

# CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS FOLIARES Y SU RELACIÓN CON LA DEFOLIACIÓN EN TRES ESPECIES DE PLANTAS FORRAJERAS

## Morphological leaf traits and their relationship to defoliation in three forage plant species

Roberto Rafael RUIZ-SANTIAGO<sup>1</sup>, Horacio Salomón BALLINA-GÓMEZ<sup>1</sup>\*, Esaú RUIZ-SÁNCHEZ<sup>1</sup>

1. División de Estudios de Posgrado e Investigación, Tecnológico Nacional de México/Campus Conkal, Conkal, Yucatán, C.P. 97345, México.

\* For correspondence: horacio.bg@conkal.tecnm.mx

Received: 17<sup>th</sup> June 2020. Returned for revision: 15<sup>th</sup> September 2021. Accepted: 2<sup>nd</sup> December 2021.

Associate Editor: Enrique Martínez Bustamante

Citation/ citar este artículo como: Ruiz-Santiago, R. R., Ballina-Gómez, H. S., y Ruiz-Sánchez, E. (2023). Características morfológicas foliares y su relación con la defoliación en tres especies de plantas forrajeras. *Acta Biol Colomb*, 28(1):12-22. <https://doi.org/10.15446/abc.v28n1.88402>

### RESUMEN

Las plantas responden a cambios bióticos y abióticos acorde a su plasticidad fenotípica. Estas variaciones pueden expresarse en características relacionadas a la morfología foliar, crecimiento y defoliación. Este estudio evalúa la influencia de la edad de las plantas y de hojas sobre las características foliares, y su relación con la defoliación en tres especies forrajeras, *Tithonia diversifolia*, *Morus alba* y *Moringa oleifera*. *M. oleifera* mostró hojas con mayores valores de grosor, peso seco, asimetría y área; *M. alba* hojas más duras y con mayor área foliar específica. *M. oleifera* el área foliar, peso seco, grosor y dureza incrementaron en plantas de 30 días. En tanto, que en *M. alba* las hojas intermedias tuvieron mayor área; y, las plantas de 90 días mayores valores de SLA, grosor y dureza. El área foliar y peso seco fueron mayores a los 60 y 30 días, respectivamente. En *T. diversifolia* las hojas intermedias presentaron mayor peso seco y grosor, las plantas de 30 días mayor área foliar y peso seco; y, las de 90 días, mayor grosor. Se encontraron relaciones negativas en hojas jóvenes con el grosor, dureza y peso seco. La defoliación mostró asociaciones positivas con el SLA y la dureza; y, negativas con el grosor, peso seco, asimetría y área. Subrayamos la importancia de realizar estudios que contribuyan al entendimiento de interrelaciones entre la estructura de la hoja, su función y sus relaciones con la expresión de los rasgos morfológicos de resistencia y tolerancia en especies tropicales de importancia económica y ecológica.

**Palabras clave:** Asimetría fluctuante, Daño foliar, Fenología, Yucatán.

### ABSTRACT

Plants respond to biotic and abiotic changes through their phenotypic plasticity. These variations can be expressed in traits related to leaf morphology, plant growth, and defoliation. We evaluated the influence of plant age and leaf age on leaf traits and its relation with defoliation in three forage plant species, *Tithonia diversifolia*, *Morus alba*, and *Moringa oleifera*. Interspecifically, *M. oleifera* showed thicker leaves, higher dry weight, leaf asymmetry, and leaf area; *M. alba* showed harder leaves and higher specific leaf area. Intraspecifically, in the *M. oleifera* leaf area, dry weight, thickness, and hardness of leaves increased only in 30 day-old-plant. While in *M. alba* intermediate leaves had higher leaf area; and, 90 day-old-plant had higher thickness and hardness. Leaf area and dry weight were higher in 60 and 30 day-old-plants, respectively. In *T. diversifolia* intermediate leaves showed higher dry weight and leaf thickness, 30 day-old-plant had higher leaf area and leaf dry weight; and, 90 day-old-plant had higher leaf thickness. In addition, we found negative relationships between young leaves with leaf thickness, leaf hardness, and leaf dry weight. Defoliation showed positive relationships with SLA and leaf hardness, and negative ones with leaf thickness, leaf dry weight, leaf asymmetry, and leaf area.

We underline, the importance of carrying out research that contributes to the understanding of the interrelationships between leaf structure, its function, and its relationships of morphological traits of plant resistance and tolerance in tropical forage plant species of high economic and ecological importance.

**Keywords:** Fluctuating asymmetry, Leaf damage, Phenology, Yucatan.

## INTRODUCCIÓN

Las plantas pueden responder a cambios abióticos tales como la perturbación climática y bióticos como la defoliación, estos pueden expresarse en atributos químicos, fisiológicos y morfológicos acorde a su plasticidad fenotípica (Stotz *et al.*, 2021), la cual ha sido reconocida como una estrategia importante en plantas, que maximizan o mantienen su adecuación ante estos cambios (Ramos y Schiestl, 2020). Algunas de las características que influyen en la adecuación son las condiciones de crecimiento, la defoliación, la composición química, la morfología foliar (Caruso *et al.*, 2020), además que pueden variar con la edad, haciendo que los individuos en ciertas circunstancias se vuelvan más resistentes a la herbivoría a lo largo de su vida (Boege y Marquis, 2005; Rusman *et al.*, 2020).

En diferentes estudios se ha observado que los herbívoros tienen la capacidad de buscar y seleccionar su alimento, mostrando diferentes grados de preferencia que dependen de características presentes tanto en la planta hospedera como en el ambiente en que se encuentra (Herrera y Pellmyr, 2002). De este modo, hojas más jóvenes son más consumidas por los herbívoros, ya que representan un recurso más nutritivo y presumiblemente no están tan defendidas por sustancias químicas, especialmente por los compuestos que reducen su digestibilidad y, por tanto, son preferidas por los herbívoros ante hojas viejas con mayor resistencia por la acumulación de compuestos estructurales (Turner, 2001; Rusman *et al.*, 2020). Por lo tanto, variaciones en la morfología y en el tamaño de las hojas acorde a la disponibilidad de humedad y temperatura, representan un ajuste morfo-fisiológico en las plantas que puede involucrar plasticidad fenotípica, diferenciación genética o ambos fenómenos, en respuesta a resistencia a los cambios ambientales (Uribe *et al.*, 2008).

Aunado a esto, la defoliación causada por los insectos herbívoros ejerce también una especie de presión de selección natural, que permite que las plantas desarrollen constantemente estrategias de defensa contra herbívoros en un proceso interactivo y coevolutivo a largo plazo (Gong y Zhang 2014). Algunas características foliares como el grosor, dureza, área, peso seco, y área foliar específica (SLA, specific leaf area) son rasgos funcionales ampliamente usados como características de resistencia y tolerancia a insectos herbívoros (Gong y Zhang, 2014). Incluso el grosor y la dureza muestran una correlación negativa con la defoliación (Boege *et al.*, 2011). La asimetría fluctuante es una característica foliar que se destaca, ya que puede usarse para medir patrones de inestabilidad en el desarrollo de individuos (Díaz *et al.*, 2004), en términos

prácticos representa la variación aleatoria en caracteres bilateralmente simétricos. Motivo por el cual ha sido usada para correlacionarla con la defoliación causada por insectos (Cuevas-Reyes *et al.*, 2018), sugiriendo que plantas con hojas más asimétricas tendrán mayor daño que aquellas con hojas simétricas, consecuencia de una combinación en la calidad nutricional y metabolismo secundario (Koslov *et al.*, 2018).

