

03058
5



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

INSTITUTO DE ECOLOGIA

EFECTO DE LA HERBIVORIA SOBRE
LA ADECUACION MASCULINA Y FEMENINA DE
Cucurbita argyrosperma ssp. sororia

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN ECOLOGIA

P R E S E N T A:

NESTOR ALBERTO MARIANO BONIGO

205639

MEXICO, D.F.

2001



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Para Laura, Nadia, Ezequiel y Sonia.

*Se moldea la arcilla para hacer la vasija.
Pero es en su vacío donde
Radica su esencia*

Lao Tse

De igual modo espero que las preguntas que pueda
inspirar este trabajo sean su principal virtud.

Agradecimientos

Esta tesis es el resultado de mi trabajo, pero también del esfuerzo desinteresado de muchas personas que me ayudaron durante su desarrollo. Quizás sea ésta una de las principales virtudes de la actividad científica: la generosidad con que las personas se reúnen para encontrar respuestas a preguntas surgidas de la curiosidad por conocer.

A mi director Dr. Rodolfo Dirzo por la paciencia infinita con que supo guiarme en mi trabajo. Por haber logrado integrar calidad científica y humana en su actividad cotidiana. En numerosas ocasiones su capacidad como maestro y su amistad me ayudaron a superar mis limitaciones.

A los doctores Exequiel Ezcurra y Juan Nuñez-Farfán, miembros de mi comité tutorial, por su valioso asesoramiento y seguimiento durante el largo proceso de construcción de este proyecto de investigación. Ambos escucharon con muchísima paciencia mis dudas y supieron guiarme para aclararlas.

A los miembros de mi comité evaluador doctores Zenón Cano, Hugh Drumond, Luis Eguiarte, Francisco Espinosa, Mauricio Quesada y Daniel Piñero por sus certeras sugerencias y críticas que contribuyeron a mejorar esta tesis.

A Emerit Meléndez, Abel Verduzco, AnaBerta, Maru, Betty e Imelda quienes con su ayuda en el campo hicieron posible y agradable mi estudio durante mi estancia en Chamela. A todo el personal de la Estación de Biología de Chamela de la UNAM, por las facilidades brindadas para el trabajo de campo.

Al Dr. Felipe Noguera, Dr. Ricardo Ayala y al M.C. Enrique Ramirez por todo su apoyo en la identificación de las especies, y las facilidades que me brindaron para trabajar en la Estación de Biología de Chamela.

Al personal de la Reserva de Cuixmala por facilitarme el uso de una parcela para mis primeros ensayos experimentales y el acceso a la reserva.

Al personal del INIFAP por dos años de apoyo incondicional en el uso de las instalaciones, asesoramiento técnico en el manejo de las poblaciones y la ayuda para cuidar los experimentos. Al Dr. Juan de Dios Bustamante y al M.V.Z Juan Javelly mis más sincero agradecimiento por su gran disposición para que mi estancia en la estación experimental fuera fructífera. Gracias por su gran contribución para que saliera adelante con mis experimentos.

Al Dr. Luis Eguiarte por facilitarme generosamente el uso de su laboratorio durante un largo período y su paciencia mientras usaba prácticamente todo el equipo instalado.

A Aldo Valera por su apoyo logístico en el Laboratorio del Dr. Luis Eguiarte.

Al Dr. César Domínguez por enseñarme biología reproductiva, por su entusiasmo como científico y su alegría. Además le agradezco su amistad y el apoyo que en todo momento me brindó.

A Gumersindo Sánchez quien todos saben que constituyó un apoyo fundamental para la realización de esta tesis. Su esfuerzo y dedicación impidieron que fracasara en esta empresa. Me acompañó desde Chamela, pasando por Zacatepec y trasnochando en el Laboratorio de Luis corriendo enzimas. Gracias sinceramente por ese apoyo incondicional.

A Lucero y Betsabé por contar miles de granos de polen sin odiarme y por su amistad. A Raúl Alcalá por largas horas compartidas de pláticas que disfruté sinceramente. A Germán Avila por tomarse la molestia de contar polen (de otro experimento) mientras hacía su propia tesis en Pensylvania, muchas gracias.

A Nashelly Meneses por su afecto y por la cantidad de horas que le dedicó a la compaginación final de este trabajo. Sinceramente gracias.

A mis compañeros de laboratorio que en varias ocasiones tuvieron que madrugar para ayudarme en el campo realizando las tareas más tediosas. Cristina Martínez en Chamela, Raúl Alcalá, Fernando Rosas, Armando Aguirre, Gerogina Gimenez, Juan Carlos López y Reyna Castillo en Zacatepec. Gumersindo Sánchez, Lalo Cuevas y Cecilia Sánchez me apoyaron tanto en Chamela como en Zacatepec.

Gracias a Amelia Cornejo, su dedicación y constancia fue un apoyo muy importante durante el experimento del invernadero.

Gracias por los gratos momentos compartidos en el laboratorio a Raúl de la Cueva, Lalo Mendoza, César Abarca, Celia, Ely, Paula, Vero, Valentina, Luis, Sergio, Marta, Yésica, Laura y Raúl Martínez.

A Sol Ortiz, Adrián Quijano y Leon Martínez por su amistad. A Juan Fornoni por discutir conmigo puntos críticos y polémicos que me ayudaron a revisar con cuidado mis opiniones.

A Elena Delgado y Carolina Espinosa por todo el apoyo administrativo durante el doctorado.

Al Instituto de Ecología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), por brindarme la oportunidad de aprender, y apasionarme con la ecología evolutiva. Gracias por todo el apoyo recibido durante el doctorado.

A la Red Latinoamericana de Botánica, la Secretaría de Relaciones Exteriores de México y al Instituto de Ecología, por las becas otorgadas. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y el Programa para el Desarrollo del Posgrado de la UNAM, por su participación en el financiamiento de este proyecto.

A la Universidad Nacional de Córdoba por contribuir de manera decisiva a mi formación y darme la posibilidad de seguir aprendiendo. Finalmente mi más sincera gratitud a la UNAM por recibirme sin reservas, como a uno más de los habitantes de este generoso país.

A Alejandro Polletto por su amistad y su inquietud permanente en busca de nuevas preguntas para contestar. Te fuiste muy temprano pero permaneces entre nosotros.

Contenido

Contenido

Resumen

Summary

Introducción general

Capítulo 1. Historia natural y patrones de herbivoría
en *Cucurbita sororia*

Capítulo 2. Historia natural y biología de la polinización
de *Cucurbita sororia*

Capítulo 3. Efectos de la herbivoría sobre el crecimiento y
el éxito reproductivo masculino y femenino de
Cucurbita sororia.

