

Vers una teoria global de defensa química en plantes: el cas dels alcaloides

Eva Castells
Josep Peñuelas

Universitat Autònoma de Barcelona. Facultat de Ciències. CREA (Centre de Recerca Ecològica i Aplicacions Forestals). 08193 Bellaterra (Barcelona). Spain
Fax. (93) 581 13 12. E-mail: e.castells@creaf.uab.es

Manuscrit rebut l'abril de 1997

Resum

Els alcaloides són un grup de productes del metabolisme secundari altament divers i distribuït majoritàriament en les angiospermes. En les plantes se'ls atribueix com a principal funció la defensa química contra herbívors i patògens. Les plantes alcaloïdiques es localitzen preferentment a les regions tropicals i acostumen a ser plantes de creixement ràpid i de vida curta. Les concentracions d'alcaloides, més elevades en determinats òrgans i en períodes concrets del desenvolupament de la planta, sembla que són determinades pels constryiments evolutius ocasionats pels recursos del medi on la planta ha evolucionat, per la història coevolutiva entre plantes i fitòfags i per l'ambient físic immediat de la planta, principalment pels nutrients disponibles durant el seu cicle vital. Diverses hipòtesis han intentat explicar la variabilitat interespecífica i intraespecífica de defenses tractant aspectes particulars d'aquests factors. Basant-nos amb dades de plantes alcaloïdiques, en aquest article hem elaborat una síntesi de les hipòtesis precedents i discutim la necessitat d'anar cap a una nova teoria global de defensa química. Aquesta nova visió integradora determina un marc conceptual ampli que ens ajuda a interpretar el com i el perquè de la presència i de la diversitat actual de les defenses químiques en plantes.

Paraules clau: alcaloides, diversitat química, defensa, herbívors, disponibilitat de recursos, metabòlits secundaris.

Abstract. Towards a global theory of chemical defense: The case of alkaloids

Alkaloids are a large and very diverse group of secondary metabolites found principally in angiosperms. They play a defensive role in plants against herbivores and pathogens. Alkaloid-bearing plants are usually short life plants and they are localized preferently in tropical regions. Alkaloid concentrations vary in different plant parts and different plant development stages. They are determined by resource evolution constraints, by coevolution history between plants and animals and by plant immediate resource availability. We present a global synthesis of previous plant chemical defense hypothesis in order to establish a conceptual framework to understand the qualitative and quantitative diversity of plant defenses, with special emphasis on plant alkaloids.

Key words: alkaloids, chemical diversity, defense, herbivores, plants, resource availability, secondary metabolites.

Defenses i metabolisme secundari

Les plantes requereixen llum, aigua i nutrients per a la síntesi de metabòlits indispensables per al seu creixement i desenvolupament vegetal. La viabilitat d'una planta, però, també depèn de les taxes d'herbivorisme a què està sotmesa i de la seva capacitat d'evitar o minimitzar la pèrdua de biomassa associada a aquest consum pels fitòfags. Per tant, a part de la maximització del creixement i la reproducció, les plantes assignen una part dels recursos a mecanismes de defensa. Les defenses químiques, constituïdes principalment per compostos de carboni com els fenols i els terpens (Hagerman & Butler, 1991; Langenheim, 1994; Lovett *et al.*, 1989; Takabayashi *et al.*, 1994) i compostos nitrogenats com els alcaloides (Futuyma, 1976; Hartmann, 1991; Mole & Joern, 1994), basen el seu funcionament en els efectes farmacològics i fisiològics que produeixen sobre el sistema nerviós animal, tals com repelència, toxicitat, interferència amb la digestió, i reducció del creixement, la supervivència i la fecunditat (Futuyma & Keese, 1992). Els fenols, els terpens i la alcaloides, com altres defenses químiques, són productes del metabolisme secundari.

Originalment, el metabolisme secundari era considerat com un conjunt de vies metabòliques innecessàries i no vitals per a l'organisme, al qual s'atribuïen funcions de detoxificació, degradació de productes o emmagatzemament (Haslam, 1986; Swain, 1977). Actualment se sap que, malgrat que no intervé directament en el creixement i en el desenvolupament de l'individu, el metabolisme secundari és indispensable per a la supervivència de la població (Hartmann, 1996). Molts exemples mostren la seva funció no només com a defenses sinó també com a senyals químics (Hartmann, 1991), i en conseqüència ens revelen la seva importància ecològica com a reguladors de les interaccions entre els organismes i el seu medi biòtic. La llibertat del metabolisme secundari per dur a terme les modificacions estructurals de les defenses sense perill vital per l'individu ha permès l'aparició d'una alta diversitat molecular, i de retruc, una especificitat que reflecteix la pressió selectiva a què ha estat sotmesa la planta al llarg de la seva evolució (Hartmann, 1996).

Per tal de determinar el perquè de les variacions quantitatives i qualitatives, interespecífiques i intraespecífiques dels metabòlits secundaris, hem elaborat una revisió d'un dels grups més diversos, complexos i menys estudiats des del punt de vista ecològic: els alcaloides. A partir de les dades de distribució dels alcaloides en plantes superiors i els seus patrons biogeogràfics i ecològics, elaborem una integració de les hipòtesis actuals sobre defensa i determinem el marc de referència on l'evolució dels alcaloides ha estat possible. En aquesta revisió fem èmfasi en les funcions de dissuasió dels herbívors per part dels alcaloides en angiospermes.

Els alcaloides

Els alcaloides són compostos cíclics que contenen nitrogen en estat d'oxidació negativa. Constitueixen un grup químicament molt divers amb més de deu mil estructures comptabilitzades fins a l'actualitat (Southon & Buckingham, 1989).

Malgrat que generalment són coneguts com a productes vegetals, han estat aïllats en quasi totes les classes d'organismes: microorganismes, invertebrats marins i artròpodes —particularment insectes— (per referències vegeu Hartmann, 1991). Cal tenir en compte, però, que alguns dels alcaloides pressuposadament animals són en realitat alcaloides d'origen vegetal que han estat segregats per herbívors per ser utilitzats posteriorment com a mecanismes de defensa contra els depredadors (Pasteels *et al.*, 1995; Schaffner *et al.*, 1994). En plantes, trobem alcaloides en moltes, algunes gimnospermes, equisets, licopodis i monocotiledònies, però n'hi ha una presència majoritària en les dicotiledònies.

Els alcaloides han estat sovint considerats productes finals del metabolisme sense cap funció específica, però també se'ls han atribuït tasques d'emmagatzematge de nitrogen o de regulació del creixement (Sastry & Waller, 1971; Waller & Burstrom, 1969). Moltes dades, però, donen suport a la seva funció defensiva en plantes superiors. La majoria dels alcaloides són substàncies deterrents i tòxiques per a vertebrats i insectes (Levinson, 1976), constitueixen una defensa contra elements patògens mitjançant efectes antibiòtics (Friend & Threlfall, 1976; Horsfall & Cowling, 1980; Wood, 1967; Wood *et al.*, 1972) o mostren propietats allelopàtiques en inhibir la germinació de llavors d'altres plantes (Takabayashi *et al.*, 1994; Wink, 1983). La preferència d'insectes i vertebrats per aliments lliures d'alcaloides i l'existència de síntesi induïda per l'atac d'herbívors (Frischnecht *et al.*, 1987; Ohnmeiss & Baldwin, 1994; Van Dam *et al.*, 1993) donen suport a la hipòtesi d'una funció defensiva dels alcaloides.

A causa de la seva heterogeneïtat, els alcaloides es classifiquen en grups biogenèticament relacionats. Els principals són els alcaloides d'isoquinoleïna, quinolisidina, pirrolidina, pirrolisidina, tropànics i idòlics. Aquests grups són caracteritzats per l'estructura molecular de l'heterocicle nitrogenat i per altres propietats bioquímiques i fisiològiques: l'òrgan de síntesi, l'aminoàcid precursor, les vies de translocació, l'òrgan d'acumulació, les taxes de renovació, la presència de cicles diaris en les seves concentracions o la flexibilitat en l'expressió de la defensa (taula 1). Aquests processos comprenen mecanismes altament específics i selectius que gairebé són propis de cada espècie alcaloídica.