Las plantas forrajeras en especial son un grupo que se ha caracterizado por recibir repetida defoliación por insectos herbívoros en sus hojas y a que generalmente presentan altas tasas de crecimiento (Lee, 2018; Onoda *et al.*, 2017). Un mejor conocimiento sobre la influencia de las características morfológicas en la defoliación en plantas forrajeras puede ayudar en la elección de especies con rasgos defensivos intrínsecos que conlleven a reducciones claras en los daños causados por insectos defoliadores (Silva *et al.*, 2017). En virtud de lo anterior, hipotetizamos que las especies forrajeras evaluadas en el presente estudio, tendrán mayor probabilidad de compensar el daño causado por la herbivoría de insectos, debido a su adaptación a la defoliación natural y artificial (Lee, 2018) que les confiere una alta plasticidad fenotípica y tentativamente altas tasas de crecimiento (Noda *et al.*, 2007; Noguera-Talavera *et al.*, 2014; Mejía-Díaz *et al.*, 2017).

En forma novedosa, creemos que las características foliares tendrán un papel importante en estas respuestas de tolerancia hacia la herbivoría por insectos, todo ello basado a la luz de la literatura de la ecología vegetal de las selvas tropicales, ya que, a nuestro conocimiento, no hay información para estas especies forrajeras. El objetivo del estudio fue evaluar la influencia de la edad de las plantas y de las hojas, sobre las características foliares, y a su vez, la relación con la defoliación causada por insectos herbívoros en tres especies forrajeras en zonas tropicales. El estudio se realizó durante el periodo de establecimiento de un banco de biomasa de tres especies forrajeras, *Tithonia diversifolia* (Helms) A. Gray, *Morus alba* L. y *Moringa oleifera* Lam.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Sistemas de estudio

El trabajo se realizó en la Unidad de Producción e Investigación Agrícola y Pecuaria del Tecnológico Nacional de México/Campus Conkal, Yucatán, México, (21° 05' N y 89° 32' W) durante los meses de octubre, noviembre y diciembre. Se eligió esta temporada debido a que es la época de mayor humedad en la región, factor relacionado a la presencia de insectos. La península de Yucatán tiene un

clima tropical subhúmedo con tres estaciones durante el año: la temporada de lluvias (julio-octubre) se caracteriza por una precipitación abundante ( $> 60$  mm por mes), con la precipitación más alta ( $> 200$  mm) en septiembre; la temporada de vientos del norte (noviembre-febrero) tiene una precipitación moderada ( $<60$  mm por mes) con lluvias o lloviznas breves; y en la estación seca (marzo-junio) la precipitación es  $<16$  mm por mes (González *et al.*, 2015). Se usaron tres especies como modelos de estudio: *Tithonia diversifolia*, *Moringa oleifera* y *Morus alba*. En el caso de *T. diversifolia* se caracteriza por ser una especie de rápido crecimiento, con una eficiente depuración de nutrientes del suelo, abundante producción de hojas y rápida descomposición que permite la rehabilitación del suelo en un período corto de barbecho (Murgueitio *et al.*, 2015). En cuanto a *M. oleifera*, se caracteriza principalmente por sus características nutricionales y un alto rendimiento en producción de biomasa fresca (Puentes, 2014). Asimismo, *M. alba* es una especie que se ha usado para el consumo humano y como forraje, posee gran adaptación agroecológica y elevada capacidad para producir biomasa, además de presentar una composición química en su follaje de gran valor nutricional para la alimentación de animales (Medugu *et al.*, 2012).

### Registro de datos

Se seleccionaron diez plantas ubicadas a una distancia de 0,50 m entre cada planta y 2,50 m entre cada surco, en cada una de las plantas seleccionadas se eligieron tres hojas de edades diferentes: joven (primera hoja apical totalmente expandida del ápice), intermedia (hoja a la mitad de la altura total) y vieja (hoja ubicada en la ramificación más baja). De cada hoja se registraron los siguientes datos: área foliar (mm), dureza ( $g\ cm^{-2}$ ), grosor (mm), peso seco (g), área foliar específica (SLA,  $cm^2\ g^{-1}$ ). Los datos se registraron cada 30 días por tres meses.

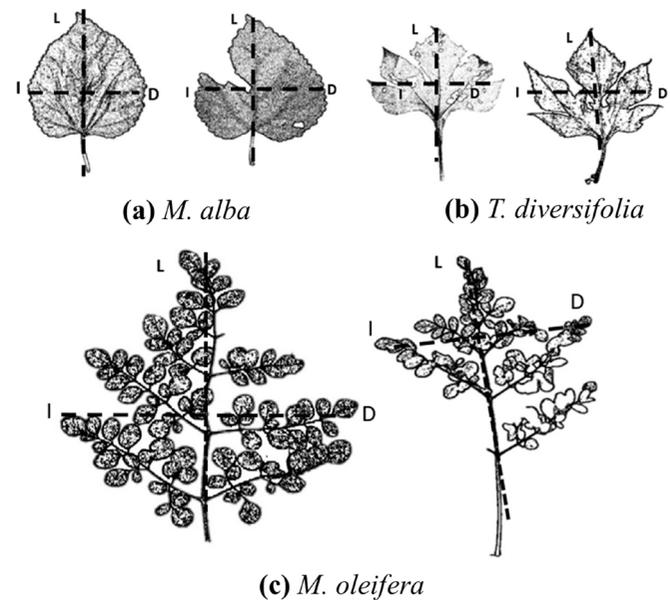
Para la medición del área foliar ( $cm^2$ ), se fotografiaron las hojas completamente extendidas, en cada foto se incluyó una regla a lado de las hojas a modo de referencia; posteriormente las fotos se analizaron a través del software (ImageJ 1.8.0). Para la dureza ( $g\ cm^{-2}$ ), se tomó un fragmento de cada hoja, y se colocaron en un penetrómetro portátil (AMS, modelo 59032 OSHA, EUA) para medir la fuerza necesaria para romper el limbo de la hoja. Se excluyeron al momento de medir las hojas la nervadura central, ya que, debido a la alta concentración de fibras de sustentación y vasos conductores, estas áreas son más resistente que el limbo foliar. En el caso de grosor de la hoja se registraron los datos de las hojas con ayuda de un micrómetro digital (Mitutoyo, modelo H-2780, Japón).

Una vez obtenido el material fresco se sometieron las hojas a un proceso de secado a  $60\ ^\circ C$  de 72 a 96 horas hasta alcanzar un peso constante, para determinar el peso seco foliar. También, se determinó el área foliar

específica (specific leaf area, SLA  $cm^2\ g^{-1}$ ) dividiendo la masa (g) entre el área ( $cm^2$ ) de cada una de las muestras. Para estimar la asimetría foliar (AF), se usó la asimetría absoluta en vez de la asimetría fluctuante debido al bajo número de hojas por muestreo. Para ello, se restó el ancho izquierdo (LW) menos el derecho (RW) y se utilizó el valor absoluto del resultado de la resta. A pesar de ello, el valor absoluto es un buen estimador de la varianza de la asimetría fluctuante entre hojas, asumiendo que no hay asimetría direccional (consistentemente mayor izquierda o derecha) o anti-simetría (falta constante de simetría, pero en ninguna dirección particular). Para minimizar el error de medición en la asimetría fluctuante (Palmer, 1996), se realizó una reevaluación del 10 % de todas las hojas recogidas 10 días después de las primeras mediciones y las dos mediciones se correlacionaron utilizando un índice de repetibilidad (Falconer, 1981). Finalmente, para cuantificar la defoliación por los herbívoros se siguió la clasificación de Dirzo y Domínguez (1995), se determinaron seis clases de proporción de defoliación: (0) ausencia de defoliación; (1) 1 a 6 % de defoliación; (2) 7 a 12 %; (3) 13 a 25 %; (4) 26 a 50 %; (5) 51 a 100 %.

### Análisis estadístico

Se analizaron las características foliares de manera interespecífica a través de modelos lineales generalizados GLM con una distribución normal y función de enlace identidad, considerando como factor de variación las tres



**Figura 1.** (a) *Morus alba*, (b) *Tithonia diversifolia* y (c) *Moringa oleifera* representación esquemática de las hojas usadas para medir asimetría fluctuante, y SLA, mostrando hojas dañadas y hojas completas I (Izquierda) D (Derecha) L (Longitud).

especies, con corrección para comparación de pruebas por pares de Bonferroni (Moran, 2003).