Capítulo 4. Efectos directos e indirectos de la herbivoría sobre
la adecuación femenina y masculina en
Cucurbita sororia

Discusión general

Apéndice 1. Estudio de la germinación en *Cucurbita sororia*

Resumen

Summary

RESUMEN

A pesar de que las plantas cosexuales obtienen su adecuación por las vías masculina y femenina la mayoría de los antecedentes sobre el impacto de la herbivoría han documentado los efectos sobre el éxito reproductivo femenino, y poco se sabe de sus consecuencias sobre la función masculina. En las plantas polinizadas por animales la herbivoría puede afectar la adecuación masculina a través de la modificación en la conducta de los polinizadores, como consecuencia de la alteración de los atributos florales de atracción y recompensa. En este estudio evalué el impacto de la herbivoría foliar sobre componentes de la adecuación reproductiva masculina y femenina en la planta hermafrodita anual *Cucurbita argyrosperma* ssp. *sororia*. El estudio enfatiza el efecto de la herbivoría sobre el éxito reproductivo considerando las consecuencias del daño foliar sobre las estructuras de atracción y su efecto sobre los polinizadores.

Primeramente describo la historia natural de *C. sororia* (Capítulo 1) enfatizando las interacciones planta-herbívoro en la selva de Chamela. Describo las especies de fitófagos más abundantes y los patrones de daño que éstos producen. La mayoría de las plantas en esta población son atacadas por herbívoros estenófagos: *Acalymma* spp., *Diabrotica* spp., *Epilachna* spp. y *Diaphania* spp.. El área foliar consumida es similar al de otras plantas de selvas secas y se distribuyó en forma agregada entre hojas y entre plantas. En el Capítulo 2 describo la historia natural de las interacciones planta-polinizador de *C. sororia* en Chamela, incluyendo la caracterización de la comunidad de abejas que visita las flores y su capacidad de respuesta a los patrones diarios de producción de néctar, y a la variación en la época de floración. Encontré que las flores producen néctar sólo durante ca. dos horas y las flores femeninas producen más néctar que las masculinas. Los polinizadores más frecuentes son abejas oligolécticas de los géneros *Peponapis* y *Xenoglossa*. Las frecuencias de visita se corresponden con el incremento en la tasa de producción de néctar. El retraso en la época de floración disminuye la diversidad y frecuencia de visitas de los polinizadores.

Después exploro, en condiciones experimentales controladas de invernadero, el efecto de la herbivoría artificial (Capítulo 3), sobre el crecimiento y la reproducción masculina y femenina de una población de plantas de la misma familia genética. Apliqué dos niveles de daño foliar (25% y 75%) y un testigo, y examiné las consecuencias del daño sobre el crecimiento, mediante un análisis demográfico de la dinámica foliar, así como el patrón de respuesta de la fenología floral y la producción de polen. Asociado a su impacto sobre el crecimiento, la herbivoría afectó la producción de flores y sus efectos fueron más severos sobre las flores femeninas. El daño severo retrasó la floración y disminuyó el número de flores masculinas y la producción de polen por flor. El tamaño de la corola se redujo como consecuencia de la herbivoría. Las plantas con daño severo incrementaron su asignación de recursos para el crecimiento en detrimento de la reproducción, mientras que las plantas con daño moderado compensaron tanto el crecimiento como la reproducción masculina. Finalmente, en una población de plantas en una parcela experimental, analizo las consecuencias del daño controlado (0, 25 y 75%) sobre la producción de frutos y el comportamiento de los polinizadores (Capítulo 4). Investigué las consecuencias directas de la defoliación artificial sobre los componentes reproductivos femeninos y masculinos, así como las consecuencias indirectas que, al afectar los caracteres florales de atracción y recompensa, inciden sobre el comportamiento de los polinizadores. La herbivoría tuvo un efecto negativo directo sobre la función femenina y neutro sobre la función masculina. Las plantas dañadas disminuyeron la producción de flores femeninas. La herbivoría no tuvo un efecto directo sobre la reproducción masculina, pero sí un marcado efecto indirecto. Las plantas sobrecompensaron la producción de polen y compensaron el número de flores masculinas y el tamaño del polen en respuesta al daño. El daño también redujo el tamaño de la corola y la producción de néctar y tuvo un efecto indirecto al disminuir la tasa y duración acumulada de las visitas de los polinizadores.

Concluyo que para las plantas cosexuales (que constituyen la mayoría de las especies), son necesarios estudios integrales en los cuales los componentes de la adecuación femenina y masculina sean considerados, incluyendo simultáneamente el papel que juegan los herbívoros y polinizadores sobre el éxito reproductivo de las plantas.

SUMMARY

Despite the fact cosexual plant species have both a male and female fitness, very little information exists regarding the impact of herbivory (or other environmental stresses) on the complete fitness of plants. Moreover, information is particularly lacking on the impact of herbivory on male reproductive success. In animal-pollinated plants, herbivory may impact male fitness via the modification of pollinator behavior resulting from the alteration of floral attributes relevant to attraction and rewards. In this study I examined the impact of folivory on several components of male and female reproductive function using the hermaphroditic annual plant *Cucurbita argyrosperma* spp. *sororia*. This study emphasizes the effects of herbivory on reproductive success by assessing the consequences of damage on attraction/reward structures and its effect on pollinators.

First, I describe the natural history of *C. sororia* (Chapter 1) emphasizing the interaction of this plant with its herbivores in the seasonally dry tropical forest at Chamela. I describe the species of the most important herbivores of this plant, and the damage patterns they produce. Most plants in this population are attacked by the stenophagous herbivores *Acalymma* spp., *Diabrotica* spp., *Epilachna* spp. and *Diaphania* spp. Overall, leaf area eaten is similar to that of all the plants from tropical dry forests and damage is clumped both among leaves and plants. In Chapter 2, I describe the natural history of the interaction of *C. sororia* with its pollinators at Chamela, including a characterization of the community of bees that visit the flowers and their response to the flowering patterns as well as the diel patterns of nectar production. I found that flowers produce nectar only for about two hours and female flowers produce more nectar. The most frequent pollinators are oligolectic bees in the genera *Peponapis* and *Xenoglossa*. Frequency of visits correlates with the increment in the rate of nectar production. A delay in the time of flowering reduces diversity and frequency of visits by pollinators. Next I explore, under controlled conditions in a greenhouse, the effects of artificial herbivory (Chapter 3) on growth and male and female reproduction, using a population of plants of the same genetic family. I applied two levels of damage (25 and 75%) and used a control group to examine the consequences of damage on growth by means of a demographic analysis of leaf dynamics, as well as the pattern of phenological response and pollen production. Correlated to its negative impact on growth, herbivory affected flower production, but the effects were stronger on female flowers. Intensive damage delayed flowering time and reduced the number of male flowers and nectar production per flower. The size of the corolla was reduced as a consequence of herbivory. Plants with intensive damage increased their resource allocation for growth at the expense of reproduction, whereas plants of moderate damage compensated both growth and male reproduction.