Evolució dels alcaloides

En no ser metabòlits essencials per a la supervivència de l'organisme, els alcaloides han estat substàncies estructuralment poc conservades al llarg de l'evolució. Aquesta versalitat és un reflex directe de la història genètica de l'espècie (Waterman & Mole, 1994). Per tant, la seva distribució actual en les espècies vegetals està fortament lligada a la filogènia, on generalment cada tipus específic d'alcaloide està localitzat en unes poques famílies evolutivament relacionades (taula 1). Els alcaloides només estan representats majoritàriament en tres de les sis subclasses de dicotiledònies i segueixen un patró gairebé oposat a la distribució dels tanins (figura 1). Els alcaloides d'isoquinoleïna pertanyen exclusivament a les magnòlides, la subclasse més primitiva de les angiospermes actuals. En les ròsides predominen els alcaloides de quinolisidina i la resta de grups es distri-

Taula 1. Algunes característiques bioquímiques i fisiològiques descrites per a les diferents classes d'alcaloides (Baldwin, 1988; Baldwin *et al.*, 1994; Cronquist, 1988; Hartmann, 1991; Hartmann & Zimmer, 1986; Hartmann, 1996; Van Dam *et al.*, 1993; van Dam *et al.*, 1995; Wink & Witte, 1985; Wink, 1987; Wink & Carey, 1994).

Classes alcaloidiques	Isoquinoleïna	Quinolisidina	Tropànics	Pirrolidina	Piperidina	Indòlics	Pirrolisidina
Famílies	Magnoliaceae Ranunculaceae Papaveraceae	Fabaceae Lythraceae	Solanaceae Convolvaceae	Solanaceae	Piperaceae Apiaceae Campanulaceae	Convolvulaceae Apocynaceae Loganiaceae	Asteraceae Boraginaceae
Exemple compost	morfina	lupinina	cocaïna	nicotina	coniïna	estricnina	retrosnina
Aa precursor	tirosina	lisina	ornitina	ornitina	lisina	triptòfan	ornitina
Lloc síntesi	part aèria	part aèria		rel	part aèria	part aèria	rel, part aèria
Via de transport		floema		xilema			floema
Lloc acumulació	part aèria	rel		part aèria	part aèria	part aèria	part aèria
Taxa renovació	alta	alta		baixa		baixa	baixa
Estratègies síntesi	constitutiva	induïble		induïble		induïble	protoxines
Ritmes diaris	sí	sí		no		no	no

bueixen en la subclasse més moderna, les astèrides. L'especificitat dels alcaloides s'ha demostrat tan elevada en alguns casos que alguns autors han proposat utilitzar-los com a marcadors filogenètics, no però sense polèmiques, ja que algunes substàncies han aparegut repetides algunes vegades al llarg de l'evolució, fins i tot per diferents rutes bioquímiques (veure revisió a Waterman & Gray, 1987). Cronquist (1977) utilitza l'anàlisi de la distribució actual de les defenses per comprendre'n l'evolució. Els alcaloides d'isoquinoleïna pertanyents a les magnòlides, segons l'autor, haurien deixat lloc als tanins en les hamamèlides, ròsides i dil·lenídes, i aquests alhora haurien estat substituïts pels compostos iridoïdes, explotats per les astèrides de manera més efectiva. Els alcaloides més moderns, pertanyents a les astèrides, comparteixen característiques funcionals metabòlicament més eficaços que els altres grups d'alcaloides. Compten, per exemple, amb baixes taxes

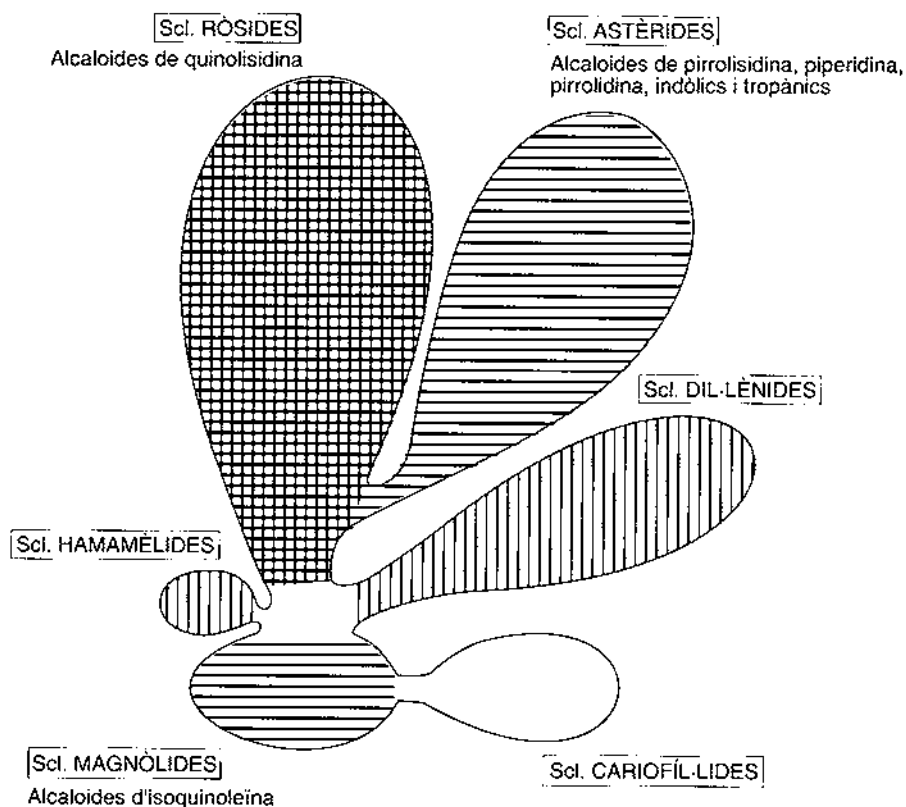


Figura 1. Tendències generals en la distribució de tanins [▣▣▣] i dels diversos grups d'alcaloides [▢▢▢] en les dicotiledònies (modificat a partir de Cronquist, 1988).

de renovació (Baldwin *et al.*, 1994) i amb estratègies de síntesi no constitutiva, com la síntesi induïble per l'atac d'herbívors i patògens (Baldwin & Ohnmeiss, 1994; Frischnecht *et al.*, 1987; Ohnmeiss & Baldwin, 1994; Van Dam *et al.*, 1993; Zangerl *et al.*, 1997) o la síntesi de protoxines activables enzimàticament en ser consumides pels herbívors (Hartmann, 1996).

Patrons biogeogràfics, ecològics i individuals en la distribució dels alcaloides

La distribució de les plantes alcaloidiques a l'espai tampoc no és homogènia. Existeixen distribucions segons patrons biogeogràfics, ecològics o a nivell d'individu.

