



---

---

**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES SOBRE RECURSOS  
NATURALES**



**EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD QUÍMICA Y FUNCIONAL DEL  
GENERO *Croton* (EUPHORBIACEAE) Y SU RELACIÓN CON LOS  
PATRONES DE HERBIVORÍA EN BOSQUES TROPICALES SECOS  
SECUNDARIOS Y CONSERVADOS EN LA REGIÓN DE CHAMELA,  
JALISCO**

**TESIS**

Que presenta:

Biól. José Gerardo González Esquivel

Como requisito para obtener el título profesional de

**Maestro en Ciencias en Ecología Integrativa**

Director de tesis:

**DRA. YURIXHI MALDONADO LÓPEZ**

Codirector de tesis:

**DR. PABLO CUEVAS REYES**

Morelia, Michoacana marzo de 2019

---

---



## DEDICATORIA

A mi familia:

*Leonardo Issac*

*Adrián*

*Lucia*

*“Si nos gusta lo que hacemos, si siempre hacemos nuestro mejor esfuerzo, entonces, realmente, estamos disfrutando de la vida. Nos divertimos, no nos aburrimos, no tenemos frustraciones”*

*Miguel Ángel Ruiz*

## AGRADECIMIENTOS

A los integrantes de mi mesa sinodal Dra. Yurixhi Maldonado López, Dr. Pablo Cuevas Reyes, Dr. Antonio González Rodríguez; Dr. Leonel López Toledo y al Dr. Rafael Hernández Guzmán les agradezco por el apoyo en cuanto a las correcciones que me han hecho, además de brindarme ideas de nuevos análisis para la culminación de este trabajo, muchas gracias.

Para mi asesora, la Dra. Yurixhi, a la cual estoy profundamente agradecido por la oportunidad que me dio de ser su primer estudiante de maestría. Gracias por creer en mí, gracias por apoyarme a lo largo de todo este gran trabajo que juntos hicimos. Agradezco mucho el tiempo que me brindaste dentro del laboratorio y en el aula ya que había muchas cosas de las cuales no recordaba cómo hacerlas y bajo tu orientación pude llegar a desarrollarlas de la mejor manera. De igual manera agradezco mucho las llamadas de atención por llegar tarde, porque reconozco que en ocasiones si flojeaba, pero a pesar de eso al igual que Pablo sus consejos y llamadas de atención fue por mi bien, ya que en algunas ocasiones me sentía perdido o muy estresado o simplemente me sentía desanimado en seguir adelante, siempre existió para mí un consejo o una manera de ver diferentes las cosas y salir adelante. Muchas gracias Yuri por tantas cosas buenas que me has enseñado y me sigues enseñando.

Para mi asesor y amigo Pablo estoy profundamente agradecido por permitirme seguir formando parte de este gran equipo de trabajo que has formado, gracias por todos los consejos que me has brindado a lo largo de tantos años de conocernos, te agradezco por esos regaños y llamadas de atención que me hacías cuando se ameritaban o me salía del camino, gracias a eso me volví una persona con mayor disciplina y ordenada. Eso me ayudo a sobresalir y si

no soy el mejor en el área que desempeño, cada día me esfuerzo por mejorar y ser bueno en lo que hago, para poder ser mejor persona y estudiante. Gracias por la confianza de dejarme dirigir grupos de trabajo cuando no estás presente por diferentes situaciones, lo que me ha llevado a ser buen líder y desarrollar más mis actitudes de investigador. No tengo la menor duda de que siempre seremos un equipo y ese equipo lo mantiene unido la amistad y el trabajo que realizamos juntos.

Gracias al Dr. Luis y la Dra. Mariana ya que nos permitieron formar parte de este gran proyecto que tiene a cargo. Muchas gracias por brindarme esa hospitalidad en mi estancia en Chamela, por dejarme trabajar en las parcelas en las cuales hacen sus estudios, además del apoyo incondicional de Israel y la Chapis, los cuales fueron mis guías en el campo.

Dr. Antonio muchas gracias por mostrar siempre disposición en apoyarme en la revisión de mis artículos, de mi tesis y en apoyarme en mi gran dolor de cabeza.... “el inglés”, te agradezco mucho por apoyarme en todas estas correcciones y también por las facilidades que me brindaste en utilizar tu laboratorio y los materiales que proporcionaste con gran afecto para lograr terminar esta investigación.

Muchas gracias al Dr. Leonel por sus aportaciones en cuanto a los análisis que me sugirió a lo largo de los cuatro tutoriales y por mostrar siempre disposición de proporcionarme una firma o simplemente una consulta que le pedía en los pasillos, gracias Doc.

Gracias Dr. Rafa por el apoyo con el mapa de mis sitios en el cual sin pedirle ayuda se ofreció a ayudarme sin ningún problema, además, de las aportaciones en la elaboración del artículo y de la disposición en formar parte de mi comité.

Tengo que reconocer también a mis amigos y compañeros de laboratorio Joan, Sofia, Katy, Isa, Vaquero, Abel, Mireya, Lety, Paloma y Fidel ya que me apoyaron siempre y sin ustedes

el tiempo en el laboratorio no sería igual, en cuestiones personales, o de la misma elaboración de la tesis, gracias por ser buenos compañeros. A Joan y Lawrence que cuando estuvimos en Chamela parecía que llevaba a mis dos hijos jajajaja así se comportaban pero aun así fortalecimos nuestra amistad y pudimos terminar el trabajo en tiempo y forma como se nos pidió, Sofia y Katy e Isa siempre apoyándome, brindándome un consejo que aunque a veces no era atinado siempre lo hacían de todo corazón, gracias muchachas por ser tan buenas amigas, aunque en algunas ocasiones hubo bajas y otras veces hubo altas siempre me demostraron su amistad y créanme que amigos como ustedes no existen, muchas gracias mis amigos a todos, no me olvidare de esas reuniones para evaluar aspectos relacionados con nuestro trabajo, que terminaban en unas buenas parrandas.

Tengo que reconocer también el esfuerzo de mi Lucia mi esposa ya que sin su apoyo incondicional me hubiera sido difícil o hasta imposible poder terminar este logro que es de los dos, gracias por apoyarme cuando me fui a Chamela donde no tenía ni un peso, gracias por confiar en mí y por creer que podía lograrlo, tu más que nadie sabe lo que ha costado este paso, pero estoy seguro que al igual que yo estas orgullosa de este trabajo que aún no termina, esto seguirá y espero poder seguir contando siempre con tu apoyo. ¡Gracias amor!

A mis padres Remedios y Gerardo gracias por apoyarme cuando lo necesite, gracias por brindarme siempre un consejo ante algún suceso que no sabía cómo hacer, a mis hermanos Alex, Allan y David, que también fueron parte fundamental de este trabajo. Gracias tía Ana y Chivis, abuelita Lucia por tu apoyo siempre estaré completamente agradecido con ustedes, este logro también es suyo.



## INDICE

1. RESUMEN .....	1
2. ABSTRACT.....	3
3. INTRODUCCIÓN.....	5
4. HIPÓTESIS.....	13
5. OBJETIVOS.....	14
5.1 GENERAL.....	14
5.3 PARTICULARES.....	14
6. CAPÍTULO 1. DAÑO FOLIAR CAUSADO POR INSECTOS HERBÍVOROS Y SU ASOCIACIÓN CON LA ASIMETRÍA FLUCTUANTE EN <i>Croton suberosus</i> (Dominguez et al., 1989) EN BOSQUES MADUROS Y SECUNDARIOS EN CHAMELA, JALISCO.....	15
7. CAPÍTULO 2. Variation of functional attributes of two <i>Croton</i> species in different successional stages of tropical dry forest: effects on herbivory and fluctuating asymmetry patterns.....	22
8. DISCUSIÓN GENERAL.....	58
9. CONCLUSIONES GENERALES.....	64
10. AGRADECIMIENTOS.....	66
11. BIBLIOGRAFÍA.....	67



## 1. RESUMEN

En México, los bosques tropicales secos se encuentran en la Península de Yucatán y a lo largo de la costa del Pacífico. Las principales amenazas incluyen: el cambio climático global, la deforestación, la ganadería y la agricultura. Después de ocurrir estas perturbaciones, el hábitat se recupera mediante la sucesión ecológica, esta sucesión modifica los atributos funcionales foliares, el metabolismo secundario y la morfología afectando la incidencia de herbívoros. Analizamos la variación morfológica, funcional y química asociada con los patrones de herbivoría en dos especies *C. roxanae* y *C. suberosus* presentes en bosques maduros y bosques secundarios en Chamela, Jalisco. Los atributos funcionales mostraron que el área foliar y el grosor fueron mayores en bosques secundarios, mientras que la densidad y la masa foliar fresca fueron mayores en bosques maduros. La masa seca de la hoja, el área foliar específica, el contenido de clorofila y el contenido de agua mostraron variaciones entre especies en ambas condiciones. La concentración de alcaloides, fenoles y flavonoides mostraron variación entre especies y los individuos de bosque secundario presentaron mayor concentración. *C. roxanae* mostró mayor herbivoría en bosques maduros y *C. suberosus* no mostró diferencias. El análisis morfológico mostró que las hojas de bosque secundario son ligeramente más largas y anchas que las hojas de bosque maduro. Encontramos mayor nivel de asimetría fluctuante en bosques secundarios. Encontramos que la variación morfológica está influenciada por el entorno donde se desarrollan las plantas. Nuestros resultados indican los metabolitos secundarios, son efectivos contra el ataque de herbívoros. Encontramos que la herbivoría y la asimetría fluctuante se relacionan positivamente en los individuos de bosque maduro de ambas especies, pero no, en individuos

de bosque secundario, por lo tanto, sugerimos que valores elevados de asimetría fluctuante se relacionan con estrés ejercido por el ambiente y no por la presencia de herbívoros.

**PALABRAS CLAVE:** Atributos funcionales, sucesión secundaria, variación morfológica, defensa química, asimetría fluctuante.

## 2. ABSTRACT

In Mexico, dry tropical forests are found in the Yucatan Peninsula and along the Pacific coast. The main threats include: global climate change, deforestation, livestock and agriculture. After these disturbances occur, the habitat is recovered through ecological succession, this succession modifies the foliar functional attributes, the secondary metabolism and the morphology affecting the incidence of herbivores. We analyzed morphological, functional and chemical variation associated with herbivory patterns in two species, *C. roxanae* and *C. suberosus*, present in mature forests and secondary forests in Chamela, Jalisco. The functional attributes showed that the leaf area and thickness were higher in secondary forests, while density and fresh foliar mass were higher in mature forests. The dry mass of the leaf, the specific leaf area, the chlorophyll content and the water content showed variations between species in both conditions. The concentration of alkaloids, phenols and flavonoids showed variation between species and the individuals of secondary forest showed higher concentration. *C. roxanae* showed higher herbivory in mature forests and *C. suberosus* showed no differences. Morphological analysis showed that secondary forest leaves are slightly longer and wider than mature forest leaves. We found a higher level of fluctuating asymmetry in secondary forests. We find that morphological variation is influenced by the environment where the plants develop. Our results indicate the secondary metabolites, are effective against the attack of herbivores. We found that herbivory and fluctuating asymmetry are positively related in mature forest individuals of both species, but not in secondary forest individuals, therefore, we suggest that high values of fluctuating asymmetry are related to stress exerted by the environment and not by the presence of herbivores.

**KEYWORDS:** Functional attributes, secondary succession, morphological variation, chemical defense, fluctuating asymmetry.

### 3. INTRODUCCIÓN

Los bosques tropicales secos (BTS's) presentan una amplia distribución geográfica en el mundo, ya que cubren el 42% de los bosques tropicales (Buzzard et al. 2015). En México, los BTS's se encuentran presentes de manera continua en la Península de Yucatán y a lo largo de la costa del Pacífico (Rzedowski, 1978). La gran biodiversidad asociada a los BTS's junto con la gran cantidad de endemismos (Guillespie et al. 2000), han sido dos factores determinantes para que estos ecosistemas sean identificados como centros de biodiversidad (Lambin y Ehrlich 1997) ya que los BTS's albergan la mayor diversidad, riqueza y densidad de especies arbóreas en el mundo (Crowther et al. 2015; Slik et al. 2015). Los BTS's fueron por mucho tiempo, poco considerados para ser incluidos en los programas de conservación, a pesar de que, en las últimas décadas, han sufrido grandes amenazas como la fragmentación a causa del calentamiento global, el incremento de la población humana y la conversión del suelo a campos agrícolas y ganaderos (Sanchez-Azofeifa et al. 2005; Miles et al. 2006; Chadzon y Guariguata 2016). Un ejemplo claro es América Latina que presenta tasas de deforestación hasta del 40% (Miles et al. 2006) y en el caso particular de México, solamente se conserva el 27% del BTS como bosque maduro y en algunas regiones se ha perdido cerca del 60% de la vegetación original por actividades antropogénicas como agricultura, ganadería y turismo (Trejo y Dirzo 2002, Challenger et al. 2009, Portillo-Quintero y Sánchez-Azofeifa 2010; Meave et al. 2012). De esta manera, se ha determinado que los estados de vegetación secundaria y/o regeneración sean los estados más frecuentes de los BTS's durante las siguientes décadas (Wright et al. 2006).

## SUCESIÓN SECUNDARIA

Una vez que han ocurrido las alteraciones antropogénicas en los bosques y después del abandono de estas tierras, inicia la recuperación natural del ecosistema a través del proceso de sucesión ecológica (Madeira et al. 2009; Quesada et al. 2009; Neves et al. 2014). Durante este proceso, la comunidad de plantas se regenera mediante un cambio secuencial en los atributos del ecosistema como en la riqueza de especies, composición y diversidad de las comunidades (Chazdon et al. 2007; Alvarez-Añorve et al. 2012). El cambio de un bosque maduro y continuo a un bosque con vegetación secundaria tiene un efecto directo sobre los factores bióticos, debido a que puede reducir o cambiar la diversidad y abundancia de las especies (Kennard et al. 2002; Lebrija-Trejos et al. 2010). Durante las primeras etapas de la sucesión ecológica los factores abióticos como la disponibilidad de luz y agua son abundantes, por lo que los rasgos en las plantas sufren cambios para poder desarrollar tolerancia a la sequía (Lebrija-Trejos et al. 2010; Lohbeck et al. 2013; Buzzard et al. 2015). De esta manera, las especies explotan estos recursos abióticos para lograr un crecimiento y reproducción exitosa. En cambio, las especies de sucesión tardía mejoran las estrategias de adquisición de luz en bosques donde el crecimiento está limitado por la luz (Alvarez-Añorve et al. 2012). Se ha comprobado que en los bosques maduros se presenta menor riqueza de especies y en bosques en estados de sucesión temprana la composición florística es más simple y existe mayor número de especies (Lebrija-Trejos et al. 2008). Por esta razón es primordial evaluar las etapas tempranas de sucesión donde la estructura de la vegetación está dominada por especies pioneras principalmente y en las etapas tardías la vegetación se ha recuperado y regresado al estado anterior a la perturbación (Madeira, 2009; Quesada et al. 2009).

## INTERACCIONES BIÓTICAS DE ESTADOS DE SUCESIÓN

Algunos estudios han intentado describir los patrones de herbivoría a lo largo de los gradientes sucesionales, debido a la falta de información que existe sobre bosques tropicales secos (Quesada et al. 2009). Se ha demostrado que la perturbación o fragmentación de un hábitat ha tenido efecto en las interacciones planta-herbívoro (Juan-Baeza et al. 2015), debido a que los hábitats alterados han presentado mayor nivel de herbivoría debido a una mayor presencia de herbívoros (Gutierrez-Granados y Dirzo 2009; Ruiz-Guerra et al. 2010). Silva et al. (2012) en un estudio de herbivoría a lo largo de un gradiente de sucesión en un bosque seco tropical, reportan que existe una disminución de insectos masticadores de hojas en etapas de sucesión intermedia y tardía como consecuencia de la disminución en el contenido de nitrógeno en las hojas observado durante la temporada de lluvias. Saavedra et al. (2017) mencionan que durante la sucesión de bosques tropicales las comunidades de herbívoros residentes aumentan su probabilidad de persistencia en las etapas sucesionales del bosque y afectan negativamente la persistencia de especies colonizadoras o de llegada tardía. Según lo reportado por Fonseca et al. (2018) se registraron aumentos en la herbivoría desde las etapas tempranas a las intermedias y tardías, sugiriendo que la riqueza y abundancia de insectos herbívoros es mayor debido a la mayor complejidad del hábitat. Acorde a la teoría de la disponibilidad de recursos propuesta por Coley et al. (1985), las plantas presentes en ambientes de sucesión temprana, con una alta disponibilidad de luz y nutrientes, invierten más recursos en crecimiento y reposición de tejidos perdidos por herbivoría, ya que es menos costoso remplazarlos que invertir en defensa. En tanto que plantas en bosques maduros invierten mayor cantidad de recursos en defensas ya que es más factible defenderse que producir tejidos nuevos (Coley et al. 1985;

Poorter et al. 2004) en un ambiente donde la disponibilidad de recursos es limitada. Bajo este supuesto, plantas presentes en bosques secundarios serían más consumidas a causa de una mayor palatabilidad por ser ricas en nutrientes y menos defendidas (Coley et al. 1983; Poorter et al. 2004).

## **ATRIBUTOS FUNCIONALES**

Otros factores de gran importancia y que están estrechamente relacionados con la capacidad de regeneración del bosque, son los atributos funcionales (Callaway et al. 2002). Los atributos funcionales son definidos como las características morfológicas, fisiológicas y fenológicas asociadas a sobrevivencia, crecimiento y reproducción, las cuales están directamente relacionados con la disponibilidad de agua y de luz (Violle et al. 2007). Los atributos funcionales reflejan las estrategias ecológicas de las especies, debido a que influyen directamente en la adecuación o “fitness” de las plantas a través de sus efectos sobre el crecimiento, reproducción y supervivencia. Estas adecuaciones van a depender de la respuesta a los cambios ambientales o a las perturbaciones antropogénicas (Lebrija-Trejos et al. 2011; Lohbeck et al. 2013; Schöb et al. 2013). Por ejemplo, el tamaño de la hoja, y el área foliar específica (i.e. proporción del área de la hoja y biomasa) decrecen con la disminución de la humedad y/o disponibilidad de nutrientes (Cunningham et al. 1999; Fonseca et al. 2000). Estos cambios fisiológicos y morfológicos foliares potencialmente tienen consecuencias sobre las interacciones competitivas entre plantas y en las interacciones antagónicas entre plantas y herbívoros (Schöb et al. 2013).



## **MORFOLOGÍA FOLIAR: ASIMETRÍA FLUCTUANTE Y MORFOMETRÍA GEOMÉTRICA**

Las plantas responden a cambios bióticos y abióticos generados por los estados de sucesión, mostrando cambios adaptativos en los atributos fisiológicos y morfológicos acorde a su plasticidad fenotípica (Atkin et al. 2006; Wright y MacConnaughay, 2002). Estos cambios en atributos morfológicos pueden ser identificados usando herramientas como la morfometría geométrica (Klingenberg y McIntyre 1998), la cual es definida por Rohlf (1990) como la descripción cuantitativa, el análisis y la interpretación de la variación del tamaño y la forma de una estructura biológica, así como su aplicación en análisis estadísticos multivariados a conjuntos de variables cuantitativas, como la longitud, anchura y altura de un atributo. Al ser estas uno de los órganos de la planta con mayor exposición a los cambios ambientales, se han interpretados como cambios o adaptaciones a ambientes específicos (Royer et al. 2009; Xu et al. 2009). Tanto la variabilidad genética como la plasticidad fenotípica contribuyen a esta variación, lo cual da lugar a una gran diversidad de formas que depende en gran medida de las condiciones en las cuales la planta se desarrolla. Esta relación fenotipo-ambiente ha sido abordada en estudios ecológicos (Klich, 2000), taxonómicos (Westoby et al. 2002) y genéticos (González-Rodríguez y Oyama 2005). Canche-Delgado et al. (2011) reportaron que la morfología foliar de *Crataegus tracyi* presento variaciones entre sitios perturbados y de bosque maduro en un bosque tropical seco, lo que sugiere una alta plasticidad fenotípica de las hojas para amortiguar el estrés ambiental al que se encuentran sometidas.

Además, un buen indicador para evaluar el estrés ambiental en las plantas es la asimetría fluctuante (AF) (Cuevas-Reyes et al. 2018), la cual es una medida particular de la estabilidad durante el desarrollo de algún atributo fenotípico en rasgos bilaterales o

radialmente simétricos óptimos (Palmer, 1986). La asimetría fluctuante describe las diferencias morfológicas entre los dos lados de un carácter bilateral en los organismos, además es considerada como un buen indicador de la inestabilidad en el desarrollo causado por estrés genético y ambiental (Cornelissen y Stiling 2005; Cuevas-Reyes et al. 2011b), estos cambios morfológicos en las plantas pueden ser influenciados por factores abióticos como la contaminación ambiental, la disponibilidad de luz, agua o por nutrientes (Cornelissen, 2003; Thelhado et al. 2017) y por factores bióticos como la incidencia de patógenos y herbívoros (Cuevas-Reyes et al. 2011b; 2018a). En el estudio realizado por Cuevas-Reyes et al. (2018a) en individuos de *Tibuchina. heteromalla* encontraron niveles elevados de asimetría fluctuante en individuos donde el porcentaje de herbivoría fue mayor, corroborando el hecho de que la herbivoría es un factor que aumenta el nivel de estrés en las plantas aumentando los niveles de AF.