Para las diferencias intraespecíficas, se analizaron todas las variables de cada especie y su cambio en las edades, bajo una estructura factorial en donde la edad de la planta (30, 60 y 90 días) y edad de la hoja (hoja joven, intermedia y vieja) fungieron como factores. Para todas las características foliares (variables dependientes) se usaron modelos probabilísticos Normal con una función de enlace Identidad. Posteriormente, se realizaron comparaciones pareadas de las medias con una prueba de Bonferroni. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico SPSS 16 para Windows.

Para evaluar las relaciones entre las características foliares con las edades de las plantas, de las hojas, las especies forrajeras estudiadas y la defoliación, se realizó un análisis de redundancia (RDA, redundancy analysis) (Legendre y Legendre, 1998). Previo al RDA, se calculó la longitud de gradiente de la matriz de las características foliares, para ello se usó un Análisis de Correspondencia Distendido (DCA, Detrended Correspondence Analysis) (Hill, 1979). La significancia estadística de cada característica foliar y de los cuatro ejes, se examinó a través de un procedimiento de selección hacia adelante usando las pruebas de permutaciones aleatorias de Monte Carlo (499 permutaciones,  $p < 0.05$ ). Estos análisis se realizaron con el software Canoco 4.5.

## RESULTADOS

En general, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las características foliares tanto inter como intraespecíficas en las tres especies forrajeras (Cuadro 1). Entre especies, se encontró que *M. oleifera* presentó hojas con mayor área ( $gl=2$ ,  $Chi^2$  Wald=17.390,  $p=0,000$ ), peso seco ( $gl=2$ ,  $Chi^2$  Wald=41,664,  $p=0,000$ ), FA ( $gl=2$ ,  $Chi^2$  Wald=31,385,  $p=0,000$ ) y grosor ( $gl=2$ ,  $Chi^2$  Wald= 16,209,  $p=0,002$ ), mientras que *M. alba* y *T. diversifolia* tuvieron menores valores y similares entre ellas (Fig. 2a, b, d, e). En forma opuesta, la dureza mostró diferencias estadísticamente significativas entre las tres especies ( $gl=2$ ,  $Chi^2$  Wald=21,52,  $p=0,000$ ), siendo mayor en *M. alba* seguida de *M. oleifera* y *T. diversifolia* (Fig. 2f). Asimismo, el SLA fue estadísticamente mayor en forma similar en *M. alba* y *T. diversifolia*, pero menor en *M. oleifera* ( $gl=2$ ,  $Chi^2$  Wald=9,912,  $p=0,007$ ) (Fig. 2c).

Cuando se analizaron las diferencias intraespecíficas, se encontró que en el caso de *M. oleifera*, se presentaron dos interacciones significativas edad planta  $\times$  edad hoja y fueron para las características de dureza y grosor foliar (Cuadro 1). En esta especie, no hubo variaciones en el área foliar por la edad de la hoja, pero sí por la edad de la planta, ya que los individuos de 30 días tuvieron mayor área foliar. Para la dureza, se encontró que las hojas con valores más altos fueron las jóvenes y en plantas con 30 días de edad. En contraste, el grosor fue mucho mayor en hojas intermedias

y viejas. El peso seco, SLA y asimetría foliar no presentaron diferencias significativas en ningún caso (Cuadro 1). Para *M. alba*, se registró sólo en el SLA una interacción significativa para edad planta  $\times$  edad hoja. El área foliar fue mayor en las hojas intermedias y viejas, así como en las plantas con 60 y 90 días de edad. En tanto, la dureza, grosor, peso seco y SLA sólo mostraron cambios significativos por la edad de la planta. La dureza, grosor y SLA fueron mayores en las plantas de 60 y 90 días de edad; a diferencia del peso seco que fue mayor en las plantas de 30 días de edad. En *T. diversifolia* también se registró sólo una interacción significativa en edad planta  $\times$  edad hoja, en este caso fue en la característica de grosor foliar. Para la edad de la hoja solo se encontraron incrementos significativos en el grosor y peso seco, en ambos casos fue mayor en las hojas intermedias y viejas. Mientras que, para la edad de la planta, el área foliar y el peso seco fueron mayores en las plantas con 30 días de edad. A diferencia del grosor que fue mayor en las plantas con 90 días de edad (Cuadro 1).

Cuando se analizó la defoliación, se encontró que la interacción entre los factores edad planta  $\times$  edad hoja fue marginalmente significativa en *M. oleifera* ( $gl=26$ ,  $Chi^2$  Wald= 6,08,  $p= 0,083$ ). De manera independiente el factor edad de hoja mostró diferencias significativas en las tres especies, *M. oleifera*, *M. alba* y *T. diversifolia* ( $gl= 2$ ,  $Chi^2$  Wald= 22,65,  $p= 0,0$ ), presentando mayor defoliación las hojas viejas e intermedias. También, el factor edad de la planta presentó diferencias significativas, pero solo en dos especies, *T. diversifolia* y *M. alba* ( $gl= 2$ ,  $Chi^2$  Wald = 23,351  $p= 0,013$ ); en ambas especies la defoliación fue mayor en plantas con 60 días de edad. Por su parte, *M. oleifera* no mostró cambios en la defoliación en ningún caso.

## Relaciones de las características foliares

Se analizaron las relaciones entre las características foliares con las edades de las plantas, de las hojas, las especies forrajeras estudiadas y la defoliación. El RDA mostró una estrecha separación, pero estadísticamente significativa sobre los ejes (Tabla 2), y, además, que los análisis de las permutaciones de Monte Carlo fueron significativos para la mayoría de las variables (Tabla 2). Las tres especies forrajeras *M. oleifera* ( $F=36,01$ ,  $p=0,002$ ), *M. alba* ( $F= 17,13$ ,  $p=0,002$ ) y *T. diversifolia* ( $F= 10,8$ ,  $p=0,002$ ) mostraron influencias significativas en el análisis RDA (Fig. 3). *M. oleifera* se asoció positivamente con el grosor, peso seco, asimetría foliar y el área foliar, pero negativamente con la dureza y el SLA. Por su parte, *M. alba* se relacionó en forma positiva con la dureza y negativamente con la asimetría fluctuante. Las otras características foliares no presentaron una tendencia marcada. *T. diversifolia* solo estuvo asociada a hojas con menor grosor y dureza (Fig. 3). Las edades de las plantas también influenciaron significativamente a las características foliares, 30 días ( $F= 11,37$ ,  $p=0,002$ ), 60 días ( $F= 3,69$ ,  $p=0,002$ ) y 90 días ( $F= 2,95$ ,  $p=0,02$ ) y de

Tabla 1. Efecto de la edad de hoja, edad de la planta y especie sobre área foliar, peso seco, dureza, grosor SLA y AF (media ± e.e).

