

# Importancia de los taninos en especies del género *Quercus* como metabolitos secundarios asociados a defensa contra insectos herbívoros

Vaca-Sánchez M. Sofía<sup>1</sup>✉, González-Rodríguez Antonio<sup>2</sup>, Maldonado-López Yurixhi<sup>3</sup>, Fernandes G. Wilson<sup>4</sup>, Cuevas-Reyes Pablo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Ciudad Universitaria, Morelia, 58030 Michoacán, México.

<sup>2</sup> Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad, Universidad Nacional Autónoma de México. Antigua Carretera a Pátzcuaro No. 8701, Col. Ex-Hacienda de San José de la Huerta, Morelia, 58190 Michoacán, México.

<sup>3</sup> CONACYT-Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Avenida San Juanito Itzicuaró SN, Nueva Esperanza, 58330 Michoacán, México.

<sup>4</sup> Ecología Evolutiva & Biodiversidade/DBG, C P 486, ICB/ Universidade Federal de Minas Gerais, 31270 901 Belo Horizonte, MG, Brazil.

## Resumen

Las plantas presentan una gran diversidad de metabolitos secundarios los cuales utilizan como defensa contra insectos herbívoros. Los encinos se caracterizan por presentar altas concentraciones de diversos compuestos fenólicos, particularmente taninos hidrolizables o condensados. Los taninos tienen la capacidad de precipitar e inactivar proteínas y enzimas afectando la nutrición, el crecimiento y el desarrollo de insectos herbívoros. Se conoce que los encinos presentan una alta tasa de hibridación natural, siendo este un factor que influye en la variación de la defensa química afectando la estructura de la comunidad de insectos herbívoros. El papel principal de los taninos dentro de las interacciones planta-insecto en los encinos podría ser de defensa contra herbívoros, aunque se han reportado efectos variados de estos sobre los insectos herbívoros. Estudios recientes sugieren un papel central de los taninos hidrolizables en la defensa química en conjunto con los taninos condensados, ya que producto de la oxidación de los taninos hidrolizables se generan especies reactivas de oxígeno (ERO), lo cual representa un mecanismo de defensa contra insectos herbívoros. El objetivo de este artículo es el analizar y discutir la importancia de la defensa química de los taninos en encinos sobre la incidencia de insectos herbívoros como un posible mecanismo de defensa química.

**Palabras clave:** *Quercus*, defensa química, taninos, herbívoros

## Importance of tannins in species of the genus *Quercus* as secondary metabolites associated with defense against herbivorous insects

### Abstract

Plants have a wide variety of secondary metabolites which use as a defense against herbivorous insects. Oaks are characterized by high concentrations of various phenolic compounds, particularly hydrolyzable and condensed tannins. Tannins have the ability to precipitate and inactivate proteins and enzymes by affecting the nutrition, growth and development of herbivorous insects. It is known that oaks have a high rate of natural hybridization, influencing the variation of chemical defense and affecting the structure and composition of herbivorous insects. In oaks, the main role of tannins in plant-insect interactions may be associated to defense against herbivores, although there have been reported mixed effects of these on herbivorous insects. Recent studies suggest that central role of both hydrolyzable and condensed tannins is associated to chemical defense against herbivorous, since as result of oxidation of hydrolysable tannins, are produced reactive oxygen species (ROS), which represents a defense mechanism against insect herbivores. The objective of this manuscript was to analyze and discuss the importance of tannins in oaks as a mechanism of chemical defense against herbivorous insects.

**Key words:** *Quercus*, chemical defense, tannins, herbivorous

## Introducción

Las células vegetales llevan a cabo procesos del metabolismo primario, por los cuales sintetizan y degradan moléculas orgánicas para la obtención de energía y nutrientes necesarios para la vida celular y el funcionamiento óptimo de las plantas (i.e. fotosíntesis, glicolisis, síntesis de aminoácidos) (Pichersky y Gang 2000). A partir de estas rutas metabólicas se derivan otras que no cumplen una función metabólica básica, pero que representan una importante función ecológica entre la planta, su ambiente y los organismos antagónicos, conocidas como las rutas del metabolismo secundario.

Los metabolitos secundarios (MS) son compuestos que no presentan una función aparente dentro del metabolismo primario, pero que poseen un papel importante en las interacciones bióticas como la defensa química contra

herbívoros y patógenos (Neilson, 2013). Actualmente se conoce la estructura de 50,000 metabolitos secundarios, existiendo quizá millones de ellos, resultado de presiones selectivas impuestas por parte de enemigos naturales hacia las plantas (Anaya, 2003). Whittaker y Fenny (1971) clasifican los MS con base a la ruta biosintética en fenilpropanoides, acetogeninas, terpenoides y alcaloides.

Los fenilpropanoides derivan de la fenilalanina, la cual se forma por la vía del ácido shikímico. Los fenilpropanos pueden formar moléculas fenólicas simples (ácidos gálico, tánico, benzoico y protocatéquico). Los ácidos fenólicos y algunos azúcares pueden dar origen a taninos los cuales son polifenoles solubles en agua y tienen la capacidad de precipitar proteínas. Estos se clasifican en taninos hidrolizables y taninos condensados (proantocianidinas), actuando de forma general como repelentes alimenticios de insectos herbívoros (Anaya, 2003). Otros fenilpropanoides de importancia son el ácido cinámico y los cinamaldehydos, derivados de la desaminación de la fenilalanina; así como el ácido *p*-cumárico producto de la desaminación de la tirosina (Anaya, 2003). Los ácidos cinámicos generan

✉ M. Sofía Vaca Sánchez, [vacainsectum@gmail.com](mailto:vacainsectum@gmail.com)

Laboratorio de Ecología de Interacciones Bióticas. Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Ciudad Universitaria, Morelia, 58030 Michoacán, México.

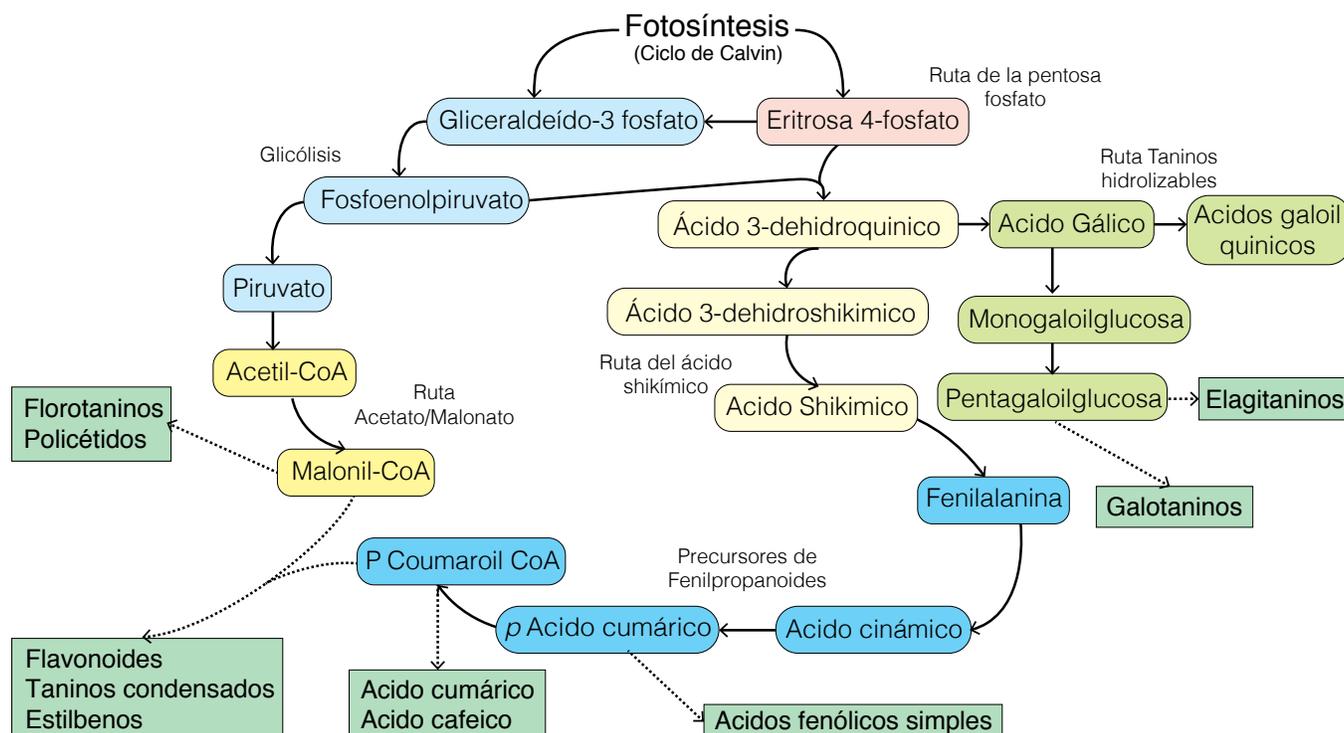
alcoholes cinámicos, los cuales son intermediarios en la síntesis de la lignina (Mann, 1987) (**Figura 1**). Estos compuestos contribuyen al soporte mecánico en las plantas, coloración de flores y frutos, protección contra patógenos y herbívoros, así como pigmentos de protección de los tejidos contra la radiación UV (Harborne, 1988; Strack, 1997). Las acetogeninas o poliacétidos, se forman por un precursor (acetil CoA o manoil CoA) y la condensación alterna de grupos metilo y un carbonilo (-CH<sub>2</sub>-CO)<sub>n</sub>. Dependiendo del número de moléculas de poliacétidos que intervienen en la formación de una acetogenina, ésta será diacético (piperina), tri, tetra, etc. Los poliacétidos presentan funciones variadas ya que pueden actuar como alérgenos, sustancias tóxicas, pigmentos comunes de plantas y hongos, sustancias de defensa, repelentes alimenticios y antibióticos (Mann, 1987; Anaya, 2003).