## **DEFENSA QUÍMICA**

La herbivoría es la relación antagónica entre las plantas y los animales, un gran número de estudios revela que el daño causado por insectos herbívoros afecta de manera negativa el crecimiento, reproducción y supervivencia de las plantas (Mariano, 2005). Para esto las plantas han desarrollado diferentes tipos de defensa físicas (espinas o tricomas) y químicas (fenoles, taninos, alcaloides) Estas estrategias han sido desarrolladas para protegerse del ataque por herbívoros, además la respuesta de las plantas al ataque por herbívoros dependerá en cierto grado de la disponibilidad de nutrientes en el suelo y la edad misma de la planta (Sánchez-Ramos et al. 2010; Maldonado-López et al. 2014; Cuevas-Reyes et al. 2018a). Cuando un insecto herbívoro remueve parte del tejido foliar, el área fotosintética se reduce y

se produce una pérdida de reservas de nutrientes y carbono almacenadas en las hojas, perdiendo recursos que la planta tiene destinados para su crecimiento y reproducción (Mariano, 2005). Las alteraciones en una comunidad de plantas durante el proceso de sucesión secundaria presentan consecuencias para la comunidad de animales con la que se encuentra asociada (Siemann et al. 1999; Lewinsohn et al. 2005; Vehviläinen et al. 2007), debido a que se genera un aumento en la diversidad de insectos, lo cual aumenta los porcentajes de herbivoría (Silva et al. 2012; Neves et al. 2014). Por ejemplo, Neves et al. (2014) indicaron que la riqueza de insectos chupadores de savia aumento a lo largo de un gradiente de sucesión, relacionándola con los cambios en la composición de la comunidad vegetal y de la estructura del bosque como la altura de la plana y la complejidad del dosel, por lo que los niveles de herbivoría y la diversidad de herbívoros de insectos fueron mayores en etapas sucesionales avanzadas. También, Fonseca et al. (2018) reportan que la intensidad de la herbivoría presentó variación a lo largo de la escala sucesional en donde la herbivoría aumento desde las etapas tempranas a las intermedias y tardías de la misma manera que los estudios realizados por Silva et al. (2012) y Neves et al. (2014). Heredia-Heredero et al. (2011), evaluaron el efecto de herbívoros en estadios sucesionales en diferentes estratos de las plantas, en donde confirman que existe una relación entre el estadio y el daño causado, siendo el estadio temprano de las plantas el cual fue mayormente afectado, lo que indica que los folívoros se inclinan a los estadios más tempranos de las plantas para alimentarse.

Muchas especies de plantas producen metabolitos secundarios como flavonoides, alcaloides y fenoles como compuestos de defensa química ante el ataque de insectos herbívoros (Buchanan et al. 2002). Por ejemplo; se ha reportado que los compuestos fenólicos actúan como defensa contra patógenos y herbívoros (Lattanzio et al. 2006; Prathyusha y Usha, 2016). Por ejemplo, Fonseca et al. (2018) reporta que el mayor contenido de compuestos

fenólicos lo presentaron las plantas que se encuentran en una etapa sucesional tardía, ya que este tipo de defensa les representa costos de mantenimiento más bajos para las especies de sucesión tardía (Poorter et al. 2004). Estos cambios en la composición química son el resultado de la reducción en el contenido de agua y nitrógeno foliar (Filip et al. 1995).

Comprender la sucesión de los boques tropicales es fundamental para desarrollar estrategias de conservación, ya que se ha considerado que los bosques en estados de sucesión serán el estado más común de los bosques tropicales que prevalecerán en el futuro (Sanchez-Azofeifa et al. 2005). Las tasas de conversión de tierras indican que la mayoría de los bosques tropicales maduros tenderán a desaparecer debido al manejo inadecuado ya que la mayoría de su área se encuentra conformada por un mosaico con diferentes estadios de sucesión (Portillo y Sánchez- Azofeifa, 2010). En este sentido, la mayoría de los paisajes tropicales actualmente se encuentran en una situación crítica ya que el área conservada está desapareciendo y da lugar a fragmentos de selva entremezclados con parches de bosque en estadios diferentes de sucesión, áreas de cultivo, plantaciones forestales, campos frutícolas y pastizales (Sánchez-Azofeifa et al. 2005; Harvey et al. 2008). Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es determinar si la variación morfológica se encuentra relacionada con la variación en los atributos funcionales foliares y determinar la influencia sobre los patrones de herbivoría, asimetría fluctuante y composición química entre bosques maduros y bosques secundarios

#### **4. HIPÓTESIS**

- De acuerdo con lo reportado por Alvarez-Añorve et al. (2012) y Fonseca et al. (2018) los atributos funcionales presentaran diferencias entre las dos condiciones de bosque, estas variaciones afectaran la morfología foliar de las plantas, como respuesta a las condiciones ambientales y a la disponibilidad de recursos presente en cada sitio.
- La variación de los atributos funcionales en un bosque secundario afectara la composición química de las especies, por lo tanto, existirán mayores porcentajes de herbivoría y mayor nivel de asimetría fluctuante como resultado del estrés ejercido por los herbívoros.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 OBJETIVO GENERAL**

- Determinar la variación morfológica, la diversidad funcional y química de dos especies del género *Croton* y la relación que existe con los patrones de herbivoría y de asimetría fluctuante en bosques maduros y secundarios en la región de Chamela, Jalisco.

### **5.2 OBJETIVOS PARTICULARES**

- Determinar las diferencias en la morfología foliar en dos especies que ocurren en un bosque maduro y un bosque secundario.
- Comparar la variación en los atributos funcionales foliares de cada especie en las dos condiciones de bosque.
- Determinar la concentración de los compuestos químicos asociados a defensa en las dos especies en cada condición de bosque
- Comparar los patrones de herbivoría y de asimetría fluctuante de cada especie en las dos condiciones de bosque.

## DAÑO FOLIAR CAUSADO POR INSECTOS HERBÍVOROS Y SU ASOCIACIÓN CON LA ASIMETRÍA FLUCTUANTE EN *Croton suberosus* (Domínguez *et al.*, 1989) EN BOSQUES MADUROS Y SECUNDARIOS EN CHAMELA, JALISCO

José Gerardo González-Esquivel<sup>1</sup>, Luis Daniel Ávila-Cabadilla<sup>2</sup>, Mariana Yolotl Álvarez-Añorve<sup>2</sup>, Antonio González-Rodríguez<sup>3</sup>, Pablo Cuevas-Reyes<sup>4</sup> y Yurixhi Maldonado-López<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales, Av. San Juanito Itzicuaró S/N, Nueva Esperanza, Morelia, C.P.58330, Michoacán, México,

<sup>2</sup> Escuela nacional de Estudios Superiores, Unidad Morelia, UNAM, Antigua Carretera a Pátzcuaro No. 8701, Morelia, C.P 58190, Michoacán, México,

<sup>3</sup> Laboratorio de Genética de la Conservación, IIES UNAM, Antigua Carretera a Pátzcuaro No. 8701, Morelia, C.P 58190, Michoacán, México,

<sup>4</sup> Laboratorio de Ecología de la Conservación e Interacciones Bióticas, Francisco J. Mújica S/N Col. Felicitas del Río, Ciudad Universitaria, Morelia, C.P. 58030, Michoacán, México,

<sup>5</sup> Cátedras CONACYT. Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales, UMSNH, Av. San Juanito Itzicuaró S/N, Nueva Esperanza, Morelia, C.P.58330, Michoacán, México.

✉ Autor de correspondencia: [gonzalezgerardolep@gmail.com](mailto:gonzalezgerardolep@gmail.com)

**RESUMEN.** Los bosques tropicales secos ocupan el 46% de superficie de bosques tropicales a nivel mundial, en México los bosques tropicales secos se distribuyen en Yucatán y a lo largo de la costa del Pacífico. Las principales amenazas a estos bosques son el cambio climático global, deforestación, agricultura y ganadería. En México el 60% de la vegetación original se ha perdido dando paso a vegetación con distinto grado de sucesión. El objetivo de este trabajo fue determinar las frecuencias de herbivoría y los niveles de asimetría fluctuante en dos tipos de bosque. Seleccionamos cuatro parcelas de bosque maduro y cinco parcelas de bosque secundario, para cada individuo seleccionamos 25 hojas al azar de los tres estratos del dosel para determinar los niveles de herbivoría y asimetría fluctuante. Se tomaron imágenes digitales para estimar el área foliar consumida por herbívoros y la asimetría fluctuante. Encontramos mayor porcentaje de área foliar removida en el bosque maduro y mayor nivel de asimetría fluctuante en el bosque secundario. Encontramos que existe una relación positiva entre la herbivoría y la asimetría fluctuante para el bosque maduro, mientras que en el bosque secundario no encontramos una relación significativa.

**Palabras clave:** área foliar removida, sucesión, frecuencia.

### Foliar damage caused by herbivore insects and their association with fluctuating asymmetry in *Croton suberosus* (Domínguez *et al.*, 1989) in mature and secondary forests in Chamela, Jalisco

**ABSTRACT.** The tropical dry forests occupy 46% of tropical forest area worldwide, in Mexico dry tropical forests are distributed in Yucatan and along the Pacific coast. The main threats to these forests are global climate change, deforestation, agriculture and livestock. In Mexico 60% of the original vegetation has been lost giving way to vegetation with different degree of succession. The objective of this work was to determine the frequencies of herbivory and the levels of fluctuating asymmetry in two types of forest. We selected four plots of mature forest and five plots of secondary forest, for each individual we selected 25 random leaves of the three strata of the canopy to determine the levels of herbivory and fluctuating asymmetry. Digital images were taken to estimate the leaf area consumed by herbivores and the fluctuating asymmetry. We found a higher percentage of leaf area removed in the mature forest and higher level of fluctuating asymmetry in the secondary forest. We found that there is a positive relationship between the herbivory and the fluctuating asymmetry for the mature forest, whereas in the secondary forest we did not find a significant relationship.

**Key words:** foliar area removed, succession, frequency.

## INTRODUCCIÓN

Los bosques tropicales secos ocupan alrededor del 46 % de la superficie de los bosques tropicales a nivel mundial (Miles *et al.*, 2006). En América los bosques tropicales se distribuyen de México hasta el norte de Argentina (Dirzo *et al.*, 2011), en México los bosques tropicales secos se encuentran en la Península de Yucatán y a lo largo de la costa del Pacífico (Rzedowski 1978). Este tipo de ecosistemas cuenta con gran extensión de territorio y son catalogados como centros de biodiversidad por el gran número de endemismos (Lambin y Ehrlich 1997, Gillespie *et al.*, 2000).

Los bosques tropicales secos son poco considerados para incluirlos en programas de conservación en el mundo, a pesar de son ecosistemas muy degradados, transformados y fragmentados del mundo en comparación con los bosques tropicales húmedos (Sánchez-Azofeifa *et al.*, 2005). Las principales amenazas a los bosques tropicales secos incluyen el aumento en la densidad poblacional, el cambio climático global, deforestación, cambio de uso de suelo causado por la ganadería, la agricultura y el turismo (Miles *et al.*, 2006). En México permanece intacto solo el 26 % de bosque maduro y en algunas regiones alrededor del 60% de la vegetación original se ha perdido dando paso a vegetación con distinto grado de sucesión (Trejo y Dirzo 2002, Portillo-Quintero y Sánchez-Azofeifa 2010; Meave *et al.*, 2012). Es probable que los estados de vegetación secundaria y/o regeneración sean el estado más frecuente de los bosques tropicales secos durante las siguientes décadas (Wright *et al.*, 2006). Comprender la sucesión de los bosques tropicales es fundamental para desarrollar estrategias de conservación debido a que los bosques tropicales secundarios son considerados como los bosques del futuro (Sánchez-Azofeifa *et al.*, 2005). El cambio de un bosque maduro a un bosque secundario ejerce un efecto directo sobre los factores bióticos, ya que reduce y cambia la diversidad y abundancia de especies y afecta la intensidad de las interacciones bióticas (e.g. interacción planta-animal) (Bustamante *et al.*, 2005). La herbivoría es la relación antagónica entre las plantas y los animales, un gran número de estudios revela que el daño causado por insectos herbívoros afecta de manera negativa el crecimiento, reproducción y supervivencia de las plantas (Mariano, 2005). La respuesta de las plantas al ataque por herbívoros depende de la disponibilidad de nutrientes en el suelo y la edad de la planta (Cuevas-Reyes *et al.*, 2018, Maldonado-López *et al.*, 2014, Sánchez-Ramos *et al.*, 2010). Cuando un insecto herbívoro remueve parte del tejido foliar, existe una reducción del área fotosintética y se produce una pérdida de reservas de nutrientes, perdiendo recursos que la planta tiene destinados para su crecimiento y reproducción (Mariano 2005). Un indicador para evaluar el estrés ambiental en las plantas causado por herbívoros es la asimetría fluctuante (Cuevas-Reyes *et al.*, 2018), la cual es una medida particular de la estabilidad durante el desarrollo de algún atributo fenotípico en rasgos bilaterales o radialmente simétricos (Cuevas-Reyes *et al.*, 2018). Los factores bióticos y abióticos aumentan los niveles de asimetría fluctuante ya que alteran el desarrollo a nivel cromosómico y epigenético (Albarran-Lara *et al.*, 2010). La asimetría fluctuante se utiliza para indicar el estrés que sufre la planta por insectos herbívoros (Cuevas-Reyes *et al.*, 2011b; Fernandes *et al.*, 2015). Por lo tanto el objetivo principal de este trabajo es comparar los niveles de herbivoría presentes en *Croton suberosus* en una condición de bosque maduro y una condición de bosque secundario, además de determinar los cambios que existen en los niveles de asimetría fluctuante y si existe relación con la herbivoría.

## MATERIALES Y MÉTODO

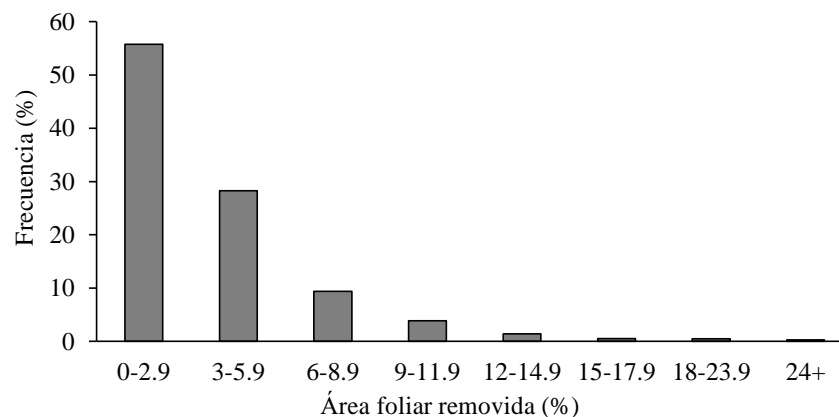
El estudio se realizó en la Reserva de la biosfera Chamela-Cuixmala y zonas aledañas situadas en la Costa suroeste de Jalisco. El Clima es cálido subhúmedo. La temperatura promedio es de 22 a 26°C y la precipitación total anual varía de 400 a 1300 mm distribuyéndose en un periodo de cuatro a seis meses, lo que determina su marcada estacionalidad. La época seca se presenta de



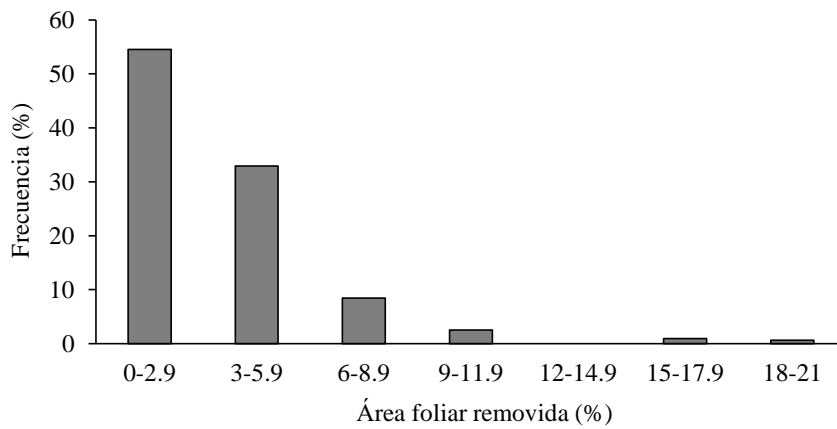
Noviembre a Junio (Trejo y Dirzo 2000). La vegetación predominante es el bosque tropical seco, con algunas bandas de bosque tropical semidecídulo al borde de los arroyos. El género *Croton* es el segundo género más común y diverso de la familia Euphorbiaceae con un aproximado de 1300 especies de árboles y arbustos (Webster *et al.*, 1996). Se distribuyen en las regiones tropicales y subtropicales del mundo (Salatino *et al.*, 2007). *Croton suberosus* es un arbusto caducifolio que produce hojas durante la temporada de lluvias. Es endémico de la costa sur del Pacífico Mexicano, distribuido localmente en los estados de Jalisco, Michoacán, Guerrero y Oaxaca. (Domínguez *et al.*, 1989). Se seleccionaron cuatro parcelas al interior de la reserva las cuales presentan vegetación en estado de conservación las cuales fueron Tejón 1, Tejón 2, UNAM y Limón 2. Para el bosque secundario se seleccionaron cinco parcelas Limón 1, José María Morelos, Hidalgo Nuevo 2, Ana Castillo 2 y Ley Federal de Hidalgo, que consisten en campos agrícolas de tres a ocho años de abandono. Las parcelas tienen un área delimitada de 20 x 50 metros en un área cuya pendiente no excede los 20°. Para cada individuo se seleccionaron tres ramas de los tres estratos del dosel de manera aleatoria (inferior, medio y superior) de los cuales se seleccionaron 25 hojas al azar para determinar los niveles de herbivoría y asimetría fluctuante. Se tomaron imágenes digitales para poder estimar el área foliar consumida por herbívoros y luego se estimó el área total mediante el software Image J (Cuevas-Reyes *et al.*, 2018), la asimetría fluctuante fue calculada como el valor absoluto de las diferencias entre las distancias del lado derecho e izquierdo tomando como punto de referencia la vena central de la hoja ( $A_i - B_i$ ) usando el software Image J, dividido por la distancia promedio ( $(A_i + B_i)/2$ ) para corregir el efecto del tamaño (Cuevas-Reyes *et al.*, 2018).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El primer análisis (Figura 1) muestra la distribución de frecuencia del daño de las 2,543 hojas de individuos de bosque maduro. La distribución de las categorías muestra que el 62.32 % de las hojas presentaron niveles de daño más bajos que la media ( $x = 3.53$  %) y el 37.67 % fue el porcentaje de hojas con daño por encima de la media y solamente el 0.27 % de las hojas presento más del 24 % de área foliar removida. Para los individuos de bosque secundario (Figura 2) la distribución del daño en 319 hojas muestra que el 60.81 % de las hojas presento menos daño que la media ( $x = 3.34\%$ ) y el 39.28 % de los individuos presentaron daño por encima de la media con un mínimo porcentaje de 0.62 % de hojas con daño superior al 21 %.

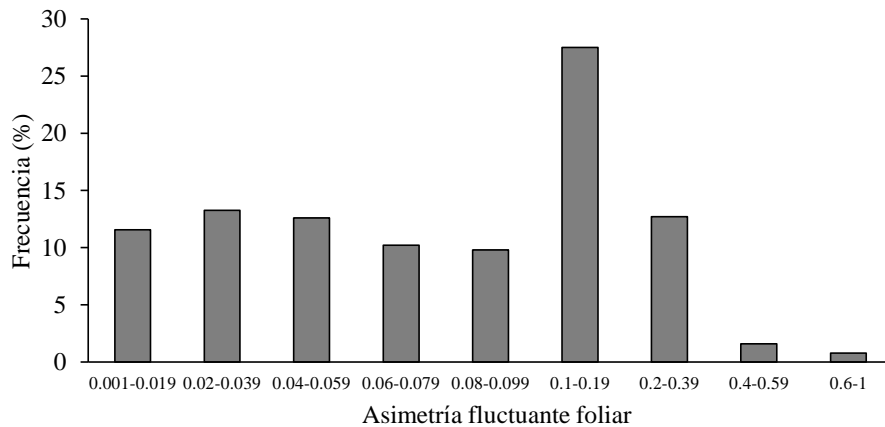


**Figura 1.** Distribución de frecuencia del daño en 2543 hojas de individuos que ocurren en el bosque maduro, con una media de  $x = 3.53\%$ , el daño fue medido en  $\text{cm}^2$

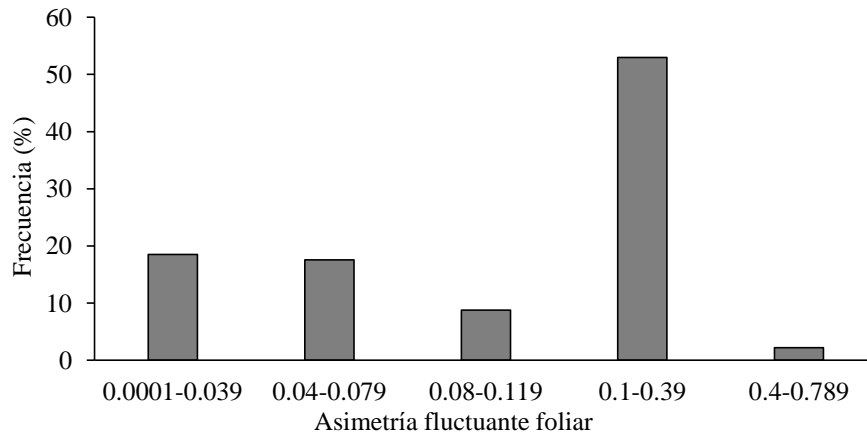


**Figura 2.** Distribución de frecuencia del daño en 319 hojas de individuos que ocurren en el bosque secundario, con una media de  $x = 3.34\%$ , el daño medido en  $\text{cm}^2$ .