Especie	Efecto	Área foliar (cm <sup>2</sup> )	Chi <sup>2</sup> de Wald	Peso Seco (g)	Chi <sup>2</sup> de Wald	SLA (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	Chi <sup>2</sup> de Wald	AF (mm)	Chi <sup>2</sup> de Wald	Grosor (mm)	Chi <sup>2</sup> de Wald	Dureza (g cm <sup>-2</sup> )	Chi <sup>2</sup> de Wald						
<i>M. oleifera</i>																			
<b>Edad Hoja</b>																			
	Joven	158,51 ± 14,54	a	0,815 n/s	1,20 ± 0,143	a	2,49 n/s	173,56 ± 20,35	a	1,47 n/s	2,017 ± 1,749	a	1,016	0,18 ± 0,027	b	16,09***	0,34 ± 0,010	a	8,71*
	Intermedia	173,33 ± 16,16	a	1,31 ± 0,188	a	209,62 ± 38,41	a	1,639 ± 1,898	a	0,10 ± 2,064	a	0,29 ± 0,013	b	0,10 ± 2,064	a	0,29 ± 0,013	b	0,29 ± 0,013	b
	Vieja	153,56 ± 16,28	a	0,95 ± 0,153	a	206,20 ± 21,23	a	1,639 ± 1,503	a	0,14 ± 1,713	a	0,30 ± 0,014	b	0,14 ± 1,713	a	0,30 ± 0,014	b	0,30 ± 0,014	b
	Edad planta																		
	30	188,74 ± 15,68	a	4,7*	1,59 ± 0,230	a	8,54 n/s	193,65 ± 39,36	a	3,13 n/s	1,696 ± 1,754	a	2,173	0,29 ± 2,68	a	22,73***	0,39 ± 0,019	a	47,51***
	60	148,41 ± 18,85	b	0,82 ± 0,133	b	222,71 ± 23,60	a	1,713 ± 1,656	a	0,18 ± 0,27	b	0,25 ± 0,008	c	0,18 ± 0,27	b	0,25 ± 0,008	c	0,25 ± 0,008	c
	90	148,26 ± 11,68	b	1,06 ± 0,092	b	173,03 ± 15,31	a	2,239 ± 1,732	a	0,15 ± 0,06	b	0,28 ± 0,006	b	0,15 ± 0,06	b	0,28 ± 0,006	b	0,28 ± 0,006	b
	E PL*EH			3,359 n/s						5,22 n/s				9,466		25,48***			9,17*
<i>M. alba</i>																			
<b>Edad Hoja</b>																			
	Joven	105,08 ± 6,79	b	7,395*	0,38 ± 0,051	a	4,43 n/s	417,25 ± 67,27	a	3,93 n/s	0,564 ± 0,436	a	2,196	0,17 ± 0,009	a	2,57 n/s	0,37 ± 0,017	a	0,931 n/s
	Intermedia	137,50 ± 11,31	a	0,45 ± 0,053	a	435,61 ± 77,45	a	0,704 ± 0,615	a	0,19 ± 0,019	a	0,38 ± 0,018	a	0,19 ± 0,019	a	0,38 ± 0,018	a	0,38 ± 0,018	a
	Vieja	122,39 ± 8,47	ab	0,54 ± 0,065	a	296,42 ± 35,83	a	0,53 ± 0,433	a	0,19 ± 0,009	a	0,39 ± 0,019	a	0,19 ± 0,009	a	0,39 ± 0,019	a	0,39 ± 0,019	a
	Edad planta																		
	30	102,81 ± 6,40	b	7,86*	0,54 ± 0,049	a	6,40*	221,82 ± 19,55	b	13,41**	0,56 ± 0,419	a	0,483	0,14 ± 0,007	a	40,79***	0,35 ± 0,016	b	6,36*
	60	134,79 ± 10,89	a	0,47 ± 0,075	ab	456,64 ± 78,84	a	0,593 ± 0,552	a	0,18 ± 0,004	a	0,38 ± 0,019	ab	0,18 ± 0,004	a	0,38 ± 0,019	ab	0,38 ± 0,019	ab
	90	127,38 ± 9,22	ab	0,35 ± 0,038	b	470,83 ± 65,23	a	0,646 ± 0,537	a	0,21 ± 0,011	a	0,41 ± 0,017	a	0,21 ± 0,011	a	0,41 ± 0,017	a	0,41 ± 0,017	a
	E PL*EH			2,366 n/s						14,05**				7,579		1,466 n/s			7,31 n/s
<i>T. diversifolia</i>																			
<b>Edad Hoja</b>																			
	Joven	110,43 ± 16,883	a	3,93 n/s	0,37 ± 0,027	b	7,83*	334,73 ± 49,07	a	0,88 n/s	0,885 ± 1,137	a	1,640	0,17 ± 0,006	b	4,84*	0,30 ± 0,017	a	2,1 n/s
	Intermedia	150,18 ± 15,961	a	0,55 ± 0,545	a	328,70 ± 41,76	a	0,742 ± 0,615	a	0,19 ± 0,006	a	0,27 ± 0,012	a	0,19 ± 0,006	a	0,27 ± 0,012	a	0,27 ± 0,012	a
	Vieja	115,52 ± 17,682	a	0,42 ± 0,061	ab	398,55 ± 84,24	a	0,634 ± 0,447	a	0,18 ± 0,006	ab	0,29 ± 0,004	a	0,18 ± 0,006	ab	0,29 ± 0,004	a	0,29 ± 0,004	a
	Edad planta																		
	30	160,55 ± 17,635	a	11,64**	0,55 ± 0,060	a	7,98*	437,52 ± 89,13	a	4,44 n/s	0,647 ± 0,555	a	4,131	0,17 ± 0,005	b	10,85**	0,29 ± 0,015	a	1,54 n/s
	60	86,46 ± 11,880	b	0,39 ± 0,044	b	264,57 ± 27,42	a	0,63 ± 0,422	a	0,18 ± 0,006	ab	0,29 ± 0,011	a	0,18 ± 0,006	ab	0,29 ± 0,011	a	0,29 ± 0,011	a
	90	129,11 ± 18,365	ab	0,39 ± 0,042	b	359,89 ± 46,22	a	0,984 ± 0,245	a	0,19 ± 0,007	a	0,27 ± 0,009	a	0,19 ± 0,007	a	0,27 ± 0,009	a	0,27 ± 0,009	a
	E PL*EH			2,43 n/s						2,26 n/s				3,050		9,66*			6,88 n/s

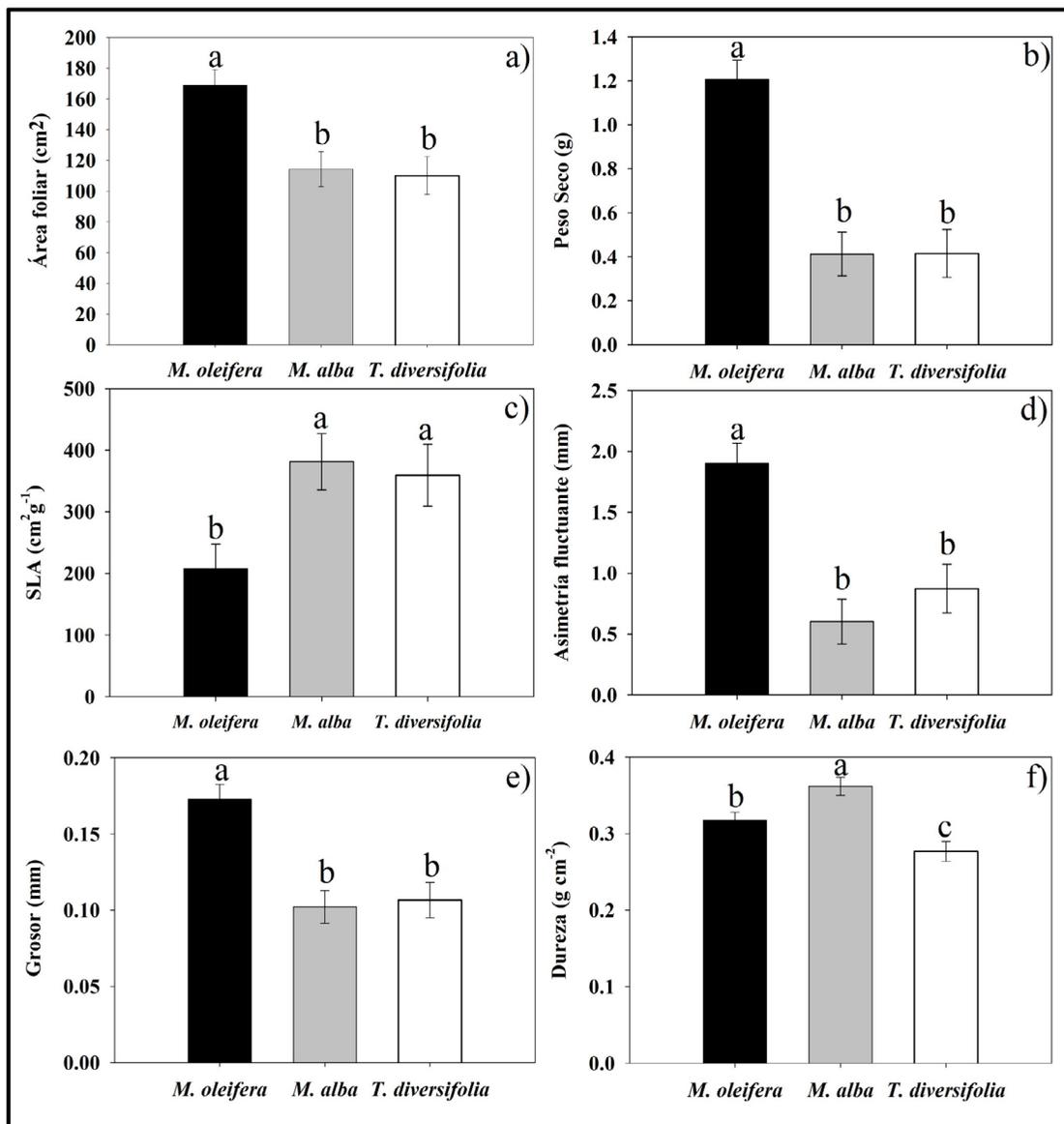
\*\*\* = < 0,001; \*\* = < 0,005; \* = < 0,05. Ps = parcialmente significativo a 0,006 - 0,07; n/s = estadísticamente no significativo