Les possibles relacions ecogeogràfiques entre els alcaloides d'origen vegetal i la localització de les plantes portadores d'aquests alcaloides va ser estudiada per McNair, sense que hi trobés cap correlació destacable (McNair, 1935). Mes tard, Levin va rescatar les dades d'un estudi de més de 6000 espècies recol·lectades per tot el món a les quals se'ls havia realitzat un test qualitatiu de presència o absència d'alcaloides (Levin, 1976), i va detectar una correlació negativa entre la latitud de la flora i el percentatge de plantes alcaloidiques. Així doncs, es va trobar que les flors tropicals tenien gairebé el doble d'espècies alcaloidiques que les flors temperades. Kenya, amb una latitud mitjana vora zero graus, per exemple, contenia un 40% d'espècies portadores d'alcaloides, mentre que als Estats Units només n'hi havia un 13.7%. Levin també va trobar que les flors de les illes estudiades (Nova Guinea, Puerto Rico, Austràlia o Nova Zelanda) presentaven una deficiència de plantes alcaloidiques respecte a les esperades per la seva latitud. Moody (1978) va realitzar un model alternatiu i millorat on relacionava el percentatge d'espècies amb alcaloides respecte a la seva posició latitudinal fa 35 milions d'anys, per tal de tenir en compte els grans moviments soferts per les plaques geotectòniques. Posteriorment, la distribució geogràfica dels alcaloides ha estat encara molt més documentada. Krischic & Denno (1983) van descriure concentracions més elevades de defenses químiques i una diversitat més gran en plantes tropicals que en plantes de clima temperat. Coley & Aide (1991), en una revisió de la relació entre taxes d'herbivorisme i defenses químiques en zones temperades *versus* zones tropicals van realitzar les observacions següents: (1) que les plantes alcaloidiques constitueixen una proporció més gran en els tròpics, i que els alcaloides d'espècies tropicals són més tòxics i es troben en concentracions més elevades, (2) que els fenols simples no difereixen entre els diferents tipus de boscos, però que els tanins condensats són més elevats en espècies tropicals respecte a espècies de clima temperat. (3) que la fibra és més elevada en els tròpics, i (4) que la quantitat de fulla danyada pels insectes és significativament més alta en els tròpics que en els boscos temperats. Així doncs, les defenses qualitatives i quantitatives en sistemes terrestres són més pronunciades en els tròpics, on la taxa d'herbivorisme també és més intensa.

Les plantes alcaloidiques també mostren patrons ecològics. Levin (1976) va trobar que un 33% de les herbàcies anuals recollides a l'Amèrica del Nord

contenien alcaloides, mentre que en la resta de plantes només hi havia un 20% d'espècies alcalòidiques, la qual cosa mostrava una correlació entre la presència d'alcaloides i la longevitat de les plantes. La presència dels alcaloides resulta més freqüent en plantes herbàcies de vida curta, relacionades amb estadis inicials de la successió que en plantes plurianuals.

Dins una mateixa espècie també existeixen grans diferències en les concentracions dels alcaloides. En *Nicotiana tabacum*, per exemple, oscilen de 2.11 a 8.14% del pes sec (Zangerl & Bazzaz, 1992) i, com en la majoria de plantes alcalòidiques, presenten patrons de concentracions associats als òrgans de la planta. Zangerl & Bazzaz (1992) van fer un recull de les concentracions d'alcaloides en diferents espècies que va reflectir la major presència d'alcaloides en llavors, fruits i fulles joves, i una menor quantitat en arrels o tiges. *Lupinus polyphyllus* conté, per exemple, 100 vegades més alcaloides en llavors i fruits que en la resta d'òrgans (100 nmol/kg respecte a 2-8 nmol/kg). D'altra banda, existeixen fluctuacions diàries en alcaloides d'isoquinoleïna, com laconiïna i laconiïna de *Conium maculatum*, i la morfina, la codeïna i la tebaina de *Papaver somniferum* (Robinson, 1974) i també en diversos alcaloides quinolisidínic (Wink, 1983; Wink, 1987; Wink & Witte, 1984). També s'han detectat variacions associades als períodes reproductius de la planta o en les seves etapes de desenvolupament (Bernáth, 1986; Frischnecht *et al.*, 1987; Robinson, 1974; Wink, 1983).

Finalment, a part de la seva posició biogeogràfica, les característiques ecològiques, l'estadi de desenvolupament, l'època de l'any i els teixits de la planta analitzats, els alcaloides mostren grans variacions intraespecífiques en les seves concentracions.

El perquè de la diversitat química: revisió de les hipòtesis de defensa

Com i per què s'ha originat la gran diversitat química existent en alcaloides? Quins factors han determinat la distribució de les plantes alcalòidiques en la biosfera? Per què els alcaloides es troben preferentment en plantes efímeres i es localitzen en uns òrgans determinats de la planta? Com determinen els nutrients presents al medi la síntesi de defenses, i en particular d'alcaloides?

Per respondre a aquestes i altres qüestions lligades a les grans diferències intraespecífiques i interespecífiques en la quantitat i el tipus de defensa en vegetals, s'han elaborat diverses hipòtesis que intenten explicar els factors i les forces selectives que han determinat aquestes variacions (Coley, 1988; Coley *et al.*, 1985; Ehrlich & Raven, 1964; Estiarte & Peñuelas, 1997; Feeny, 1976; Grime, 1977; Herms & Mattson, 1992; Janzen, 1974; Loomis, 1932; McKey, 1974; Rhoades & Cates, 1976; Zangerl & Bazzaz, 1992). En la taula 2 resumim les principals característiques de les cinc hipòtesis més influents: Resource Availability Hypothesis (RA), Plant Aparency Hypothesis (PA), Optimal Defense Hypothesis (OD), Coevolutionary Theories (CT) i Source/Sink Balance Hypothesis (SSB). La diferència essencial entre elles rau en la naturalesa de la variable que ha actuat com a factor de selecció sobre les defenses. RA i PA donen més pes a *factors intrínsecs* de la planta, com són el creixement en la primera hipòtesi i la longevitat en la

Taula 2. Característiques principals de les teories de defensa.

Teories	Resource Availability	Plant Aparency	Optimal Defense
Explica...	la distribució interespecífica del tipus i la quantitat de defensa	la distribució interespecífica del tipus de defensa	la distribució intraespecífica de la quantitat de defenses en la planta
Es basa en...	la influència dels recursos disponibles sobre l'evolució de les defenses	la influència de «l'aparença» de la planta sobre l'evolució de les defenses	la vàlua de les parts que cal protegir i la probabilitat d'atac dels herbívors
Nivell jeràrquic d'influència	espècie	espècie	organisme
Factors selectius per a les defenses	la taxa de creixement de la planta (factor intrínsec)	predictibilitat o longevitat de la planta (factor intrínsec)	taxes diferencials d'herbivorisme sobre les diverses parts de la planta (factor extrínsec)
Direcció de la resposta al factor de selecció. Menor inversió en defensa...	en plantes amb taxes altes de creixement	en plantes impredecibles o d'estadis inicials de la successió	en les parts de la planta menys valuoses i amb menys probabilitat d'atac
Influència dels recursos	sí	no	no
Influència d'herbivorisme → defenses	les taxes d'herbivorisme es consideren constants	indirectament, directament sobre l'estratègia de la planta (r , K)	directament
Defenses → herbivorisme	no	no	no
Relació amb la successió	sí	sí	no
Explica la generació de diversitat química de les defenses?	parcialment; només explica la generació dels grans tipus de defenses (quantitatives i qualitatives)	Parcialment; només explica la generació dels grans tipus de defenses (quantitatives i qualitatives)	no
Bibliografia	Coley <i>et al.</i> , 1985 Coley, 1988	Feeny, 1976 Rhoades & Cates, 1979	McKey, 1974 Rhoades, 1979 Zangerl & Bazzaz, 1992

Taula 2. Característiques principals de les teories de defensa (*continuació*).

Teories	Coevolutionary Theory	Source/Sink Balance
Explica...	l'evolució intraespecífica del tipus i la quantitat de defensa	les variacions quantitatives de les defenses a nivell fenotípic
Es basa en...	la influència directa dels herbívors sobre les defenses de la planta	la influència dels recursos sobre l'assignació a defenses constitutives
Nivell jeràrquic d'influència	espècie	individu
Factors selectius per a les defenses	taxes d'herbivorisme que sofreix la planta (factor extrínsec)	relació entre el subministrament i la demanda de recursos presents al medi (factor extrínsec)
Direcció de la resposta al factor de selecció. Menor inversió en defensa...	en plantes poc sotmeses a la pressió de l'herbivorisme	en plantes amb taxes altes de creixement (demanda de recursos)
Influència dels recursos	no	sí
Influència d'herbivorisme → defenses	directament	indirectament, els herbívors poden afectar parts font o embornal fent variar la demanda de recursos
Defenses → herbivorisme	sí	no
Relació amb la successió	no	no
Explica la generació de diversitat química de les defenses?	sí; evolució constant i recíproca de les defenses vegetals i de les adaptacions dels herbívors per evitar-les	no
Bibliografia	Ehrlich <i>et al.</i> , 1964 Hattmann, 1996	Estiarte & Peñuelas, 1997 Bryant <i>et al.</i> , 1983 Herms & Mattson, 1992

segona, OD i CT es decanten per un *factor extrínsec*, influència de l'herbivorisme, per explicar les diferències interespecífiques de les defenses. SSB considera el balanç entre el subministrament i la demanda dels recursos disponibles i es fixa en els aspectes fenotípics de la variació intraespecífica dels metabòlits secundaris.