El porcentaje de asimetría fluctuante para hojas de individuos de bosque maduro muestra que el 63.27 % de los individuos presentan menores niveles de asimetría con respecto a la media ( $x = 0.1141\%$ ) y solamente el 36.72 % de las hojas presentaron mayores niveles de asimetría fluctuante foliar (Figura 3). En las hojas de los individuos de bosque secundario el 57.99 % de las hojas presentaron menor asimetría fluctuante donde la media es ( $x = 0.1326\%$ ) y solamente el 42 % de los individuos presentaron mayor nivel de asimetría fluctuante (Figura 4).

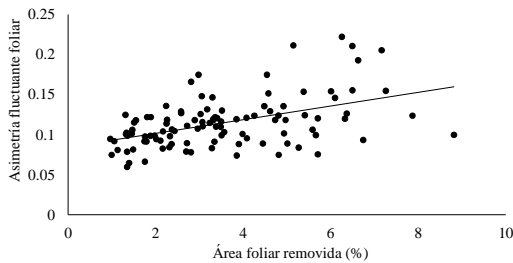


**Figura 3.** Distribución de frecuencia de la asimetría fluctuante en 2543 hojas de individuos que ocurren en el bosque maduro, con una media de  $x = 0.1141\%$ , el daño fue medido en cm.

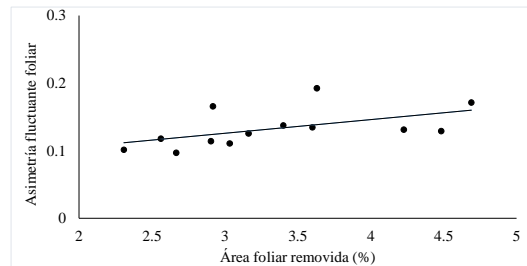


**Figura 4.** Distribución de frecuencia de la asimetría fluctuante en 319 hojas de individuos que ocurren en el bosque secundario, con una media de  $x = 0.1326\%$ , el daño fue medido en cm.

Encontramos que la asimetría fluctuante se relacionó de manera positiva con el área foliar removida los individuos del bosque maduro mostraron una relación positiva entre asimetría fluctuante y el área foliar removida ( $F=30.43$ ,  $R^2= 0.2281$   $P< 0.0001^*$ ) (Figura 5). Para los individuos que ocurren en el bosque secundario no se encontró relación entre el área foliar removida y la asimetría fluctuante ( $F=4.38$ ,  $R^2= 0.2852$   $P< 0.0601$ ) (Figura 6).



**Figura 5.** Relación entre el área foliar removida y la asimetría fluctuante en individuos del bosque maduro ( $F=30.43$ ,  $R^2= 0.2281$   $P< 0.0001^*$ ).



**Figura 6.** En las hojas de individuos presentes en bosque secundario no se encontró una relación entre el área foliar removida y el índice de asimetría fluctuante ( $F=4.38$ ,  $R^2= 0.2852$   $P< 0.0601$ ).

La proporción de área foliar removida está relacionada con el contenido de agua y tamaño que presentan las hojas, (Poorter *et al.*, 2004), esta sería una de las principales razones por la cual el porcentaje de herbivoría es menor en el bosque secundario debido al estrés hídrico que presentan las hojas en esta condición. De acuerdo con Cuevas-Reyes *et al.*, (2018) el elevado nivel de asimetría fluctuante en el bosque secundario está relacionado con el estrés ambiental al que se encuentran sometidos los individuos. Según lo reportado por (Fernandes *et al.*, 2015) se cumple el supuesto ya que demostramos que existe una relación positiva entre el nivel de asimetría fluctuante y el porcentaje de herbivoría donde a mayor frecuencia de herbivoría los niveles de asimetría fluctuante se incrementan, contrario a lo que pasa en el bosque secundario donde no se cumple esta regla.

## CONCLUSIONES

La proporción de área foliar removida fue menor en el bosque secundario debido al estrés ambiental e hídrico que les representa encontrarse en esta condición, por esta razón las hojas al tener menos cantidad de agua se vuelven más duras y son menos palatables para los herbívoros, además la edad de la planta y la edad de las hojas juega un papel determinante en la incidencia de los herbívoros, entre más nuevas son las hojas presentan mayor frecuencia e incidencia de daño que las hojas más viejas y más duras en una misma planta, la composición química juega un papel importante en la defensa de las plantas, las hojas más viejas presentarían una mayor concentración de defensas químicas que las hojas más nuevas y por esta razón la frecuencia de daño puede variar según la edad de las hojas y de la planta. Los altos niveles de asimetría fluctuante en el bosque secundario no estarían explicados por la incidencia de los herbívoros, más bien podrían estar influenciados por la presión ejercida por el ambiente en el desarrollo de las plantas.

## AGRADECIMIENTOS

"Uso de la reflectancia espectral de la vegetación para el estudio de la funcionalidad, diversidad y procesos ecológicos operando en las comunidades de plantas tropicales" UNAM-CONACYT 222202".

## LITERATURA CITADA

- Albarrán-Lara A. L., Mendoza-Cuenca L, Valencia-Avalos S, González-Rodríguez A y K. Oyama. 2010. Leaf fluctuating asymmetry increases with hybridization and introgression between *Quercus magnoliifolia* and *Quercus resinosa* (Fagaceae) through an altitudinal gradient in Mexico. *Int. J. Plant Sci.*, 171(3):310–322.
- Bustamante R.O., Simonetti J.A., Grez A.A., y J. San Martín. 2005. Fragmentación y dinámica de regeneración de bosque maulino: diagnóstico actual y perspectivas futuras. *Historia, biodiversidad y ecología de los bosques costeros de Chile*, 555-564.
- Cuevas-Reyes P, Fernandes GW, González-Rodríguez A, Pimenta M. 2011b. Effects of generalist and specialist parasitic plants (Loranthaceae) on the fluctuating asymmetry patterns of ruprestrian host plants. *Basic Appl Ecol.*, 12:449–455.
- Cuevas-Reyes P, Pereira G.C.N., Gelvez-Zuñiga I, Fernandes G.W., Venancio H, Santos JC y Y. Maldonado Lopez. 2018. Effects of ferric soils on arthropod abundance and herbivory on *Tibouchina heteromalla* (Melastomataceae): is fluctuating asymmetry a good indicator of environmental stress? *Plant Ecology*, 1-10.
- Dirzo R, Young H. S., Mooney H. A., G. Ceballos 2011. Seasonally Dry Tropical Forests ecology and conservation. *Island Press*, Washington, DC 20009, USA.
- Dominguez C. A., Dirzo R. y S. H. Bullock. 1989. On the function of floral nectar in *Croton suberosus* (Euphorbiaceae). *Oikos*, 56: 109–114.
- Fernandes GW, de Oliveira SCS, Campos IR, Barbosa M, Soares LA, Cuevas-Reyes P. 2015. Leaf fluctuating asymmetry and herbivory of *Tibouchina heteromalla* in restored and natural environments. *Neotrop Entomol*, 45:44–49.
- Guillespie TW, Grijalva A, Farris CN. 2000. Diversity, composition and structure of tropical dry forest in Central America. *Plant Ecol.*, 147: 37-4.
- Lambin EF, Erlich D. 1997. The identification of tropical deforestation fronts at broad spatial scales. *Int. J. Remote Sens.* 18: 3351-3568.
- Maldonado-López Y, Cuevas Reyes P, Sánchez Montoya G, Oyama K, y M. Quesada. 2014. Growth, plant quality and leaf damage patterns in a doecious tree species: is gender important? *Arthropod-Plant Interactions*, 8(4), 241-251.
- Mariano N. 2005. Herbivoria y cosexualidad en plantas: efectos indirectos del daño foliar (en línea). *Tropisilva*. 1(1): sp. Consultado 6 jun 2011. Disponible en <http://www.uaem.mx/ebe/april/nestor->

april05.htm

- Meave J. A., Romero-Romero M. A., Salas-Morales SH, Pérez-García E. A., Gallardo-Cruz JA. 2012. Diversidad, amenazas y oportunidades para la conservación del bosque tropical caducifolio en el estado de Oaxaca, México. *Ecosistemas*, 21(1): 85-100.
- Miles L, Newton AC, DeFries RS, Ravilious C, May I, Blyth S, Kapos V, Gordon JE. 2006. A global overview of the conservation status of tropical dry forest *J. Biogeogr.* 33: 491-505.
- Poorter L, de Plassche MV, Willems S, Boot RGA, 2004. Leaf traits and herbivory rates of tropical tree species differing in successional status. *Plant Biol.* 6, 746–754.
- Portillo-Quintero CA, Sanchez-Azofeifa GA. 2010. Extent and conservation of tropical dry forests in the Americas. *Biological Conservation*, 143:144-155.
- Rzedowski J. 1978. Vegetación de México. Editorial Limusa, México.
- Sánchez- Azofeifa AG, Quesada M, Rodriguez JP, Nassar JM, Stoner KE, Castillo-Garvin AT, Zent EL, Calvo J, Kalacska M, Fajardo L, Gamon J, Cuevas-Reyes P. 2005. Research Priorities for Neotropical Dry Forests. *Biotropica*, 37: 477-485.
- Sánchez-Ramos G, Reyes Castillo P, Mora Olivo A y Martínez Avalos J. G. 2010. Estudio de la herbivoría de la palma camedor (*Chamaedorea radicalis*) Mart., en la Sierra Madre Oriental en Tamaulipas, México. *Acta zoológica Mexicana*, 2010, vol. 26, no 1, p. 153-172.
- Salatino A, Faria Salatino ML y G. Negri. 2007. Traditional uses, Chemistry and Pharmacology of Croton species (Euphorbiaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 18(1), 11-33.
- Trejo I. y Dirzo R. 2000. Deforestation of seasonally dry tropical forest: a national and local analysis in Mexico. *Biological Conservation*. 94: 133-142.
- Trejo I. y Dirzo R. 2002. Floristic diversity of Mexican seasonally dry tropical forests. *Biodiv. Conserv.* 11: 2063–2048.
- Webster G, Del Arco-Aouilar D y S. Smith. 1996. Systematic distribution of foliar trichome types in Croton (Euphorbiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 121: 41-57.
- Wright SJ y Muller-Landau HC. 2006. The future of tropical forest species. *Biotropica*, 38:287-301. *Ecosistemas* 21 (1-2). Enero-Agosto 2012.

**Variation of functional attributes of two *Croton* species in different successional stages of tropical dry forest: Effects on herbivory and fluctuating asymmetry patterns**

**José Gerardo González Esquivel<sup>1</sup>, Pablo Cuevas-Reyes<sup>2</sup>, Antonio González-Rodríguez<sup>3</sup>, Luis Daniel Ávila Cabadilla<sup>4</sup>, Mariana Yolotl Álvarez Añorve<sup>4</sup> Marcilio Fagundes<sup>5</sup> and Yurixhi Maldonado-López<sup>6</sup>**

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Av. San Juanito Itzícuaró S/N, Nueva Esperanza, Morelia, C.P.58330, Michoacán, México.

<sup>2</sup>Laboratorio de Ecología de Interacciones, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Francisco J. Mújica S/N Col. Felicitas del Río, Ciudad Universitaria, Morelia, C.P. 58030, Michoacán, México.

<sup>3</sup>Laboratorio de Genética de la Conservación, Instituto de Investigaciones en Ecosistemas Universidad Nacional Autónoma de México, Antigua Carretera a Pátzcuaro No. 8701, Morelia, C.P 58190, Michoacán, México.

<sup>4</sup>Escuela Nacional de Estudios Superiores, Unidad Mérida, Universidad Nacional Autónoma de México, Mérida, Yucatán, México, Carretera Mérida-Tetiz, Km 4.5, C.P. 97357 Ucu, Yucatán, México.

<sup>5</sup>Laboratório de Biologia da Conservação, DBG/CCBS/Universidade Estadual de Montes Claros, 39401-089, Montes Claros, Minas Gerais, Brazil.

<sup>6</sup>Cátedras CONACYT-Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Av. San Juanito Itzícuaró S/N, Nueva Esperanza, Morelia, C.P.58330, Michoacán, México.

Corresponding author: [yurixhimaldonado@gmail.com](mailto:yurixhimaldonado@gmail.com)

## ABSTRACT

Tropical dry forests are among the most threatened ecosystems in the world. After habitat perturbation occurs, the habitat recovers naturally through the ecological succession that implies changes in abiotic factors such as environmental changes and resources availability. These succession modifies the functional attributes of plants, as well as secondary metabolism and morphology, that affect herbivorous preference. In this study, we analyzed the morphological, functional and chemical diversity associated with herbivory patterns in two *Croton* species (*C. roxanae* and *C. suberosus*) present in mature forest and secondary forest in the region of Chamela, Jalisco. The functional attributes analysis shows that leaf area and leaf thickness were higher in individuals of secondary forest, while leaf density and fresh leaf mass were higher in the three *Croton* species in mature forest. The dry leaf mass, specific leaf area, chlorophyll content and water content showed variation between the species in the two forest conditions. The concentration of total alkaloids, total phenol and flavonoids showed variation between species and forest conditions, without showing a consistent pattern. *C. roxanae* showed higher herbivory in mature forest, and *C. suberosus* did not show differences between the two conditions. The general pattern of morphological analysis showed that the leaves in secondary forest are slightly longer and broader than leaves in mature forest. On the other hand, *C. roxanae* and *C. suberosus* showed higher fluctuating asymmetry in secondary forest. In our study, we found that morphological variation is influenced by the environment in which the plants develop. Our results indicate that the concentration of secondary metabolites, are effective against the attack of herbivores. We found that herbivory is not associated to high levels of FA, since none of *Croton* species were related to this variable.

**Keywords:** Herbivory; fluctuating asymmetry; functional attributes; morphological variation; chemical defense.

## **INTRODUCTION**

Tropical dry forests (TDF) are among the most threatened ecosystems in the world since they have been highly degraded, transformed and fragmented (Sanchez-Azofeifa et al., 2005). Particularly, in Mexico, only 27% of TDF remains preserved, while the rest have some degree of disturbance as result of habitat fragmentation, global climate change, urbanization and the conversion of mature forests to agricultural fields and livestock soils, generating a mosaic of forest fragments with different succession stages and secondary forest cover (Miles et al., 2006, Portillo-Quintero and Sanchez-Azofeifa, 2010; Hansen et al., 2011; Chazdon and Guariguata, 2016). Therefore, secondary forests represent a dominant and frequent type of vegetation in anthropized tropical landscapes with a potential for biodiversity storage and ecosystem services (Arroyo-Rodríguez et al. 2015).

Once the anthropogenic alterations have occurred and after the abandonment of the lands, the natural recovery of the ecosystem begins through the ecological succession (Madeira et al., 2009, Neves et al., 2014), that involves sequential changes over time, in community attributes such as species richness, composition and diversity (Chazdon et al., 2007; Alvarez-Añorve et al., 2012). Some studies have proposed that TDF are highly resilient with a rapid recovery of plant species richness and diversity, but a slow recovery of species composition (Lebrija-Trejos et al., 2008; 2010, Derroire et al., 2016; Beltrán-Rodríguez et al., 2018). Abiotic factors such as solar radiation, temperature and soil water availability differentially affect the process of succession in TDF (Lebrija-Trejos et al., 2010; 2011). For example, in early stages of succession, environmental conditions are hotter and drier than later stages (Lebrija-Trejos et al., 2011; Lohbeck et al., 2013), which affects both plant diversity, increasing tree species diversity from early to late stages and functional plant attributes (e.g. morphological, physiological and phenological characteristics of plants),



decreasing leaf area to minimize evaporation and maximize photosynthetic activity (Schöb *et al.*, 2013, Jimenez-Rodriguez *et al.*, 2018).

Because resources availability (e.g. nitrogen, phosphorus) decrease with the forest succession progress, plants of early successional stages, invest more resources in growth and replacement of tissues lost by herbivory, than in chemical defense (Coley and Barone 1996, Madeira *et al.*, 2009, Fonseca *et al.*, 2018). In contrast, plant of mature forests allocate more resources to plant defenses (carbon-based compounds) since it is more expensive to produce new tissues (Coley *et al.*, 1985; Poorter *et al.*, 2004). Then, it is possible to expect that plants immersed in secondary forests are more consumed because they are rich in nutrients with fewer compounds associated to defense (Coley and Barone 1996, Poorter *et al.*, 2004, Fonseca *et al.*, 2018). Specifically, changes in foliar functional attributes can regulate plant-herbivore interactions (Schöb *et al.*, 2013). The increase in foliar thickness, foliar hardness and leaf size, affect the incidence and performance of herbivorous insects (Poorter *et al.*, 2004, Agrawal and Fishbein, 2006, Silva *et al.*, 2015). For example, plant species in early successional stages have developed conservative traits to avoid water loss since they allocate more carbon per unit of leaf area and thus increase water retention efficiency (Lebrija-Trejos *et al.*, 2010; Alvarez-Añorve *et al.*, 2012; Lohbeck *et al.*, 2013), producing sclerophyllic leaves, that are less palatable for herbivores (Silva *et al.*, 2015; Fonseca *et al.*, 2018). Changes in foliar morphology as result of variations in abiotic and genetic factors, also affects the preference and performace of many herbivorous insects (Telhado *et al.*, 2017, Cuevas-Reyes *et al.*, 2018b), but also to phenotypic plasticity that reflects the environmental conditions where the plant grows (Creighton, 2005; Royer *et al.*, 2009; Xu *et al.*, 2009).

Pollution, low availability of nutrients and water, high incidence of pathogens and herbivores and herbivory levels can be an environmental stress factors for plants (Cornelissen 2005; Freeman et al. 2005; Cuevas-Reyes 2018a). Fluctuating asymmetry (FA) is one of the main indicator used to evaluate environmental stress in plants (Cuevas-Reyes et al. 2011b; 2018). FA is a measure of instability of plant development in traits with bilateral symmetry (Cuevas-Reyes et al., 2018a). Therefore, FA show the individual capacity during development to maintain the homeostasis at the chromosomal and epigenetic levels under stressful conditions (Møller and Swaddle, 1997; Albarrán-Lara et al. 2010). Because plants with more asymmetric leaves have higher nutritional quality and fewer defensive compounds (Cornelissen and Stiling, 2005, Cornelissen and Stiling, 2011, Santos et al., 2013), a positive relationship between leaf FA and herbivory levels has been reported (Santos et al., 2013; Cuevas-Reyes et al. 2011).

. *Croton* (Euphorbiaceae) is the second most common and diverse genus of the Euphorbiaceae family, with 1300 species, including trees, shrubs and herbs, distributed mainly in tropical regions (Webster et al., 1996, Salatino et al., 2007). These species are common components of secondary vegetation in many tropical regions and are especially important floristic elements of dry and semi-arid regions (Carneiro-Torres et al., 2011). The populations of *Croton* have been overexploited for human use, to construct fences in agricultural fields (Steinmann, 2014). The principal studies of this genus are focused in chemical and medicinal uses, and ecological studies are scarce (Dominguez and Bullock, 1989).

To understand the ecology of plants during the regeneration processes, it is necessary to identify how the secondary succession can influence both changes in plant functional traits,

herbivory and fluctuating asymmetry patterns. Therefore, we analyzed morphological, functional and chemical variation associated with the patterns of herbivory and fluctuating asymmetry in *Croton roxanae* and *C. suberosus* that occurs in mature and secondary forests in a tropical dry forest at the Chamela-Cuixmala, Mexico. We addressed the following questions: (i) Are different the functional attributes and secondary metabolites in secondary and mature forests? (ii) Do herbivory levels differ in *Croton* species in mature forest and secondary forest? (iii) Are levels of leaf FA affected by forest condition in *Croton* species? (iv) Does leaf morphology differ in secondary forest and mature forest? (v) Does FA and herbivory patterns are correlate with the levels of secondary compounds?