manera significativa entre especies. Por ejemplo, a los 30 días se encontraron asociaciones positivas con el grosor, la dureza y el peso seco, pero negativas a los 60 y 90 días. En forma interesante, el SLA, área foliar y asimetría foliar fueron constantes a lo largo del ciclo de crecimiento vegetal (Fig. 3). Para la edad foliar, se observó que solo las hojas jóvenes mostraron efectos significativos ( $F=2,56$ ,  $p=0,03$ ). Las hojas viejas no tuvieron ninguna influencia significativa en la ordenación de las características foliares. Las hojas jóvenes presentaron relaciones negativas con el grosor, la dureza y el peso seco. Las hojas de mediana edad, aunque con resultados marginalmente significativos ( $F=2,02$ ,

$p=0,08$ ), tuvieron asociaciones positivas con el grosor, el peso seco, asimetría foliar y el área foliar, pero negativas con la dureza y el SLA. La defoliación también con resultados marginalmente significativos ( $F=1,92$ ,  $p=0,09$ ), presentó asociaciones positivas con el SLA y la dureza; y negativas con el grosor, el peso seco, asimetría foliar y el área foliar (Fig. 3).

## DISCUSIÓN

El presente estudio se enfocó en el efecto de la edad de las plantas y de las hojas sobre las características foliares de tres especies forrajeras y su asociación con el grado



**Figura 2.** Características morfológicas foliares en *M. oleifera*, *M. alba* y *T. diversifolia*. **a)** Área foliar, **b)** Peso seco, **c)** Área foliar específica (SLA), **d)** Asimetría fluctuante **e)** Grosor, **f)** Dureza. Diferentes literales indican diferencia estadística significativa (Bonferroni < 0,005).

**Tabla 2.** Valores propios y resultados de los análisis de Monte Carlo para un Análisis de Redundancia (RDA) de las características foliares asociadas a variables independientes como edades de las plantas, edades de las hojas, las especies forrajeras estudiadas y la defoliación (%).

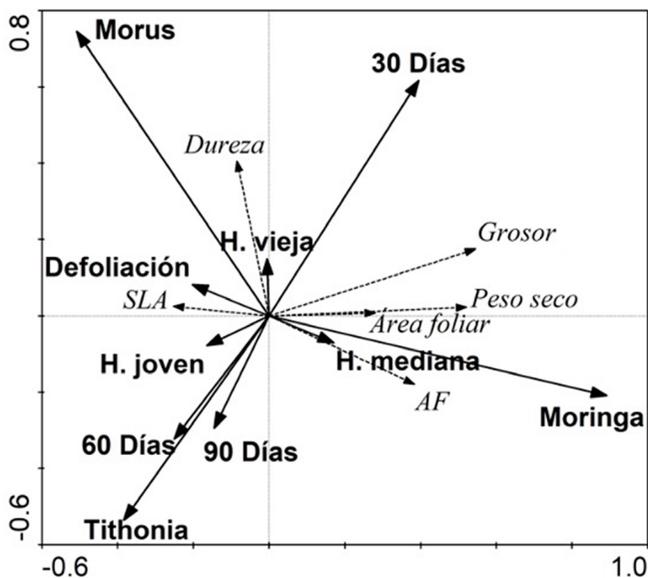
Ejes	1	2	3	4
Valores propios:	0,144	0,038	0,017	0,004
Correlaciones de las características foliares-variables independientes:	0,684	0,467	0,350	0,131
Varianza acumulada de las características foliares (%):	14,4	18,3	19,9	20,3
Varianza acumulada de las características foliares-variables independientes:	70,7	89,4	97,6	99,6
<b>Significancia del primer eje canónico:</b>	F = 44,23		p = 0,002	
<b>Significancia de todos los ejes canónicos:</b>	F = 9,6		p = 0,002	

de defoliación por insectos herbívoros. Se hipotetizó que las especies forrajeras tendrían mayor probabilidad de compensar el daño causado por la herbivoría de insectos, debido a su adaptación a la defoliación natural y artificial que les confiere una alta plasticidad fenotípica, y a que poseen altas tasas de crecimiento. Se encontró evidencia

de que el ajuste de las características foliares beneficia a los mecanismos de resistencia (dureza foliar) y tolerancia (crecimiento compensatorio relacionado al SLA), resultados que son sustentados por la hipótesis de la compensación continua de Maschinski y Whitham (1989). Se observó que las hojas jóvenes presentaron rasgos de resistencia como mayor grosor y dureza foliar. Lo cual coincide con lo reportado para especies de selvas tropicales, que tienen un metabolismo, con alta capacidad fotosintética y metabolismo de nitrógeno elevado, de modo que la planta puede asignar más nutrientes y recursos de defensa hacia las hojas jóvenes, de mayor susceptibilidad a la defoliación (Larcher, 2006). Los resultados anteriores también fueron consistentes con el menor porcentaje de defoliación encontrado en las hojas jóvenes, esto puede ser explicado por la acumulación de hormonas, metabolitos de defensa y calidad nutricional que tienden a decaer con la edad de la hoja y de la planta; lo cual interviene directamente en el proceso de selección del tejido vegetal del cual se van a alimentar los herbívoros (Gaquerel y Stitz, 2017).

Existe una vasta literatura que expone la influencia de la edad vegetal y foliar en las características foliares y defoliación en especies que habitan naturalmente las selvas tropicales (Muiruri *et al.*, 2019). Aunque para el caso de especies forrajeras, los reportes son principalmente respecto al efecto de los rayos UV, sexo, (Chen *et al.*, 2016), altitud geográfica (Bajpai *et al.*, 2015), contaminación industrial (Dineva, 2017), ubicación geográfica, temperatura y su estatus nativo o introducido (Tecco *et al.*, 2012); y muy pocos sobre los factores de edad evaluados aquí (Abdulkadir *et al.*, 2015). Aunque habría que considerar que tanto *M. alba* como *M. oleifera* se consideran especies introducidas con una importante adaptabilidad y de mejores habilidades competitivas que las especies nativas (Divíšek *et al.*, 2018), lo cual podría impactar positivamente su aptitud individual (Cuevas-Reyes *et al.*, 2018).