Resource Availability Hypothesis (hipòtesi de la disponibilitat de recursos)

En la hipòtesi RA Coley *et al.* (1985, 1988) proposen que el factor determinant de la quantitat i del tipus de defensa en fulla ha estat la disponibilitat de recursos. La presència de nutrients hauria condicionat les taxes de creixement vegetal —creixement ràpid en medis rics i creixement lent en medis amb pocs nutrients— i el creixement determinaria a la vegada la inversió òptima en defensa.

El tipus de defensa present en plantes està condicionat als costos directes que comporta la síntesi i el manteniment dels metabòlits secundaris. Se suggereix que en fulles de vida llarga predominaran les defenses metabòlicament inactives, amb elevades concentracions i grans despeses inicials de síntesi però baixes taxes de renovació, de manera que els costos seran amortitzables al llarg del temps. Les defenses amb aquestes característiques són anomenades *immòbils* (Coley *et al.*, 1985) o *quantitatives* (Feeny, 1976), i són bàsicament representades pels tanins. Per contra, les fulles de vida curta optaran per defenses *mòbils* o *qualitatives*, metabòlicament molt actives i amb baixes concentracions en renovació constant (taula 3). Aquestes defenses, on Coley *et al.* (1985) inclouen els alcaloides, tenen un cost continu al llarg de la vida de la fulla i per tant no esdevenen avantatjoses en fulles de vida llarga.

Per predir la quantitat de defensa en una planta, la RA planteja un model on el nivell d'inversió òptim en defensa està relacionat amb la taxa de creixement potencial d'una planta (i amb altres propietats com les taxes fotosintètiques, la longevi-

Taula 3. Característiques defensives de les plantes en relació amb la seva taxa de creixement, segons la hipòtesi Resource Availability (Coley *et al.*, 1985).

Espècies de creixement	ràpid	lent
Característiques de creixement		
Disponibilitat de recursos per a la planta	alta	baixa
Taxa màxima de creixement	alta	baixa
Taxa màxima de fotosíntesi	alta	baixa
Resposta als pulsos de nutrients	flexible	inflexible
Vida de les fulles	curta	llarga
Estatus successional	sovint inicial	sovint tardana
Característiques de defensa		
Taxes d'herbivoria	altes	baixes
Quantitat de defenses	baixa	alta
Tipus de defensa	qualitativa (alcaloides)	quantitativa (tanins)
Taxa de renovació de la defensa	alta	baixa
Flexibilitat en l'expressió de la defensa	més flexible	menys flexible

tat de les fulles o l'estatus de la planta en la successió) i considera les pressions d'herbivorisme constants (taula 3). D'aquesta manera, com que el cost relatiu de defensa augmenta a mesura que la taxa de creixement també ho fa, esperarem nivells més baixos de defensa en ambients rics en recursos. En un estudi de les dades de 41 espècies d'arbres tropicals, Coley (1988) va observar una correlació positiva entre la longevitat foliar i la concentració de tanins, així com una relació inversa entre la taxa de creixement vegetal i les defenses mesurades a partir d'una combinació lineal de fibres, tanins, duresa i pubescència de les fulles.

En la hipòtesi RA també es planteja que els tipus de recursos disponibles a l'ambient podrien originar constrenyiments en la síntesi de determinades defenses. En ambients poc fèrtils, per exemple, les defenses basades en nitrogen tindrien un alt cost relatiu comparat amb les defenses basades en carboni, i aquestes últimes estarien, per tant, favorablement seleccionades.

Plant Aparency Hypothesis (hipòtesi de l'aparença o predictibilitat)

Un altre model d'evolució de les defenses va ser proposat per Feeny (1976) i Rhoades & Cates (1976). Aquesta hipòtesi reflecteix l'eficàcia diferencial que les defenses quantitatives i qualitatives tenen contra els herbívors generalistes i especialistes. Segons la PA el tipus de defensa està influenciat per l'aparença de la planta, definida per Feeny (1976) com la predictibilitat de la presència d'una planta en l'espai i en el temps. Les plantes *aparents* serien aquelles més fàcilment detectables pels herbívors especialistes i per això dedicarien necessàriament grans inversions en defenses quantitatives. Per contra, les plantes *no aparents* o amb distribucions efímeres i impredecibles s'escaparien més fàcilment dels herbívors especialistes i requeririen poca inversió en defenses, només per fer front als herbívors generalistes no adaptats, utilitzant defenses qualitatives. Experiments de palatabilitat amb cent espècies vegetals diferents van mostrar que les plantes anuals i de fases inicials en la successió eren més comestibles per herbívors especialistes que les plantes d'estadis tardans, la qual cosa dóna suport a la hipòtesi que les plantes pioneres o de la «r» inverteixen menys en defensa que les plantes de la «K» (Cates & Orians, 1975).

La Plant Aparency Hypothesis també relaciona, com la Resource Availability Hypothesis, l'estatus en la successió amb la inversió en defensa. Per la Plant Aparency les plantes van augmentant la seva *aparença* a mesura que la successió tendeix cap a estadis més avançats. En els primers estadis de la successió trobarem plantes *inaparents* amb defenses qualitatives que s'aniran substituint per plantes *aparents* amb defenses quantitatives a mesura que avança la successió. Per tant, la PA realitza la mateixa predicció que la RA de Coley *et al.* (1985) respecte a les defenses qualitatives i quantitatives, però hi assigna causes diferents.

Optimal Defense Hypothesis (hipòtesi de la defensa òptima)

La hipòtesi de la Optimal Defense (McKey, 1974; Rhoades, 1979; Zangerl & Bazzaz, 1992), si la prenen com va ser descrita originalment i no pas en la inter-

pretació fenotípica que n'han donat posteriorment Baldwin & Ohnmeiss (Baldwin & Karb, 1995; Baldwin *et al.*, 1994; Baldwin & Ohnmeiss, 1994; Ohnmeiss & Baldwin, 1994), tracta la distribució desigual de defenses en els diferents òrgans de la planta, és a dir, fa referència a un nivell conceptual inferior al de les altres hipòtesis (taula 2). Com ja hem vist anteriorment, els alcaloides no es distribueixen homogèniament en l'organisme, sinó que se sintetitzen en òrgans concrets per posteriorment ser translocats i emmagatzemats en zones diverses, la qual cosa origina concentracions variables dins l'individu. Com que existeix una limitació en la síntesi de compostos defensius, les substàncies deterrents haurien d'estar concentrades en aquells òrgans o teixits on la seva presència incrementés més l'eficàcia biològica o *fitness* de la planta (McKey, 1974). Segons la hipòtesi OD la distribució de les defenses en la planta es regeix per (1) el valor de l'òrgan que cal protegir o el cost que suposa la pèrdua de l'òrgan per part de la planta, i (2) la vulnerabilitat de la zona que poden atacar els herbívors o probabilitat que la part en qüestió sigui atacada amb èxit en absència de defenses químiques. D'acord amb aquests criteris de vàlua i vulnerabilitat, les defenses se situarien preferentment en teixits externs, fulles i tiges joves, flors, fruits i llavors, en estadis inicials del desenvolupament de la planta i en fases reproductives.