Los terpenoides son producidos a través de la vía del acetato y están formados por unidades de isopreno (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>) unidas de forma lineal (Harborne, 1988; Connolly y Hill, 2001). La nomenclatura de los terpenos refleja las unidades de isopreno que contienen y se clasifican en los siguientes grupos: hemiterpenos, monoterpenos, sesquiterpenos, triterpenos y tetraterpenos (Anaya, 2003). Los terpenoides se encuentran en microorganismos, plantas y animales, presentando diferentes funciones en las plantas como agentes de comunicación química entre organismos, hormonas, pigmentos fotosintéticos, componentes de membranas y defensa contra herbívoros (Anaya, 2003;

McGarvey y Croteau, 1995; Harborne, 1988).

Los alcaloides son compuestos heterocíclicos que contienen nitrógeno básico y son de distribución restringida a pocas especies de plantas. Se localizan en tejidos periféricos de los órganos de la planta, formando parte del recubrimiento de las semillas, corteza del tallo, raíz o fruto y en la epidermis de la hoja (Evans, 2002). De tal modo, los alcaloides cumplen una función importante de protección vegetal por su sabor amargo y propiedades tóxicas ante el ataque de insectos herbívoros (Arango, 2008). Además, los alcaloides pueden servir como reguladores de crecimiento de la planta cuando se presenta alguna deficiencia nutricional (Evans, 2002).

Durante muchos años se consideró al metabolismo secundario como un mecanismo por el cual las plantas excretaban y eliminaban los productos finales de procesos metabólicos (Taiz, 2006). Actualmente se conoce que los MS presentan distintas funciones, como mecanismo de defensa contra herbívoros y patógenos (Lindroth y Batzli, 1984; Baas, 1989; Sosa *et al.* 2004), como agentes alelopáticos (Rice, 1984; Kobayashi, 2004), atrayentes de polinizadores y dispersores (Harborne, 1988; Baas, 1989) y agentes de protección contra la radiación UV (Zobel y Lynch, 1997). El propósito de esta revisión es conocer la composición de la defensa química en el género *Quercus* (encinos), de forma específica de los taninos ya que este es el grupo de compuestos con mayor presencia en el género y sus efectos en las interacciones planta-insecto.



**Figura 1.** Esquema que muestra las rutas de biosíntesis de diferentes grupos de taninos y otros compuestos fenólicos. (Tomada de Juha-Pekka & Karonen 2011).

## Metabolismo secundario en *Quercus* (Encinos)

El género *Quercus* ha sido de gran interés y centro de estudio para comprender el papel de la defensa química dentro de las interacciones planta-insecto (Feeny, 1970; Faeth, 1986; Rossiter *et al.*, 1988). Uno de los primeros estudios sobre la composición química de encinos fue realizado por Feeny (1970), el cual documentó una disminución temporal en la abundancia de insectos en *Q. Robur*, coincidente con un incremento en la concentración de taninos. Gran parte de los estudios realizados sobre la composición química de encinos han reportado que el grupo químico predominante son compuestos de naturaleza fenólica (fenilpropanoides), principalmente taninos hidrolizables, proantocianidinas (taninos condensados), flavonoides glicósidos y algunos compuestos fenólicos simples (**Tabla 1**) (Salminen *et al.* 2004; Yarnes *et al.* 2006; Barbehenn *et al.* 2006a, 2008; Barbehenn y Constabel, 2011; Moctezuma *et al.* 2014). Los taninos son típicamente definidos como compuestos fenólicos solubles en agua que son capaces de ligar y precipitar proteínas y otras macromoléculas dentro de soluciones acuosas y representan efectos perjudiciales sobre los insectos herbívoros actuando como disuasivos alimenticios (Bettolo *et al.*, 1986), reduciendo el crecimiento y sobrevivencia (Rossiter *et al.*, 1988; Kopper *et al.* 2002), generando deformaciones letales (Barbenhem y Martin, 1994) y afectando la susceptibilidad al parasitismo (Faeth y Bultman, 1986). Con base en lo anterior, los taninos muestran un papel importante en la resistencia de los encinos hacia los herbívoros, así como en la estructura de

la comunidad de herbívoros que los utilizan como recurso alimenticio (Zucker, 1983; Clausen *et al.*, 1990; Ayres *et al.*, 1997; Kilkowski y Gross, 1999; Kraus *et al.*, 2003).

### Taninos: estructura y distribución

Los taninos son producidos en altas concentraciones en hojas de numerosas plantas leñosas (5-10% del peso seco); y se encuentran en menor presencia en plantas herbáceas (>2% del peso seco) (Barbehenn y Constabel, 2011). Los taninos son compuestos que actúan como defensa contra insectos herbívoros (Agrawal *et al.* 2012; Barbehenn *et al.* 2006b; Feeny, 1970; Forkner *et al.* 2004). Entre sus principales propiedades está la capacidad de precipitar proteínas (Haslam 2007), inactivar proteínas y enzimas incidiendo sobre la nutrición, crecimiento y desarrollo de insectos herbívoros (Feeny 1968; Robbins *et al.* 1987). La amplia presencia, alta concentración en tejidos y variabilidad química y estructural de los taninos en numerosas especies de plantas puede ser resultado de presiones de selección por parte de los insectos herbívoros (Coley 1983, 1985, Begon *et al.* 1990; Skogsmyr y Fagerström 1992). Sin embargo, el papel de los taninos como MS de defensa ha sido cuestionado ya que se han encontrado efectos contrastantes en las interacciones planta-insecto; donde pueden actuar como defensa anti-herbívoros, toxinas, no presentar efectos sobre algún atributo del desempeño de insectos herbívoros, o por el contrario incrementar su desempeño (Bernays *et al.* 1980, 1991; Barbehenn *et al.* 2008). En este último caso los insectos que se encuentran adaptados a estos pueden ser capaces de secuestrar a los taninos y utilizarlos como mecanismo

**Tabla 1. Principales compuestos reportados en especies de *Quercus* (encinos) y sus efectos sobre insectos herbívoros.**

Compuestos		Efectos sobre herbívoros	Referencia
Taninos Hidrolizables	Vescalagina*	Actividad oxidativa por generación de especies reactivas de oxígeno (ERO)	Barbehenn <i>et al.</i> 2006, 2008
	Cocciferina D <sub>2</sub> , D <sub>3</sub>		Barbehenn and Constabel, 2011
	Pedunculagina		Moctezuma <i>et al.</i> 2014
	Galotaninos	Daño en tejidos (intestino medio) de insectos herbívoros	Yarnes <i>et al.</i> 2006, 2008
	Elagitanina	Disminución del desempeño y crecimiento	Salminen <i>et al.</i> 2004
	Castalagina		
	Acutisimina A/B		
	Mongolinina A		
	Oenotenina B		
	Ác. Vescavaloninico		
Ác. Castavaloninico			
Taninos Condensados	Procianidinas	Deterrentes alimenticios	Barbehenn, 2006
	Prodelfinidinas	Disminución del desempeño y crecimiento en insectos no adaptados al consumo de estos	Barbehenn and Constabel, 2011
	Proantocianidinas		Yarnes <i>et al.</i> 2006
	Quercetinas	Defensa contra herbívoros generalistas	Salminen <i>et al.</i> 2004
	Kaemferol		Moctezuma <i>et al.</i> 2014
	Catequinas		

**Nota:** Vescalagina es el compuesto que se ha reportado con mayores efectos negativos sobre larvas. Los Taninos condensados presentan mayores niveles de concentración en hojas que los Taninos hidrolizables

de defensa contra sus enemigos naturales como es el caso de los insectos inductores de agallas (Nishida 2002; Maldonado-López *et al.* 2013). Sin embargo, la mayoría de los estudios apuntan a una función de defensa contra herbívoros (Maldonado-López *et al.* 2015).