Finally, using plants in an experimental plot in the field, I analyzed the consequences of artificial herbivory (0, 25 and 75%) on pollinator behavior and fruit production (Chapter 4). I assessed the direct consequences of defoliation on components of male and female reproduction, as well as the indirect consequences brought about by the impact on floral characters (attraction and reward), assessing how this in turn affects pollinator behavior. Herbivory had a negative direct impact on female function and no impact on male function. Damaged plants reduced female flower production. Herbivory had no direct effect, but a significant indirect effect on male reproductive function. In response to damage, plants over-compensated pollen production and compensated male flower number and pollen size. Defoliation also reduced the size of the corolla and the production of nectar; and there was a significant indirect effect via a reduction of the rate and cumulative duration of pollinator visits.

I conclude that for cosexual plants (that constitute the majority of extant plant species) integrative studies are badly needed in which components of both male and female fitness are considered, including a simultaneous examination of the role that herbivores and pollinators play on plant reproductive success.

Introducción

Con base en la información disponible, se puede estimar que de 80 a 90% de las especies de angiospermas conocidas en la actualidad, son cosexuales (hermafroditas). Es decir, son plantas que poseen, en el mismo individuo, estructuras reproductivas tanto masculinas como femeninas. Por lo tanto, el éxito reproductivo de una planta cosexual debe considerar tanto el éxito por la vía femenina, como por la vía masculina. Sin embargo nuestra percepción actual del éxito reproductivo de las plantas se basa en gran medida en los estudios en los que se ha evaluado el éxito reproductivo únicamente por la vía femenina (por ejemplo producción de frutos y/o semillas).

Con base en lo anterior, es evidente que esta percepción de cómo opera el mundo natural es incompleta, como se ilustra en el siguiente ejemplo. Consideremos, una planta cosexual estudiada en una población natural en la cual se encuentra que, ante un estrés ambiental, produjo frutos y/o semillas en menor cantidad que otra. En este caso se le adjudicaría un éxito reproductivo comparativamente menor, aunque en realidad pudo haber tenido un éxito reproductivo comparable, o incluso mayor, si consideramos que las semillas producidas por otras plantas de la misma población natural son el resultado de la fertilización hecha por el polen de la planta en cuestión.

Desde el punto de vista ecológico y evolutivo, y dada la prevalencia de las plantas cosexuales en la naturaleza, se requieren estudios en los que se evalúen el impacto de los factores ambientales, bióticos y abióticos, sobre el éxito reproductivo de las plantas considerando no sólo los efectos sobre la adecuación por la vía femenina sino considerando, además, los efectos sobre la adecuación por la vía masculina.

La literatura reciente demuestra que la herbivoría es uno de los factores bióticos que tiene el potencial de afectar negativamente el desempeño de las plantas (ver revisión en Dirzo 1984 y Marquis 1992). Numerosos trabajos muestran que la herbivoría puede reducir significativamente el crecimiento de las plantas (Kulman 1971, Dirzo 1984, Marquis 1984, Dominguez y Dirzo 1994), su supervivencia (Dirzo 1984, Clark y Clark 1985), alterar su arquitectura (Crawley 1983), modificar los ritmos temporales de reproducción (Whitham *et al.* 1991, Crawley 1983, Dominguez y Dirzo 1994), modificar la expresión sexual (Freeman *et al.* 1980) y afectar el éxito reproductivo a través de la función materna (Stephenson 1981, Hendrix 1988, Marquis 1988 y 1992). Este último efecto se presenta debido a que la remoción de tejido vegetal por parte de los animales tiene, como consecuencia última, una reducción en la disponibilidad de recursos totales

de las plantas, lo que a su vez limita la porción de los mismos que puede ser destinada a la reproducción. Sin embargo, se conoce muy poco sobre los efectos de la herbivoría sobre la adecuación por la vía masculina.

Los primeros antecedentes disponibles a este respecto han mostrado que la herbivoría puede afectar la producción de flores masculinas en *Salix lasiolepis* (Sacchi *et al.* 1988) y en *Taxus canadensis* (Allison 1990). El antecedente más completo lo constituye un estudio reciente de Quesada *et al.* (1995), específicamente dirigido a evaluar el impacto de la defoliación sobre la producción de polen y el desempeño del mismo en *Cucurbita texana* bajo condiciones de un campo experimental. En este estudio se utilizaron plantas de *C. texana* como donadores de polen (i. e., plantas padre) y dos cultivares portadores de marcadores morfológicos como plantas receptoras (plantas madre) y la polinización se llevó a cabo artificialmente. Sus estudios demostraron que la defoliación afectó negativamente la producción total de polen por planta y por flor, y la capacidad competitiva de los tubos polínicos (lo cual a su vez incide sobre la paternidad de las semillas a través de la fertilización no aleatoria). También en *Alstroemeria aurea* la defoliación afectó negativamente el tamaño de los granos de polen y el desarrollo de los tubos polínicos (Aizen y Raffaele 1998).

La evidencia disponible sobre el impacto de la herbivoría en los sistemas de polinización abierta y zoófila, en condiciones naturales, es aún muy limitado (Strauss *et al.* 1996, Lehtilä y Strauss 1997). Sin embargo, la evidencia demuestra que en estos sistemas la asignación de recursos a la función masculina, que incluye las estructuras florales, (pétalos, sépalos y brácteas) y sustancias de recompensa como el néctar, están relacionada directamente con el número de visitas de los polinizadores (Wilson *et al.* 1994). Dichos atributos pueden afectar la adecuación masculina bajo condiciones naturales (Pleasant y Chaplin 1983). Por todo esto es razonable suponer que la herbivoría, en la medida que afecte la asignación de recursos a las estructuras reproductivas, como se describió anteriormente, puede afectar concomitantemente el éxito reproductivo por la vía masculina.

Con base en los antecedentes anteriores, es posible predecir que la herbivoría, bajo condiciones naturales, tiene el potencial de reducir la capacidad reproductiva de las plantas por la vía masculina. Este efecto negativo se explicaría por la disminución en la producción de polen y de la capacidad competitiva del tubo polínico, así como por una reducción en el traslado de polen por medio de polinizadores. Las consecuencias de la herbivoría sobre los polinizadores se

manifestarían por su efecto negativo sobre los atributos florales de atracción y recompensa. En un estudio con *Raphanus raphanistrum* las plantas con daño produjeron flores de corola más pequeña y recibieron menos visitas de los polinizadores (Strauss *et al.* 1996). El mismo patrón se observó en *Oenothera macrocarpa* (Mothershead y Marquis 2000), lo que parece apoyar la existencia de efectos indirectos de la herbivoría sobre la adecuación masculina, mediados por las modificaciones de los caracteres florales.