Coevolutionary Theories (teories coevolutives)

La pol·linització de les flors per part dels insectes o les estratègies de defensa de les preses enfront dels depredadors són exemples on dues o més espècies formen un sistema d'influència recíproca que implica una millora de l'eficàcia biològica d'almenys una de les dues parts, segons si es tracta de parasitisme, simbiosi, depredació o altres relacions tròfiques o col·laterals. Aquestes relacions ecològiques són el resultat d'interaccions interespecífiques que reflecteixen l'especialització conjunta que han sofert les espècies al llarg del temps en el procés anomenat *coevolució*. Existeixen moltes teories que exposen els diversos processos que han donat lloc a sistemes que han evolucionat conjuntament, però no és l'objectiu d'aquest article fer-ne una revisió exhaustiva. És necessari, però, fer un incís sobre la importància que poden haver tingut els herbívors en l'evolució de les defenses vegetals. Les diverses teories coevolutives (revisió a Menken, 1996) no es refereixen específicament a l'evolució entre les defenses químiques de les plantes i els fitòfags, però Ehrlich & Raven, en l'article «Butterflies and plants: a study in coevolution» (1964), van plasmar un dels primers exemples de coevolució en una hipòtesi que Thompson (1994) més tard anomenaria «escape-and-radiation coevolution». Segons aquests autors, l'herbivorisme hauria condicionat el tipus de defensa de la planta i aquesta determinaria la supervivència i l'evolució dels herbívors a través d'una dinàmica on la síntesi de defenses contra un herbívor l'induiria a fabricar sistemes de detoxificació, la qual cosa impulsaria la planta a sintetitzar un altre tipus de defensa en un procés d'evolució continuada. Ehrlich & Raven (1964) van assumir que la selecció recíproca entre insectes i plantes va induir, d'una banda, a la resistència i a la diversificació química en plantes, i de l'altra, a l'especialització alimentària dels insectes. Altres autors van reafirmar

la importància de l'herbivorisme sobre l'evolució de les defenses vegetals i la generació de variabilitat química (McKey, 1974). En l'actualitat existeixen innombrables dades que manifesten aquesta evolució recíproca, com la congruència dels cladogrames de plantes i artròpodes en casos on els lligams específics han estat intensos (Futuyma & Keese, 1992). Cronquist (1988) fins i tot és de l'opinió que l'evolució dels repel·lents químics ha tingut un paper important en l'aparició i diversificació de noves famílies, ordres i subclasses en angiospermes.

Encara que la hipòtesi *Optimal Defense* considera també l'herbivorisme com un factor selectiu, es diferencia de la coevolució pel fet que considera l'herbivorisme com un factor de selecció equivalent als factors abiótics, on la predació influeix sobre les defenses de la planta. En coevolució, en canvi, la influència entre l'herbivorisme i la defensa és un procés d'interacció mútua i recíproca, com en el cas dels afídids, que s'alimenten de la saba de plantes que transporten els alcaloides via floema (Dreyer *et al.*, 1985; Wink & Witte, 1985).

Source/Sink Balance Hypothesis (hipòtesi del balanç entre font i embornal)

Amb una aproximació semblant a la *Resource Availability Hypothesis* però definida només per explicar variacions fenotípiques, i per tant sense entrar en consideracions evolutives, Estiarte & Peñuelas (1997) han postulat la hipòtesi SSB o del balanç entre el subministrament i la demanda (font i embornal) de recursos. Aquesta hipòtesi, encara que fa referència especialment als compostos basats en el carboni, els fenols i els terpens, és vàlida per a tots els metabòlits secundaris, i és el resultat d'integrar la hipòtesi *Carbon Nutrient Balance* (Bryant *et al.*, 1983) i la *Growth Differentiation Balance* (Herms & Mattson, 1992; Loomis, 1932). Segons la hipòtesi SSB, la variació fenotípica en l'assignació del carboni a compostos secundaris de carboni depèn de la relació entre la font i l'embornal de carboni. Quan el carboni disponible excedeix la demanda destinada a creixement, esdevé «carboni en excés» que pot ser assignat als metabòlits secundaris. Els mateixos arguments són aplicables al nitrogen en l'assignació a alcaloides. La quantitat de defensa present en una planta és determinada, doncs, a part de per les constriccions genètiques en l'expressió del metabolisme secundari, per la disponibilitat dels nutrients necessaris per sintetitzar els compostos defensius.

Vers una teoria global de defensa

La plasticitat i els graus de llibertat del metabolisme secundari, o sigui la possibilitat de generar diferents compostos sense afectar les activitats vitals de la planta, ha permès una gran diversificació de les estructures defensives, particularment en alcaloides. Les hipòtesis de defensa exposades anteriorment atribueixen la força selectiva generadora d'aquesta diversitat a l'entorn físic de la planta o bé a l'entorn biòtic, o sigui l'efecte de l'herbivorisme i dels organismes patògens. Però, quins són realment els factors que ens expliquen l'alta diversitat d'alcaloides en la flora actual? La diversitat, ja sigui molecular, individual o específica, és conseqüència d'un procés de generació a l'atzar de variants genètiques que posteriorment podran

ser seleccionades. En altres paraules, la presència de diversitat serà un reflex de les pressions selectives en què han estat sotmesos els individus al llarg de la seva història i de l'adaptació de l'espècie a un medi abiòtic i biòtic canviant. No sembla que la disponibilitat de recursos per a la planta pugui explicar totalment la gran variabilitat de compostos, ja que, malgrat que no totes les estructures alcaloidiques tenen la mateixa proporció C/N (Gershenson, 1984), la diversitat molecular dels alcaloides es basa en altres característiques. Dins la classe d'alcaloides de pirroli-

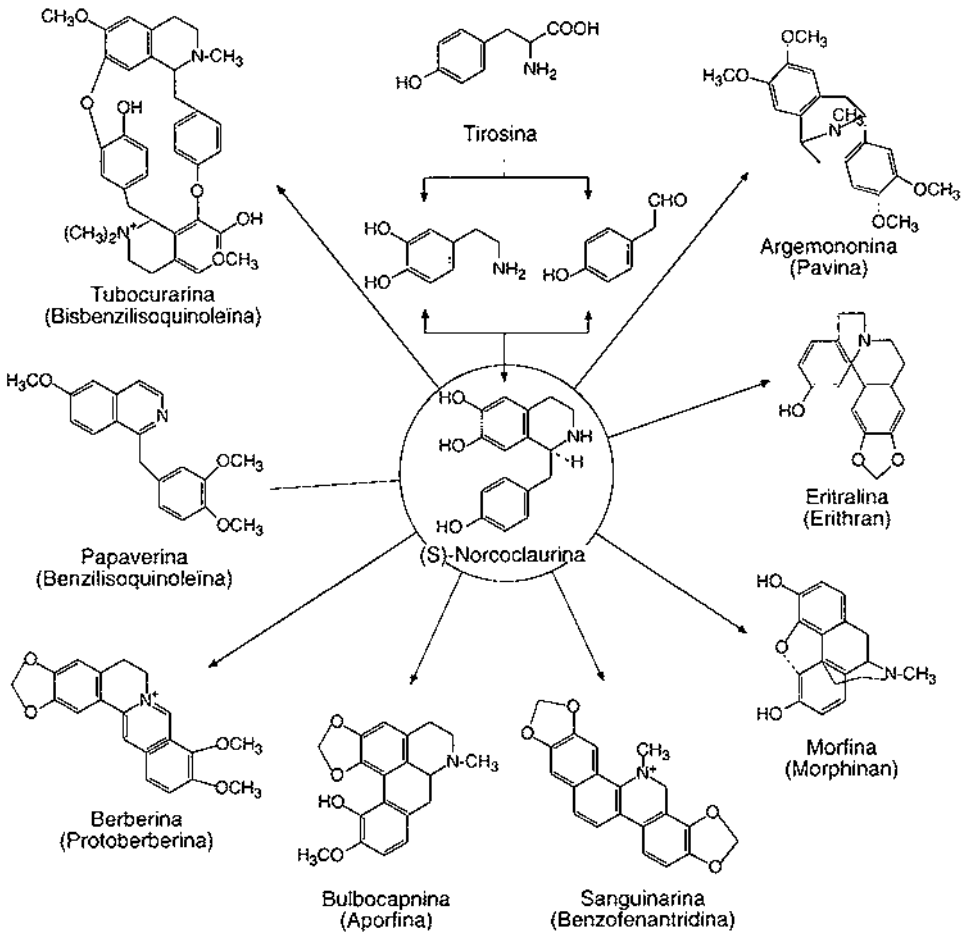


Figura 2. Exemple d'un procés típic de radiació química en el metabolisme secundari. La norcoclaurina actua com a precursor en la síntesi de diversos alcaloides d'isoquinoleïna (Hartmann, 1996).