## **METHODS**

### **STUDY SITE**

This research was conducted in the Chamela-Cuixmala Biosphere Reserve (19 ° 29 '53.2 "N, 105 ° 02' 29.1" W) on the Pacific coast of Jalisco, México, and surrounding areas of abandoned agricultural fields and secondary forest zones with succession status (Figure 1) (Sánchez-Azofeifa et al., 2009). The tropical dry forest is the type of vegetation with greater extension in the region and is considered one of the most diverse in the Neotropics (Gentry, 1995). This region presents a very marked seasonality with a rainy season from June to October, and a dry season that extends from November to June. The average annual rainfall ranges from 400 and 1300 mm (García-Oliva et al., 2002). We selected eight permanent sampling sites: four conserved sites (mature forests) located within the Chamela-Cuixmala Reserve and four sites of secondary forest within agricultural fields that have between 3 and 8 years of abandonment (Figure 1).

## **Study species**

*Croton roxanae* Croizat is a shrub species, that can reach up to 7 m. It is monoecious species with extended branches of gray color, and leaves of 4 to 8 cm of long and 4.3 cm of wide. It is located mainly in the tropical dry forest from 600 to 1650 meters above sea level. This species is endemic of Mexico, with a main distribution from the Sinaloa to Oaxaca State, along the Pacific coast (Martinez-Gordillo et al., 2002).

*Croton suberosus* is a deciduous shrub that produces leaves before the rainy season between July and August. This a monoecious species (Narbona et al., 2010), endemic to the south coast of the Mexican Pacific. The distribution includes the states of Jalisco, Michoacán, Guerrero and Oaxaca. *Croton suberosus* is found in contrasting sites such as the interior of the forest or sites with a degree of disturbance and completely exposed to solar radiation (Domínguez et al., 1989).

## **Sampling design**

Sampling was carried in 2016 at the end of the rainy season. In each site, we established a permanent transect of 20 x 50 meters (0.1 ha). In each transect, we selected individuals of *Croton* species, with diameter at breast height (DBH) higher than 2 cm (Cuevas-Reyes et al., 2006). For each individual, we randomly selected three branches of each tree canopy strata (low, middle and high) (Cuevas-Reyes et al., 2001b). In each individual, we choose randomly 25 leaves to estimate herbivory damage, and 25 leaves without apparent damage to analyze the foliar morphology using geometrical morphometric techniques and fluctuating asymmetry levels (Cuevas-Reyes et al., 2018a). To quantify the functional plant attributes, we selected 5 mature and fully expanded leaves, exposed to sun radiation and without herbivory damage (Jiménez-Rodríguez et al., 2018). To determine the chemical defense, we

collected for each individual, 10 leaves that were transported to the laboratory in liquid nitrogen, and then stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  for subsequent analysis (Maldonado-López et al., 2014).

### **Functional attributes**

We evaluate traits closely related with growth and survival of plants, since they reflect physiological responses to environmental changes and the resources availability in environments with different degrees of vegetal succession (Alvarez-Añorve et al., 2012, Reich et al., 2003). We analyzed the following traits: i) attributes related to water use: leaf water content (LWC) defined as the difference between fresh and dry mass per unit area of the leaf; percentage of leaf water (PLW) calculated as  $\text{water content} * 100 / \text{fresh weight} / \text{foliar area cm}^2$ ; ii) attributes related with light acquisition: specific leaf area (SLA) defined as leaf area per unit dry mass; leaf density (LD) as  $\text{dry leaf mass} / (\text{leaf area} * \text{leaf thickness})$ ; iii) attributes related to the use and conservation of nutrients: total leaf area (TLA) using a Image J software; leaf thickness (LT) with a vernier caliper; leaf fresh mass (LFM) defined as leaf fresh mass per unit area and leaf dry matter content (LDMC) calculated as  $\text{dry weight} / \text{fresh weight} * 100$  and chlorophyll content (CC) using a SPAD-502 (Konica Minolta Sensing Europe).

### **Chemical plant metabolites and herbivore damage**

To determine de chemical metabolites associated to plant defense, in each plant species presented in each forest condition, ten intact leaves were collected from each individual shrub and immediately stored in liquid nitrogen for chemical analyses. We measured the total

content of soluble phenolics using a Folin-Ciocalteu method (Maldonado-López *et al.*, 2014), flavonoids (Ali *et al.*, 2006 Maldonado-López *et al.*, 2014), and total alkaloids (Somit *et al.* 2013).

To estimate the leaf area removed by folivores, we first obtained a digital image of each leaf, and then, the total leaf area, leaf area consumed by insects and the percentage of herbivory were calculated using the Image J analysis software (Abramoff *et al.*, 2004).

### **Morphometric analysis of leaves**

To determine the differences in leaf morphology and size of each *Croton* species between forest condition, we collected 25 intact leaves with no apparent damage by herbivores in each individual. We obtained a digital image of each leaf and, on each image, 32 anatomical marks were placed with two additional marks as size reference. All morphological marks correspond to homologous loci, which are unambiguous and repeatable marks, representing the shape of the leaves (i.e. ‘landmarks’ *sensu* Bookstein 1991; Cuevas-Reyes *et al.* 2018b). We recorded the coordinates (x, y) of the 32 anatomical marks in each leaf image with the TpsDig program (Rohlf 1990). A Procrustes superimposition analysis was performed with the CoordGen6 program in the Integrated Morphometrics Package (IMP series: <http://www.canisius.edu/~sheets/morphsoft.html>). We considered the average configuration of all leaves as reference and then, we calculated the shape variables (Procrustes distances) based on superimposition coordinates to eliminate the effect of leaf size (Cuevas-Reyes *et al.* 2018b). We applied a canonical analysis of variance (CAV) for each *Croton* species to determine the differences in leaf morphology between individuals that living in mature and secondary forests considering the configuration of all leaves.

### **Fluctuating asymmetry**

Fluctuating asymmetry was calculated in 25 fully expanded intact mature leaves of each *Croton* individual sampled. A digital image was obtained for each leaf. We measured the distance from the right side (Rw) and left side (Lw), from the leaf edge to midrib at the midpoint of the leaf corresponding to its widest part. Fluctuating asymmetry was calculated as the absolute value of the difference among the distances from the midvein to the left and right margins of the leaf ( $|A_i - B_i|$ ), divided by the average distance ( $(A_i + B_i) / 2$ ), to correct for the fact that asymmetry may be size-dependent (Cornelissen and Stiling 2005; Cuevas-Reyes et al. 2011a, 2018). Additionally, 10 leaves were blindly re-measured, without reference to previous measurements to control the measurement error in FA. We then evaluated the degree of significance of FA relative to measurement of error using two-way mixed-model ANOVA. The significance of the interaction (individual  $\times$  leaf  $\times$  side) indicated that variation in FA was greater than expected by measurements error: ( $F_{9,25} = 22.4$ ;  $P < 0.002$ ).

According to Palmer and Strobeck (1986), there are three types of asymmetry, each characterized by a different combination of mean and variance of the distribution of right-minus-left (R-L) differences. Fluctuating asymmetry is found when the R-minus-L differences are normally distributed with a mean value of zero. Directional asymmetry is found when the R-minus-L differences are also normally distributed, but with a mean that is significantly different from zero. Antisymmetry is characterized by a platykurtic or bimodal distribution of R-minus-L differences about a mean of zero. To determine whether our data fitted only FA and not other types of asymmetry, we performed a Student's t test and Lilliefors' normality test to test whether mean values of signed right-minus-left values differed significantly from zero (Telhado et al. 2010; Alves-Silva and Del-Claro 2016). We

found that R-minus-L measurements did not differ from zero ( $t = 1.1$ ;  $P > 0.05$ ), and therefore, we discarded the presence of directional asymmetry in our data. In the same way, we also reject the presence of antisymmetry because our data (R-minus-L) exhibited a normal distribution ( $P > 0.05$ ).

### **Statistical analysis**

For each Croton species, we used a multivariate analysis of variance (MANOVA) to determine the differences in foliar functional attributes and secondary metabolites respectively between individuals that occurs in mature and secondary forests (SPSS 23.0). When significant effects were identifying by MANOVA test, we performed a one-way ANOVA test for each variable. In all cases, the normality was tested after suitable transformations (Maldonado-López et al 2015).

We performed a one-way ANOVA test to identify the effects of forest condition on herbivory levels in each plant species studied. Forest condition (mature and secondary forest) was consider as independent variable and leaf area removed as response variable. A similar analysis was used to determine de effects of forest condition on FA levels. Forest condition (mature and secondary) was consider as independent variable and leaf area removed as dependent variable (SAS 2000, SAS 2000). An LSMeans test was used for posteriori comparisons in each ANOVA test performed (SAS, Stokes et al. 2000).

A correlation analysis was performed between the FA and concentration of secondary metabolites in the two forest conditions. Finally, we use multiple regressions in order to identify the relationship between functional attributes and chemical compounds on herbivory (SAS 2000).



## Results

### Morphometric analysis

In each *Croton* species analyzed, we found differences in leaf morphology between individuals of secondary and mature forests. The variation of leaf shape based on the mean configuration of the coordinate superimposition analysis showed that leaves of individuals of *C. roxanae* that grow in mature forests were wider at the base with the apiculate apex in comparison with leaves of individual of secondary forests (Figure 2a). The canonical variate analysis distinguished two groups: individuals of secondary forests and individuals of mature forests (CVA 1 explains the 45 % of total variance;  $\lambda = 0.689$ ;  $d.f. = 60$ ;  $P < 0.0003$ ) (Fig. 2b). Individuals of *C. suberosus* of mature forest had leaves with a slightly rounded base and the apex with a cuspidate shape, while the individuals of secondary forest had a reniform base and their apex sharply acuminate (Figure 3a). The CVA 1 explained 46.77% of the total variance ( $\lambda = 0.681$ ,  $d.f. = 60$ ,  $P < 0.0006$ ) (Figure 3b).

### Functional attributes

We found that means for some functional attributes varied among forest conditions in *C. roxanae* (i.e. Total leaf area, leaf density, leaf thickness, chlorophyll content) and in *C. suberosus* (i.e. Total leaf area, leaf fresh mass, leaf thickness, specific leaf area and chlorophyll content) (Table 1a).

The overall MANOVA effects showed differences in foliar attributes between forest conditions in both *Croton* species analyzed (Table 1b). In *C. roxanae*, TLA, LT, and CC were higher in secondary forests, while LD and LWC were higher in mature forests (Table 1c). Similarly, *Croton suberosus* had higher values of TLA, LT, CC in secondary forest individuals, while LFM, SLA, were higher in mature forest individuals (Table 1c).

## Chemical defense and herbivory

We found variation in secondary metabolites between forest conditions in both *Croton* species (Figure 2a). The general effects of the MANOVA test showed that *Croton* species had significant differences in the concentration of secondary metabolites (Table 2b). Particularly, individuals of *C. roxanae* that grow in secondary forests had higher total alkaloids, flavonoids and total phenols concentration than individuals of mature forest. Similar pattern was observed in individuals of *C. suberosus* that occurs in secondary forests, they had greater concentration of alkaloids, flavonoids and total phenols than individuals of mature forests (Table 2c).

We found a significant effect of forest condition on herbivory levels of *Croton roxanae*. In mature forests, we found higher levels of herbivory ( $3.78 \pm 0.10$ ) in comparison with individuals of secondary forests ( $2.30 \pm 0.13$ ) ( $F = 30.1$ , d.f. = 1,  $P < 0.0001$ ) (Figure 4a). No significant differences were found in the percentage of herbivory in between imature and secondary forests in individuals of *Croton suberosus* ( $F = 0.69$ , d.f. = 1,  $P < 0.4$ ) (Figure 4b).

Our results show that in *Croton roxanae*, FA levels were higher in individuals of secondary forests ( $0.11 \pm 0.007$ ) compared with individuals of mature forests ( $0.10 \pm 0.002$ ) ( $F = 5.6$ , d.f. = 1,  $P < 0.01$ ) (Figure 5a). *Croton suberosus* showed the same pattern, individuals of secondary forest had more levels of FA ( $0.132 \pm 0.006$ ) than individuals of mature forests ( $0.13 \pm 0.006$ ) ( $F = 7.6$ , d.f. = 1,  $P < 0.005$ ) (Figure 5b). Finally, the multiple regression analysis a positive relationship of leaf area removed with total leaf area, leaf dry matter content, leaf fresh mass and specific leaf area for *C. roxanae* (Table 3a). In the case of *C. suberosus*, leaf area removed was negatively related with leaf dry matter content (Table 3b).

## Discussion

The analysis of plant functional attributes allows to understand the response capacity of species to environmental variation (Pla et al. 2012). In the case of plant species in TDF, they respond to abiotic variation along successional stages (Alvarez-Añorve et al., 2012) with functional adaptations such as greater photosynthetic efficiency and water use (Fonseca et al., 2018). In our study, we found a high variation in foliar functional attributes of the two *Croton* species. In *C. suberosus*, we found a lower specific foliar area and higher amount of chlorophyll in secondary forest individuals than mature forest. For *C. roxanae* the specific leaf area was higher as well as the chlorophyll content in secondary forest. Chlorophyll is related to an increase in photosynthetic capacity per unit area of the leaves (Souza et al., 2004) and depends on environmental factors such as the incidence of light, temperature and precipitation (Bielinis et al. 2015; Wang et al. 2014). *Croton* individuals in secondary forest are exposed to higher incidence of sunlight and higher light energy, and therefore greater chlorophyll concentration. This pattern could represent a greater capacity of photosynthesis and a greater carbon fixation in carbohydrate form (Larcher 1995). The rate of photosynthesis could be increased depending on the demand of carbohydrates of the plant (Laporte and Delph 1996). Therefore, it is probable that individuals in secondary forest presented greater chlorophyll concentration due to the high demand of resources to grow in comparison with individuals in mature forest. The differences found in chlorophyll concentration between sexes are an independent event to the damage caused by herbivores.

As reported by Niimets (2001) and Alvarez-Añorve et al. (2012), the specific leaf area tends to decrease in low water availability, as an adaptation of leaves to avoid drying. This pattern was found in *C. suberosus* in secondary forest individuals, since the specific leaf area was smaller, which could be suggested as an adaptation to avoid desiccation since there is a higher solar incidence increases, transpiration and consequently the loss of water. On the other hand, *Croton roxanae* had a lower specific leaf area but higher water content in the mature forest, which suggests that each species has different physiological adaptations in order to tolerate the low availability of water that they suffer from being in dry places (Cornwell and Arckley, 2009). As reported by Alvarez-Añorve et al. (2012), in species in successional stage, the specific foliar area will decrease due to the low availability of water

and nutrients, in order to allocate more energy for the defense of the leaves, the leaf density will increase in order to maintain photosynthetic performance. This implies that the leaves of species that are in a later successional stage are better protected against herbivores due to a greater concentration in chemical defenses than species that are in an early stage of succession (Coley, 1983; Poorter et al. 2004). In the same way, Cornelissen et al. (2003) argue that the specific leaf area will be lower in species that invest a greater amount of energy for the defense of the leaves, species with a longer life span of the leaf, and with lower metabolic rates. Leaf thickness is an important structural attribute as a physical defense against the attack of herbivores. *Croton roxanae* and *C. suberosus* had greater leaf thickness in secondary forest, in which, the percentage of herbivory was lower, compared with the mature forest, so we can corroborate that the leaf thickness helps the plants to reduce the attack by herbivores. On the other hand, the highest levels of dry leaf mass and foliar density, show leaves biomechanically resistant against physical threats and damage by herbivores (Poorter, 2009). According to our results, the two species studied showed variation in the content of dry mass and leaf density, where both species presented higher content of dry mass and leaf density in the mature forest, where herbivory presented a higher percentage, which indicates that in our study species the content of dry mass and density are not attributes that reduce the attack by herbivores.

### **Morphological variation**

Plants have the capacity to respond to the biotic and abiotic changes, generated by habitat disturbance, through adaptations of physiological, chemical and morphological attributes, according to the ability of individuals to tolerate stress (Alvarez-Añorve et al., 2012; Schöb et al., 2013; Cuevas-Reyes et al., 2018b). In the same way, these adaptations involve the size and shape of the leaves (Fonseca et al., 2018, Derroire et al., 2018), since the phenotypic plasticity allows them to adapt to the new conditions in which they are found (McIntyne and Strauss, 2014; Yuan et al., 2016). Plants that are in environments with greater intensity of light, and high temperatures, have smaller leaves to reduce the loss of water through transpiration (Freeman et al., 2004, Tripathi and Singh, 2008). In our study, we found the contrary pattern since the leaves of the species in secondary forest had a greater leaf area. According to some authors, environmental conditions in succession are less stressful, since

there is a high availability of light, water and nutrients (Alvarez-Añorve et al., 2012), besides present a high phenotypic plasticity and its development is influenced by environmental conditions (Fernandes et al., 2015). On the other hand, the environmental conditions within a mature forest represent conditions of greater stress, due to the limited conditions of water and nutrients influence the limitation of energy to carry out regulatory processes and induce instability in development, affecting the development of the ideal or perfect shape of the leaves (Costa et al., 2012). These differences in morphology can be explained because in stages of succession the greater availability of light helps plants invest more energy in growth (Alvarez-Añorve et al., 2012). Because in mature forest there is a low availability of light, water and nutrients, there are higher energy costs to present larger leaves, so they use the few resources they have in defending their leaves, assigning more resources to chemical defense and survival and reducing the leaf area (Coley et al., 1985; Poorter et al., 2004; Alvarez-Añorve et al., 2012).

Similarly, FA in *C. roxanae* and *C. suberosus* showed higher levels in secondary forest. Some studies have shown that stress caused by herbivores can increase FA levels (Cuevas-Reyes et al., 2018a), where more asymmetric leaves are more consumed by herbivores due to higher nutritional value and lower concentrations of secondary metabolites. In our study, FA did not show any relationship with herbivore damage, therefore, herbivory is not a factor that affects AF levels. According to Cornelissen and Stiling (2011), herbivory is a factor that increases FA levels. For *C. pseudoniveus* greater herbivory in secondary forest individuals but lower levels of FA. In the case of *C. roxanae* we found the highest percentage of herbivory in individuals of mature forest and lower FA, for *C. suberosus* we did not present differences in the percentage of herbivory between the two conditions, but greater FA in the secondary forest.

However, for an herbivore, the plant quality is associated to nutrients concentration, secondary metabolites and physical defenses (Dyer et al., 2007). In our study the concentration of secondary metabolites in *C. roxanae* and *C. suberosus* presented the highest concentration of metabolites such as phenols, flavonoids and alkaloids, in individuals of secondary forest where the herbivory presented was low. Therefore, the chemical defense imposes limits on the rates of herbivore consumption, providing protection (Coley, 1983,

Coley and Barone, 1996 Pascual-Alvarado et al. 2006; Zhang y Liu, 2015; Kortbeek et al., 2018).

In early successional stages it has been demonstrated that there is a high availability of resources such as light and nutrients, which favor the species that assign more energy to growth than to defense (Coley 1983; Poorter et al., 2004; Fonseca et al., 2018). According to this, the species that are in a habitat with high availability of light and nutrients, have a high content of nutrients and low content in carbon-based chemical defenses, which makes the leaves more palatable for herbivores (Coley 1983; Coley and Barone 1996; Poorter et al., 2004). In our study, *C. roxanae* and *C. suberosus* presented lower herbivory, where the concentration of alkaloids, flavonoids and total phenols was higher in individuals of secondary forest. In this species the three compounds had effect on the protection of the leaves against the incidence of herbivores as mentioned by the studies of Aboshi et al., (2018). Movva and Phatipati (2017) found that phenolic compounds are highly toxicity for *Spodoptera litura* that consumes leaves of *Capsicum annum*. Our results indicate that the compounds associated with the defense in Croton leaves assume the role of care against the attack of herbivorous insects. Fonseca et al. (2018) found higher phenolic compounds in later stages of the succession where the vegetation is fully recovered.

Secondary forests provide a series of ecosystem services that are closely related to the resilience of the forest (Lohbeck et al., 2015). It is important to evaluate resilience in tropical dry forest plants and the factors that affect them (Arroyo-Rodríguez, 2016, Derroire et al., 2016), since the resilience of biomass is the ability to tolerate disturbance and return to its original state (Poorter and Bongers, 2016) and the secondary forest will be increasingly frequent during the following decades (Sanchez-Azofeifa et al., 2005, Wright et al., 2006, Alvarez-Añorve et al., 2012). During early stages of succession in TDF, a change in environmental conditions is generated and water is a factor that influences the change in plant communities (Lebrija-Trejos et al., 2010, 2011). Therefore, the increase in water availability during the succession predicts a change in the conservative strategies of plants (Reich, 2014) and it has been demonstrated that leaf phenology and morphological traits are responsible for controlling the loss of water (Poorter and Bongers 2016). It has been documented that many plant species are distributed according to water availability and that sites with lower rainfall have greater presence of deciduous species (Balvanera et al., 2011).