Las respuestas en los mecanismos de resistencia y tolerancia son complejas debido a que varían entre especies, tejidos vegetales y estado de desarrollo de la planta (Meihls *et al.*, 2012). Se ha reportado que las características morfológicas foliares de cada especie pueden variar debido a que no necesariamente comparten una equivalencia funcional y estructural exacta entre ellas (Vernescu y Ryser, 2009). Nuestros resultados presentan evidencia de ello, ya que se observaron características foliares marcadas principalmente en *M. oleifera*, tanto al inicio del estudio (lluvias) como al final (nortes). Por ejemplo, esta especie tuvo mayor área foliar, grosor y peso seco; lo que es consistente con lo reportado por Baatar (2008), que encontró que *M. oleifera* puede maximizar su producción de peso seco en época de lluvias, lo cual sugiere una respuesta eficiente a esas condiciones ambientales y una correlación positiva con las lluvias, independientemente del tipo de vegetación en que se asocia (Fuglie, 2000). Aunque también, se ha reportado que *M. oleifera* tiene una alta capacidad de adaptarse



**Figura 3.** Análisis de redundancia (RDA) de las relaciones entre las características foliares asociadas a edad de la planta, edad de las hojas, las especies forrajeras estudiadas y la defoliación (%).

a condiciones limitadas de agua, debido a su sistema radicular pivotante engrosado (Casanova *et al.*, 2018).

En la asimetría foliar se encontró una marcada diferenciación entre especies, siendo *M. oleifera* la especie con hojas más asimétricas. Es posible que estas respuestas sean el resultado que *M. oleifera* al ser una especie caracterizada por una alta variabilidad interanual e intertemporal (Singh y Mal, 2014), ha desarrollado una plasticidad en sus rasgos adaptativos, lo cual contribuye a la aptitud y supervivencia de sus poblaciones (Gianoli y González *et al.*, 2005). Incluso, Ndubuku *et al.* (2014) establecen a esta especie como un cultivo adecuado para el cambio climático, dada su alto nivel de adaptabilidad y valores nutricionales, medicinales, agrícolas, domésticos e industriales, a pesar de estar sometida a altos niveles de estrés. En forma opuesta, *M. alba* presentó hojas más duras, a pesar que estudios como el de Vijayan *et al.*, (2006) han encontrado que dentro del género *Morus* esta especie presenta los rangos más bajos de dureza foliar. Es posible que esta dureza foliar en *M. alba* sea atribuible a deposiciones de cristales de calcio que llenan las vacuolas de idioblastos y estos en sí, seleccionar para atributos que beneficie a los mecanismos de defensa (Dineva, 2017). Asimismo, entre las tres especies forrajeras estudiadas, *M. alba* junto con *T. diversifolia* mostraron los valores más altos de SLA, característica foliar que ha sido relacionada a especies de rápido crecimiento (Lamers *et al.*, 2006), lo que les permiten un pronto uso de los nutrimentos en ciclos más cortos (Westoby *et al.*, 2002).

Cuando se analizó la relación entre las características foliares con la defoliación, se encontraron resultados divergentes. Por un lado, se encontraron relaciones negativas de la defoliación con el grosor de la hoja (medida relacionada indirectamente con la biomasa foliar por área, LMA leaf mass area) (Ballina-Gómez *et al.*, 2010), biomasa (producto de un crecimiento subcompensatorio) (Ballina-Gómez *et al.*, 2008), asimetría fluctuante (aquí medida como la asimetría foliar) y el área foliar (Hosseini *et al.*, 2018). En el caso del grosor, se ha explicado que su incremento puede ser causado por el mayor volumen de las células del mesófilo y los espacios aéreos que hay entre ellos (Sperlich *et al.*, 2015). Respecto a la disminución del peso seco y área foliar causada por la defoliación se ha sugerido que puede ser debido a la existencia de un crecimiento subcompensatorio del follaje en especies forrajeras (Ballina-Gómez *et al.*, 2008), lo cual es posible sea producido por una reducción del cociente C:N resultado de una disminución de la ganancia de carbono en la fotosíntesis (Palacio *et al.*, 2012). Por otro lado, es posible que la relación negativa de la asimetría foliar y la defoliación haya sido dirigida por una disminución de la resistencia como resultado del estrés de la planta causado por la herbivoría (Moller, 1995).

En forma sorprendente, la dureza foliar se relacionó positivamente con la defoliación, que generalmente tiene un impacto negativo en la defoliación, ya que a menudo se utiliza como indicador funcional de defensa física foliar (Lusk *et al.*, 2008). Creemos que, aunque las hojas presentan un fuerte incremento en la dureza en la fase de maduración, este constante desarrollo de la dureza, podría causar restricciones anatómicas que evitarían la esclerificación celular durante la fase de expansión, haciendo que las hojas jóvenes sean vulnerables al daño por defoliación (Barton *et al.*, 2019). También, se encontró que el SLA tuvo una relación positiva con la defoliación, esto estaría sugiriendo una respuesta compensatoria (Maschinski y Whitham, 1989; McNickle y Evans, 2018). El cual establece que las plantas tendrán mayor probabilidad de compensar el daño por la herbivoría conforme hayan más recursos, como es el caso de las especies de rápido crecimiento que habitan generalmente sitios sin limitación de recursos (Ballina-Gómez *et al.*, 2010; Carrillo-Herrera *et al.*, 2021) como el sitio del presente estudio (Ruiz-Santiago *et al.*, 2021) pero sometidas a mayores niveles de herbivoría (Schulze *et al.*, 2005), siendo que la alta disponibilidad de luz y un contenido de nitrógeno foliar óptimo, les daría a las plantas la capacidad de incrementar su capacidad fotosintética (Marron *et al.*, 2007).

Aunque en forma opuesta, el modelo de la tasa de crecimiento (Hilbert *et al.*, 1981) menciona que las especies de rápido crecimiento son las que tendrán menores posibilidades de compensar el daño por la herbivoría, debido a que su crecimiento intrínseco se encuentra muy cerca de su umbral y, por tanto, su incremento sería mínimo; no así, las especies de lento crecimiento, creciendo lejos de su umbral. El presente estudio muestra que las plantas forrajeras, similar a las plantas de selvas tropicales, despliegan diferentes estrategias para lidiar con la defoliación causada por insectos, entre ellas la plasticidad fenotípica mediante la cual logran ajustar algunas características como la dureza y el SLA, que le confieren resistencia (aumento de la dureza foliar) y tolerancia al daño (crecimiento compensatorio) (Barton, 2008).

## CONCLUSIONES

El presente estudio contribuye en forma novedosa al entendimiento de las interrelaciones entre la estructura de la hoja, su función y sus relaciones con la expresión de los rasgos morfológicos de resistencia (defensa) y tolerancia en especies forrajeras tropicales de alta importancia económica y ecológica.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado parcialmente por el Tecnológico Nacional de México (proyecto no. 10510.21-P). Se agradece a Ángel C. Sierra Vásquez y José G. Escobedo Mex por el apoyo administrativo y logístico para el desarrollo del estudio.