sidina, per exemple, diferents estructures són generades a partir de *senecionina* per conversions simples que inclouen hidroxilacions específiques de posició, deshidrogenacions i epoxidacions (Hartmann, 1996). Els alcaloides d'isoquinoleïna també sofreixen un procés de radiació semblant (figura 2). Aquest procés freqüent en el metabolisme secundari, on un o pocs metabòlits es diversifiquen a través de transformacions enzimàtiques, sembla respondre a canvis subtils en l'ambient provocats per interaccions amb altres organismes com ara els herbívors i no tan sols per les restriccions de síntesis de metabòlits originades per la disponibilitat de recursos al medi. Les hipòtesis RA i PA, que donen suport a les variables intrínseques de la planta com a factors selectius per la defensa, no arriben a explicar la variabilitat molecular, sinó que tan sols consideren la formació de dos grans grups (les defenses quantitatives i les qualitatives) amb unes característiques metabòliques determinades (taula 3). Aquest marc general, però, pot esdevenir erroni en alguns casos. Ja hem vist que alguns autors adjudiquen baixes taxes de renovació als alcaloides de pirrolidina, pirrolisidina i indòlics (Baldwin *et al.*, 1994; Van Dam *et al.*, 1995) i, en conseqüència, no serien alcaloides tan metabòlicament actius com es pensava i el seu cost de síntesi i manteniment seria baix (Vrieling *et al.*, 1996). Per tant, la classificació de les defenses proposada per RA i PA esdevindria, com a mínim, desencertada en aquest aspecte. Caldria fer una distinció entre els alcaloides amb altes taxes de renovació (pirrolidina, pirrolisidina i indòlics) i els de baixes taxes de renovació (isoquinoleïna i quinolisidina). La hipòtesi RA tampoc s'adiu amb el fet que als tròpics es trobin presències més elevades d'alcaloides i de tanins a la vegada (Coley & Aide, 1991).

La distribució geogràfica actual de la flora alcaloïdica també s'atribueix a la pressió selectiva exercida pels herbívors. La presència més elevada d'alcaloides en els boscos tropicals s'interpreta com una conseqüència de la dilatada història conjunta d'aquests ecosistemes, que hauria portat a un increment de la pressió selectiva a causa d'una continuada especialització dels seus elements. Per Margalef (1991) l'heterogeneïtat espacial és resultat d'interaccions essencialment biològiques dins l'ecosistema i és d'esperar trobar més casos complicats de defensa, com els compostos tòxics, en ecosistemes madurs i en aquelles àrees on el clima s'ha mantingut constant durant llargs períodes. La interacció dinàmica entre plantes i fitòfags hauria permès una evolució dels mecanismes de protecció per part de la planta i un seguit d'adaptacions dels herbívors per fer front a aquestes defenses, com per exemple sistemes de detoxificació. La coevolució entre plantes i herbívors és un cas típic de «cursa d'armaments» entre espècies (Mitter *et al.*, 1991) que origina un canvi permanent de les defenses i una generació continuada de noves variants malgrat que l'ambient físic resti força estable, com seria el cas d'una selva tropical. Una altra dada que dóna suport a l'impacte de l'herbivorisme en l'evolució de les defenses és el fet que rarament es trobin alcaloides en plantes aquàtiques o que la presència de plantes alcaloïdiques en illes sigui menor de l'esperat segons la seva latitud (Levin, 1976), fet que reflecteix que la presència d'alcaloides es deu més a factors biòtics que no pas a factors abiòtics associats directament amb la latitud, com podria ser la disponibilitat de recursos. Margalef (1991) fins i tot considera que la freqüència de relacions defensives elaborades

permet deduir, en l'actual biosfera, on es troben les comunitats o els fragments de comunitats que es van integrar fa més temps.

L'increment d'eficàcia funcional dels compostos defensius al llarg de la filogènia, com es posa de manifest en la distribució preferent de defenses en les parts més valuoses de la planta o en l'aparició de la síntesi induïble o de protoxines que permet un gran estalvi energètic quan la planta no és atacada, també dona suport a la importància que ha tingut l'herbivorisme. Les distribucions espacials dels alcaloides a més petita escala, a nivell ecològic i individual, tindran també origen en l'efecte dels fitòfags, però exercit a diferents nivells de concreció (d'ecosistema i d'organisme).

La interpretació de la distribució de les defenses en l'espai i en el temps només podrà fer-se, per tant, dins el marc d'una teoria que consideri la pressió de l'herbivorisme com un factor variable, tal com s'observa en la biosfera. Aquesta és precisament una limitació de la RA, potser la hipòtesi interespecífica de defensa més acceptada, ja que considera l'herbivorisme com un factor constant i per tant es converteix en una hipòtesi poc viable a l'hora d'explicar els patrons biogeogràfics de les defenses. La distribució espacial tindria més cabuda en les teories coevolutives (Hengeveld, 1992). En definitiva, la disponibilitat de recursos per a la planta suposa una restricció en la síntesi de determinades defenses, però cal atribuir a l'herbivorisme la força selectiva origen de la diversitat estructural i funcional actual.

Cada una de les hipòtesis presentades anteriorment contribueixen a explicar diferents aspectes i fases en la interacció entre els recursos i la planta, i la planta i l'animal, i per tant totes tenen mancances a l'hora d'interpretar globalment la presència actual de defenses vegetals (taula 2). La PA, la OD i la CT no tenen en compte les possibles restriccions evolutives del medi abiòtic, de la disponibilitat de recursos. La RA i la PA no consideren l'herbivorisme com un factor de selecció variable. La RA, la PA, i la OD no inclouen els efectes de les defenses sobre els herbívors, o sigui els efectes recíprocs entre la defensa i el fitòfag, i només les CT poden explicar completament l'alta diversitat molecular. Finalment, la SSB incideix sobre les variacions fenotípiques de les defenses en funció dels recursos i de la seva demanda. És necessari, per tant, l'elaboració d'una teoria que integri els efectes dels recursos de què ha disposat la planta al llarg de la seva evolució, la incidència dels herbívors en una pressió selectiva variable i els efectes dels recursos sobre l'expressió fenotípica de les defenses per tal d'explicar els tipus i les concentracions dels metabòlits secundaris en una planta.

La teoria integradora que proposem en aquest article recull els principals aspectes de les hipòtesis precedents per englobar-los en una de sola. Per aquesta teoria global de defensa, la quantitat i el tipus de defensa de qualsevol planta estaria condicionada, en primer lloc, pels constrenyiments en la disponibilitat de recursos a què l'espècie ha estat sotmesa al llarg de l'evolució, la qual cosa determinaria l'espai de possibilitat o l'espai on podrien donar-se determinades defenses si només fossin restringides pels recursos disponibles en l'ambient. Per exemple, tal com apunta la Resource Availability, les plantes adaptades a altes concentracions de nutrients al sòl tindrien altes taxes de creixement i es decantarien per les defen-

ses basades en nitrogen. Aquest constrenyiment dels recursos seria una selecció «passiva» determinada per l'optimització del creixement i la defensa. L'espai possible de defenses d'una planta estaria posteriorment reduït a pocs compostos defensius resultat d'una interacció entre les plantes i els herbívors. Aquest nou espai, *l'espai potencial*, seria resultat d'un procés «actiu» d'evolució i seria constantment modificat per les relacions recíproques entre la planta i el fitòfag, com s'exposa en les teories coevolutives. Finalment, les defenses d'una planta estarien confinades a un *espai real* resultat d'una expressió influenciada pels factors mediamambientals immediats, tal com explica la SSB (figura 3). Aquest espai determinaria les concentracions dels compostos de defensa, corresponents a les mesures quantitatives reals preses al camp.