According to our results *C. roxanae* had lower leaf area and specific leaf area in mature forest individuals but higher foliar water content which indicate that this species have adapted their morphological characteristics to avoid water loss, and, therefore, use it as a strategy to tolerate the desiccation and maximum use of water (Poorter and Bongers 2016; Balvanera et al., 2011). On the other hand, *C. suberosus* showed the contrary pattern, presenting lower leaf water content and smaller leaf area, but higher specific leaf area in mature forest individuals, so we suggest that the functional characteristics affect the structure and produce a variation in the plants depending on the habitat in which they are, (Messier et al., 2017, Derroire et al., 2018).

In our study, we found that morphological variation is influenced by the environment in which the plants develop. Our results indicate that the concentration of secondary metabolites, are effective against the attack of herbivores. We found that herbivory is not associated to high levels of FA, since none of *Croton* species were related to this variable.

## References

- Abramoff MD, Magalhães PJ, Ram SJ (2004). Image processing with ImageJ. *Biophotonics international*, 11(7), 36-42.
- Aboshi T, Ishiguri S, Shiono Y, Murayama T (2018). Flavonoid glycosides in Malabar spinach *Basella alba* inhibit the growth of *Spodoptera litura* larvae. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 82(1), 9-14.
- Agrawal AA, Fishbein M (2006) Plant defense syndromes. *Ecology* 87:132–149.
- Ali MB, Singh N, Shohael AM, Hahn EJ, Paek KY (2006). Phenolics metabolism and lignin synthesis in root suspension cultures of *Panax ginseng* in response to copper stress. *Plant Science*, 171(1), 147-154.
- Alvarez-Añorve MY, Quesada M, Sánchez-Azofeifa GA, Avila-Cabadilla LD, Gamon JA (2012). Functional regeneration and spectral reflectance of trees during succession in a highly diverse tropical dry forest ecosystem. *American journal of botany*, 99(5), 816-826.
- Alves-Silva E, Del-Claro K (2016). Herbivory-induced stress: Leaf developmental instability is caused by herbivore damage in early stages of leaf development. *Ecological indicators*, 61, 359-365.
- Arroyo-Rodríguez V, Melo FP, Martínez-Ramos M, Bongers F, Chazdon RL, Meave JA, Tabarelli M (2017). Multiple successional pathways in human-modified tropical landscapes: new insights from forest succession, forest fragmentation and landscape ecology research. *Biological Reviews*, 92(1), 326-340.
- Balvanera P, Quijas S, Pérez-Jiménez A (2011). Distribution patterns of tropical dry forest trees along a mesoscale water availability gradient. *Biotropica*, 43(4), 414-422.
- Barrera C, Andrés C, Constanza-Gómez D, Castiblanco FA (2016). Importancia medicinal del género *Croton* (euphorbiaceae). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 21(2), 234-247.
- Beltrán-Rodríguez LA, Valdez-Hernández JI, Luna-Cavazos M, Romero-Manzanares A, Pineda-Herrera E, Maldonado-Almanza B, Blancas-Vázquez J (2018). Estructura y diversidad arbórea de bosques tropicales caducifolios secundarios en la Reserva de la Biosfera Sierra de Huautla, Morelos. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 89(1).
- Boege K, Marquis RJ (2005). Facing herbivory as you grow up: the ontogeny of resistance in plants. *Trends in ecology & evolution*, 20(8), 441-448.



- Bookstein FL (1991) *Morphometric tools for landmark data: geometry and biology*. New York, Cambridge University Press, 435 pp.
- Bonaventure G (2012). Perception of insect feeding by plants. *Plant Biology*, 14(6), 872-880.
- Buzzard V, Hulshof CM, Birt T, Violle C, Enquist BJ (2016). Re-growing a tropical dry forest: functional plant trait composition and community assembly during succession. *Functional Ecology*, 30(6), 1006-1013.
- Carneiro-Torres DS, Cordeiro I, Giulietti AM, Berry PE, Riina R (2011). Three new species of *Croton* (Euphorbiaceae ss) from the Brazilian Caatinga. *Brittonia*, 63(1), 122-132.
- Chazdon R, Letcher S, Van Breugel M, Martinez-Ramos M, Bongers F, Finegan B (2007). Rates of change in tree communities of secondary neotropical forests following major disturbances. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 362: 273–289.
- Chazdon RL, Guariguata MR (2016). Natural regeneration as a tool for large-scale forest restoration in the tropics: prospects and challenges. *Biotropica*, 48(6), 716-730.
- Creighton JC (2005). Population density, body size, and phenotypic plasticity of brood size in a burying beetle. *Behav. Ecol.* 16: 1031– 1036.
- Coley PD (1983). Herbivory and defensive characteristics of tree species in a lowland tropical forest. *Ecological Monographs* 53: 209–233.
- Coley PD, Bryant JP, Chapin FS (1985) Resource availability and plant antiherbivory defense. *Science* 230:895–899.
- Coley PD, Barone JA (1996) Herbivory and plant defenses in tropical forests. *Annu Rev Ecol Syst* 27:305–335.
- Coley D, Bateman PLM, Kursar AT (2006). The effects of plant quality on caterpillar growth and defense against natural enemies. *Oikos*, 115(2), 219-228.
- Cornelissen T, Stiling P, Drake B (2003). Elevated CO<sub>2</sub> decreases leaf fluctuating asymmetry and herbivory by leaf miners on two oak species. *Global Change Biol.* 10, 27–36.
- Cornelissen T, Stiling P (2005). Perfect is best: low leaf fluctuating asymmetry reduces herbivory by leaf miners. *Oecologia*, 142(1), 46-56.
- Cornelissen T, Stiling P (2011). Similar responses of insect herbivores to leaf fluctuating asymmetry. *Arthropod-plant interactions*, 5(1), 59-69.
- Cornwell WK, Ackerly DD (2009). Community assembly and shifts in plant trait distributions across an environmental gradient in coastal California. *Ecological Monographs* 79: 109 –

126.

- Costa FV, Pinheiro IF, Braga LL, Perillo L, Neves FS, Leite LO, Silva BL, Ribeiro LC, Fernandes GW, Cuevas-Reyes P (2012) Fluctuating asymmetry and herbivory in two ontogenetical stages of *Chamaecrista semaphora* in restored and natural environments. *J Plant Interact* 8:179–186.
- Cuevas-Reyes P, Quesada M, Oyama K (2006). Abundance and Leaf Damage Caused by Gall-Inducing Insects in a Mexican Tropical Dry Forest 1. *Biotropica: The Journal of Biology and Conservation*, 38(1), 107-115.
- Cuevas-Reyes P, Oyama K, González-Rodríguez A, Fernandes GW, Mendoza-Cuenca L (2011b) Contrasting herbivory patterns and leaf fluctuating asymmetry in *Heliocarpus pallidus* between different habitat types within a Mexican tropical dry forest. *J Trop Ecol* 27:383–391
- Cuevas-Reyes P, Pereira GCN, Gélvez-Zuñiga I, Fernandes GW, Venancio H, Santos JC, Maldonado López Y (2018a). Effects of ferric soils on arthropod abundance and herbivory on *Tibouchina heteromalia* (Melastomataceae): is fluctuating asymmetry a good indicator of environmental stress? *Plant Ecology*, 1-10.
- Cuevas-Reyes P, Canché-Delgado A, Maldonado-López Y, Fernandes GW, Oyama K, González-Rodríguez A (2018b). Patterns of herbivory and leaf morphology in two Mexican hybrid oak complexes: Importance of fluctuating asymmetry as indicator of environmental stress in hybrid plants. *Ecological Indicators*, 90, 164-170.
- Derroire G, Balvanera P, Castellanos-Castro C, Decocq G, Kennard DK, Lebrija-Trejos E, Tigabu M (2016). Resilience of tropical dry forests—a meta-analysis of changes in species diversity and composition during secondary succession. *Oikos*, 125(10), 1386-1397
- Derroire G, Powers JS, Hulshof CM, Varela LEC, Healey JR (2018). Contrasting patterns of leaf trait variation among and within species during tropical dry forest succession in Costa Rica. *Scientific reports*, 8(1), 285.
- Domínguez CA, Dirzo R, Bullock SH (1989). On the function of floral nectar in *Croton suberosus* (Euphorbiaceae). *Oikos* 56: 109–114.

- Dyer LA, Singer MS, Lill JT, Stireman JO, Gentry GL, Marquis RJ, Ricklefs RE, Greeney HF, Wagner DL, Morais HC, Diniz IR, Kursarand TA, Coley PD (2007). Host specificity of Lepidoptera in tropical and temperate forests. *Nature* 448:696-700.
- Fernandes GW, de Oliveira SCS, Campos IR, Barbosa M, Soares LA, Cuevas-Reyes P (2015) Leaf fluctuating asymmetry and herbivory of *Tibouchina heteromalla* in restored and natural environments. *Neotrop Entomol* 45:44–49.
- Freeman DC, Brown ML, Duda JJ, Graham JH, Emlen JM, Krzysik AJ, Balbach H, Kovacic DA, Zak JC (2004) Developmental instability in *Rhus Copallinum* L.: multiple stressors, years, and responses. *Int J Plant Sci* 165(1):53–63
- Freeman DC, Brown ML, Duda JJ, Graraham JH, Emlen JM, Krzysik AJ, Balbach H, Kovacic DA, Zak JC (2005) Leaf fluctuating asymmetry, soil disturbance and plant stress: a multiple year comparison using two herbs, *Ipomoea pandurata* and *Cnidioscolus stimulosus*. *Ecol. Indic.* 5: 85–95.
- Fonseca MB, Silva JO, Falcão LA, Dupin MG, Melo GA, Espírito-Santo MM (2018). Leaf damage and functional traits along a successional gradient in Brazilian tropical dry forests. *Plant Ecology*, 219(4), 403-415.
- García-Díaz J, Escalona-Arranz JC, do Carvalho MG, Rojas-Vargas J, Machado-García R, Acosta JDLV (2015). Aislamiento y caracterización de metabolitos de hojas de *Croton linearis* Jacq. *Revista Cubana de Química*, 27(3), 289-301.
- García-Oliva F, Camou A, Maass JM (2002). El clima de la región central de la costa del Pacífico mexicano. *Historia natural de Chamela*, 3-10.
- Gassmann AJ, Levy A, Tran T, Futuyma DJ (2006). Adaptations of an insect to a novel host plant: a phylogenetic approach. *Functional Ecology*, 20(3), 478-485.
- Gentry AH (1995). Diversidad y composición florística de bosques secos neotropicales. En SH Bullock, HA Mooney y E. Medina [eds.], *Bosques tropicales secos estacionales*, 146-190. Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido.
- Hanley ME, Lamont BB, Fairbanks MM, Rafferty CM (2007). Plant structural traits and their role in anti-herbivore defence. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 8(4), 157-178.
- Hermes DA, Mattson WJ (1992). The dilemma of plants: to grow or defend. *Quarterly Review of Biology* 67: 283-335.

- Jimenez-Rodríguez DL, Alvarez-Añorve MY, Pineda-Cortes M, Flores-Puerto JI, Benítez-Malvido J, Oyama K, y Avila-Cabadilla LD. (2018). Structural and functional traits predict short term response of tropical dry forests to a high intensity hurricane. *Forest Ecology and Management*.
- King DA (1994). Influence of light level on the growth and morphology of saplings in a Panamanian forest. *American Journal of Botany* 81: 948–957.
- Kortbeek RW, van der Gragt M, Bleeker PM (2018). Endogenous plant metabolites against insects. *European Journal of Plant Pathology*, 1-24.
- Kursar TA, Coley PD (2003). Convergence in defense syndromes of young leaves in tropical rainforests. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31(8), 929-949.
- Laporte MM, Delph LF (1996). Sex-specific physiology and source-sink relations in the dioecious plant *Silene latifolia*. *Oecologia*, 106(1), 63-72.
- Leamy LJ, Klingenberg CP (2005). The genetics and evolution of fluctuating asymmetry. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 36, 1-21.
- Lebrija-Trejos E, Bongers F, Pérez-García A, Meave J (2008). Successional change and resilience of a very dry tropical deciduous forest following shifting agriculture. *Biotropica*, 40, 422–431.
- Lebrija-Trejos E, Meave JA, Poorter L, Pérez-García EA, Bongers F (2010a). Pathways, mechanisms and variability of tropical dry forest succession. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 12:267-275.
- Lebrija-Trejos E, Pérez-García EA, Meave JA, Poorter L, Bongers F (2011) Environmental changes during secondary succession in a tropical dry forest in Mexico. *J Trop Ecol* 27:477–489.
- Lohbeck M, Poorter L, Lebrija-Trejos E, Martínez-Ramos M, Meave JA, Paz H, Pérez-García EA, Romero-Pérez EI, Tauro A, Bongers F (2013) Successional changes in functional composition contrast for dry and wet tropical forest. *Ecology* 94:1211–1216.
- Lohbeck M, Lebrija-Trejos E, Martínez-Ramos M, Meave JA, Poorter L, Bongers F (2015). Functional trait strategies of trees in dry and wet tropical forests are similar but differ in their consequences for succession. *PloS one*, 10(4), e0123741.

- Madeira BG, Espírito-Santo MM, Neto SDÂ, Nunes YR, Azofeifa GAS, Fernandes GW, Quesada M (2009). Changes in tree and liana communities along a successional gradient in a tropical dry forest in south-eastern Brazil. In *Forest ecology* (pp. 291-304). Springer, Dordrecht.
- Maldonado-López Y, Cuevas Reyes P, Sánchez Montoya G, Oyama K, Quesada M (2014). Growth, plant quality and leaf damage patterns in a doecious tree species: ¿is gender important? *Arthropod-Plant Interactions*, 8(4), 241-251.
- Martínez Gordillo M, Jiménez Ramírez J, Cruz Durán R, Juárez Arriaga E, García R, Cervantes A, Mejía Hernández R (2002). Los géneros de la familia Euphorbiaceae en México (parte D). *Anales del Instituto de Biología. Serie Botánica*, 73(2).
- McIntyre PJ, Strauss SY (2014). Phenotypic and transgenerational plasticity promote local adaptation to sun and shade environments. *Evolutionary Ecology*, 28(2), 229-246.
- Messier J, McGill BJ, Enquist BJ, Lechowicz MJ (2017). Trait variation and integration across scales: is the leaf economic spectrum present at local scales?. *Ecography*, 40(6), 685-697.
- Miles L, Newton AC, DeFries RS, Ravilious C, May I, Blyth S, Kapos V, Gordon JE (2006). A global overview of the conservation status of tropical dry forest J. *Biodeogr.* 33: 491.505.
- Møller AP, Swaddle JP (1997). *Asymmetry, developmental stability and evolution*. Oxford University Press, UK.
- Movva V, Pathipati UR (2017). Feeding-induced phenol production in *Capsicum annum* L. influences *Spodoptera litura* F. Larval growth and physiology. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 95(1).
- Narbona E, Dirzo R (2010). A reassessment of the function of floral nectar in *Croton suberosus* (Euphorbiaceae): a reward for plant defenders and pollinators. *American Journal of Botany*, 97(4), 672-679.
- Neves FS, Silva JO, Espírito-Santo MM, Fernandes GW (2014) Insect herbivores and leaf damage along successional and vertical gradients in a tropical dry forest. *Biotropica* 46:14–24.
- Niinemets U (2001). Global-scale climatic controls of leaf dry mass per area, density and thickness in trees and shrubs. *Ecology* 82: 453 – 469.
- Palmer AR, Strobeck C (1986). Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 17, 391–421.

- Pascual-Alvarado E, Cuevas-Reyes P, Quesada M, Oyama K (2008). Interactions between galling insects and leaf-feeding insects: the role of plant phenolic compounds and their possible interference with herbivores. *Journal of Tropical Ecology*, 24(3), 329-336.
- Pla L, Casanoves F, Di Rienzo J (2012). Functional diversity indices. In *Quantifying Functional Biodiversity* (pp. 27-51). Springer, Dordrecht.
- Poorter L, van de Plassche M, Willems S, Boot RGA (2004) Leaf traits and herbivory rates of tropical tree species differing in successional status. *Plant Biol* 6:746–754.
- Poorter L (2009). Leaf traits show different relationships with shade tolerance in moist versus dry tropical forests. *New phytologist*, 181(4), 890-900.
- Poorter L, Bongers F (2016). *Biomass resilience of Neotropical secondary forests*. – Nature doi: 10.1038/nature16512.
- Portillo-Quintero CA, Sánchez-Azofeifa GA (2010). Extent and conservation of tropical dry forests in the Americas. *Biological Conservation* 143:144-155.
- Quero JL, Villar R, Marañón T, Zamora R (2006). Interactions of drought and shade effects on seedlings of four *Quercus* species: physiological and structural leaf responses. *New Phytologist*, 170(4), 819-834.
- Quesada M, Sanchez-Azofeifa GA, Alvarez-Anorve M, Stoner KE, Avila-Cabadilla L, Calvo-Alvarado J, Gamon J (2009). Succession and management of tropical dry forests in the Americas: Review and new perspectives. *Forest Ecology and Management*, 258(6), 1014-1024.
- Reich PI, Wright J, Cavender-Bares J, Craine J, Oleskyn M, Westoby Walters M (2003). The evolution of plant functional variations: Traits, spectra and strategies. *International Journal of Plant Sciences* 164: S143–S164.
- Reich PB (2014). The world-wide ‘fast–slow’ plant economics spectrum: a traits manifesto. *Journal of Ecology*, 102(2), 275-301.
- Rohlf FJ (1990). TpsDIG Thin Plate Spline Digit ized landmark. Department of Ecology and Evolution, States University of New York, stony Brock, New York 11794.
- Royer DL, Meyerson LA, Robertson KM, Adams JM (2009). Phenotypic plasticity of leaf shape along a temperature gradient in *Acer rubrum*. *PLoS ONE* 4:e7653. doi:10.1371/journal.pone.0007653.
- SAS (2000) Categorical data analysis using the SAS system. SAS Institute, Cary

- Salatino A, Faria Salatino ML, Negri G (2007). Traditional uses, Chemistry and Pharmacology of Croton species (Euphorbiaceae).
- Sanchez- Azofeifa AG, Quesada M, Rodriguez JP, Nassar JM, Stoner KE, Castillo-Garvin AT, Zent EL, Calvo J, Kalacska M, Fajardo L, Gamon J, Cuevas-Reyes P (2005). Research Priorities for Neotropical Dry Forests. *Biotropica* 37: 477-485.
- Sánchez-Azofeifa GA, Quesada M, Cuevas Reyes P, Castillo A, Sánchez Montoya G (2009). Land cover and conservation in the area of influence of the Chamela-Cuixmala Biosphere Reserve, Mexico. *Forest Ecology and Management*. 258: 907-912.
- Santos JC, Alves-Silva E, Cornelissen T, Fernandes G W (2013). The effect of fluctuating asymmetry and leaf nutrients on gall abundance and survivorship. *Basic and applied ecology*, 14(6), 489-495.
- Schöb C, Armas C, Guler M, Prieto I, Pugnaire FI (2013). Variability in functional traits mediates plant interactions along stress gradients. *Journal of Ecology*, 101(3), 753-762.
- Silva JO, Espírito-Santo MM, Morais HC (2015) Leaf traits and herbivory on deciduous and evergreen trees in a tropical dry forest. *Basic Appl Ecol* 16:210–219.
- SPSS Statistics. 2015. IBM Corp. Versión 23.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- Steinmann VW (2014). *Croton lindquistii* (Euphorbiaceae): a new arborescent species from western Mexico. *Phytotaxa*, 166(3), 235-240.
- Somit D, Priyankar D, Kumar CT (2013). Quantification and correlation of the bioactive phytochemicals of *Croton bonplandianum* leaves of Sub-Himalayan region of West Bengal. *Asian J Pharm Clin Res*, 6(3), 142-147.
- Souza GM, Ribeiro RV, Santos MG, Ribeiro HL, Oliveira RF (2004). Functional groups of forest succession as dissipative structures: An applied study. *Brazilian Journal of Biology* 64 (3B): 707 – 718.
- Telhado C, Esteves D, Cornelissen T, Fernandes GW, Carneiro MAA (2010) Insect herbivores of *Coccoloba cereifera* do not select asymmetric plants. *Environ Entomol* 39:849–855. doi:10.1603/EN09179.