Existe una gran complejidad en las interacciones entre los taninos e insectos, ya que aquellos son un grupo muy heterogéneo de compuestos. Se clasifican con base en su estructura química en taninos hidrolizables (TH), taninos condensados (TC) también conocidos como proantocianidinas (Hagerman y Butler, 1991) (**Figura 2**) y fluorotaninos (FT). Los TH son producto de la esterificación de compuestos polifenólicos como el ácido gálico (galotaninos) y el ácido elágico (elagitaninos) (Vazquez-Flores *et al.* 2012). Estos presentan en su estructura un grupo poliol con un núcleo comúnmente de glucosa el cual está esterificado por polifenoles (Barbehenn y Constabel, 2011). Los galotaninos son compuestos de cadena larga y son capaces de precipitar proteínas (**Figura 2**). Los elagitaninos son sintetizados en las plantas a partir de los galotaninos por la oxidación de los grupos poliol (Moilanen y Salminen, 2008). Se conoce que los TH se encuentran concentrados en las paredes celulares, como en la células del mesófilo en *Q. robur* (Grundhöfer *et al.*, 2001).

Los elagitaninos presentan una distribución taxonómica amplia, pero se conoce poco sobre sus funciones ecológicas en interacciones planta-insecto (Molainen y Salminen, 2008). Appel (1993) reporta que los elagitaninos presentan actividad oxidante en insectos herbívoros, como producto de la oxidación de elagitaninos dentro del intestino de insectos herbívoros, siendo este un mecanismo de defensa de la planta. Sin embargo, se requieren más estudios para conocer los factores que intervienen en la síntesis de elagitaninos, su estructura química y los efectos sobre las interacciones planta-insecto.

Los TC presentan gran variabilidad en su estructura química, la cual puede variar en su estereoquímica y los grupos hidroxilo constituyentes de los grupos flavonoides (Barbehenn y Constabel, 2011). Los TC son polímeros de dos o más grupos flavan-3-ol, los cuales usualmente son catequinas o epicatequinas siendo las más comunes las procianidinas y prodelfinidinas (**Figura 2**) (Barbehenn y Constabel, 2011). Los TC en los tejidos vegetales son acumulados en la vacuola y en las capas epidérmicas y subepidérmicas de hojas y frutos (Kao *et al.*, 2002; Lees *et al.*, 1993). Las diferencias estructurales de los TC influyen sobre su bioactividad y funciones ecológicas (Yarnes *et al.*, 2006), generando cambios en las tasas de precipitación de proteínas (Scarlburt, 1990) y quelación de metales (Mila, 1996), así como en sus efectos tóxicos (Ayres *et al.*, 1997) y niveles de actividad pro-oxidante en los insectos herbívoros (Barbehenn *et al.*, 2005) (**Tabla 1**).

Los florotaninos se encuentran en organismos marinos como las algas café (Phaeophyceae) y son quizá los taninos de estructuras más simples (Arnold y Targett, 2002). Estos están compuestos por dos o más unidades de floriglucinol, las cuales presentan enlaces C-C o C-O-C; que forman

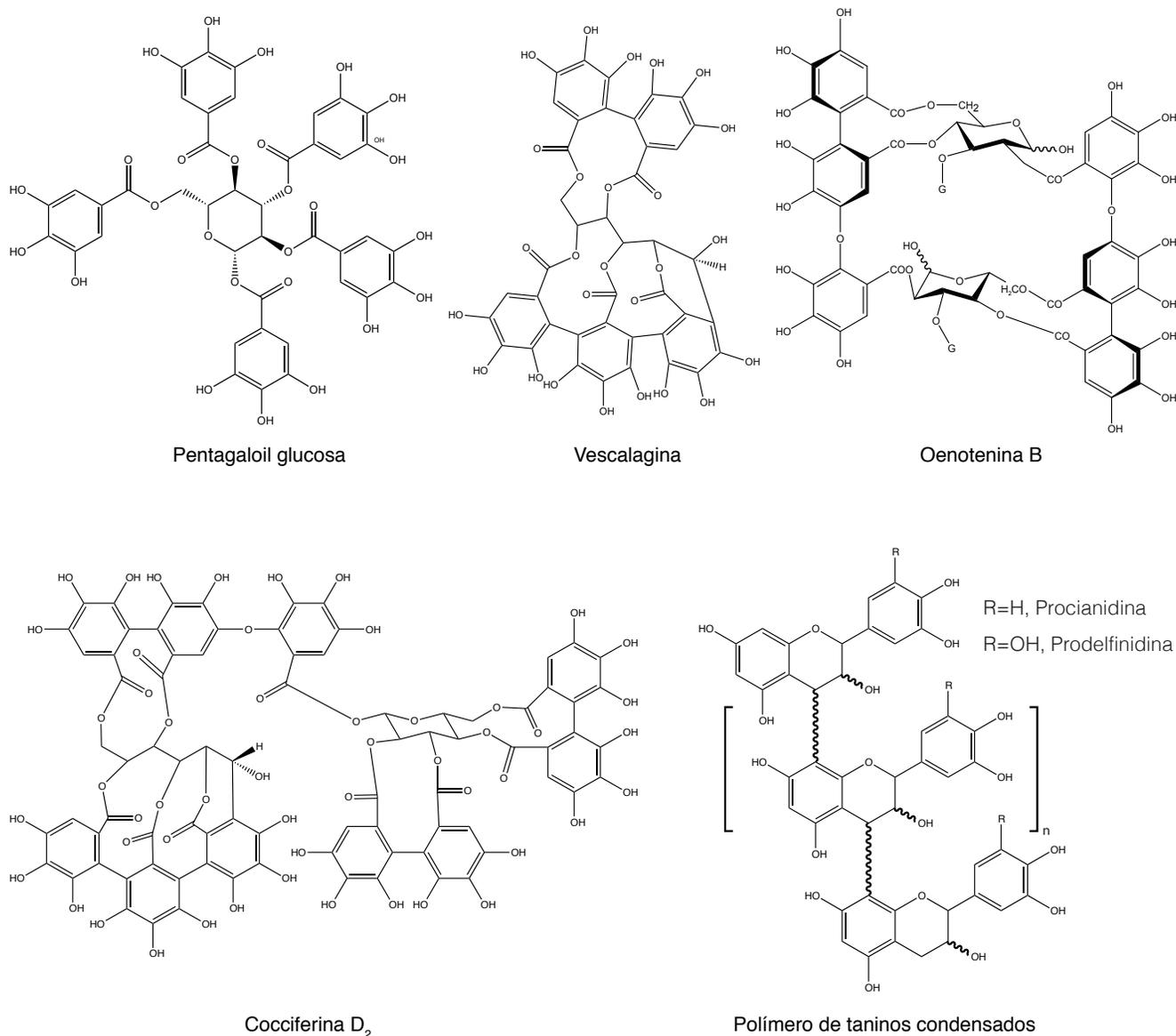
oligómeros (Salminen y Karonen, 2011).

En algunas especies de plantas como *Ginkgo biloba*, *Pseudotsuga menziesii*, *Desmodium uncinatum*, *Arabidopsis thaliana* y *Medicago truncatula* se ha caracterizado la ruta de biosíntesis de catequinas y epicatequinas necesarias para la síntesis de taninos condensados (Xie y Dixon, 2005). De igual forma, numerosas enzimas que participan en las reacciones de síntesis de los taninos hidrolizables han sido caracterizadas (Grundhöfer *et al.*, 2001). En encinos no se conocen aún estas rutas de biosíntesis de taninos, y dada la alta variabilidad de la estructura química de los taninos, la cual es importante en los mecanismos de acción sobre insectos herbívoros, es importante conocer cuáles son las rutas de biosíntesis de taninos en encinos y los factores que influyen sobre esta para comprender cuáles son los efectos en las interacciones planta-insecto.