El presente estudio une dos aspectos relevantes para el entendimiento más preciso de la biología de las plantas que dominan el mundo vegetal en la actualidad: *i*) el éxito reproductivo total (considerando las funciones de adecuación masculinas y femeninas) y *ii*) la herbivoría, uno de los factores que la literatura reciente reconoce como un estrés ambiental omnipresente en las poblaciones naturales de plantas, y que se considera responsable de la evolución de muchos atributos de las mismas.

En este estudio se intenta evaluar el impacto de la herbivoría foliar de *Cucurbita argyrosperma* ssp. *sororia*, una planta hermafrodita anual, nativa de México, considerando los componentes de su adecuación reproductiva masculina y femenina, incluyendo desde la producción de flores, polen y frutos, hasta la probable modificación de los caracteres de recompensa florales y su efecto sobre el comportamiento de los polinizadores. Los capítulos de esta tesis desarrollan aspectos relevantes para la comprensión de los efectos de la herbivoría sobre ambas funciones de la adecuación. En el capítulo 1 describo aspectos de la historia natural de *Cucurbita sororia* que caracterizan las interacciones planta-herbívoro en su ambiente natural. En ese capítulo describo las características relevantes de la historia de vida de la planta. También describo las especies de fitófagos más abundantes y los patrones de daño que éstos producen en las plantas en el contexto de las selvas bajas caducifolias. En el capítulo 2 describo la historia natural de las interacciones mutualistas planta-polinizador de *C. sororia* en su ambiente natural. La descripción de las interacciones planta-polinizador comprende la definición de la comunidad de abejas que visita las flores y su capacidad de respuesta a los patrones de producción de néctar.

En el capítulo 3 exploro el efecto de la herbivoría artificial sobre el crecimiento y la reproducción masculina y femenina de una población de plantas que pertenecen a la misma familia genética en condiciones ambientales controladas. En este estudio examino en detalle las consecuencias del daño sobre el crecimiento, a través de un análisis demográfico de la dinámica foliar, así como el patrón de respuesta de la fenología floral y la producción de polen.

En el capítulo 4 extiendo el análisis a las consecuencias del daño controlado sobre la la producción de frutos y el comportamiento de los polinizadores en una población de plantas que crecen en condiciones de campo. En este estudio investigo las consecuencias directas de la herbivoría sobre los componentes reproductivos femeninos y los componentes reproductivos masculinos, así como las consecuencias indirectas de la herbivoría que al afectar los caracteres florales de atracción y recompensa inciden sobre el comportamiento de los polinizadores.

LITERATURA CITADA

- Aizen, M. A. y E. Raffaele. 1998. Flowering-shoot defoliation affects pollen grain size and postpollination pollen performance in *Alstroemeria aurea*. *Ecology* 79:2133-2142.
- Allison, T. D. 1990. The influence of deer browsing on the reproductive biology of Canada yew (*Taxus canadensis* Marsh.) II. Pollen limitation: an indirect effect. *Oecologia* 83:530-534.
- Clark, D. B. y D. A. Clark. 1985. Seedling dynamics of a tropical tree: impacts of herbivory and meristem damage. *Ecology* 66: 1884-1892.
- Crawley, M. J. 1983. *Herbivory: the dynamics of animal-plant interactions*. Blackwell Scientific Publications. Oxford.
- Dirzo, R. 1984. Herbivory: A phytocentric overview. *En*: R. Dirzo y J. Sarukhán, eds. *Perspectives in plant population biology*. Pp:141-165. Sinauer, Sunderland, MA.
- Dominguez, C. A. y R. Dirzo. 1994. Effects of defoliation in proleptic tropical dry forest plants: experiments with *Erythroxylum havanense*. *Ecology* 75:1896-1902.
- Freeman, D. C., K. T. Harper y E. L. Charnov. 1980. Sex change in plants: old and new observations, and new hypotheses. *Oecologia* 47: 222-232.
- Hendrix, S. D. 1988. Herbivory and its impact on plant reproduction. *En*: J. Lovett-Doust y L. Lovett-Doust, eds. *Plant reproductive ecology: patterns and strategies*. Pp. 246. Oxford University Press.
- Kulman, H. M. 1971. Effects of insect defoliation on growth and mortality of trees. *Annual Review of Entomology*. 16: 289-324.
- Lehtilä K. y S. Y. Strauss. 1997. Leaf damage by herbivores affects attractiveness to pollinators in wild radish, *Raphanus raphanistrum*. *Oecologia* 111:396-403
- Marquis, R. J. 1984. Leaf herbivores decrease fitness of a tropical plant. *Science* 226: 537-539.

- Marquis, R. J. 1988. Phenological variation in the neotropical understory shrub *Piper arieantum*: causes and consequences. *Ecology* 69: 1552-1565.
- Marquis, R. J. 1992. The selective impact of herbivores. *En: Fritz and E.L. Simms, eds. Plant resistance to herbivores and pathogens: ecology, evolution and genetics.* Pp. 301-325. Chicago University Press
- Mothershead, K. y R. J. Marquis. 2000. Fitness impacts of herbivory through indirect effects on plant-pollinator interactions in *Oenothera macrocarpa*. *Ecology* 81:30-40.
- Pleasants, J. M. y S. J. Chaplin. 1983. Nectar production rates of *Asclepias quadrifolia*: causes and consequences of individual variation. *Oecologia* 59:232-238.
- Quesada, M., K. Bollman y A. G. Stephenson. 1995. Leaf damage decreases pollen production and hinders pollen performance in *Cucurbita texana*. *Ecology* 76:437-443.
- Sacchi, C. F., P. W. Price, T. P. Craig y J. K. Itami. 1988. Impact of shoot galler attack on sexual reproduction in the arroyo willow. *Ecology* 69: 2021-2029.
- Stephenson, A. G. 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 12:253-279.
- Strauss, S. Y., J. K. Conner, y S. L. Rush. 1996. Foliar herbivory affects floral characters and plant attractiveness to pollinators: implications for male and female plant fitness. *American Naturalist* 147:1098-1107
- Wilson, P., J. D. Thomson, M. L. Stanton, y L. P. Rigney. 1994. Beyond floral batemania: gender biases in selection for pollination success. *American Naturalist* 143:283-296.
- Whitham, T. G., J. Maschinski, K. C. Larson y K. N. Paige. 1991. Plant responses to herbivory: The continuum from negative to positive and underlying physiological mechanisms. *En: P. W. Price, T. M. Lewinsohn, G. Wilson Fernandes y W. W. Benson, eds. Plant-animal interactions: Evolutionary Ecology in Tropical and Temperate Regions.* Pp:227-256. John Wiley, New York.

