal and M. R. Berenbaum, editors. *Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites*. Second edition. Volume I. The Chemical Participants. Academic Press, New York, New York, USA.
- Hamilton, C. W. 1989. Variations on a distylous theme in Mesoamerican *Psychotria* subgenus *Psychotria* (Rubiaceae). *Memoirs of the New York Botanical Garden* **55**:62-75.

- Hanover, J. W. 1966. Genetics of terpenes. I. Gene control of monoterpene level in *Pinus monticola* Dougl. *Heredity* **21**:73-86.
- Holdridge, I., R., W. G. Grenke, W. H. Hatheway: T. Liang. And J. A. Tosi, Jr. 1971. Forest environments in tropical life zones. Pergamon, New York, New York, USA.
- Janzen, D. H. 1973. Comments on host-specificity of tropical herbivores and its relevance to species richness. Pages 201-211 in V. H. Heywood, editor. Taxonomy and ecology. Academic Press, London, England.
- Karban, R., and J. H. Myers. 1989. Induced plant responses to herbivory. *Annual Review of Ecology and Systematics* **20**:331-348.
- Lande, R., and S. J. Arnold. 1983. The measurement of selection on correlated characters. *Evolution* **37**:1210-1226.
- Leigh, E. G., Jr., A. S. Rand, and D. M. Windsor. 1982. The ecology of a tropical forest. Smithsonian Institution Press, Washington, D. C., USA.
- Leigh E. G., Jr. and S. J. Wright. 1990. Barro Colorado Island and tropical biology. Pages 28-47 in A. H. Gentry editor. Four neotropical rainforests. Yale University Press, New Haven, Connecticut, USA.
- Libby, W. J., and E. Jund. 1962 Variance associated with cloning. *Heredity* **17**:533-540.
- Loehle, C., and G. Namkoong. 1987. Constraints on tree breeding: growth tradeoffs, growth strategies, and defensive investments. *Forest Science* **226**:537-539.
- Luberhenco, J., and S. D. Gaines. 1981. A unified approach to marine plant-herbivore interactions. I. Populations and communities. *Annual Review of Ecology and Systematics* **12**:405-437.
- Marquis, R. J. 1984. Leaf herbivores decrease fitness of a tropical plant. *Science* **226**:537-539.
- Marquis R. J. and J. E. Braker. 1994. Plant herbivore interactions at La Selva: diversity, specificity, and impact. Pages 261-281 in L. A. McDade L. S. Bawa, H. A. Hespenheide, and G. S. Hartshorn, editors. La Selva: ecology and natural history of a neotropical rainforest. University of Chicago Press, Chicago, Illinois, USA.
- McKey, D. 1979. The distribution of secondary compounds within plants. Pages 55-133 in G. A. Rosenthal and D. H. Janzen, editors. Herbivores: their interaction with secondary plant metabolites. Academic Press, New York, New York, USA.
- \_\_\_\_\_. 1984. Interaction of the ant-plant *Leonardoxa africana* (Caesalpiniaceae) with its obligate inhabitants in a rainforest in Cameroon. *Biotropica* **16**:81-99.
- Mole, S. and P. G. Waterman. 1987. A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies. I. Techniques for chemically declining tannins. *Oecologia* **72**:137-147.
- Mooney, H. A. 1972. The carbon balance of plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* **3**:315-346.
- Mooney, H. A., and S. L. Gulmon. 1982. Constraints on leaf structure and function reference to herbivory. *Bioscience* **32**:198-206.
- Neter, J., W. Wasserman and M. H. Kutner. 1985. Applied linear statistical model: regression. Analysis of variance and experimental design. Second edition. Richard D. Irwin, Homewood, Illinois, USA.
- Rand, A. S. and W. M. Rand. 1982. Variation in rainfall on Barro Colorado Island. Pages 47-59 in E. G. Leigh, Jr., A. S. Rand and D. M. Windsor, editors. The ecology of a tropical forest. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C., USA.
- Rausher. M. D., and E. L. Simms. 1989. The resistance to herbivory in *Ipomoea purpurea*. I. Attempts to detect selection. *Evolution* **43**:563-572.
- Rhoades, D. F., and R. G. Cates. 1976. Toward a general theory of plant antiherbivore chemistry. Page 168-213 in J. Wallace and R. L. Mansell, editors. Biochemical interactions between plants and insects. Recent Advances in Phytochemistry Volume 10. Plenum, New York, New York, USA.
- Sagers, C. L. 1992. Manipulation or host plant quality: herbivores keep leaves in the dark. *Functional Ecology* **6**:741- 743.
- \_\_\_\_\_. 1993 a. The evolution of defense in a tropical shrub. Dissertation. University of Utah, Salt Lake City, Utah, USA.
- \_\_\_\_\_. 1993b. Reproduction in neotropical shrubs: the occurrence and some mechanism of asexuality. *Ecology* **74**:615-618.
- Samson, D. A., and K. S. Werk. 1986. Size-dependent effects in the analysis of reproductive effort in plants. *American Naturalist* **127**:667-680.
- SAS, 1985, SAS user's guide. Fifth edition. SAS Institute, Cary, North Carolina, USA.
- Simms, E. L. 1992. Costs of plant resistance to herbivory. Pages 392-425 in R. S. Fritz and E. L. Simms, editors. Plant resistance to herbivores and pathogens: ecology, evolution, and genetics. University of Chicago Press, Chicago, Illinois, USA.
- Simms, E. L., and M. D. Rausher. 1987. Costs and benefits of plant resistance to herbivory. *American Naturalist* **130**:570-581.
- Simms, E. L., and M. D. Rausher. 1989. The evolution of resistance to herbivory in *Ipomoea purpurea*. II. Natural selection by insects and costs of resistance. *Evolution* **43**:573-585.
- Stafford, H. A. 1988. Proanthocyanidins and the lignin connection. *Phytochemistry* **27**:1-6.
- Swain, T. 1979. Tannins and lignins. Pages 657-682 in G. A. Rosenthal and D. H. Janzen (editors). Herbivores: their interaction with plant secondary compound. Academic Press, New York, New York, USA.
- Swain, T., and W. E. Hillis. 1959. Phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **10**:63-68.
- Tester, C. F. 1977. Constituents of soybean cultivars differing in insect resistance. *Phytochemistry* **16**:1899-1901.
- Williams, K., F. Percival, J. Merino, and H. A. Mooney. 1987. Estimation of tissue construction cost from heat of combustion and organic nitrogen content. *Plant, Cell and Environment* **10**:725-734.
- Zangerl, A. R., and F. A. Bazzaz. 1992. Theory and pattern in plant defense allocation. Pages 363-391 in R. S. Fritz and E. L. Simms, editors. Plant resistance to herbivores and pathogens: ecology, evolution, and genetics. University of Chicago Press, Chicago, Illinois, USA.
- Zangerl, A. R., and M. R. Berenbaum. 1990. Furanocoumarin induction in wild parsnip: genetics and population variation. *Ecology* **71**:1933-1940.
- Zucker, W. V. 1983. Tannins: does structure determine function? An ecological perspective. *American Naturalist* **121**:335-365.