## REFERENCIAS

- Abdulkadir, A. R., Jahan, M. S., y Zawawi, D. D. (2015). Effect of chlorophyll content and maturity on total phenolic, total flavonoid contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf (Miracle tree). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, (5), 1147-1152.
- Baatar, B. (2008). Effects of cutting height and frequency on yield in a Mongolian rangeland. *Land Restoration Training Programme*, 1-16.
- Bajpai, P. K., Warghat, A. R., Yadav, A., Kant, A., Srivastava, R. B., y Stobdan, T. (2015). High phenotypic variation in *Morus alba* L. along an altitudinal gradient in the Indian trans-Himalaya. *Journal of Mountain Science*, 12, 446-455. <https://doi.org/10.1007/s11629-013-2875-2>
- Ballina-Gómez, H. S., Vivar S. I., Orellana, R., y Santiago, L. S. (2008). Crecimiento, supervivencia y herbivoría de plántulas de *Brosimum alicastrum* (Moraceae), una especie del sotobosque neotropical. *Revista de Biología Tropical*, 56(4), 2055-2067. <https://doi.org/10.15517/rbt.v56i4.5779>
- Ballina-Gómez, H. S., Vivar, S. I., Orellana, R., y Santiago, L. S. (2010). Compensatory growth responses to defoliation and light availability in two native Mexican woody plant species. *Journal of tropical ecology*, 26(2), 163-171. <https://doi.org/10.1017/S0266467409990514>
- Barton, K. E. (2008). Phenotypic plasticity in seedling defense strategies: compensatory growth and chemical induction. *Oikos*, 117(6), 917-925. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2008.16324.x>
- Barton, K. E., Kyle, F. E., y Koricheva, J. (2019). Shifts in woody plant defence syndromes during leaf development. *Functional Ecology*, 33(11), 2095-2104. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13435>
- Boege, K., Barton, K. E., y Dirzo, R. (2011). Influence of tree ontogeny on plant-herbivore interactions. In: Meinzer F, Lachenbruch B, Dowson T, editor(s). Size- and age-related changes in tree structure and function. *Tree Physiology*, 4, 193-214. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-1242-3\\_7](https://doi.org/10.1007/978-94-007-1242-3_7)
- Boege, K., y Marquis, R. (2005). Facing herbivory as you grow up: the ontogeny of resistance in plants. *Trends in Ecology & Evolution*, 20(8), 441-448. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.05.001>
- Carrillo-Herrera, E. F., Dzib-Ek, S. A., y Ballina-Gómez, H. S. (2021). Influencia de la herbivoría y la apertura de claros sobre el crecimiento total de *Brosimum alicastrum* (Moraceae). *Acta Biológica Colombiana*, 26(2), 186-196. <https://doi.org/10.15446/abc.v26n2.83289>
- Caruso, C. M., Maherali, H., y Martin, R. A. (2020). A meta-analysis of natural selection on plant functional traits. *International Journal of Plant Sciences*, 181(1), 44-55. <https://doi.org/10.1086/706199>
- Casanova-Lugo, F., Cetzal-Ix, W., Díaz-Echeverría, V. F., Chay-Canul, A. J., Oros-Ortega, I., Piñeiro-Vázquez, A. T., y González-Valdivia, N. A. (2018). *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae): Árbol Exótico con Gran Potencial para la Ganadería Ecológica en el Trópico. *AGROProductividad*, 11(2), 100-106.
- Chen, M., Huang, Y., Liu, G., Qin, F., Yang, S., y Xu, X. (2016). Effects of enhanced UV-B radiation on morphology, physiology, biomass, leaf anatomy and ultrastructure in male and female mulberry (*Morus alba*) saplings. *Environmental and Experimental Botany*, 129, 85-93. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2016.03.006>
- Cuevas-Reyes, P., Novais-Pereira, G. C., Gelvez-Zuniga, I., Fernandes, G. W., Venancio, H., Santos, J. C., y Maldonado-Lopez, Y. (2018). Effects of ferric soils on arthropod abundance and herbivory on *Tibouchina heteromalla* (Melastomataceae): importance of fluctuating asymmetry as indicator of environmental stress? *Plant Ecology*, 219, 69-78. <https://doi.org/10.1007/s11258-017-0778-y>
- Díaz, M., Pulido, F. J., y Møller, A. P. (2004). Herbivore effects on developmental instability and fecundity of holm oaks. *Oecologia*, 139, 224-234. <https://doi.org/10.1007/s00442-004-1491-9>
- Dineva, S. (2017). Leaf Blade Structure of *Morus alba* L. and Resistance to Industrial Pollution. *eJournal of Applied Forest Ecology*, 5(2), 1-8.
- Dirzo, R., y Domínguez, C.A. (1995). Plant-herbivore interactions in Mesoamerican tropical dry forest. *Seasonally dry tropical forest*. Cambridge University Press, Cambridge, 305-325. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511753398.012>
- Divíšek, J., Chytrý, M., Beckage, B., Gotelli, N. J., Lososová, Z., Pyšek, P., y Molofsky, J. (2018). Similarity of introduced plant species to native ones facilitates naturalization, but differences enhance invasion success. *Nature communications*, 9(1), 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06995-4>
- Falconer, D. S. (1981). Introduction to quantitative genetics. *Genetics*, 167(4), 1529-1536. <https://doi.org/10.1093/genetics/167.4.1529>
- Fuglie, L. J. (2000). New Uses of Moringa studied in Nicaragua. ECHO Development.
- Gaquerel, E., y Stitz, M. (2017). Insect Resistance: An Emerging Molecular Framework Linking Plant Age and JA Signaling. *Molecular Plant*, 10(4), 537-539. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2017.02.006>
- Gianoli, E., y González, M. (2005). Environmental heterogeneity and population differentiation in plasticity