Capítulo 1

Historia natural y patrones de herbivoría
en *Cucurbita sororia*

RESUMEN

La mayoría de los escasos estudios sobre herbivoría en las selvas secas se han realizado con árboles. Los estudios de patrones de herbivoría sobre otras formas de vida, en particular las enredaderas, son prácticamente nulos en este ecosistema. Una de las especies más extendidas de enredaderas en las selvas tropicales secas y cuyo centro de origen se ubica en México, es *Cucurbita sororia*. Si bien no existe información sobre la herbivoría en esta especie, los antecedentes han documentado una estrecha relación evolutiva del género *Cucurbita* con dos géneros de Crisomélidos: *Acalymma* y *Diabrotica* y un género de Coccinélido, *Epilachna*. En este capítulo presento un análisis del daño por insectos fitófagos en *C. sororia* en una selva tropical estacional de México. El interés central del estudio es documentar la magnitud de la herbivoría foliar, definir cuáles son los principales herbívoros, y cuantificar la variación intraespecífica en la intensidad del daño entre los individuos de esta especie en una población local en Chamela (Jalisco).

El estudio se realizó en una región de la costa del Pacífico próxima a la Estación de Biología de Chamela. Para determinar la intensidad de la herbivoría, en agosto de 1994 coseché hojas de 22 individuos seleccionados al azar de una población natural de *C. sororia*. Calculé la herbivoría por planta como el porcentaje del área dañada en las hojas muestreadas. Mediante recorridos de inspección diarios colecté los insectos que se encontraban consumiendo el follaje de las plantas de la población. La distribución de daño de las plantas y de las hojas se determinó a través del ajuste de modelos teóricos de distribución. La diferencia de daño entre plantas se analizó a través de una tabla de contingencia y una prueba de permutación realizada sobre un ANDEVA.

Mis resultados muestran que la mayoría de las plantas en esta población son atacadas por herbívoros estenófagos. Los herbívoros que consumen el follaje de *C. sororia* son *Acalymma trivittatum* (Mannerheim), *Diabrotica* aff. *tibialis* (Baly), *Diabrotica balteata* (Le Conte), *Disonycha glabrata* (Fab.) y *Gynandrobrotica* spp. (Coleoptera, Crisomelidae), *Epilachna tredecimnotata* (Latreille) (Coleoptera, Coccinellidae) y *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera, Pyralidae). El porcentaje de área foliar consumido en las plantas de esta población es de 8.13. Las plantas mostraron diferencias significativas en la intensidad de herbivoría y encontré que la distribución de frecuencias de daño por individuo es lognormal. El análisis de la distribución espacial de la herbivoría entre plantas confirmó que el daño se distribuye en forma agregada. De las 22 plantas estudiadas, el 13.6% tuvieron una menor proporción de hojas dañadas que lo esperado por azar, mientras que el 22.7% tuvieron una menor proporción de hojas dañadas con respecto a lo esperado. El 80% de las plantas perdieron entre el 4 y el 14% del área foliar. Sólo el 18% de las plantas presentaron niveles de daño $\geq 15\%$. A nivel individual, sugiere un patrón agregado del daño entre las hojas de un individuo. A nivel de las hojas la distribución del daño correspondió a una binomial negativa (i.e., predominio de hojas con escaso o ningún daño y sólo algunas de ellas con daño intenso). En promedio, el 41.4% (+2.2, -2.4) de las hojas de la población fueron dañadas por los herbívoros. Más del 80% de las hojas pequeñas (i.e., jóvenes, que no se habían expandido totalmente) no recibieron herbivoría. La variación significativa en los niveles de daño encontrados entre plantas puede ser explicada por una combinación de factores externos a la planta (e.g., variaciones microambientales de suelo, exposición y diversidad de la vegetación circundante) o internos (e.g., diferencias entre y dentro de individuos en la cantidad y calidad de sus defensas). El hecho de que el follaje sea aceptable para los herbívoros sólo bajo algunas combinaciones de estos factores podría implicar que la característica más importante que permite a las plantas disminuir el impacto de los fitófagos es la variación continua en la calidad del follaje. Por lo anterior, aún cuando potencialmente las plantas son un recurso inmóvil y "disponible" para ser consumido, es posible, desde la percepción de los herbívoros, que la disponibilidad efectiva esté limitada, lo cual podría reflejarse en la predominancia de plantas con poco daño. Finalmente, los resultados de este estudio demuestran que, dentro del ámbito de variación interindividual detectado, si bien existen plantas esencialmente intactas, hay plantas en las que más del 70% de sus hojas están dañadas. Sería de interés por lo tanto evaluar las consecuencias de estos niveles de daño sobre el desempeño vegetativo y reproductivo de estas plantas.

INTRODUCCION

La selva tropical seca se extiende a lo largo de las tierras bajas de la cuenca del Pacífico en Mesoamérica. Esta formación vegetal se asocia a la sombra orográfica de lluvias que determina la concentración de las precipitaciones durante el verano y una prolongada sequía en invierno (Murphy y Lugo 1995). La fluctuación en la disponibilidad de agua es el regulador principal del patrón de crecimiento de las plantas de estos sitios (Reich y Borchert 1984, Bullock y Solís Magallanes 1990). En el período de sequía las plantas perennes detienen su crecimiento y muchas especies pierden sus hojas en respuesta al estrés hídrico producido por la combinación de elevadas temperaturas y falta de humedad en el suelo (Reich y Borchert 1984, Bullock y Solís Magallanes 1990). Sólo los árboles y arbustos con raíces muy profundas o de ambientes riparios mantienen el follaje durante este período (Holbrook *et al.* 1995). La extensión del período de crecimiento en la selva seca puede variar mucho entre años debido a diferencias interanuales en la duración del período de precipitaciones. Además de esta heterogeneidad temporal en la disponibilidad de agua, existe una gran heterogeneidad espacial a nivel regional y local debido a cambios en el tipo de suelo y la topografía de la región (Solís 1993, Murphy y Lugo 1995).