- Telhado C, Silveira FA, Fernandes GW, Cornelissen T (2017). Fluctuating asymmetry in leaves and flowers of sympatric species in a tropical montane environment. *Plant species biology*, 32(1), 3-12.
- Tilman D (1987). Secondary succession and the pattern of plant dominance along experimental nitrogen gradients. *Ecological monographs*, 57(3), 189-214.
- Trejo I, Dirzo R (2002). Floristic diversity of Mexican seasonally dry tropical forests. *Biodiv. Conserv.* 11: 2063–2048.
- Tripathi N, Singh RS (2008) Ecological restoration of mined-out areas of dry tropical environment. India. *Environ Monit Assess* 146:325–337
- Torres AM, Mau-Lastovicka T, Rezaaiyan TR (1987) Total phenolics and high-performance liquid chromatography of phenolic acids of avocado. *J Agric Food Chem* 35:921–925.
- van Velzen E, Etienne RS (2015). The importance of ecological costs for the evolution of plant defense against herbivory. *Journal of theoretical biology*, 372, 89-99.
- Xu F, Guo W, Xu W, Wei Y, Wang R (2009). Leaf morphology correlates with water and light availability: ¿What consequences for simple and compound leaves? *Progr. Nat. Sci.* 19: 1789-1798.
- Yuan CM, Wu T, Geng YF, Chai Y, Hao JB (2016). Phenotypic plasticity of lianas in response to altered light environment. *Ecological research*, 31(3), 375-384.
- Webster G, Del Arco-Aouilar D, Smith S (1996). Systematic distribution of foliar trichome types in Croton (Euphorbiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 121: 41-57.
- Wright IJ, Westoby M (2002). Leaves at low versus high rainfall: coordination of structure, lifespan and physiology. *New Phytologist* 155: 403–416.
- Wright SJ, Muller-Landau HC (2006). The future of tropical forest species. *Biotropica* 38:287-301.
- Zhang X, Liu CJ (2015). Multifaceted regulations of gateway enzyme phenylalanine ammonia-lyase in the biosynthesis of phenylpropanoids. *Molecular plant*, 8(1), 17-27.



**Table 1.** Multivariate analysis of variance (MANOVA) of foliar functional attributes of *C. roxanae* and *C. suberosus* in mature and secondary forests

(a) Mean  $\pm$  standard error

Species	<i>Croton roxanae</i>		<i>Croton suberosus</i>	
	Mature forest	Secondary forest	Mature forest	Secondary forest
Response variable				
TLA	10.8 $\pm$ 0.96	12.5 $\pm$ 0.3	67.5 $\pm$ 0.6	88.3 $\pm$ 2.2
LD	0.7 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.04	0.8 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.04
LMDC	30.9 $\pm$ 1.4	27.10 $\pm$ 1.0	32.07 $\pm$ 1.4	31.53 $\pm$ 8.0
LFM	0.02 $\pm$ 0.002	0.02 $\pm$ 0.001	0.02 $\pm$ 0.001	0.01 $\pm$ 0.002
LT	0.1 $\pm$ 0.01	0.17 $\pm$ 0.01	0.16 $\pm$ 0.004	0.25 $\pm$ 0.02
SLA	194.9 $\pm$ 9.9	208.30 $\pm$ 25.1	182.80 $\pm$ 8.4	123.64 $\pm$ 6.7
CC	39.9 $\pm$ 0.9	49.45 $\pm$ 5.1	43.73 $\pm$ 0.8	49.19 $\pm$ 1.6
LWC	0.04 $\pm$ 0.005	0.011 $\pm$ 0.002	0.01 $\pm$ 0.001	0.02 $\pm$ 0.002

(b) MANOVA test for overall effects

Species	<i>Croton roxanae</i>				<i>Croton suberosus</i>			
	Pillai trace	<i>F</i>	<i>d.f.</i>	<i>P</i>	Pillai trace	<i>F</i>	<i>d.f.</i>	<i>P</i>
Source								
Intercept	0.98	425.4	69	0.001*	0.99	382.8	77	0.001
Forest Condition	0.179	110.2	69	0.01	0.199	111.6	77	0.03

(c) One-way ANOVA test between-subjects effects

Species	<i>Croton roxanae</i>			<i>Croton suberosus</i>		
	<i>F</i>	<i>d.f.</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>d.f.</i>	<i>P</i>
Response variable						
TLA	32.4	1	0.0001*	116.14	1	0.0001*
LD	4.34	1	0.04*	1.87	1	n. s.
LMDC	1.05	1	n. s.	0.017	1	n. s.
LFM	0.5	1	n. s.	4.13	1	0.04*
LT	7.10	1	0.01*	6.03	1	0.02*
SLA	0.3	1	n. s.	5.43	1	0.02*
CC	9.6	1	0.003*	5.57	1	0.02*
LWC	4.2	1	0.04*	4.8	1	n. s.

\*Significant values

**TLA** (Total leaf area (cm<sup>2</sup>)), **LD** (leaf density (g\*cm<sup>3</sup>)), **LMDC** (leaf content of dry mass (%)), **LFM** (leaf fresh mass (g\*cm<sup>2</sup>)), **LT** (Leaf thickness (mm)), **SLA** (Specific leaf area (cm<sup>2</sup>\*g<sup>-1</sup>)), **CC** (Chlorophyll content (mg m<sup>-2</sup>)), **LWC** (Leaf water content (gr/cm<sup>2</sup>)).

**Table 2.** Multivariate analysis of variance (MANOVA) of secondary metabolites in *C. roxanae* and *C. suberosus* in mature and secondary forest.

(a) Mean  $\pm$  SE

Species	<i>Croton roxanae</i>		<i>Croton suberosus</i>	
	Mature forest	Secondary forest	Mature forest	Secondary forest
Alkaloids	95.9 $\pm$ 0.2	249.1 $\pm$ 0.3	135.0 $\pm$ 0.3	155.6 $\pm$ 0.2
Flavonoids	0.6 $\pm$ 0.01	0.9 $\pm$ 0.02	0.5 $\pm$ 0.01	0.9 $\pm$ 0.03
Phenols	0.1 $\pm$ 0.01	0.2 $\pm$ 0.01	0.1 $\pm$ 0.01	0.35 $\pm$ 0.01

(b) MANOVA test for overall effects

Species	<i>Croton roxanae</i>				<i>Croton suberosus</i>			
	Pillai trace	<i>F</i>	<i>d.f.</i>	<i>P</i>	Pillai trace	<i>F</i>	<i>d.f.</i>	<i>P</i>
Intercept	0.393	94.7	20	0.0001*	0.479	99.7	57	0.0001*
Forest condition	0.261	70.5	20	0.0001*	0.338	91.7	57	0.0001*

(c) One-way ANOVA test between-subjects effects

Species	<i>Croton roxanae</i>			<i>Croton suberosus</i>		
	<i>F</i>	<i>d.f.</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>d.f.</i>	<i>P</i>
Response variable						
Alkaloids	18.4	1	0.0001*	35.8	1	0.0001*
Flavonoids	10.3	1	0.004*	19.4	1	0.003*
Phenols	9.4	1	0.01*	11.4	1	0.0001*

\* Significant values

**Table 3.** Multiple regression analysis for the effects of functional attributes and herbivory levels in the two *Croton* species studied. P-value of the model (Least Squares Standard) performed after the multiple regression analysis.

(a) *Croton roxanae*

	Estimate	Standard error	<i>t</i>	<i>P</i> <
Variables				
TLA	0.107	4.1	5.4	0.0001*
LD	0.001	0.007	1.6	n.s.
LMDC	0.160	0.04	3.6	0.002*
LFM	411.5	76.9	5.4	0.0001*
LT	0.02	0.12	0.2	n.s.
SLA	0.02	0.06	3.1	0.02*
CC	0.01	0.02	0.6	n.s.
LWC	18.3	154.2	0.12	n.s.
FA	41.8	9.2	5.5	0.001*

(b) *Croton suberosus*

	Estimate	Standard error	<i>t</i>	<i>P</i> <
Variables				
TLA	0.01	0.02	0.7	n.s.
LD	0.004	0.05	0.8	n.s.
LMDC	-0.2	0.03	-6.7	0.0001*
LFM	81.3	41.0	3.8	0.01*
LT	-18.2	7.1	3.3	0.01
SLA				
CC	0.03	0.02	1.8	0.03
LWC	92	8.0	3.6	0.01
FA	32.0	6.1	5.3	0.001

**TLA (Total leaf area (cm<sup>2</sup>)), LD (leaf density (g\*cm<sup>3</sup>)), LMDC (leaf content of dry mass (%)), LFM (leaf fresh mass (g\*cm<sup>2</sup>)), LT (Leaf thickness (mm)), SLA (Specific leaf area (cm<sup>2</sup>\*g<sup>-1</sup>)), CC (Chlorophyll content (mg m<sup>-2</sup>)), LWC (Leaf water content (gr/cm<sup>2</sup>))**

## Legend to figures

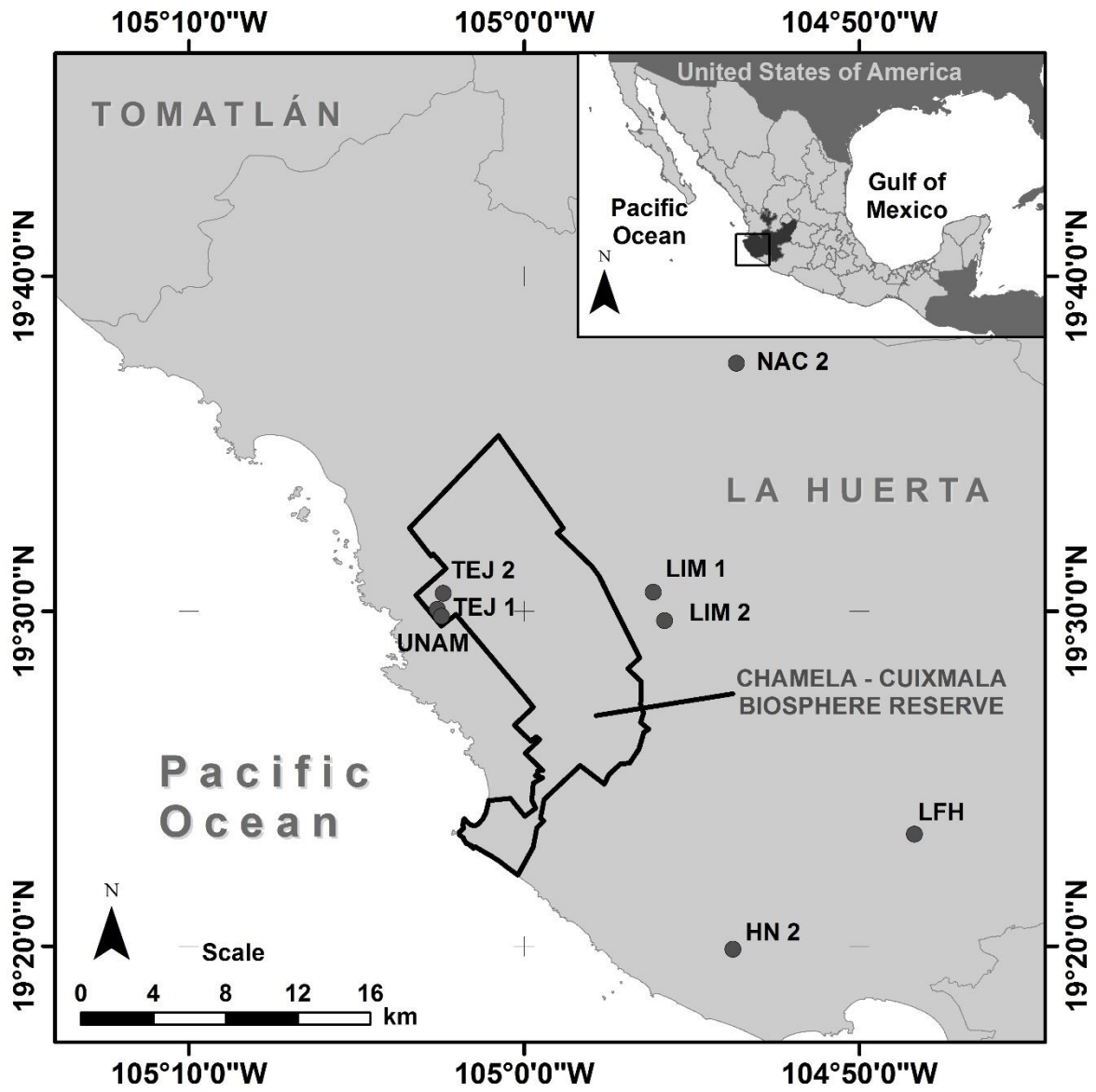
**Figure 1.** Map of the different study sites in the region of Chamela, Jalisco, Mexico

**Figure 2.** Morphological variation of leaves between two forest conditions: the form shows the average of the coordinates of the configuration of the leaves, *C. roxanae* (a) and *C. suberosus* (c). Differences in leaf shape morphology between species according to the canonical analysis of variance (CVA), *C. roxanae* (b) and *C. suberosus* (d).

**Figura 3.** Differences in the percentage of foliar area removed by herbivores in secondary forest and mature forest.

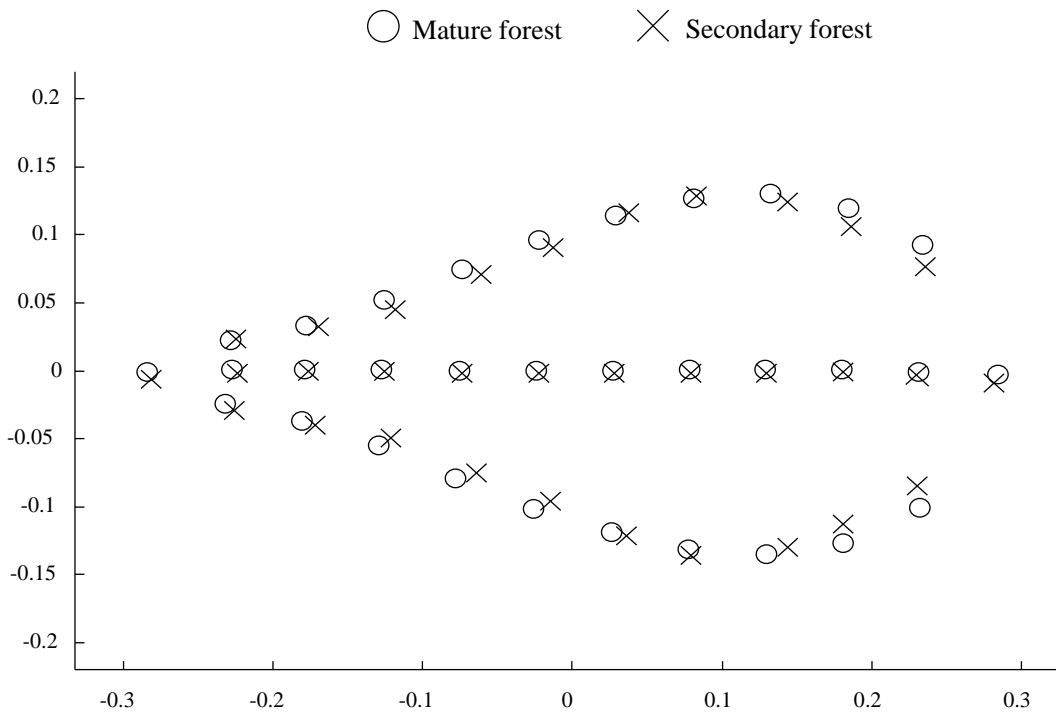
**Figura 4.** Variation in the levels of fluctuating foliar asymmetry in species that occur in secondary forest and mature forest.