### Taninos como defensa química de *Quercus*

Los encinos han sido utilizados como sistemas de estudio para conocer el papel de los compuestos polifenólicos como los taninos en las interacciones planta-insecto (Feeny 1970; Lawrence *et al.*, 2003; Ayres *et al.*, 1997). Se conoce que la concentración de taninos en plantas es un rasgo con gran plasticidad, es decir, que varía dependiendo del genotipo de la planta, el estado de desarrollo del tejido y las condiciones ambientales (Barbehenn y Constabel, 2011). En los encinos como *Q. robur*, los taninos condensados mostraron un incremento durante el desarrollo foliar (Salminen *et al.*, 2004); coincidiendo con el decremento de la incidencia de los insectos herbívoros asociados a los encinos. Por ejemplo, Feeny (1970) reportó que la abundancia de orugas de *Operophtera brumata* y otras especies de Lepidoptera en *Q. robur* se encuentra relacionada con los cambios estacionales en la textura y composición química de las hojas. Un incremento en la dureza foliar puede ser un factor que evite el consumo foliar por parte de larvas de *Operophtera*. El consumo temprano de hojas por *Operophtera* concuerda con la máxima concentración de proteínas y la concentración mínima de azúcar, lo cual indica que la disponibilidad de nitrógeno es un factor limitante para el crecimiento de *Operophtera*.

En los encinos, los taninos actúan como repelentes alimenticios sobre un gran número de insectos herbívoros, siendo este mecanismo de defensa un rasgo importante de protección contra insectos no adaptados. Por otro lado, para los insectos que se encuentran adaptados como los insectos inductores de agallas, los taninos actúan como estimulantes alimenticios (Schultz, 1989; Maldona-López *et al.* 2015). Existen factores que influyen sobre la bioactividad de los taninos sobre los herbívoros como el pH, donde los taninos condensados en presencia de pH menores a 7 reduce la digestibilidad de los alimentos consumidos, ya que afectan reacciones enzimáticas digestivas y la formación de proteínas (Hagerman y Butler 1991; Asquith y Butler 1986; Clausen *et al.* 1990; Mole *et al.* 1993; Kilkowski y Gross 1999; Hofmann *et al.* 2006). Los efectos prooxidantes asociados a los taninos hidrolizables, que generan especies reactivas del



**Figura 2. Estructuras representativas de galotaninos, elagitaninos (vescalagina, cocciferina D<sub>2</sub>, oenotenina B) y taninos condensados.** Tomado de Barbehenn *et al.*, 2006b.

oxígeno (ERO), las cuales causan daños celulares y tisulares (Salminen y Lempa 2002; Barbehenn *et al.* 2009). Esto indica que los taninos hidrolizables presentan un papel importante en la defensa contra insectos herbívoros, sin embargo, se conoce poco sobre el mecanismo de este fenómeno.

Los taninos, ya sean hidrolizables o condensados, son los principales mediadores en las interacciones planta-insecto en el género *Quercus*. Se ha reportado la presencia de altas concentraciones de taninos condensados foliares en *Quercus rubra* después de ser consumidas por *Lymantria dispar* (Schultz y Baldwin, 1992) y en *Q. emoryi* se reportó un incremento de taninos sobre hojas consumidas por distintas larvas de lepidópteros en comparación con hojas sin daño foliar (Faeth, 1986). Además, experimentos con larvas de *Orgyia vetusta* (Lymantriidae) la cual es una especie polífaga de 27 especies de encinos, mostraron una relación negativa entre la cantidad de taninos condensados foliares y el

desempeño (sobrevivencia) de las larvas (Pearse, 2011).

Recientemente, distintos estudios han reportado diferentes efectos de los taninos sobre insectos herbívoros. Por ejemplo, la concentración de taninos condensados presentes en *Q. alba* y *Q. vetulina* mostraron una correlación negativa sobre la densidad total de insectos, la densidad de especies de insectos y la riqueza de especies de herbívoros generalistas y algunas especies especialistas (Forkner *et al.* 2004). Esto podría explicar la variación de la estructura y composición de la comunidad de herbívoros tanto para especies generalistas como especialistas. Por otra parte, el papel de los taninos hidrolizables sobre las interacciones planta-insecto ha sido poco explorado; los pocos estudios disponibles muestran un mayor efecto en comparación con los taninos condensados, reportando efectos negativos sobre el tamaño de pupas en *Psilocorsis quercicella* (Oecophoridae) en *Q. alba*. En el caso de los elagitaninos, su mecanismo de

acción esta basado en la liberación de especies reactivas del Oxígeno (ERO), producto de la oxidación de taninos, ocasionando daños en el epitelio del intestino medio en insectos (Barbehenn *et al.*, 2005; Barbehenn *et al.* 2008). Los taninos condensados, aunque son menos reactivos que los elagitaninos, también pueden oxidarse en el intestino de los insectos, produciendo semiquinonas, radicales hidroxilo, quinonas y peróxidos (Barbehenn *et al.*, 2009).

### Inducción de taninos por herbivoría

Las plantas al presentar daños por insectos y heridas pueden generar la producción de taninos, lo cual indica que la síntesis de taninos participa en los mecanismos de defensa inducida (Barbehenn y Constabel, 2011) (**Figura 3**). La inducción de taninos por herbívoros ha sido reportada en varias especies de árboles como *Pinus sylvestris* (Roitto *et al.*, 2009), *Populus* (Arnold y Schultz, 2002; Peters y Constabel, 2002; Stevens y Lindroth, 2005) y en algunas especies de *Quercus* (Hunter y Schultz, 1995; Rossi *et al.*, 2004). En *Quercus oleoides* se reportó un incremento de taninos hidrolizables foliares en hojas con daño por herbívoros en comparación con hojas sin daño, además de un incremento en la producción de acutisimina B, mongolinina A y vescalagina en plántulas a las cuales se les generó daño foliar imitando al ocasionado por insectos herbívoros (Moctezuma *et al.*, 2014). Sin embargo, una parte de los compuesto polifenólicos reportados no respondieron a los daños por herbivoría, lo cual indica que estos podrían estar reaccionando a otros factores como luz, patógenos o agentes de estrés (Arámbula-Salazar *et al.* 2010; Close y McArthur 2002; Close *et al.* 2003; Harborne y Williams 2000; Ryan *et al.* 2002).

Otro ejemplo es el daño foliar ocasionado por *L. dispar* en hojas de encinos rojos induce la síntesis de taninos condensados e hidrolizables, lo cuales son los responsables de ocasionar una disminución en el desempeño y sobrevivencia de *L. dispar* (Rossiter *et al.*, 1988; Schultz y Baldwin, 1982). En el caso particular de los encinos, la cascada de señalización para la síntesis de taninos inducida por daños generados por herbívoros todavía no es clara; por lo cual es necesario llevar a cabo estudios en este sentido. Estudios moleculares de inducción de taninos condensados en hojas, ocasionado por herbívoros y daño artificial en *P. tremuloides* han mostrado la activación transcripcional de la ruta de síntesis de flavonoides por medio de la cual se producen los taninos condensados y los genes encargados de activar la expresión de dicha ruta (Peters y Constabel, 2002). La alta especificidad sobre la inducción de taninos condensados indica que son un componente importante en la defensa contra herbívoros por parte de las plantas, siendo un mecanismo de inducción de taninos altamente preservado en angiospermas (Heil *et al.*, 2012) (**Figura 3**).