- to drought in *Convolvulus chilensis* (Convolvulaceae). *Evolutionary Ecology*, 19, 603-613. <https://doi.org/10.1007/s10682-005-2220-5>
- Gong, B., y Zhang, G. (2014). Interactions between plants and herbivores: A review of plant defense. *Ecological Society of China*, 34(6), 325-336. <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2013.07.010>
- González, M. A., Bordera, S., y González, D. H. (2015). Spatio-temporal diversity of Cryptinae (Hymenoptera, Ichneumonidae) assemblages in a protected area of southeast Mexico. *Journal of Insect Conservation*, 19, 1153-1161. <https://doi.org/10.1007/s10841-015-9830-1>
- Herrera, C. M., y Pellmyr, O. (2002). Plant-animal interactions. An evolutionary approach. *Global Ecology and Biogeography*, 12(4), 358-360.
- Hilbert, D. W., Swift, D. M., Detling, J. K., y Dyer, M. I. (1981). Relative growth rates and the grazing optimization hypothesis. *Oecologia*, 51, 14-18. <https://doi.org/10.1007/BF00344645>
- Hill, M. O. (1979). DECORANA-A FORTRAN program for detrended correspondence analysis and reciprocal averaging. *Global Ecology and Biogeography*, 12(4), 1-52.
- Hosseini, A., y Linares, J. C. (2018). Linking morphological and ecophysiological leaf traits to canopy dieback in Persian oak trees from central Zagros. *Journal of Forestry Research*, 30(5), 1755-1764. <https://doi.org/10.1007/s11676-018-0805-4>
- Koslov, M. V., Zverev, V., y Zvereva, E. L. (2018). Do defoliating insects distinguish between symmetric and asymmetric leaves within a plant? *Ecological Entomology*, 43(5), 656-664. <https://doi.org/10.1111/een.12642>
- Lamers, J. P. A., Khamzina, A., y Worbes, M. (2006). The analyses of physiological and morphological attributes of 10 tree species for early determination of their suitability to afforest degraded landscapes in the Aral Sea Basin of Uzbekistan. *Forest Ecology and Management*, 221(3), 249-259. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2005.10.022>
- Larcher, W. (2006). Ecofisiología vegetal. *RiMa, São Carlo*, (5), 525-550.
- Lee, M. A. (2018). A global comparison of the nutritive values of forage plants grown in contrasting environments. *Journal of plant research*, 131(4), 641-654. <https://doi.org/10.1007/s10265-018-1024-y>
- Legendre, P., y Legendre, L. (1998). Numerical ecology 2<sup>nd</sup> Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 852.
- Lusk, C. H., Reich, P. B., Montgomery, R. A., y Ackerly, D. D. (2008). Cavender-Bares J. Why are evergreen leaves so contrary about shade? *Trends in Ecology & Evolution*, 23(6), 299-303. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2008.02.006>
- Marron, N., Dillen, S. Y., y Ceulemans R. (2007). Evaluation of leaf traits for indirect selection of high yielding poplar hybrids. *Environmental and Experimental Botany*, 61(2), 103-116. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.04.002>
- Maschinski, J., y Whitam, T. G. (1989). The continuum of plant responses to herbivory: the influence of plant association, nutrient availability and timing. *The American Naturalist*, 134(1), 1-19. <https://doi.org/10.1086/284962>
- McNickle, G. G., y Evans, W. D. (2018). Tolerant games: compensatory growth by plants in response to enemy attack is an evolutionarily stable strategy. *AoB Plants*, 10(4), 1-14. <https://doi.org/10.1093/aobpla/ply035>
- Medugu, C. I., Mohammed, G., Raji, A. O., Barwa, E., y Zhinma, A. (2012). Utilization of different forages by growing rabbits. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, 2(2), 375-381.
- Meihls, L. N., Kaur, H. L., y Jander, G. (2012). Natural Variation in Maize Defense against Insect Herbivores. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 77, 269-283. <https://doi.org/10.1101/sqb.2012.77.014662>
- Mejía-Díaz, E., Mahecha-Ledesma, L., y Angulo-Arizala, J. (2017). *Tithonia diversifolia*: especie para ramoneo en sistemas silvopastoriles y métodos para estimar su consumo. *Agronomía Mesoamericana*, 28(1), 289-302. <https://doi.org/10.15517/am.v28i1.22673>
- Moller, A. P. (1995). Leaf-mining insects and fluctuating asymmetry in elm *Ulmus glabra* leaves. *Journal of Animal Ecology*, 64(6), 697-707. <https://doi.org/10.2307/5849>
- Moran, M. D. (2003). Arguments for rejecting the sequential Bonferroni in ecological studies. *Oikos*, 100(2), 403-405. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2003.12010.x>
- Muiruri, W. E., Barantal, S., Iason G. R., Salminen J. P., Fernandez E. P., y Koricheva J. (2018). Forest diversity effects on insect herbivores: do leaf traits matter? *New Phytologist*, 221(4), 2250-2260. <https://doi.org/10.1111/nph.15558>
- Murqueitio, E., Xocchitl Martha y Uribe, F. (2015). Productividad en sistemas silvopastoriles intensivos en américa latina. Sistemas agroforestales. Funciones productivas, socioeconómicas y ambientales. Florencia Montagnini, CIPAV, Cali, Colombia. 454.
- Ndubuaku, M., Ndubuaku, C. N., y Ndubuaku, E. (2014). Yield Characteristics of *Moringa oleifera* Across Different Ecologies in Nigeria as an Index of Its Adaptation to Climate Sustainable Agriculture Research, 3(1), 95-100. <https://doi.org/10.5539/sar.v3n1p95>
- Noda, Y., Martín, G., y Machado, R. (2007). Rendimiento agronómico de la morera por efecto de diferentes alturas y frecuencias de corte. *Pastos y Forrajes*, 30(3), 327-339.
- Noguera-Talavera, Á., Reyes-Sánchez, N., Membreño, J. J., Duarte-Aguilar, C., Mendieta-Araica, B. (2014). Calidad de plántulas de tres especies forrajeras (*Moringa oleifera* Lam., *Leucaena leucocephala* y *Cajanus cajan*) en condiciones de vivero. *La Calera*, 14(22), 21-27. <https://doi.org/10.5377/calera.v14i22.2652>

- Onoda, Y., Wright, I. J., Evans, J. R., Hikosaka, K., Kitajima, K., Niinemets, Ü., y Westoby, M. (2017). Physiological and structural tradeoffs underlying the leaf economics spectrum. *New Phytologist*, 214(4), 1447-1463. <https://doi.org/10.1111/nph.14496>
- Palacio, S., Hernandez, R., Martinez, M. M., y Camarero, J. J. (2012). Fast replenishment of initial carbon stores after defoliation by the pine processionary moth and its relationship to the re-growth ability of trees. *Trees*, 26, 1627-1640. <https://doi.org/10.1007/s00468-012-0739-y>
- Palmer, A. R. (1996). Waltzing with Asymmetry: Is fluctuating asymmetry a powerful new tool for biologists or just an alluring new dance step? *BioScience*, 46(7), 518-532. <https://doi.org/10.2307/1312930>
- Ramos, S. E., y Schiestl, F. P. (2020). Herbivory and pollination impact on the evolution of herbivore-induced plasticity in defense and floral traits. *Evolution Letters*, 4(6), 556-569. <https://doi.org/10.1002/evl3.200>
- Ruiz-Santiago, R. R., Ballina-Gómez, H. S., Ruiz-Sánchez, E., Martínez-Castillo, J., Garruña-Hernández, R., y Andueza-Noh, R. H. (2021). Determining relevant traits for selecting landrace accessions of *Phaseolus lunatus* L. for insect resistance. *PeerJ*, 9:e12088. <https://doi.org/10.7717/peerj.12088>
- Rusman, Q., Lucas-Barbosa, D., Hassan, K., y Poelman, E. H. (2020). Plant ontogeny determines strength and associated plant fitness consequences of plant-mediated interactions between herbivores and flower visitors. *Journal of Ecology*, 108(3), 1046-1060. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13370>
- Schulze, E. D., Beck, E., y Müller-Hohenstein, K. (2005). *Plant Ecology*, Berlin: Springer.
- Silva, S. E. B., Auad, A. M., Moraes, J. C., Alvarenga, R., Claudino, S. S., y Resende, T. T. (2017). Biological Performance and Preference of *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae) for Feeding on Different Forage Plants. *Journal of Economic Entomology*, 110(4), 1877-1885. <https://doi.org/10.1093/jee/tox180>
- Singh, R. B., y Mal S. (2014). Trends and variability of monsoon and other rain fall seasons in Western Himalaya, India. *Atmospheric Science Letters*, 15(3), 218-226. <https://doi.org/10.1002/asl2.494>
- Sperlich, D., Chang, C. T., Peñuelas, J., Gracia, C., y Sabate, S. (2015). Seasonal variability of foliar photosynthetic and morphological traits and drought impacts in a Mediterranean mixed forest. *Tree Physiology*, 35(5), 501-520. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpv017>
- Stotz, G. C., Salgado-Luarte, C., Escobedo, V. M., Valladares, F., y Gianoli, E. (2021). Global trends in phenotypic plasticity of plants. *Ecology Letters*, 24(10), 2267-2281. <https://doi.org/10.1111/ele.13827>
- Tecco, P. A., Urcelay, C., Díaz, S., Cabido, M., y Harguindeguy, N. P. (2012). Contrasting functional trait syndromes underlay woody alien success in the same ecosystem. *Austral Ecology*, 38(4), 443-451. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2012.02428.x>
- Turner, I. M. (2001). The ecology of trees in the tropical rain forest. Cambridge: Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511542206>
- Uribe, S. D., Sáenz, R. C., González R. A., Téllez, V. O., y Oyama, K. (2008). Foliar morphological variation in the white oak *Quercus rugosa* Née (Fagaceae) along a latitudinal gradient in Mexico: potential implications for management and conservation. *Forest Ecology and Management*, 256(12), 2121-2226. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.08.002>
- Vernescu, C., y Ryser, P. (2006). Constraints on leaf structural traits in wetland plants. *American Journal of Botany*, 96(6), 1068-1074. <https://doi.org/10.3732/ajb.0800312> PMID:21628257
- Vijayan, K., Tikader, A., Kar, P. K., Srivastava, P. P., Awasthi, A. K., Thangavelu, K., y Saratchandra, B. (2006). Assessment of genetic relationships between wild and cultivated mulberry (*Morus*) species using PCR based markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53, 873-882. <https://doi.org/10.1007/s10722-004-6148-3>
- Westoby, M., Daniel, S., Falster, A. T., Moles, T., Peter, A. V., Wright, I. J. (2002) Plant Ecological Strategies: Some Leading Dimensions of Variation Between Species. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 33, 125-159. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.33.010802.150452>