Figure 1

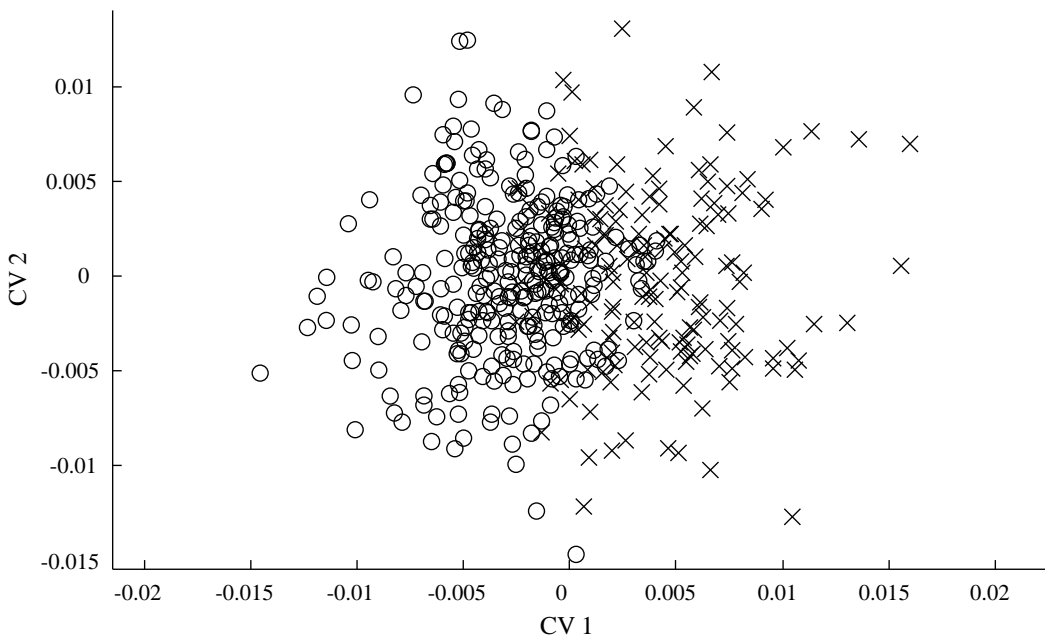


**Fig. 2**

**a)**

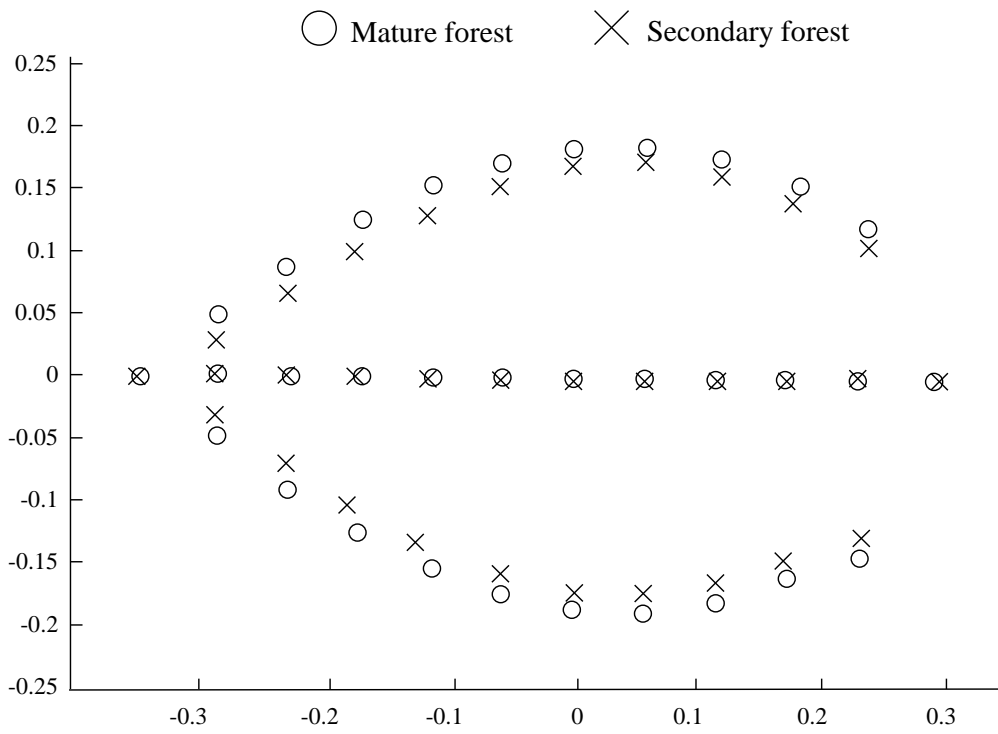


**b)**

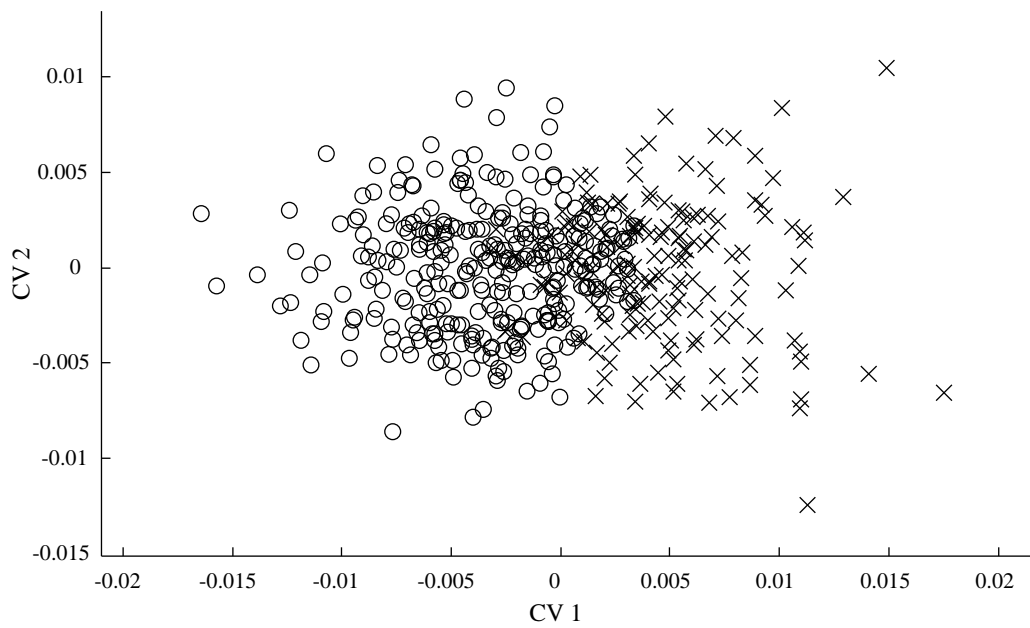


**Figure 3**

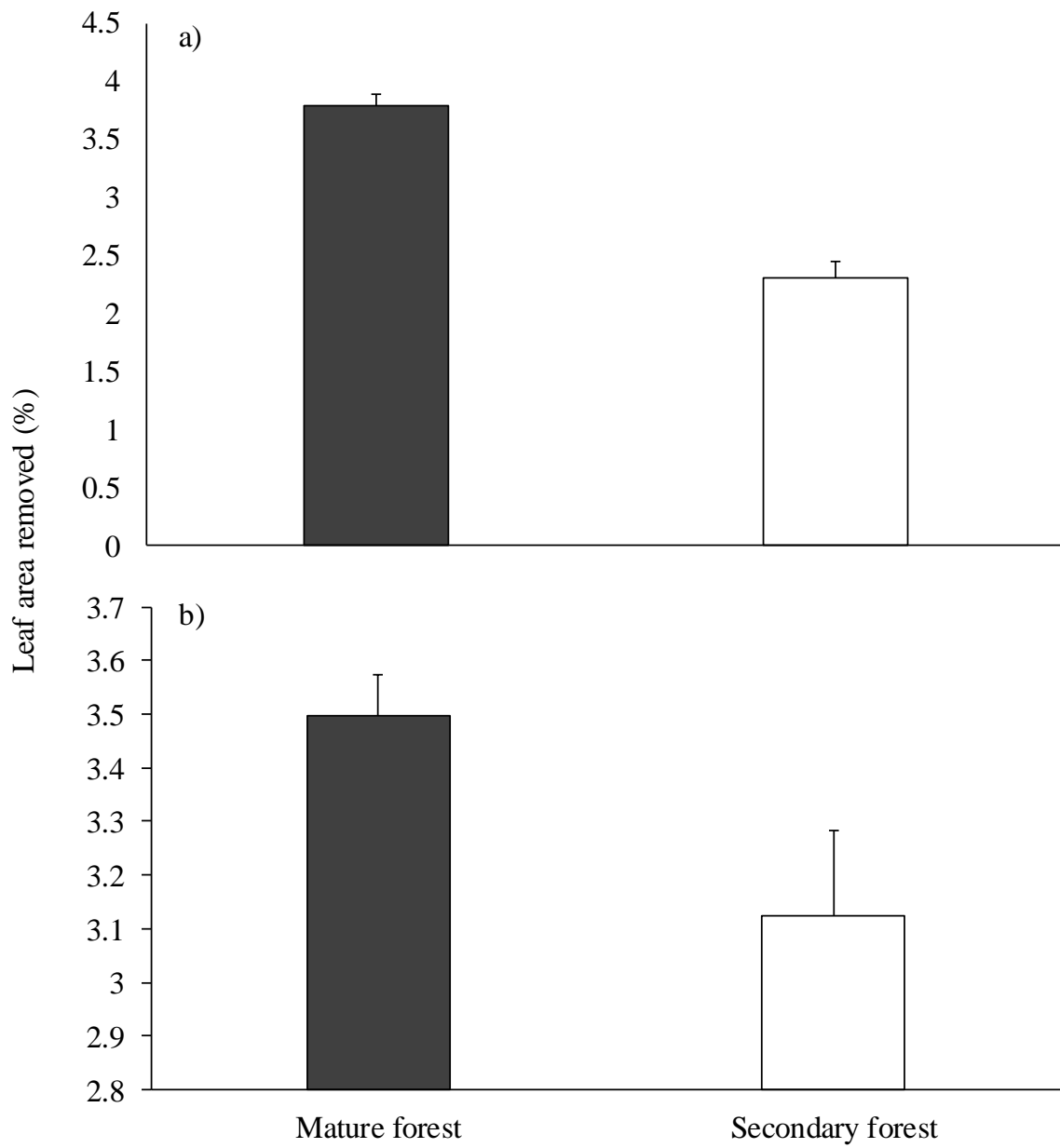
**a)**



**b)**

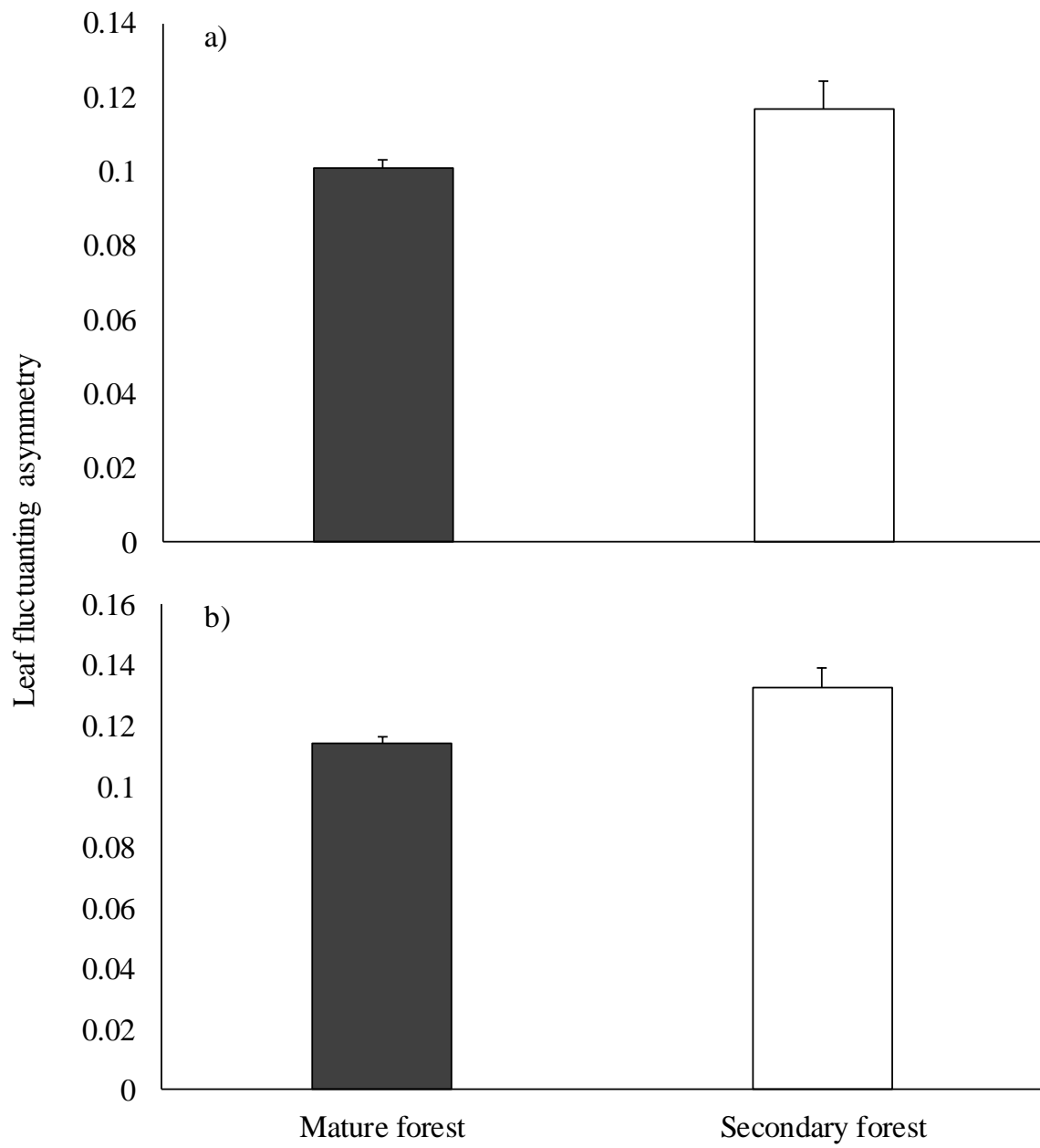


**Figure 4**





**Figure 5**



## **8. DISCUSIÓN GENERAL**

### **Variación morfológica**

Los bosques tropicales han sido uno de los ecosistemas más perturbados y modificados debido a la alteración estructural, afectando el curso de los procesos ecológicos (Ávila-Cabadilla et al. 2012; Fonseca et al. 2018). Las causas principales que amenazan estos ecosistemas es el cambio climático global, el rápido crecimiento poblacional influyendo directamente en el cambio de uso de suelos para actividades agrícolas y ganaderas (Chadzon et al. 2007; Miles et al. 2006, Chadzon y Guariguata, 2016). Bajo este escenario se generan cambios en los factores bióticos y abióticos debido a que influyen directamente en la forma y el tamaño de las hojas obligando a las plantas a modificar sus atributos funcionales químicos y morfológicos, de acuerdo a la plasticidad fenotípica de los individuos para tolerar y amortiguar el estrés inducido por un ambiente perturbado (Alvarez-Añorve et al. 2012; Schöb et al. 2013; McIntyne y Strauss, 2014; Yuan et al. 2016; Cuevas-Reyes et al. 2018b; Derroire et al. 2018). Por ejemplo, Lebrija-Trejos et al. (2010) descubrieron que existen gradientes ambientales desde bosques jóvenes los cuales presentan un dosel abierto hasta los bosques más viejos en donde el dosel se encuentra prácticamente cerrado, por lo tanto las plantas que se encuentran con una exposición mayor a la intensidad de luz y altas temperaturas tienden a producir hojas más pequeñas con la finalidad de minimizar la pérdida de agua por medio de la transpiración (Freeman et al. 2004, Tripathi y Singh, 2008). En nuestro trabajo encontramos que las hojas de los individuos de ambas especies que se encuentran en el bosque secundario presentaron mayor área foliar, ya que según lo reportado por Alvarez-Añorve et al. (2012) y Fonseca et al. (2018) las condiciones ambientales presentes en una etapa de sucesión vegetal son menos estresantes debido a que existe una alta disponibilidad de luz, agua y nutrientes. Por otro lado, Costa et al. (2012)

menciona que las condiciones ambientales presentes en un bosque maduro representan mayor estrés debido a la baja disponibilidad de agua y nutrientes lo que induce a una inestabilidad durante el desarrollo de las plantas afectando la forma de las hojas. En este sentido la variación morfológica representa un ajuste morfológico y fisiológico para amortiguar los cambios de las condiciones ambientales mediante la plasticidad fenotípica (Fernandes et al. 2015). De acuerdo con nuestros resultados se sugiere que los cambios o variaciones en la morfología foliar de las dos especies en las dos condiciones se encuentran asociados a la plasticidad fenotípica que presentan estas especies al encontrarse bajo el estrés ejercido por las condiciones ambientales.

### **Asimetría fluctuante**

Nuestros resultados indican que el nivel de asimetría fluctuante fue mayor en individuos de bosque secundario de ambas especies. En el primer capítulo de nuestro trabajo mostramos que los individuos de *C. suberosus* de bosque secundario presentan mayor porcentaje en la frecuencia de asimetría fluctuante pero menor porcentaje en la frecuencia de la herbivoría. Además, encontramos que existe una relación positiva entre la herbivoría y la asimetría fluctuante en los individuos de bosque maduro, relación que no presentan los individuos de bosque secundario. En el caso de *C. roxanae*, encontramos que el mayor porcentaje de herbivoría lo presentaron los individuos de bosque maduro con menor nivel de asimetría fluctuante. Estos resultados concuerdan con estudios previos por ejemplo Cuevas-Reyes et al. (2018a) reportan que los niveles altos de herbivoría aumentan los niveles de asimetría fluctuante, afectando el crecimiento y la forma física de las plantas teniendo como consecuencia mayor estrés en la planta. Cornelissen y Stiling (2011) mencionan que las condiciones ambientales como la baja disponibilidad de agua y nutrientes afectan la

inestabilidad en el desarrollo de la planta provocando mayor nivel de estrés, lo cual se encuentra relacionado con nuestros resultados ya que en *C. roxanae* al no encontrar relación entre la herbivoría y la asimetría sugerimos que las condiciones ambientales presentes en un bosque secundario son el detonante niveles elevados de asimetría fluctuante (Albarran-Lara et al. 2010). Además, encontramos que el área foliar fue mayor en el bosque secundario, lo que en nuestro estudio puede aumentar el nivel de asimetría ya que las hojas más grandes necesitan más recursos para su producción (Fernandes et al. 2015).

### **Herbivoría y defensa química**

En las primeras etapas de sucesión, se ha documentado que la disponibilidad de recursos como la luz y los nutrientes favorecen a las especies debido a que asignan más energía al crecimiento que a la defensa (Coley, 1983; Poorter et al. 2004; Fonseca et al. 2018). De acuerdo con esto, las especies que se encuentran en un hábitat con alta disponibilidad de recursos presentan un alto contenido de nutrientes y un bajo contenido de defensas químicas basadas en el carbono, lo que hace que las hojas sean más sabrosas para los herbívoros (Coley, 1983; Coley y Barone 1996; Poorter et al. 2004). En nuestro estudio, *C. roxanae* presentó mayor concentración de alcaloides, flavonoides y fenoles en individuos que se encuentran en de bosque secundario, mientras que *C. suberosus* presentó mayor concentración de flavonoides y fenoles totales en el bosque secundario, mostrando un bajo porcentaje de herbivoría en las dos especies en esta condición. Nuestros resultados concuerdan con el estudio realizado por Aboshi et al. (2018), en el cual hacen alusión sobre la presencia de flavonoides en *Basella alba*, estos compuestos actúan como inhibidores en el crecimiento de larvas de *Spodoptera litura*. Por otro lado, Macel (2011) mencionan que la supervivencia de áfidos generalistas como *Myzus persicae* se ve afectada por una elevada

concentración de alcaloides en hojas jóvenes de *Senecio* por tal motivo estos herbívoros tienen preferencia por hojas más viejas donde la concentración de estos compuestos disminuye. Además, se ha reportado que los compuestos fenólicos son altamente tóxicos y les representan costos más bajos a las plantas, por ejemplo, Mediavilla et al. (2018) reportaron mayor concentración de fenoles en cuatro especies de *Quercus* donde los adultos fueron más atacados, sugiriendo que las plántulas son más defendidas debido a que los metabolitos de defensa fenólica son relativamente baratos para biosintetizar. En el estudio realizado por Maldonado-López et al. (2014) encontraron menor herbivoría en plantas macho de *Spondias purpurea* en el bosque tropical seco. Estos resultados están asociados a una mayor concentración de compuestos químicos de defensa, comparados con las hembras. Mientras que Fonseca et al. (2018) reportan mayor concentración de compuestos fenólicos en etapas tardías de la sucesión donde la vegetación está totalmente recuperada, lo que indica que existe mayor competencia por los recursos lo que las plantas invierten más en defensa ya que recuperar los tejidos perdidos por el daño de herbívoros requiere mayor asignación de recursos. Nuestro estudio no concuerda con la teoría de asignación de recursos propuesta por Coley (1983), que indica que el bosque con vegetación en estado de conservación presenta mayor defensa química. En nuestro estudio encontramos un patrón contrario, ya que la mayor concentración de compuestos asociados a la defensa los encontramos en estados sucesionales corroborándolo con menores porcentajes de herbivoría, lo cual puede estar explicado por un menor contenido de nitrógeno, ya que este actúa como un atrayente para los herbívoros, Por lo tanto, las hojas jóvenes son más vulnerables a los herbívoros ya que son más tiernas y nutritivas, una vez expandidas completamente las hojas comienzan a endurecerse y son menos digeribles para lo herbívoros (Kursar y Coley 2003).

## **Atributos funcionales**

Las especies de plantas de los bosques tropicales secos, responden de manera diferencial a la variación abiótica en una secuencia sucesional (Alvarez-Añorve et al. 2012). Algunas especies presentan adaptaciones funcionales que ayudan a la eficiencia fotosintética y uso del agua (Fonseca et al. 2018). En nuestro estudio, encontramos una gran variación en los atributos funcionales foliares en las dos especies, por ejemplo la concentración de clorofila fue mayor en los individuos de bosque secundario sugiriendo una alta capacidad fotosintética generada por la alta disponibilidad de luz, confiriéndoles mayores recursos asignados al crecimiento y/o defensa, en cambio en los bosque maduros esta baja concentración de clorofila está relacionada con un bajo crecimiento (Souza et al. 2004) y depende de factores ambientales como la incidencia de luz, temperatura y precipitación (Bielinis et al. 2015). El área foliar específica disminuye cuando la disponibilidad de agua es baja, según los estudios de Niimets (2001) y Alvarez-Añorve et al. (2012) esta es una adaptación de respuesta de las hojas para evitar la desecación, nuestros resultados indicaron patrones contrastantes entre las especies y entre tipo de bosque por lo que sugerimos que el presentar un área foliar específica más grande o más pequeña es resultado de la adaptación foliar para evitar la desecación ya que el bosque tropical seco se caracteriza por su alta incidencia solar, lo que lleva a las plantas a presentar mayor transpiración y mayor pérdida de agua (Cornwell y Arckley 2009). Según lo informado por Alvarez-Añorve et al. (2012), en especies en etapa sucesional, el área foliar específica disminuirá debido a la baja disponibilidad de agua y nutrientes, con la finalidad de asignar mayor energía para defender sus hojas, por lo tanto, la densidad de la hoja aumentará para mantener el rendimiento fotosintético. Esto implica que las hojas de especies que se encuentran en una etapa de

sucesión tardía donde las características del bosque ya se han regenerado casi por completo, estarían menos protegidas contra herbívoros debido a la baja disponibilidad de luz, afectando las concentraciones de clorofila presentando menor concentración de defensas químicas comparadas con especies de una etapa temprana de sucesión (Coley, 1983; Poorter et al. 2004). Cornelissen et al. (2003) sostienen que el área foliar específica será menor en las especies que invierten una mayor cantidad de energía para la defensa de las hojas, especies con una vida útil más larga y con tasas metabólicas más bajas. El grosor de la hoja es un atributo estructural importante como defensa física contra el ataque de los herbívoros. Cuevas-Reyes et al. (2018a) reporta que el grosor foliar en un estudio con *T. herteromalla* ayuda contra el ataque de los herbívoros. Nuestros resultados indican que para ambas especies el grosor foliar fue mayor en los individuos presentes en el bosque secundario donde el porcentaje de herbivoría fue menor comparándolos con los individuos de bosque maduro, sugerimos que el grosor se encuentra relacionado con la esclerofilia foliar ya que las hojas se vuelven más duras con la finalidad de disminuir el ataque por herbívoros (Hanley et al. 2007). Otro estudio que apoya esta idea es el realizado por Neves et al. (2010) en el cual indica que los árboles con menor concentración de nutrientes en el suelo presentarán mayor esclerofilia foliar y por lo tanto la incidencia de herbívoros será menor. La densidad foliar y el contenido de materia seca foliar se han catalogado como defensas físicas o biomecánicas contra el ataque de los herbívoros (Poorter, 2009). Nuestros resultados de ambas especies mostraron variación en los dos atributos por ejemplo las dos especies presentaron mayor contenido de masa seca y densidad en el bosque maduro, en donde la herbivoría fue mayor, indicándonos que en nuestro trabajo estos dos atributos no se encuentran actuando como defensa física de acuerdo a lo planteado por (Poorter, 2009). Durante las primeras etapas de sucesión en los bosques tropicales secos, se genera un cambio en las condiciones ambientales, donde el agua

es un factor que influye en el cambio en las comunidades de plantas (Lebrija-Trejos et al. 2010; 2011). Por lo tanto, el aumento en la disponibilidad de agua durante la sucesión predice un cambio en las estrategias conservadoras de las plantas (Reich, 2014), donde la fenología de las hojas y los rasgos morfológicos son responsables de controlar la pérdida de agua (Poorter y Bongers 2016). Se ha documentado que muchas especies de plantas se distribuyen de acuerdo con la disponibilidad de agua y que los sitios con menor precipitación tienen mayor presencia de especies de hoja caduca (Balvanera et al. 2011). *C. roxanae* tenía un área foliar más baja y un área foliar específica en individuos de bosque maduro, pero un mayor contenido de agua foliar que indica que esta especie ha adaptado sus características morfológicas para evitar la pérdida de agua y, por lo tanto, utilizarla como una estrategia para tolerar la desecación y el uso máximo del agua (Poorter y Bongers 2016; Balvanera et al. 2011). Por otro lado, *C. suberosus* mostró un patrón contrario, presentando un menor contenido de agua en las hojas y un área foliar más pequeña, pero un área foliar específica más alta en individuos de bosque maduro, por lo que sugerimos que las características funcionales afectan la estructura y producen una variación en las plantas, dependiendo del hábitat en el que se encuentren, (Messier et al. 2017; Derroire et al. 2018).

## **9. CONCLUSIONES**

Encontramos variación morfológica foliar entre especies de bosques maduros y bosques secundarios, esta variación en la forma y tamaño de las hojas se encuentra relacionada a la mayor disponibilidad de luz encontrada en un bosque secundario, sitio en el cual, existe una mayor disponibilidad de nutrientes y por lo tanto las plantas invierten más recursos en el crecimiento, contrario a lo que sucede en un bosque maduro donde la existe mayor



competencia por los recursos ya que estos se encuentran más limitados y en consecuencia el tamaño foliar es reducido. Estos resultados en la variación en la forma y el tamaño de las hojas sugieren que las especies de *Croton* presentan plasticidad fenotípica como respuesta al estrés inducido por las condiciones ambientales en las que se encuentran establecidas.