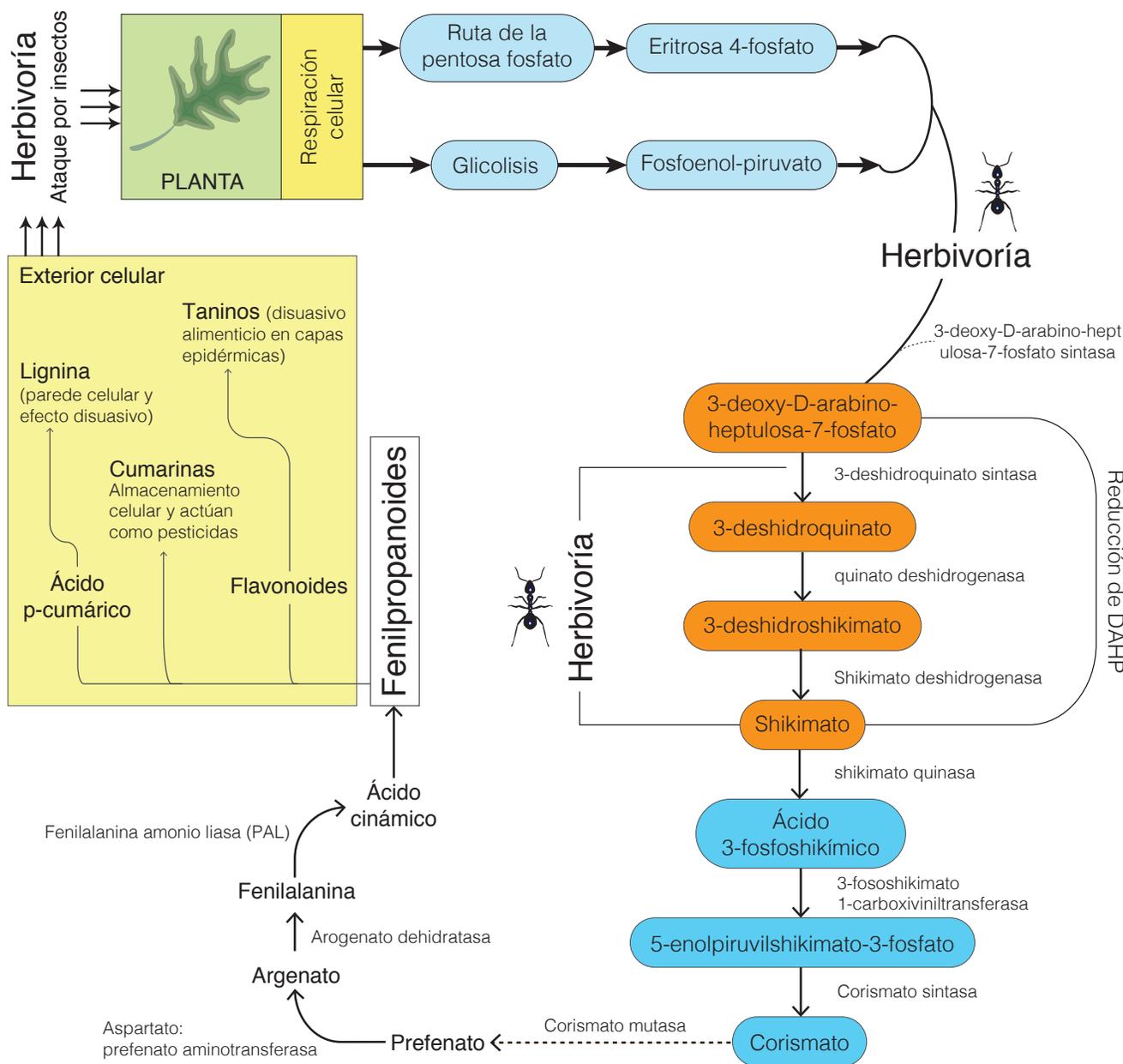
### Genética y síntesis de taninos

La habilidad de sintetizar metabolitos secundarios en plantas ha sido seleccionado durante el curso evolutivo de los diferentes taxa de plantas, donde numerosos compuestos son específicos a ciertas especies de plantas (Pichersky

y Gang, 2000). Por ejemplo, la producción de esencias florales y pigmentos para la atracción de polinizadores (De Luca *et al.*, 2000) o la gran variedad de compuestos que actúan como repelentes alimenticios contra herbívoros (Ananthkrishan, 1999). El genoma de las plantas es variado y se estima que contiene entre 20,000 a 60,000 genes, donde quizás el 15-25% de estos estén destinados a la producción de metabolitos secundarios (Bevan *et al.*, 1998; Somerville y Somerville, 1999). Existen distintos mecanismos por los cuales se pueden generar nuevos compuestos secundarios en plantas como: i) la duplicación de un gen seguido de un evento de divergencia, donde la copia puede acumular algunas mutaciones y adquirir una nueva función (Doolittle, 1995); ii) el cambio en genes involucrados en el metabolismo primario podrían ocasionar la aparición de nuevos genes asociados al metabolismo secundario (Wang y Pichersky, 1999); iii) la aparición de nuevas rutas metabólicas como producto de una nueva enzima la cual puede convertir un intermediario de una ruta metabólica en un intermediario de otra ruta, es decir; se genera la combinación de dos rutas preexistentes, como es el caso de la ruta de biosíntesis de flavonoides y en consecuencia de taninos (Pichersky y Gang, 2000)

Bajo este contexto, la producción y complejidad estructural de taninos en especies de *Quercus* podría deberse en parte a la gran variabilidad genética que este género presenta. Esta variabilidad génica es producto en parte de procesos de hibridación natural de los encinos, donde se puede generar la aparición de nuevos genes influyendo en la síntesis de nuevos compuestos (Pérez-López *et al.* 2016). Se tiene registro de que los procesos de hibridación en plantas producen variación natural en caracteres fenotípicos como pueden ser bioquímicos, morfológicos y en la defensa contra herbívoros (Rieseberg y Ellstrand, 1993), además de modificar cuantitativa y cualitativamente la distribución de taninos en los individuos híbridos y sus consecuencias sobre las comunidades de herbívoros (Orians, 2000, Fritz *et al.* 2001, O'Reilly-Wastra *et al.* 2005). Cambios en el fenotipo producto de variación genética, en este caso asociada a un proceso de hibridación, es un factor que influye sobre la estructura de la comunidad de herbívoros. Por ejemplo, la zona de hibridación de *Q. gambelii* x *Q. grisacea* muestra una alta concentración de elagitaninos, así como la presencia de distintos fenotipos químicos, donde el fenotipo de *Q. grisacea* mostró una mayor variabilidad química de taninos como mongolinina A, acutisimina A, los cuales mostraron un efecto negativo sobre insectos minadores (Yarnes *et al.*, 2008).

En cuanto a los efectos generados por procesos de hibridación en plantas, se tiene registro de que los híbridos son capaces de expresar todos los metabolitos secundarios de una especie progenitora, no expresar algunos metabolitos de los progenitores, expresar nuevos metabolitos secundarios o expresar los metabolitos de un progenitor en otros tejidos (Orians 2000; Cheng *et al.*, 2011). El modo de herencia de los MS de forma cualitativa se considera que es de una forma Mendeliana con un patrón de dominancia.



**Figura 3. Biosíntesis, liberación y almacenamiento de compuestos fenólicos de defensa en plantas contra el ataque de insectos herbívoros.** Tomada de Rehman *et al.*, 2012.

Por ejemplo, si ambas especies progenitoras producen un metabolito, los híbridos también lo sintetizaran o si un progenitor sintetiza un metabolito los híbridos también lo producen (Orians 2000). Por otra parte, la ausencia de un metabolito en los híbridos podría ser causa de la ganancia de un gen o alelos que codifican para una ruta metabólica; donde el producto final de la ruta se convierte en un intermediario el cual podría ser transformado a un siguiente compuesto dentro de la ruta de síntesis (Cheng *et al.*, 2011). Esto no necesariamente conlleva a la formación de nuevos compuestos en los individuos híbridos, pero la combinación de genes y enzimas pueden generar la aparición de nuevos

compuestos que se encuentran ausentes en los progenitores. Por último, la disrupción de genes reguladores posterior al evento de hibridación puede generar cambios en las zonas donde se sintetizan los metabolitos secundarios (Orians 2000; Kirk *et al.* 2004).

### Ambiente y síntesis de taninos

La síntesis de compuestos en base carbono, como es el caso de los taninos, está asociada directamente a la disponibilidad de recursos o nutrientes. Los factores ambientales como la radiación solar, humedad, temperatura y la disponibilidad de nutrientes en suelo como Nitrógeno, Potasio, Magnesio,

Calcio entre otros (Nykänen y Koricheva 2004) determinan la asignación de carbono. De forma principal el nitrógeno, presentan un efecto importante en los niveles de taninos, donde plantas que crecen en niveles bajos de N tienden a acumular mayores niveles de TC que las plantas que con alta concentraciones de nutrientes (Hemming y Lindroth, 1999; Osier y Lindroth, 2006). Sin embargo, se ha encontrado que la expresión de taninos condensados presenta cierto grado de plasticidad, donde el genotipo parece ser un factor para la expresión y síntesis de taninos (Harding *et al.*, 2005). Por otra parte la inducción de taninos por herbívoros podría estar sujeta a los niveles de nutrientes; por ejemplo en *Q. prinus* los niveles de defoliación incrementa la cantidad de TC en zonas fertilizadas pero no en árboles que crecen en zonas sin fertilizar (Hunter y Schultz, 1995). Otro factor que está relacionado con cambios en los niveles de taninos es la intensidad de la luz, donde se ha encontrado que una elevada exposición a radiación UV-B genera un incremento en los niveles de TC en *B. pendula* y en híbridos de *Populus* (Lavola, 1998; Mellway *et al.*, 2009.) Ward y Young (2002) reportaron que la presencia de niveles altos de taninos en el dosel de *Acacia* se encontró más relación con la exposición solar y no con la herbivoría, lo cual sugiere que los taninos también podrían actuar como protección contra la radiación UV pero esto no ha sido comprobado.