Los insectos herbívoros aumentan su actividad en respuesta a los pulsos de biomasa disponibles en la selva estacional. Los escasos estudios de herbivoría en la selva seca revelan que los herbívoros muestran un fuerte incremento de la actividad en el inicio de la estación húmeda y luego declinan paulatinamente hacia el final de la estación (Janzen 1981, Filip *et al.* 1995, Dirzo y Domínguez 1995). También se ha observado que la distribución del daño es heterogénea dentro de la comunidad de plantas. Generalmente los árboles siempreverdes de ambientes riparios tienen porcentajes de herbivoría notablemente inferiores en relación a los árboles caducifolios del resto de la selva (Dirzo y Domínguez 1995)

En este ambiente la herbivoría puede ser un factor de selección importante para las plantas por su impacto negativo sobre el crecimiento y la reproducción (Rockwood 1973, Dirzo y Domínguez 1995). En una selva tropical seca de la India los árboles que se retrasan en el inicio de la foliación durante la estación húmeda reciben significativamente más daño por insectos comparados con aquellos que inician la foliación más temprano o en sincronía con el pico de la foliación (Murali y Sukumar 1993). El hecho de que las plantas reciban menos daño cuando su foliación es simultánea (Aide 1993) o cuando ocurre antes de la aparición de los insectos

fitófagos, sugiere que el patrón fenológico pudo haber evolucionado como respuesta a la presión de selección de los herbívoros (Aide 1988, Murali y Sukumar 1993, Coley y Barone 1996).

La mayoría de los escasos estudios sobre herbivoría en las selvas secas se han realizado sobre árboles (Murali y Sukumar 1993, Dirzo y Domínguez 1995, Filip *et al.* 1995, Coley y Barone 1996, Parra-Tabla y Bullock 1998). En contraste, se conoce muy poco sobre los patrones de daño en otros componentes de esta comunidad. Las selvas secas, además de la predominancia de la forma de vida arbórea, poseen como característica distintiva una gran abundancia de especies de enredaderas herbáceas (Gentry 1995 y referencias). Los estudios de patrones de herbivoría sobre enredaderas son escasos en bosques (Aide y Zimmerman 1990) y prácticamente nulos en este ambiente. Entre las familias que más especies contribuyen a esta forma de vida en las selvas secas de México están las Cucurbitáceas. Las interacciones de esta familia con los insectos son notables. Los antecedentes disponibles han documentado una estrecha relación evolutiva del género *Cucurbita* con dos géneros de Crisomélidos: *Acalymma* y *Diabrotica* (Metcalf y Rhodes 1990) y un género de Coccinelido, *Epilachna* (Tallamy 1985, Tallamy y McCloud 1991, McCloud *et al.* 1995).

Una de las especies más extendidas de esta familia en las selvas secas tropicales, cuyo centro de origen se ubica en México, es *Cucurbita sororia* (Merrick 1990). Esta enredadera anual puede alcanzar un gran tamaño trepada sobre diversos hospederos arbustivos y arbóreos, generalmente en ambientes abiertos y sobre suelos profundos.

Historia natural de *Cucurbita sororia*

Cucurbita sororia (*C. argyrosperma* ssp. *sororia* (L. H. Bailey) Merrick y Bates (Merrick y Bates 1989)) es una enredadera anual de crecimiento indeterminado, monoica (flores masculinas y femeninas en la misma planta) y protándrica con un sistema de cruzamiento autocompatible.

C. sororia es una especie silvestre, considerada como el progenitor de la especie cultivada *C. argyrosperma* ssp. *argyrosperma*, anteriormente conocida como *C. mixta* Pang (Merrick y Bates 1989; Merrick 1990, Jones 1992) (pero ver Wilson 1989).

Geográficamente, *C. sororia* se distribuye desde el sur de Norteamérica hasta Centroamérica (México hasta Nicaragua). Las poblaciones forman parte de la selva baja caducifolia de las zonas costeras y pueden extenderse hasta elevaciones menores de las Sierras. Típicamente ocupan un ámbito altitudinal de 0 a 1900 m.s.n.m., en áreas con climas cálidos y

secos y con una marcada estacionalidad en la precipitación (Lira *et al.* 1995). Las plantas son más frecuentes en áreas con perturbación natural o antrópica como son las zonas próximas a los cursos de agua, orillas del camino y áreas próximas a campos agrícolas. Las plantas pueden ser observadas trepadas sobre arbustos y árboles, o postradas con guías de hasta 7 m. de largo, expuestas a una alta intensidad lumínica (Merrick 1990, N. Mariano obs. pers.). Las hojas son simples, orbiculares a ovado-deltoides (8-13 cm de largo x 7-13 de ancho), con 3-5 lóbulos (Lira *et al.* 1995) y son producidas continuamente durante toda la estación de crecimiento. La forma de las hojas cambia durante la ontogenia de la planta (i.e., son heteroblásticas). Las hojas en la fase de crecimiento vegetativo de las plantas presentan lóbulos someros en contraste con las hojas muy lobuladas que se producen en la fase reproductiva (Jones 1992). Los tallos presentan zarcillos con 3-4 ramificaciones.

Después de un periodo de crecimiento vegetativo (~50 días), se producen flores solitarias en las axilas de las hojas más recientes (*cf.* Jones 1992 y N. Mariano obs. pers.). Las grandes flores de color amarillo sobreviven durante un corto periodo que comprende entre el amanecer y media mañana (~06:30 a 10:30 hs) (N. Mariano obs. pers.). Las flores son campanuladas y están constituidas por 5 pétalos fusionados hasta cerca de la mitad de su longitud (7-10 cm de diámetro de la corola) formando un tubo floral (5-7 cm de largo). Las flores pistiladas presentan una corola más reducida que las estaminadas y son de ovario ínfero. La antera de las flores estaminadas está fusionada, mientras que las flores pistiladas poseen un estilo que remata en tres grandes estigmas bilobulados. Las plantas florecen desde julio hasta enero y fructifican principalmente entre noviembre y diciembre, aunque pueden encontrarse frutos en agosto (Lira *et al.* 1995, Mariano obs. pers.).

Los frutos son tipo pepo, globosos o piriformes de cáscara rígida, típicamente de 8 x 7 cm de largo y diámetro respectivamente (Merrick 1990). La dispersión de las semillas se produce a partir de la ruptura de los frutos cuando están totalmente secos.

En la selva seca de Chamela *C. sororia* es una especie oportunista adaptada para colonizar rápidamente los espacios abiertos disponibles al inicio de las lluvias. La estrategia de colonización parece estar basada más en la velocidad de germinación de las semillas producidas en la estación anterior, que en la formación de bancos de semillas en el suelo. En contraste con los árboles, estas plantas resisten la estación desfavorable como semilla y deben alcanzar la

reproducción en la estación lluviosa creciendo vigorosamente sobre los hospederos para exponer sus grandes hojas a la luz solar. Las plantas pueden alcanzar un gran tamaño cuando se encuentran trepadas sobre diversos hospederos arbustivos y arbóreos, generalmente sobre suelos profundos (N. Mariano obs. pers.). En condiciones experimentales, entre el 86 y el 100% de las semillas de *Cucurbita sororia* germinan 2 a 6 días después del inicio de la hidratación (Apéndice 1). Este alto porcentaje de germinación, alcanzado en tan corto tiempo, sugiere que en condiciones naturales la germinación es sincrónica y se inicia con las primeras lluvias importantes que pueden mantener húmedo el perfil del suelo durante más de un día. Al igual que en zonas de clima templado, donde el incremento en la temperatura rompe la latencia invernal en algunas especies, en las zonas tropicales secas (en las que la temperatura no es el factor limitante), la precipitación es el factor que podría determinar el inicio de la germinación en las plantas perennes (cf. Huante y Rincón 1998) y anuales.