L'interessant d'elaborar una sola teoria que inclogui altres hipòtesis que han tingut un suport experimental no és només la seva capacitat explicativa més gran, sinó també la informació suplementària que ens dóna la interrelació que s'estableix entre els diferents aspectes comentats per aquestes hipòtesis menors. Per explicar la presència de la quantitat i del tipus de defensa en una planta determi-

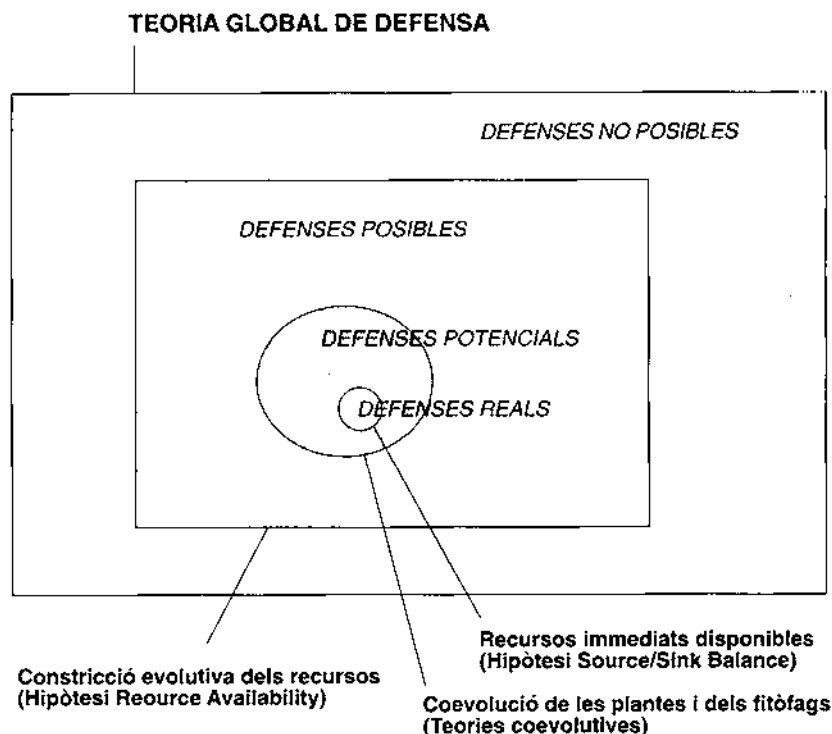


Figura 3. Esquema dels diferents nivells i factors que determinen el tipus i la quantitat de defenses en els vegetals.

nada serà necessari considerar tots els aspectes en conjunt i tenir en compte que cada un dels espais definits estarà influenciat per l'espai superior. Així doncs, la plasticitat (variabilitat intraespecífica) en l'expressió de la defensa estarà modulada per la història conjunta de la planta amb els herbívors, la qual estarà emmarcada en els contrenyiments establerts pels recursos de què ha disposat. Per exemple, la variabilitat en les defenses d'una espècie que ha evolucionat a altes i constants concentracions de nutrients serà diferent a la variabilitat d'una espècie adaptada a fortes fluctuacions de nutrients. Aquesta característica d'una influència «en vertical» seria un aspecte que les hipòtesis de defensa per separat no haurien tingut en compte, i es convertiria en la característica més interessant de la teoria global de defensa.

En resum, sembla que cal avançar vers una teoria general i globalitzadora en què la disponibilitat de recursos esdevindria el marc de referència on la biosíntesi de determinats compostos químics seria possible, però la força selectiva que hauria portat a la generació de variabilitat interespecífica i intraespecífica en la defensa química seria deguda a la pressió selectiva que haurien exercit els herbívors sobre les plantes al llarg del temps. Els recursos immediats disponibles per una planta condicionarien l'expressió final de la defensa.

Agraïments

Aquest treball ha estat finançat amb les ajudes de CICYT AMB94-0199 i CIRIT.

Bibliografia

- Baldwin, I.T.; Karb, M.J. 1995. Plasticity in allocation of nicotine to reproductive parts in *Nicotiana attenuata*. *J. Chem. Ecol.* 21: 897-909.
- Baldwin, I.T.; Karb, M.J.; Ohnmeiss, T.E. 1994. Allocation of ^{15}N from nitrate to nicotine: production and turnover of a damage-induced mobile defense. *Ecology*. 75: 1703-1713.
- Baldwin, I.T.; Ohnmeiss, T.E. 1994. Coordination of photosynthetic and alkaloidal responses to damage in uninducible and inducible *Nicotiana sylvestris*. *Ecology*. 75: 1003-1014.
- Bernáth, J. 1986. Production ecology of secondary plant products. In: Craker, L.E.; Simon, J.E. (ed.). *Herbs, spices and medicinal plants*. Oryx Press. p. 185-234.
- Bryant, J.P.; Chapin, F.S.I.; Klein, D.R. 1983. Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. *Oikos*. 40: 357-368.
- Cates, R.G.; Orians, G.G. 1975. Successional status and the palability of plants to generalized herbivores. *Ecology*. 56: 410-418.
- Coley, P.D. 1988. Effects of plant growth rate and leaf lifetime on the amount and type of antiherbivore defense. *Oecologia*. 74: 531-536.
- Coley, P.D.; Aide, T.M. 1991. A comparison of herbivory and plant defenses in temperate and tropical broad-leaves forests. In: Price, P.W.; Lewinsohn, T.M.; Fernandes, G.W. Benson, W.W. (ed.). *Plant-animal interactions: evolutionary ecology in tropical and temperate regions*. Wiley. Nova York. p. 25-49.

- Coley, P.D.; Bryant, J.P.; Chapin, F.S.I. 1985. Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science*. 230: 895-899.
- Cronquist, A. 1977. On the taxonomic significance of secondary metabolites in angiosperms. *Pl. Syst. Evol. Suppl.* 1: 179-189.
- 1988. Secondary metabolites. Anonymous(ed.). The evolution and classification of flowering plants. The New York Botanical Garden. p. 240-246.
- Dam, N.M. van; Meijden, E. van der; Verpoorte, R. 1993. Induced responses in three alkaloid-containing plant species. *Oecologia*. 95: 425-430.
- Dam, N.M. van; Witte, L.; Theuring, C.; Hartmann, T. 1995. Distribution, biosynthesis and turnover of pyrrolizidine alkaloids in *Cynoglossum officinale*. *Phytochem.* 39: 287-292.
- Dreyer, D.L.; Jones, K.C.; Molyneux, R.J. 1985. Feeding deterrence of some Pyrrolizidine, Indolizidine, and Quinolizidine Alkaloids towards pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*) and evidence for phloem transport of Indolizidine alkaloid swainsonine. *J. Chem. Ecol.* 11: 1045-1051.
- Ehrlich, P.R.; Raven, P.H. 1964. Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution*. 18: 586-608.
- Estiarte, M.; Peñuelas, J. 1997. Phenotypical plasticity in storage and defense functions. An essay on carbon excess. *Funct. Ecol. Solmès*.
- Feeny, P.P. 1976. Plant aparency and chemical defense. *Rec. Adv. Phytochem.* 10: 1-40.
- Friend, J.; Threlfall, D.R. 1976. Biochemical aspects of plant-parasite relationships. Academic Press. Londres.
- Frischnecht, P.M.; Bättig, M.; Baumann, T.W. 1987. Effect of drought and wounding stress on indol alkaloid formation in *Catharanthus roseus*. *Phytochem.* 26: 707-710.
- Futuyma, D.J. 1976. Food plant specialization and environmental predictability in Lepidoptera. *Am. Nat.* 110: 285-292.
- Futuyma, D.J.; Keese, A.M. 1992. Evolution and coevolution of plants and phytophagous arthropods. In: Rosenthal, G.A.; Berenbaum, M.R. (ed.). *Herbivores. Their interaction with secondary plant metabolites*. Academic Press, Inc. San Diego, California. p. 440-475.
- Gershenson, J. 1984. Changes in the levels of plant secondary metabolites under water and nutrient stress. *Rec. Adv. Phytochem.* 18: 273-320.
- Grime, J.P. 1977. Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. *Am. Nat.* 111: 1169-1194.
- Hagerman, A.E.; Butler, L.G. 1991. Tannins and lignins. In: Rosenthal, G.A.; Berenbaum, M.R. (ed.). *Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites*. Academy Press, Inc. p. 389-429.
- Hartmann, T. 1991. Alkaloids. In: G.A. Rosenthal and M.R. Berenbaum (ed.) *Herbivores: their interaction with secondary plant metabolites*. Academy Press, Inc. p. 79-121.
- 1996. Diversity and variability of plant secondary metabolism: a mechanistic view. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 80: 177-188.
- Haslam, E. 1986. Secondary metabolism - facts and fiction. *Nat. Prod. Rep.* 3: 217-249.
- Hengeveld, R. 1992. Geographical trends in biological traits. In: Barnes, R.S.K.; Birks, H.J.B.; Connor, E.F.; Paine, R.T. (ed.). *Dynamic biogeography*. Cambridge University Press. Cambridge. p. 103-115.
- Herms, D.A.; Mattson, W.J. 1992. The dilemma of plants: to grow or defend. *Q. Rev. Biol.* 67: 283-335.