## Conclusiones

El papel principal de los taninos dentro de las interacciones planta-insecto en los encinos es el de defensa contra herbívoros, pero se han reportado efectos variados de estos sobre los insectos herbívoros y se ha encontrado que estos no necesariamente están relacionados con la abundancia de insectos y que el papel de los taninos hidrolizables dentro de la defensa química contra los herbívoros ha sido subestimado. Estudios recientes ponen a los taninos hidrolizables en un papel central en la defensa química junto con los taninos condensados, ya que estos pueden estar actuando de forma sinérgica entre sí contra los insectos herbívoros. Por otro lado, no queda claro cuál es la razón de la gran variedad estructural de los taninos en las plantas, donde esta variación estructural es importante ya que es un factor clave que influye sobre los diferentes efectos que presentan los taninos sobre los herbívoros. Por lo cual, se podría esperar que los encinos pudieran presentar una gran variedad de compuestos debido a su alta tasa de hibridación natural generando una gran variedad genética dentro de los bosques de encinos.

Los bosques de encinos representan zonas con una alta actividad biológica entre los diferentes niveles tróficos asociados a estos; siendo los insectos una fuerza de selección sobre los compuestos de defensa y donde los mismos insectos también sufren una presión selectiva para tolerar los distintos compuestos que son sintetizados por los encinos. Además, es necesario delimitar los distintos efectos de los taninos sobre los distintos grupos de insectos herbívoros, ya que estos pueden actuar como agentes tóxicos, repelentes alimenticios y en ocasiones en los insectos especialistas no

presentar ningún efecto. También, es necesario dilucidar cuáles son los genes que actúan en la expresión y síntesis de los taninos en distintos grupos de plantas, y su asociación a su inducción en plantas; donde los encinos representan un sistema de estudio importante para conocer los efectos de los taninos sobre insectos herbívoros y sus impactos a nivel ecosistémico ya que presentan una gran variación genética natural en la cual se pueden observar cambios en tiempo ecológico e inferir cambios a nivel evolutivo.

## Agradecimientos

Este proyecto fue financiado por el CONACyT CB105755, DGAPA PAPIIT UNAM RV201015; Relaciones de la riqueza de especies con la diversidad genética poblacional, la diversidad funcional y la dinámica de nutrientes en el suelo en bosques de encino, PAPIIT UNAM IN206414. Cuevas-Reyes Pablo agradece a la Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH por su generoso apoyo financiero. Marcela Sofía Vaca Sánchez es estudiante doctoral del Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y recibió una beca del CONACyT.

## Referencias

- Agrawal AA, Hastings AP, Johnson MTJ, Maron JL, Salminen JP** (2012) Insect herbivores drive real-time ecological and evolutionary change in plant populations. *Science* 338: 113–116.
- Ananthkrishnan TN** (1999) Induced responses, signal diversity and plant defense: implications in insect phytophagy. *Curr. Sci.* 76: 285–290.
- Anaya AL** (2003) *Ecología Química*. Plaza y Valdés Editores, Instituto de Ecología, UNAM, México. 349 p.
- Appel HM** (1993) Phenolics in ecological interactions: the importance of oxidation. *Journal of Chemical Ecology* 19: 1521–1552.
- Arámbula-Salazar JA, Ibarra-Salinas BI, González-Laredo RF, Muñoz-Galindo OD, Hernández-Vela H** (2010) Seasonal variation in the phenolic content of oak leaves (*Quercus sideroxylla*) in different soil textures. *Madera y Bosques* 16: 49–59.
- Arango AGJ** (2008) *Alcaloides y compuestos nitrogenados*. Universidad de Antioquía. Facultad de Química Farmacéutica. Medellín, Colombia. pp 31–32.
- Arnold T, Targett N** (2002) Marine tannins: the importance of mechanistic framework for predicting ecological roles. *Journal of Chemical Ecology* 28: 1919–1934.
- Arnold TM, Schultz JC** (2002) Induced sink strength as a prerequisite for induced tannin biosynthesis in developing leaves of *Populus*. *Oecologia* 130: 585–593.
- Aron PM, Kennedy JA** (2008) Flavan-3-ols: nature, occurrence and biological activity. *Mol. Nutr. Food Res.* 52: 79–104.
- Asquith TN, Butler LG** (1986) Interactions of condensed tannins with selected proteins. *Phytochemistry* 25: 1591–1593
- Ayres M, Clausen TP, MacLean SF, Redman AM, Reichardt PB** (1997) Diversity of structure and antiherbivore activity in condensed tannins. *Ecology* 78: 1696–1712
- Barbehenn RV, Cheek S, Gasperut A, Lister E, Maben R** (2005)