Los principales polinizadores son abejas solitarias oligolécticas del género *Peponapis* y *Xenoglossa* (Hurd y Linsley 1970, Hurd *et al.* 1971, N. Mariano obs. pers.).

Interacciones planta-herbívoros

Las raíces, tallos, hojas, flores y frutos de *C. sororia* presentan concentraciones elevadas de metabolitos secundarios genéricamente conocidos como cucurbitacinas (triterpenoides tetracíclicos). Estos compuestos son tóxicos y le confieren un sabor muy amargo a los tejidos de las plantas, ambas características son indicadoras de que funcionan como metabolitos antiherbívoro (allomonas) contra herbívoros generalistas artrópodos, como el ácaro rojo (*Tetranychus* spp. Acari: Tetranychidae), o vertebrados (Metcalf y Rhodes 1990). La producción de cucurbitacinas está controlada por un gen dominante *Bi* que se encuentra presente en la mayoría de las especies ferales de Cucurbitaceae, y su forma química puede variar entre especies. En *C. sororia* se encuentran las cucurbitacinas B y D, pudiendo alcanzar en los frutos concentraciones de 0.54, 0.27 mg/g en peso fresco, respectivamente (Metcalf y Rhodes 1990). Las cucurbitacinas también actúan como atrectores y estimulantes alimentarios del grupo de escarabajos Luperini (Crysomelidae). Los escarabajos utilizan a las cucurbitacinas como señales químicas (kairomonas) para seleccionar a las plantas hospederas. Los insectos adultos del grupo Diabrotica detectan la presencia de este metabolito secundario con sensores químicos ubicados en los palpos maxilares, luego de lo cual son inducidos a alimentarse compulsivamente

del tejido vegetal. Se ha demostrado que existe una relación positiva entre la intensidad del daño producido por estos escarabajos y el contenido de cucurbitacina en los cotiledones, hojas y frutos.

La singular asociación entre Luperini y las cucurbitáceas puede ser el resultado de una prolongada interacción que afectó la evolución de las plantas y los insectos. El escenario evolutivo propuesto para esta interacción se muestra en la figura 1.

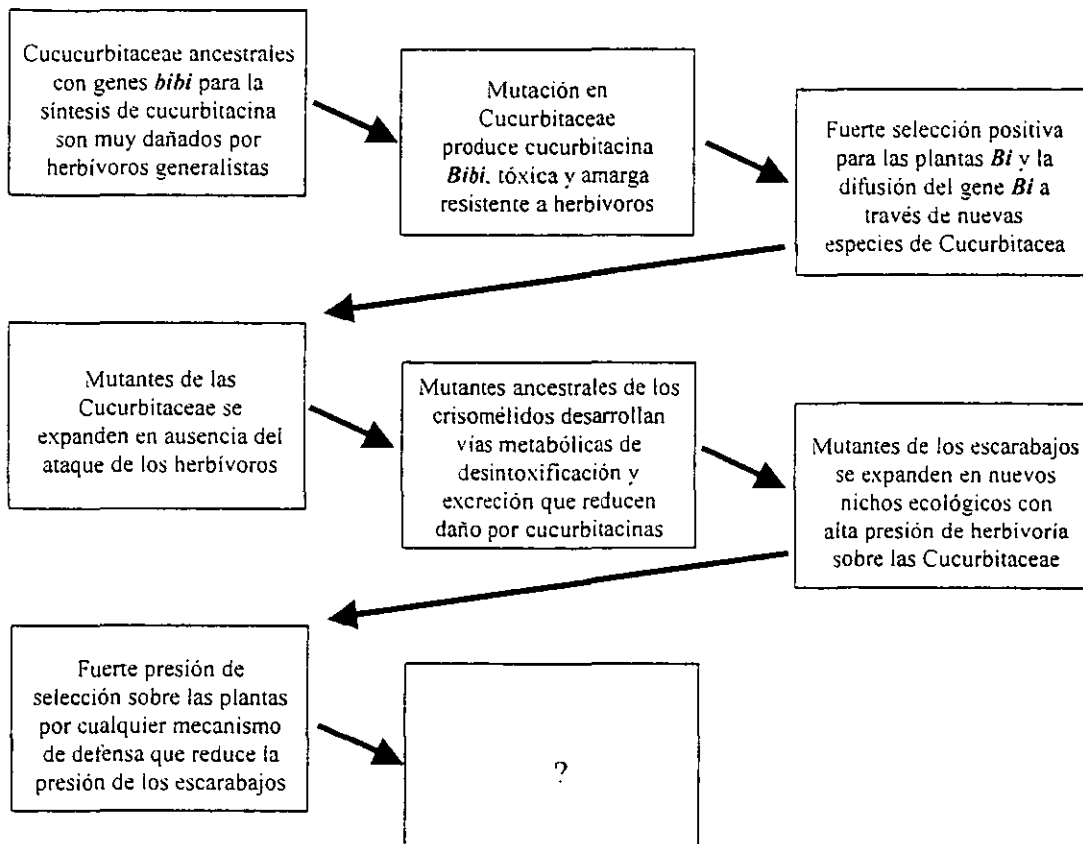


FIG. 1. Esquema de la interacción evolutiva entre los insectos fitófagos *Diabrotica* (Coleoptera: Crysomelidae) y la familia de las Cucurbitaceae (modificado de DaCosta y Jones 1971, Metcalf 1986, Metcalf y Metcalf 1992, Price 1997).

El hecho de que *C. sororia* tenga su centro de origen en México y las estrechas relaciones con algunas especies de herbívoros documentadas en otras cucurbitas, hace pertinente un análisis de los patrones que describa la interacción planta-insecto de *Cucurbita sororia* en la selva tropical seca. En este estudio presento un análisis de la intensidad de daño por insectos fitófagos y de los patrones de distribución del mismo, dentro y entre plantas de *Cucurbita sororia*, en una selva tropical estacional de México. El interés central de este estudio es determinar la magnitud

de la herbivoría foliar en esta especie; así como definir cuáles son los principales herbívoros, y cuantificar la variación intraespecífica en la intensidad del daño entre los individuos en una población local en Chamela (Jalisco).