- Horsfall, J.G.; Cowling, E.B. 1980. How plants defend themselves. Anonymous (ed.). Plant disease. Academic Press. Londres.
- Janzen, D.H. 1974. Tropical blackwater rivers, animals and mast fruiting by the Dipterocarpaceae. *Biotropica*. 6: 69-103.
- Krischik, V.A.; Denno, R.F. 1983. In: Denno, R.F.; McClure, M.S. (ed.). Variable plants and herbivores in natural managed systems. Academic Press. Nova York. p. 463-512.
- Langenheim, J.H. 1994. Higher plant terpenoids: a phyto-centric overview of their ecological roles. *J. Chem. Ecol.* 20: 1223-1279.
- Levin, D.A. 1976. Alkaloid-bearing plants: an ecogeographic perspective. *Am. Nat.* 110: 261-284.
- Levinson, H.Z. 1976. The defensive role of alkaloids in insects and plants. *Experientia*. 32: 408-411.
- Loomis, W.E. 1932. Growth-differentiation balance vs. carbohydrate-nitrogen ratio. *Proc. Am. Soc. Hortic. Sci.* 29: 240-245.
- Lovett, J.V.; Ryuntyu, M.Y.; Liu, D.L. 1989. Allelopathy, chemical communication, and plant defense. *J. Chem. Ecol.* 15: 1193-1202.
- Margalef, R. 1991. *Ecología*. Omega. Barcelona.
- McKey, D. 1974. Adaptive patterns in alkaloid physiology. *Am. Nat.* 108: 305-319.
- McNair, J.B. 1935. The taxonomic and climatic distribution of alkaloids. *J. Torrey Bot. Club.* 62: 219-226.
- Menken, S.B.J. 1996. Pattern and process in the evolution of insect-plant associations: *Yponomeuta* as an example. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 80: 297-305.
- Mitter, C.; Farrell, B.; Futuyma, D.J. 1991. Phylogenetic studies of insect-plant interactions: insights into the genesis of diversity. *TREE*. 6: 290-293.
- Mole, S.; Joern, A. 1994. Feeding behavior of Graminivorous grasshoppers in response to host-plant extracts, alkaloids, and tannins. *J. Chem. Ecol.* 20: 3097-3109.
- Moody, S. 1978. Latitude, continental drift, and the percentage of alkaloid-bearing plants in floras. *Am. Nat.* 112: 965-968.
- Ohmmeiss, T.E.; Baldwin, I.T. 1994. The allometry of nitrogen allocation to growth and an inducible defense under nitrogen-limited stress. *Ecology*. 75: 995-1002.
- Pastecis, J.M.; Dobler, S.; Rowell-Rahier, M.; Ehmke, A.; Hartmann, T. 1995. Distribution of autogenous and host-derived chemical defenses in *Oreina* leaf beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). *J. Chem. Ecol.* 21: 1163-1179.
- Rhoades, D.F. 1979. Evolution of plant chemical defense against herbivores. In: Rosenthal, G.A.; Janzen, D.H. (ed.). *Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites*. Academic Press, Nova York, p. 4-54.
- Rhoades, D.F.; Cates, R.G. 1976. Toward a general theory of plant antiherbivore chemistry. *Rec. Adv. Phytochem.* 10: 168-213.
- Robinson, T. 1974. Metabolism and function of alkaloids in plants. *Science*. 184: 430-435.
- Sastry, S.D.; Waller, G.R. 1971. Identification of delso-line from *Delphinium ajacis*. *Phytochemistry*. 10: 1961-1962.
- Schaffner, U.; Boevé, J.L.; Gfeller, H.; Schlunegger, U.P. 1994. Sequestration of *Veratum* alkaloids by specialist *Rhadinoceraea nodicornis* konow (Hymenoptera, Tenthredinidae) and its ecoethological implications. *J. Chem. Ecol.* 20: 3233-3250.
- Southon, I.W.; Buckingham, J. 1989. *Dictionary of Alkaloids*. Chapman and Hall. Londres.

- Swain, T. 1977. Secondary compounds as protective agents. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 28: 479-501.
- Takabayashi, J.; Dicke, M.; Posthumus, M.A. 1994. Volatile herbivore-induced terpenoids in plant-mite interactions: variation caused by biotic and abiotic factors. *J. Chem. Ecol.* 20: 1329-1353.
- Thompson, J.N. 1994. *The coevolutionary process*. University of Chicago Press. Chicago.
- Vrieling, K.; Jong, T.J. de; Klinkhamer, P.G.L.; Meijden, E. van der; Veen-van Wijk, C.A.M. van der. 1996. Testing trades-offs among growth, regrowth and anti-herbivore defences in *Senecio jacobaea*. *Entomologia Experimentalis et Applicata.* 80: 189-192.
- Waller, G.R.; Burstrom, H. 1969. Diterpenoid alkaloids as plant growth inhibitors. *Nature.* 222: 576-578.
- Waterman, P.G.; Gray, A.I. 1987. *Chemical Systematics. Natural product reports.* 4: 175-203.
- Waterman, P.G.; Mole, S. 1994. *Analysis of phenolic plant metabolites*. Blackwell Scientific Publications. Orford.
- Wink, M. 1983. Inhibition of seed germination by quinolizidine alkaloids. *Planta.* 158: 365-368.
- 1987. Quinolizidine Alkaloids: biochemistry, metabolism, and function in plants and cell suspension cultures. *Planta Medica.* 509-514.
- Wink, M.; Witte, L. 1984. Turnover and transport of quinolizidine alkaloids. Diurnal fluctuations of lupanine in the phloem sap, leaves, and fruits of *Lupinus albus* L. *Planta Medica.* 161: 519-524.
- 1985. Quinolizidine Alkaloids in *Petteria Ramentacea* and the infesting aphids, *Aphis cytisorum*. *Phytochemistry.* 24: 2567-2568.
- Wood, R.K. 1967. *Physiological plant pathology*. Blackwell. Oxford.
- Wood, R.K.; Ballio, A.; Graniti, A. 1972. *Phytotoxins in plant diseases*. Academic Press. Londres.
- Zangerl, A.R.; Arntz, A.M.; Berenbaum, M.R. 1997. Physiological price of an induced defense: photosynthesis, respiration, biosynthesis, and growth. *Oecologia.* 109: 433-441.
- Zangerl, A.R.; Bazzaz, F.A. 1992. Theory and pattern in plant defense allocation. In: Fritz, R.S.; Simms, E.L. (ed.). *Plant resistance to herbivores and pathogens. Ecology, evolution and genetics*. The University Chicago Press. Chicago, EUA, p. 363-391.