- Phenolic compounds in red oak and sugar maple leaves have prooxidant activities in the midguts of *Malacosoma disstria* and *Orgyia leucostigma* caterpillars. *Journal of Chemical Ecology* 31: 969–988.
- Barbehenn RV, Constabel PC** (2011) Tannins in plant-herbivore interactions. *Phytochemistry* 72: 1551–1565.
- Barbehenn RV, Jaros A, Lee G, Mozola C, Weir Q, Salminen JP** (2009) Hydrolysable tannins as “quantitative defenses”: limited impact against *Lymantria dispar* caterpillars on hybrid poplar. *J Insect Physiol* 55: 297–304.
- Barbehenn RV, Jones CP, Hagerman AE, Karonen M, Salminen JP** (2006a) Ellagitannins have greater oxidative activities than condensed tannins and galloyl glucoses at high pH: potential impact on caterpillars. *J Chem Ecol* 32: 2253–2267. doi:10.1007/s10886-006-9143-7
- Barbehenn RV, Jones CP, Karonen M, Salminen JP** (2006b) Tannin composition affects the oxidative activities of tree leaves. *J Chem Ecol* 32: 2235–2251. doi:10.1007/s10886-006-9142-8
- Barbehenn RV, Martin MM** (1994) Tannin sensitivity in larvae of *Malacosoma disstria* (Lepidoptera): roles of the peritrophic envelope and midgut oxidation. *J Chem Ecol* 20: 1985–2001. doi:10.1007/BF02066238
- Barbehenn RV, Weir Q, Salminen JP** (2008) Oxidation of ingested phenolics in the tree-feeding caterpillar *Orgyia leucostigma* depends on foliar chemical composition. *J Chem Ecol* 34: 748–756. doi:10.1007/s10886-008-9478-3
- Bass WJ** (1989) Secondary plant compounds, their ecological significance and consequences for the carbon budget. Introduction to the carbon-nutrient cycle theory. In H Lambers, ML Cambridge, H Konings, TL Pons (eds), *Causes and consequences of variation in growth rate and productivity of higher plants*. SPB Academic Publishing, The Hague, pp 313–340.
- Begon M, Harper JL, Townsend CR** (1990) *Ecology: Individuals, Populations and Communities*. Blackwell Scientific Publications, Boston, Massachusetts, USA.
- Bernays EA, Chamberlain D, Mccarthy P** (1980) The differential effects of ingested tannic acid on different species of *Acridoidea*. *Entomol Exp Appl* 28: 158–166
- Bernays EA, Howard JJ, Champagne D, Estes BJ** (1991) Rutin: a phagostimulant for the polyphagous acridid *Schistocerca americana*. *Entomol Exp Appl* 60: 19–28
- Bettolo GBM, Marta M, Pomponi M, Bernays EA** (1986) Flavan oxygenation pattern and insect feeding deterrence. *Biochemical Systematics and Ecology* 14: 249–250.
- Bevan M, Bancroft I, Bent E, Love K, Goodman H, Dean C, . . . Chalwatzis N** (1998) Analysis of 1.9 Mb of contiguous sequence from chromosome 4 of *Arabidopsis thaliana*. *Nature* 391: 485–488
- Cheng D, Vrieling K, Klinkhamer PGL** (2011) The effect of hybridization on secondary metabolites and herbivore resistance: implications for the evolution of chemical diversity in plants. *Phytochem Rev* 10: 107–117
- Clausen TP, Pruenza FD, Burritt EA, Reichardt PB, Bryant JP** (1990) Ecological implications of condensed tannin structure: a case study. *Journal of Chemical Ecology* 16: 2381–2392.
- Close DC, McArthur C** (2002) Rethinking the role of many plant phenolics: protection from photodamage not herbivores? *Oikos* 99: 166–172.
- Coley PD, Bryant JP, Chapin FS** (1985) Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science* 230: 895–899.
- Coley PD** (1983) Herbivory and defensive characteristics of tree species in a lowland tropical forest. *Ecological Monographs* 53: 209–233.
- Connolly JD, Hill RA** (2001) Dictionary of Terpenoids. 3 vol. Vol.1: Mono- and sesquiterpenoids. Vol.2: Di- and higher Terpenoids. Vol.3: Indexes.
- De Luca V, St Pierre B** (2000) The cell and developmental biology of alkaloid biosynthesis. *Trends in Plant Science* 5: 168–173. doi:10.1016/S1360-1385(00)01575-2
- Dixon RA, Xie DY, Sharma SB** (2005) Proanthocyanidins: a final frontier in flavonoid research? *New Phytologist* 165: 9–28.
- Doolittle RF** (1995) The multiplicity of domains in proteins. *Annu. Rev. Biochem.* 64: 287–314
- Evans W** (2002) *Pharmacognosy*. W.B. Saunders, Reino Unido.
- Faeth SH, Bultman TL** (1986) Interacting effects of increased tannin levels on leaf-mining insects. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 40: 297–300.
- Feeny PP** (1968) Effect of oak leaf tannins on larval growth of the winter moth *Operophtera brumata*. *J. Insect Physiol.* 14: 805–817.
- Feeny PP** (1970) Seasonal changes in oak leaf tannins and nutrients as a cause of spring feeding by winter moth caterpillars. *Ecology* 51: 565–581.
- Forkner RE, Marquis RJ, Lill JT** (2004) Feeny revisited: condensed tannins as anti-herbivore defences in leaf-chewing herbivore communities of *Quercus*. *Ecol. Entomol.* 29: 174–187.
- Fritz RS, Hochwender CG, Lewkiewicz DA, Bothwell S, Orians CM** (2001) Seedling herbivory by slugs in a willow hybrid system: developmental changes in damage, chemical defense, and plant performance. *Oecologia* 129: 87–97
- Grundhöfer P, Niemetz R, Schilling G, Gross GG** (2001) Biosynthesis and subcellular distribution of hydrolyzable tannins. *Phytochemistry* 57: 915–927.
- Hagerman AE, Butler LG** (1991) Tannins and lignins. *Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites, Vol. 1*, 2nd edn (ed. by G. A. Rosenthal and M. Berenbaum), pp. 355–388. Academic Press, New York.
- Harborne JB** (1988) Introduction to ecological biochemistry. *Third Edition*. Academic Press New York.
- Harborne JB, Williams CA** (2000) Advances in flavonoid research since (1992) *Phytochemistry* 55: 481–504
- Harding SA, Jiang HY, Jeong ML, Casado FL, Lin HW, Tsai CJ** (2005) Functional genomics analysis of foliar condensed tannin and phenolic glycoside regulation in natural cottonwood hybrids. *Tree Physiol.* 25: 1475–1486.
- Haslam E** (2007) Vegetable tannins – Lessons of a phytochemical life- time. *Phytochemistry* 68: 2713–2721
- Heil M, Ibarra-Laclette E, Adame-Álvarez RM, Martínez O, Ramírez-Chavez E, Molina-Torres J, Herrera-Estrella L** (2012) How plants sense wounds: damaged-self recognition is based on plant-derived elicitors and induces Octadecanoid signaling. *PLoS ONE* 7: e30537
- Hemming JDC, Lindroth RL** (1999) Effects of light and nutrient availability on aspen: growth, phytochemistry, and insect performance. *Journal of Chemical Ecology*. 25: 1687–1714.
- Hofmann T, Glabasnja A, Schwartz B, Wisman KN, Gangwer**

- KA, Hagerman AE** (2006) Protein binding and astringent taste of a polymeric procyanidin, 1, 2, 3, 4,6-penta-O-galloyl-b-D-glucopyranose, castalagin, and grandinin. *J Agric Food Chem* 54: 9503–9509
- Hunter MD, Schultz JC** (1995) Fertilization mitigates chemical induction and herbivore responses within damaged oak species. *Ecology* 76: 1226–1232.
- Kao YY, Harding SA, Tsai CJ** (2002) Differential expression of two distinct phenylalanine ammonia-lyase genes in condensed tannin-accumulating and lignifying cells of quaking aspen. *Plant Physiol.* 130: 796–807
- Kilkowski WJ, Gross GG** (1999) Color reaction of hydrolysable tannins with Bradford reagent, Coomassie brilliant blue. *Phytochemistry* 51: 363–366
- Kirk H, Macel M, Klinkhamer PGL, Vrieling K** (2004) Natural hybridization between *Senecio jacobaea* and *Senecio aquaticus*: molecular and chemical evidence. *Mol Ecol* 13: 2267–2274
- Kobayashi K** (2004) Factors affecting phytotoxic activity of allelochemicals in soil. *Weed Biology. Management* 4: 1-7.
- Kopper, BJ, Jakobi VN, Osier TL, Lindroth, RL** (2002) Effects of Paper Birch condensed tannin on Whitemarked Tussock moth (Lepidoptera: *Lymantriidae*) performance. *Environmental Entomology* 31: 10–14.
- Kraus TEC, Yu Z, Preston CM, Dahlgren RA, Zasoski RJ** (2003) Linking chemical reactivity and protein precipitation to structural characteristics of foliar tannins. *Journal of Chemical Ecology*, 29: 703–730.
- Lavola A** (1998) Accumulation of flavonoids and related compounds in birch induced by UV-B irradiance. *Tree Physiol.* 18: 53–58
- Lawrence R, Potts BM, Whitham TG** (2003) Relative importance of plant ontogeny, host genetic variation, and leaf age for a common herbivore. *Ecology* 84: 1171–1178
- Lees GL, Suttill, NH, Gruber MY** (1993) Condensed tannins in sainfoin (1) a histological and cytological survey of plant tissues. *Can. J. Bot.* 71: 1147–1152.
- Lindroth RL, Batzli GO** (1984) Plant phenolics as chemical defenses: Effects of natural phenolics on survival and growth of prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Journal of Chemical Ecology* 10(2): 229-244. doi:10.1007/BF00987851
- Maldonado-López Y, Cuevas-Reyes P, González-Rodríguez A, Pérez-López G, Acosta-Gómez C, Oyama K** (2015) Relationships among plant genetics, phytochemistry and herbivory patterns in *Quercus castanea* across a fragmented landscape. *Ecological Research* 30: 133-143. doi:10.1007/s11284-014-1218-2
- Maldonado-López Y, Espinoza-Olvera NM, Pérez-López G, Quesada-Béjar V, Oyama K, González-Rodríguez A, Cuevas-Reyes P** (2013) Interacciones antagónicas especialistas en encinos: el caso de los insectos inductores de agallas. *Biológicas* 17: 32-41.
- Mann J** (1987) *Secondary metabolism*. Clarendon Press. Oxford.
- McGarvey DJ, Croteau R** (1995) Terpenoid metabolism. *The Plant Cell* 7: 1015-1026.
- Mellway RD, Tran LT, Prouse MB, Campbell MM, Constabel CP** (2009) The wound-, pathogen-, and ultraviolet B-responsive MYB134 gene encodes an R2R3 MYB transcription factor that regulates proanthocyanidin synthesis in poplar. *Plant Physiology* 150: 924-941. doi:10.1104/pp.109.139071
- Mila I, Scalbert A, Expert D** (1996) Iron withholding by plant polyphenols and resistance to pathogens and rots. *Phytochem.* 42: 1551–1555
- Moctezuma C, Hammerbacher A, Heil M, Gershenzon J, Méndez-Alonso R, Oyama K** (2014) Specific Polyphenols and Tannins are Associated with Defense against Insect Herbivores in the Tropical Oak *Quercus oleoides*. *Journal Chemical Ecology* 40: 458–467.
- Moilanen J, Salminen JP** (2008) Ecologically neglected tannins and their biologically relevant activity: chemical structures of plant ellagitannins reveal their in vitro oxidative activity at high pH. *Chemoecology* 18: 73–83.
- Mole S** (1993) The systematic distribution of tannins in the leaves of angiosperms: a tool for ecological studies. *Biochemical Systematics and Ecology* 21: 833–846.
- Neilson EH, Goodger JQD, Woodrow IE, Møller BL** (2013) Plant chemical defense: at what cost? *Trends in Plant Science* 18: 250-258. doi:10.1016/j.tplants.2013.01.001
- Nishida R** (2002) Sequestration of defensive substances from plants by Lepidoptera. *Annu Rev Entomol* 47: 57–92
- Nykanen H, Koricheva J** (2004) Damage-induced changes in woody plants and their effects on insect herbivore performance: a meta-analysis. *Oikos* 104: 247–268.
- O'Reilly-Wapstra JM, Potts BM, McArthur C, Davies NW, Tilyard P** (2005) Inheritance of resistance to mammalian herbivores and of plant defensive chemistry in a Eucalyptus species. *Journal of Chemical Ecology* 31: 519–537
- Okuda T, Yoshida T, Hatano T** (1993) Classification of oligomeric hydrolysable tannins and specificity of their occurrence in plants. *Phytochemistry* 32: 507–521
- Orians CM** (2000) The effects of hybridization in plants on secondary chemistry: implications for the ecology and evolution of plant-herbivore interactions. *Am J Bot* 87: 1749–1756
- Osier TL, Lindroth RL** (2006) Genotype and environment determine allocation to and costs of resistance in quaking aspen. *Oecologia* 148: 293–303.
- Pearse IS** (2011) Leaf defensive traits in oaks and their role in both preference and performance of a polyphagous herbivore, *Orygia vetusta*. *Ecol. Entomol.* 36: 635–642.
- Pérez-López G, González-Rodríguez A, Oyama K, Cuevas-Reyes P** (2016) Effects of plant hybridization on the structure and composition of a highly rich community of cynipid gall wasps: the case of the oak hybrid complex *Quercus magnoliifolia* x *Quercus resinosa* in Mexico. *Biodiv. Conserv.* 25: 633-651.
- Peters DJ, Constabel CP** (2002) Molecular analysis of herbivore induced condensed tannin synthesis: cloning and expression of dihydroflavonol reductase from trembling aspen (*Populus tremuloides*). *Plant J.* 32: 701–712.
- Pichersky E, Gang DR** (2000) Genetics and biochemistry of secondary metabolites in plants: an evolutionary perspective. *Trends in Plant Science* 5: 439–445
- Rehman F, Khan FA, Badruddin SMA** (2012) Role of Phenolics in Plant Defense Against Insect Herbivory. In LD Khemani, MM Srivastava, S Srivastava (eds), *Chemistry of Phytopotentials: Health, Energy and Environmental Perspectives*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp 309-313.
- Rice EL** (1984) *Allelopathic*. Academic Press, Orlando, Florida.
- Rieseberg LH, Ellstrand NC** (1993) What can molecular and morphological markers tell us about plant hybridization. *Crit*