Los atributos funcionales presentaron variación entre las dos condiciones de bosque, por ejemplo, el contenido de clorofila fue mayor en el bosque secundario, por lo tanto, las especies que se encuentran en esta condición presentaron mayor actividad fotosintética, la cual es utilizada como recurso para el crecimiento o defensa. Por lo tanto, la mayor área foliar la encontramos en el bosque secundario como respuesta de una mayor actividad fotosintética derivada de la alta disponibilidad de luz. El grosor foliar fue más alto en las dos especies de bosque secundario, sugiriendo que este atributo actúa como protección física contra el ataque de los herbívoros, esto concuerda con nuestro estudio debido a que los niveles más bajos de herbivoría los presentaron las especies de bosque secundaria.

Encontramos que la concentración de compuestos químicos fue mayor en individuos de bosque secundario, donde las especies presentaron menor porcentaje de herbivoría, por lo tanto, concluimos que la teoría de asignación de recursos propuesta por Coley (1983) no es aceptada en nuestro estudio debido a que las especies que se encontraron en un bosque maduro mostraron menor concentración de compuestos químicos asociados a la defensa y mayor porcentaje de herbivoría, un patrón completamente inverso a lo propuesto.

Los patrones de asimetría fluctuante no se encuentran relacionados con el estrés causado por la incidencia de los herbívoros, por lo que sugerimos que los niveles más altos de asimetría

fluctuante presentes en el bosque secundario se encuentran influenciados por el estrés generado por las condiciones ambientales. Por lo tanto, sugerimos que las especies de bosque secundario presentan plasticidad fenotípica como respuesta al ambiente. Finalmente, los resultados muestran también que tanto la morfometría geométrica como la asimetría fluctuante son una excelente herramienta de monitoreo ambiental en ambientes perturbados.

Finalmente, llegamos a la conclusión de que los atributos funcionales son fundamentales durante un proceso de sucesión ecológica, debido a que son los principales reguladores de las respuestas morfológicas y fisiológicas de las plantas, ya que tienen la capacidad de alterar los nutrientes que las plantas utilizan para su crecimiento y defensa ante el ataque de los herbívoros. Este es uno de los primeros estudios que evaluaron la ecología de dos especies del género *Croton* ya que trabajos realizados en este género se han centrado en cuestiones clínicas y no existen trabajos suficientes que evalúen la respuesta de estas especies ante el cambio de bosques maduros a bosques en estado de sucesión.

## **10. AGRADECIMIENTOS**

“Uso de la reflectancia espectral de la vegetación para el estudio de la funcionalidad, diversidad y procesos ecológicos operando en las comunidades de plantas tropicales UNAM-CONACyt 222202”.

## 11. LITERATURA CITADA

- Aboshi T, Ishiguri S, Shiono Y, Murayama T (2018). Flavonoid glycosides in Malabar *spinach* *Basella alba* inhibit the growth of *Spodoptera litura* larvae. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 82(1), 9-14.
- Albarrán-Lara AL, Mendoza-Cuenca L, Valencia-Avalos S, González-Rodríguez A, Oyama K (2010). Leaf fluctuating asymmetry increases with hybridization and introgression between *Quercus magnifolia* and *Quercus resinosa* (Fagaceae) through an altitudinal gradient in Mexico. *International Journal of Plant Sciences* 171(3):310–322.
- Alvarez-Añorve MY, Quesada M, Sánchez-Azofeifa GA, Avila-Cabadilla LD, Gamon JA (2012). Functional regeneration and spectral reflectance of trees during succession in a highly diverse tropical dry forest ecosystem. *American journal of botany*, 99(5), 816-826.
- Atkin OK, Loveys BR, Atkinson LJ, Pons TL (2006). Phenotypic plasticity and growth temperature: understanding interspecific variability. *Journal of Experimental Botany* 57: 267–281.
- Ávila-Cabadilla LD, Sanchez-Azofeifa GA, Stoner KE, Alvarez-Añorve MY, Quesada M, Portillo-Quintero CA (2012). Local and landscape factors determining occurrence of *phyllostomid* bats in tropical secondary forests. *PLoS One*, 7(4), e35228.
- Balvanera P, Quijas S, Pérez-Jiménez A (2011). Distribution patterns of tropical dry forest trees along a mesoscale water availability gradient. *Biotropica*, 43(4), 414-422.
- Bielinis E, Jozwiak W, Robakowski P (2015). Modelling of the relationship between the SPAD values and photosynthetic pigments content in *Quercus petraea* and *Prunus serotina* leaves. *Dendrobiology*, 73.
- Buzzard V, Hulshof CM, Birt T, Violle C, Enquist BJ (2016). Re-growing a tropical dry forest: functional plant trait composition and community assembly during succession. *Functional Ecology*, 30(6), 1006-1013.
- Canché-Delgado A, García Jain SE, Vaca Sánchez MS, Cuevas Reyes P (2011). Cambios en la morfología floral y foliar en *Crataegus tracyi*: importancia de la asimetría fluctuante como indicador de estrés ambiental. *Biológicas*, 13(1), 44-49.
- Callaway RM, Brooker RW, Choler P, Kikvidze Z, Lortie CJ, Michalet R, Armas C (2002). Positive interactions among alpine plants increase with stress. *Nature*, 417 (6891), 844-848.
- Challenger A, Dirzo R, López-Acosta JC, Mendoza E, Lira-Noriega A, Cruz I, Flores-Martínez A,

- González-Espinosa M (2009). Factores de cambio y estado de la biodiversidad. En: Sarukhán, J. (coord.). *Capital natural de México*, vol. II: Estado de conservación y tendencias de cambio, pp. 37-73, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México.
- Chazdon RL, Guariguata MR (2016). Natural regeneration as a tool for large-scale forest restoration in the tropics: prospects and challenges. *Biotropica*, 48(6), 716-730.
- Chazdon R, Letcher S, Van Breugel M, Martinez-Ramos M, Bongers F, Finegan B (2007). Rates of change in tree communities of secondary neotropical forests following major disturbances. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* **362**: 273–289.
- Coley PD (1983). Herbivory and defensive characteristics of tree species in a lowland tropical forest. *Ecological Monographs* 53: 209–233.
- Coley PD, Bryant JP, Chapin FS (1985) Resource availability and plant antiherbivory defense. *Science* 230:895–899.
- Coley PD, Barone JA (1996) Herbivory and plant defenses in tropical forests. *Annual Review of Ecology Systematics* 27:305–335.
- Cornelissen T, Stiling P, Drake B (2003). Elevated CO<sub>2</sub> decreases leaf fluctuating asymmetry and herbivory by leaf miners on two oak species. *Global Change Biology*. 10, 27–36.
- Cornelissen T, Stiling P (2005). Perfect is best: low leaf fluctuating asymmetry reduces herbivory by leaf miners. *Oecologia*, 142(1), 46-56.
- Costa FV, Pinheiro IF, Braga LL, Perillo L, Neves FS, Leite LO, Silva BL, Ribeiro LC, Fernandes GW, Cuevas-Reyes P (2012) Fluctuating asymmetry and herbivory in two ontogenetical stages of *Chamaecrista semaphora* in restored and natural environments. *Journal of Plant Interactions* 8:179–186.
- Crowther T, Glick H, Covey K, Bettigole C, Maynard D, Thomas S (2015). Mapping tree density at a global scale. *Nature*, 525, 201–205.
- Cuevas-Reyes P, Oyama K, González-Rodríguez A, Fernandes GW, Mendoza-Cuenca L (2011b) Contrasting herbivory patterns and leaf fluctuating asymmetry in *Heliocarpus pallidus* between different habitat types within a Mexican tropical dry forest. *Journal of Tropical Ecology* 27:383–391.
- Cuevas-Reyes P, Pereira GCN, Gélvez-Zuñiga I, Fernandes GW, Venancio H, Santos JC, Maldonado López Y (2018a). Effects of ferric soils on arthropod abundance and herbivory

on *Tibouchina heteromalia* (Melastomataceae): is fluctuating asymmetry a good indicator of environmental stress? *Plant Ecology*, 1-10.

Cuevas-Reyes P, Canché-Delgado A, Maldonado-López Y, Fernandes GW, Oyama K, González-Rodríguez A (2018b). Patterns of herbivory and leaf morphology in two Mexican hybrid oak complexes: Importance of fluctuating asymmetry as indicator of environmental stress in hybrid plants. *Ecological Indicators*, 90, 164-170.

Cunningham SA, Summerhayes B, Westoby M (1999). Evolutionary divergences in leaf structure and chemistry, comparing rainfall and soil nutrient gradients. *Ecological Monographs*, 69(4), 569-588.

Derroire G, Powers JS, Hulshof CM, Varela LEC, Healey JR (2018). Contrasting patterns of leaf trait variation among and within species during tropical dry forest succession in Costa Rica. *Scientific reports*, 8(1), 285.

Dyer LA, Singer MS, Lill JT, Stireman JO, Gentry GL, Marquis RJ, Ricklefs RE, Greeney HF, Wagner DL, Morais HC, Diniz IR, Kursarand TA, Coley PD (2007). Host specificity of Lepidoptera in tropical and temperate forests. *Nature* 448:696-700.

Fernandes GW, de Oliveira SCS, Campos IR, Barbosa M, Soares LA, Cuevas-Reyes P (2015) Leaf fluctuating asymmetry and herbivory of *Tibouchina heteromalla* in restored and natural environments. *Neotropical Entomology* 45:44–49.

Fonseca MB, Silva JO, Falcão LA, Dupin MG, Melo GA, Espírito-Santo MM (2018). Leaf damage and functional traits along a successional gradient in Brazilian tropical dry forests. *Plant Ecology*, 219(4), 403-415.

Freeman DC, Brown ML, Duda JJ, Graham JH, Emlen JM, Krzysik AJ, Balbach H, Kovacic DA, Zak JC (2004) Developmental instability in *Rhus Copallinum* L.: multiple stressors, years, and responses. *International Journal of Plant Sciences* 165(1):53–63.

González-Rodríguez A, Oyama K. (2005). Leaf morphometric variation in *Quercus affinis* and *Q. laurina* (Fagaceae), two hybridizing Mexican red oaks. *Botanical Journal of the Linnean Society* 147: 427–435.

Guillespie TW, Grijalva A, Farris CN (2000). Diversity, composition and structure of tropical dry forest in Central America. *Plant Ecology*. 147: 37-4.

- Gutiérrez-Granados G, Dirzo R (2009). Remoción de semillas, herbivoría y reclutamiento de plántulas de *Brosimum alicastrum* (Moraceae) en sitios con manejo forestal contrastante de la selva maya, Quintana Roo, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, (85), 51-58.
- Harvey CA, Komar O, Chazdon R, Ferguson BG, Finegan B, Griffith DM, Martínez-Ramos M, Morales H, Nigh R, Soto-Pinto L, Van Breugel M, Wishnie M (2008). Integrating agricultural landscapes with biodiversity conservation in the Mesoamerican Hotspot. *Conservation Biology*. 22(1):8-15.
- Herederó JH, Giménez PR y Alvarado DJC (2011). Evaluación de daños causados por insectos herbívoros en tres estadios de sucesión secundaria de Bosque Tropical Seco en el Parque Nacional Santa Roa, Guanacaste, Costa Rica.
- Juan-Baeza I, Martínez-Garza C, del-Val E (2015). Recovering more than tree cover: herbivores and herbivory in a restored tropical dry forest. *PloS One*, 10(6), e0128583.
- Kennard D, Gould K, Putz FE, Fredericksen TS, Morales F (2002). Effect of disturbance intensity on regeneration mechanisms in tropical dry forest. *Forest ecology and management*. 162, 197-208.
- Klich MG (2000). Leaf variations in *Elaeagnus angustifolia* related to environmental heterogeneity. *Environmental Experimental Botany* 44:171–183.
- Klingenberg CP, Grant SM (1998). Morphometrics of developmental instability: analyzing patterns of fluctuating asymmetry with procrustes methods. *Evolution* 52: 1363–1375.
- Kursar TA, Coley PD (2003). Convergence in defense syndromes of young leaves in tropical rainforests. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31(8), 929-949.
- Lambin EF, Erlich D (1997). The identification of tropical deforestation fronts at broad spatial scales. *International Journal of remote Sensing* 18: 3351-3568.
- Lattanzio V, Lattanzio, VM, Cardinali A (2006). Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. *Phytochemistry: Advances in research*, 66(2), 23-67.
- Lebrija-Trejos E, Bongers F, Pérez-García A, Meave J (2008). Successional change and resilience of a very dry tropical deciduous forest following shifting agriculture. *Biotropica*, 40, 422–431.
- Lebrija-Trejos E, Meave JA, Poorter L, Pérez-García EA, Bongers F (2010a). Pathways,

mechanisms and variability of tropical dry forest succession. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 12:267-275.

- Lebrija-Trejos E, Pérez-García EA, Meave JA, Poorter L, Bongers F (2011) Environmental changes during secondary succession in a tropical dry forest in Mexico. *Journal of Tropical Ecology* 27:477–489.
- Lohbeck M, Poorter L, Lebrija-Trejos E, Martínez-Ramos M, Meave JA, Paz H, Pérez-García EA, Romero-Pérez EI, Tauro A, Bongers F (2013) Successional changes in functional composition contrast for dry and wet tropical forest. *Ecology* 94:1211–1216.
- Macel M (2011). Attract and deter: a dual role for pyrrolizidine alkaloids in plant–insect interactions. *Phytochemistry Reviews*, 10(1), 75-82.
- Madeira BG, Espírito-Santo MM, Neto SDÂ, Nunes YR, Azofeifa GAS, Fernandes GW, Quesada M (2009). Changes in tree and liana communities along a successional gradient in a tropical dry forest in south-eastern Brazil. In *Forest ecology* (pp. 291-304). Springer, Dordrecht.
- Maldonado-López Y, Cuevas Reyes P, Sánchez Montoya G, Oyama K, y Quesada M. (2014). Growth, plant quality and leaf damage patterns in a doecious tree species: is gender important?. *Arthropod-Plant Interactions*, 8(4), 241-251.
- Mariano, N (2005). Herbivoría y cosexualidad en plantas: efectos indirectos del daño foliar (en línea). *Tropisilva*. 1(1): sp.
- McIntyre PJ, Strauss SY (2014). Phenotypic and transgenerational plasticity promote local adaptation to sun and shade environments. *Evolutionary Ecology*, 28(2), 229-246.
- Meave JA, Romero-Romero MA, Salas-Morales SH, Pérez-García EA, Gallardo-Cruz JA (2012). Diversidad, amenazas y oportunidades para la conservación del bosque tropical caducifolio en el estado de Oaxaca, México. *Ecosistemas* 21(1): 85-100.
- Mediavilla S, Babiano J, Martínez-Ortega M, Escudero A. (2018). Ontogenetic changes in anti-herbivore defensive traits in leaves of four Mediterranean co-occurring *Quercus* species. *Ecological research*, 33(6), 1093-1102.
- Messier J, McGill BJ, Enquist BJ, Lechowicz MJ (2017). Trait variation and integration across scales: is the leaf economic spectrum present at local scales?. *Ecography*, 40(6), 685-697.
- Miles L, Newton AC, DeFries RS, Ravilious C, May I, Blyth S, Kapos V, Gordon JE (2006). A global overview of the conservation status of tropical dry forest. *Journal of Biogeography* 33: 491.505.

- Neves FS, Silva JO, Espírito-Santo MM, Fernandes GW (2014) Insect herbivores and leaf damage along successional and vertical gradients in a tropical dry forest. *Biotropica* 46:14–24.
- Palmer AR, Strobeck C (1986). Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 17, 391–421.
- Pascual-Alvarado E, Cuevas-Reyes P, Quesada M, y Oyama K (2008). Interactions between galling insects and leaf-feeding insects: the role of plant phenolic compounds and their possible interference with herbivores. *Journal of Tropical Ecology*, 24(3), 329-336.
- Poorter L, van de Plassche M, Willems S, Boot RGA (2004) Leaf traits and herbivory rates of tropical tree species differing in successional status. *Plant Biology* 6:746–754.
- Poorter L (2009). Leaf traits show different relationships with shade tolerance in moist versus dry tropical forests. *New phytologist*, 181(4), 890-900.
- Poorter L, Bongers F (2016). Biomass resilience of Neotropical secondary forests. *Nature* 530 (7589), 211.
- Portillo-Quintero CA, Sánchez-Azofeifa GA (2010). Extent and conservation of tropical dry forests in the Americas. *Biological Conservation* 143:144-155.
- Reich PB (2014). The world-wide ‘fast–slow’ plant economics spectrum: a traits manifesto. *Journal of Ecology*, 102(2), 275-301.
- Rohlf FJ (1990). TpsDIG Thin Plate Spline Digitized landmark. Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook, New York 11794.
- Royer DL, Meyerson LA, Robertson KM, Adams JM (2009). Phenotypic plasticity of leaf shape along a temperature gradient in *Acer rubrum*. *Plos One* 4:e7653.
- Rzedowski J (1978). Vegetación de México. Editorial Limusa, México.
- Ruiz-Guerra B, Guevara R, Mariano NA, Dirzo R (2010). Insect herbivory declines with forest fragmentation and covaries with plant regeneration mode: evidence from a Mexican tropical rain forest. *Oikos*, 119(2), 317-325.
- Sanchez- Azofeifa AG, Quesada M, Rodriguez JP, Nassar JM, Stoner KE, Castillo-Garvin AT, Zent EL, Calvo J, Kalacska M, Fajardo L, Gamon J, Cuevas-Reyes P (2005). Research Priorities for Neotropical Dry Forests. *Biotropica* 37: 477-485.
- Sánchez-Ramos G, Reyes Castillo P, Mora Olivo A y Martínez Avalos JG (2010). Estudio de la herbivoría de la palma *CHamaedorea radicalis* Mart., en la Sierra Madre Oriental en Tamaulipas, México. *Acta zoológica Mexicana*, 2010, vol. 26, no 1, p. 153-172.



- Schöb C, Armas C, Guler M, Prieto I, Pugnaire FI (2013). Variability in functional traits mediates plant interactions along stress gradients. *Journal of Ecology*, 101(3), 753-762.
- Silva JO, Espírito-Santo MM, Melo GA (2012) Herbivory on *Handroanthus ochraceus*(Bignoniaceae) along a successional gradient in a tropical dry forest. *Arthropod Plant Interactions* 6:45–57.
- Slik, J, Arroyo-Rodríguez V, Shin-Ichiro A, Alvarez-Loayza P, Alves L, Ashton P (2015). An estimate of the number of tropical tree species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112, 7472–7477.
- Telhado C, Silveira FA, Fernandes GW, Cornelissen T (2017). Fluctuating asymmetry in leaves and flowers of sympatric species in a tropical montane environment. *Plant species biology*, 32(1), 3-12.
- Trejo I, Dirzo R (2002). Floristic diversity of Mexican seasonally dry tropical forests. *Biodiversity & Conservation*. 11: 2063–2048.
- Tripathi N, Singh RS (2008) Ecological restoration of mined-out areas of dry tropical environment. India. *Environmental Monitoring Assessment* 146:325–337.
- Violle C, Navas ML, Vile D, Kazakou E, Fortunel C, Hummel I, Garnier E (2007). Let the concept of trait be functional!. *Oikos*, 116(5), 882-892.
- Quesada M, Sanchez-Azofeifa GA, Alvarez-Anorve M, Stoner KE, Avila-Cabadilla L, Calvo-Alvarado J, Gamon J (2009). Succession and management of tropical dry forests in the Americas: Review and new perspectives. *Forest Ecology and Management*, 258(6), 1014-1024.
- Westoby M, Falster DS, Moles AT, Vesk PA, Wright IJ (2002). Plant Ecological Strategies: Some Leading Dimensions of Variation Between Species. *Annual review of ecology and systematics* 33: 125–59.
- Wright SD, McConnaughay KDM (2002) Interpreting phenotypic plasticity: the importance of ontogeny. *Plant Species Biology*. 17: 119- 131.
- Wright SJ, Muller-Landau HC (2006). The future of tropical forest species. *Biotropica* 38:287-301. *Ecosistemas* 21 (1-2). Enero-agosto 2012.
- Xu F, Guo W, Xu W, Wei Y, Wang R (2009). Leaf morphology correlates with water and light availability: ¿What consequences for simple and compound leaves? *Progress in Natural Science* 19: 1789-1798.

- Yuan CM, Wu T, Geng YF, Chai Y, Hao JB (2016). Phenotypic plasticity of lianas in response to altered light environment. *Ecological research*, 31(3), 375-384.
- Zhang X, Liu CJ (2015). Multifaceted regulations of gateway enzyme phenylalanine ammonia-lyase in the biosynthesis of phenylpropanoids. *Molecular plant*, 8(1), 17-27.