*Rev Plant Sci.* 12: 213–241

- Robbins CT, Hanley TA, Hagerman AE, Hjeljord O, Baker DL, Schwartz CC, Mautz WW** (1987) Role of tannins in defending plants against ruminants: reduction in protein availability. *Ecology* 68: 98–107.
- Roitto M, Rautio P, Markkola A, Julkunen-Tiitto R, Varama M, Saravesi K, Tuomi J** (2009) Induced accumulation of phenolics and sawfly performance in Scots pine in response to previous defoliation. *Tree Physiol.* 29: 207–216.
- Rossi AM, Stiling P, Moon DC, Cattell MV, Drake BG** (2004) Induced defensive response of myrtle oak to foliar insect herbivory in ambient and elevated CO<sub>2</sub>. *Journal of Chemical Ecology* 30: 1143–1151.
- Rossiter MC, Schultz JC, Baldwin IT** (1988) Relationships among defoliation, *Quercus rubra* phenolics, and gypsy moth growth and reproduction. *Ecology* 69: 267–277.
- Ryan KG, Swinny EE, Markham KR, Winefield C** (2002) Flavonoid gene expression and UV photoprotection in transgenic and mutant *Petunia* leaves. *Phytochemistry* 59: 23–32.
- Salminen J-P, Karonen M** (2011) Chemical ecology of tannins and other phenolics: we need a change in approach. *Functional Ecology* 25: 325–338. doi:10.1111/j.1365-2435.2010.01826.x
- Salminen J-P, Lempa K** (2002) Effects of hydrolysable tannins on an herbivorous insect: fate of individual tannins in insect digestive tract. *Chemoecology* 12: 203–211.
- Salminen J-P, Roslin T, Karonen M, Sinkkonen J, Pihlaja K, Pulkkinen P** (2004) Seasonal variation in the content of hydrolysable tannins, flavonoid glycosides and proanthocyanidins in oak leaves. *Journal of Chemical Ecology* 30: 1693–1711.
- Scalbert A, Duval L, Peng S, Monties B, du Penhoat C** (1990) Polyphenols of *Quercus robur* L. IIa. Preparative isolation by low-pressure and high-pressure liquid chromatography of heartwood ellagitannins. *Journal of Chromatography A* 502: 107–119.
- Schultz JC, Nothnagle PJ, Baldwin IT** (1982) Seasonal and individual variation in leaf quality of two northern hardwoods tree species. *American Journal of Botany* 69: 753–759.
- Schultz JC** (1989) Tannin–insect interactions. In RW Hemingway, JJ Karchesy (eds), *Chemistry and significance of condensed tannins*. Plenum Press, New York, New York, USA, pp 417–433.
- Skogsmyr I, Fagerström T** (1992) The Cost of Anti-Herbivory Defence: An Evaluation of Some Ecological and Physiological Factors. *Oikos* 64(3): 451–457.
- Somerville C, Somerville S** (1999) Plant functional genomics. *Science* 285: 380–383.
- Sosa T, Chaves N, Alías JC, Escudero JC, Henao F, Guitiérrez-Merino C** (2004) Inhibition of mouth skeletal muscle relaxation by flavonoids of *Citrus ladaniifera* L.; a plant defense mechanism against herbivores. *Journal of Chemical Ecology* 30: 1087–1101.
- Stevens MT, Lindroth RL** (2005) Induced resistance in the indeterminate growth of aspen (*Populus tremuloides*). *Oecologia* 145: 298–306
- Strack D** (1997) *Phenolic metabolism*. Plant biochemistry, pp 388–416.
- Taiz I, Lincoln L, Geiger E** (2006) *Secondary Metabolites and Plant defense*. Plant Physiology, Fourth Edition (Capítulo 13).
- Tian L, Kong WF, Pan QH, Zhan JC, Wen PF, Chen JY, Wan SB, Huang WD** (2006) Expression of the chalcone synthase gene from grape and preparation of an anti-CHS antibody. *Protein Expres. Purif.* 50: 223–228.
- Ubi BE, Honda C, Bessho H, Kondo S, Wada M, Kobayashi S, Moriguchi T** (2006) Expression analysis of anthocyanin biosynthetic genes in apple skin: effect of UV-B and temperature. *Plant Sci.* 170: 571–578.
- Vázquez-Flores AAE, Álvarez-Parrilla JA, López-Díaz A, Wall-Medrano, L De la Rosa** (2012) Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. *Tecnociencia Chihuahua* 6: 84–93.
- Wang J, Pichersky E** (1999) Identification of specific residues involved in substrate discrimination in two plant O-methyltransferases. *Arch. Biochem. Biophys.* 368: 172–180
- Ward D, Young TP** (2002) Effects of large mammalian herbivores and ant symbionts on condensed tannins of *Acacia drepanolobium* Kenya. *Journal of Chemical Ecology* 28: 921–93.
- Whittaker RH, Feeny PP** (1971) Allelochemicals: chemical interactions between species. *Science* 171: 757–770
- Xie DY, Dixon RA** (2005) Proanthocyanidin biosynthesis: still more questions than answers? *Phytochemistry* 66: 2127–2144.
- Yarnes CT, Boecklen WJ, Salminen JP** (2008) No simple sum: seasonal variation in tannin phenotypes and leaf-miners in hybrid oaks. *Chemoecology* 18: 39–51
- Yarnes CT, Boecklen WJ, Tuominen K, Salminen JP** (2006) Defining phytochemical phenotypes: size and shape analysis of phenolic compounds in oaks (Fagaceae, *Quercus*) of the Chihuahuan desert. *Can. J. Bot.* 84: 1233–1248.
- Zobel AM, Lynch JM** (1997) Extrusion of UV-A absorbing phenolics in *Hacer* spp. in response to UV and freezing temperature. *Allelopathy Journal* 4: 269–276.
- Zucker WV** (1983) Tannins: does structure determine function? *An ecological perspective*. *American Naturalist* 121: 335–365.