MATERIAL Y METODOS

Sitio de estudio

El estudio se realizó en agosto y septiembre de 1994, en una región de la costa del Pacífico próxima a la Estación de Biología de Chamela (19°30'N, 105°03'W) en Jalisco, México. La precipitación anual acumulada es de 748 mm y se concentra entre julio y octubre. La temperatura promedio anual es de 24.9 °C (Bullock 1986). El relieve es montañoso y presenta suelos inmaduros, generalmente superficiales en las laderas, y profundos en los valles y cañadas. El contenido de materia orgánica y nutrientes minerales es bajo (Maass *et al.* 1988, Solís 1993).

La selva tropical decidua es la vegetación predominante, excepto sobre suelos profundos a lo largo de cañadas con cursos temporales de agua (Lott *et al.* 1987). Chamela es una de las selvas secas con mayor diversidad de especies vegetales. Estudios comparativos de la riqueza de especies entre selvas secas realizadas con muestras de tamaño estándar (todas las plantas con diámetro a la altura del pecho ≥ 2.5 cm, o ≥ 2.5 cm en la base, en el caso de las lianas) indican una densidad promedio en 0.1 ha de 94.3 especies en Chamela (Lott *et al.* 1987), comparada con 64.9 especies en promedio de otras selvas en América (Gentry 1995). Estas especies corresponden a 39 familias (Lott *et al.* 1987) comparadas con 28 en las selvas más ecuatoriales. Las familias con mayor número de especies son Leguminosae, Euphorbiaceae y Rubiaceae, en ese orden (Gentry 1995). En la zona de arroyos, Bignoniaceae ocupó el segundo lugar de importancia seguido por Rubiaceae, Sapindaceae y Euphorbiaceae, todas estas con igual orden de importancia (Gentry 1995). Las enredaderas son un componente importante de las selvas secas (Gentry 1995). En Chamela hay 121 especies de enredaderas, y el 16% corresponde a la familia Cucurbitaceae. Dicha familia ocupa el décimo lugar en importancia por el número de especies en este lugar.

Determinación de la intensidad de daño en las plantas y patrones de distribución dentro y entre plantas

Para determinar la intensidad de la herbivoría, en agosto de 1994, coseché hojas de 22 individuos seleccionados al azar de una población natural de *C. sororia* formada por 40 plantas. La

población estaba ubicada en un área de bosque perturbada a orillas del arroyo Chamela, aproximadamente a 0.5 km de su desembocadura en el mar y a 6 km de la Estación de Biología de Chamela. La mayoría de los individuos estaban trepados sobre arbustos o árboles de mediana altura, en algunos casos cubriéndolos por completo, por lo que fue necesario usar una garrocha para acceder a las hojas más altas. En cada planta colecté las hojas comprendidas dentro del área delimitada por un aro metálico de 57 cm de diámetro ($\sim 2,552 \text{ cm}^2$) ubicado al azar sobre el follaje (6–10 hojas por colecta dependiendo del tamaño de las hojas muestreadas). Este procedimiento se repitió hasta cosechar aproximadamente el 20% de la cobertura foliar [el promedio de hojas por planta ($\pm 1 \text{ d.e.}$) fue 42.3 ± 33.8 , con un ámbito de variación de 12-171 hojas]. Las hojas ubicadas en los bordes del aro de censo solo se colectaron si tenían más del 50% de su superficie dentro del área de muestreo. La selección de un círculo como “cuadrado de censo” se fundamentó en que tiene menor relación perímetro/superficie que el cuadrado o el rectángulo, lo cual implica que para la misma superficie de muestreo el círculo tiene menos hojas ubicadas en los bordes (i.e., menor “efecto borde”). Luego de la colecta usé un medidor de área foliar (Delta T Devices, England) para determinar el área perdida por herbivoría en cada hoja. En los casos en que debido a la intensidad de daño resultaba difícil reconstruir el área foliar original (i.e., antes de recibir el daño) por el polimorfismo de las hojas, determiné esta área por comparación con hojas sanas equivalentes en forma y tamaño a las hojas dañadas. Si bien el método permite medir la herbivoría en las hojas muy dañadas, es posible que subestime el daño real al no considerar las hojas muy jóvenes que fueron totalmente consumidas (incluido el peciolo).

La herbivoría por planta la calculé como el porcentaje del área dañada acumulada en relación al área estimada total de las hojas muestreadas. Este método de medición de la intensidad de daño fue más apropiado que la media aritmética de daño por hoja, porque la distribución de daño de las hojas fue asimétrica con sesgo positivo (Zar 1996). Si bien medí el daño de todas las hojas muestreadas por planta, para el cálculo de herbivoría solo consideré las hojas de tamaño superior a 40 cm^2 para disminuir el sesgo en las estimaciones que pueden introducir las hojas muy jóvenes. Tanto por su edad como por su tamaño las hojas pequeñas pudieron contribuir a disminuir la probabilidad de ataque de los insectos por presentar poco tiempo de exposición o ser menos visibles. La exclusión de hojas muy jóvenes es importante en los muestreos puntuales de herbivoría como el realizado ya que este método registra el daño acumulado, el cual a su vez

puede ser sensible a la edad de las hojas. Por lo anterior, para mostrar si este efecto existía, presento la información con y sin la inclusión de las hojas jóvenes.

Colecta de insectos herbívoros

Durante la primera semana de septiembre colecté los insectos que se encontraban consumiendo partes de las hojas de las plantas. Los recorridos de inspección se realizaron diariamente sobre todas las plantas de la población, principalmente a la mañana y al atardecer debido a que durante estos periodos observé mayor actividad de folívoros. De cada especie colecté al menos cuatro individuos con la ayuda de un aspirador entomológico. Los ejemplares fueron identificados por el Dr. F. Noguera, y se depositaron en la colección de la Estación de Biología de Chamela (UNAM). Las orugas de lepidópteros que encontré consumiendo follaje las crié en una jaula entomológica, suministrándoles diariamente hojas frescas de *C. sororia*. Posteriormente colecté las mariposas que emergieron de las pupas para su identificación.

Análisis estadístico

Para determinar si había diferencias estadísticas entre plantas en la intensidad de herbivoría ajusté un modelo loglineal (GLIM 4.0) ($N = 20$) con logaritmo como función de enlace y distribución Poisson. Opté por este método porque los datos, aún cuando fueron transformados, no cumplían con el supuesto de distribución normal de los residuales requerido para el análisis de varianza convencional. En el análisis se eliminaron 2 plantas que estaban representadas por menos de 15 hojas. Para cada planta convertí las mediciones continuas de daño de sus hojas (determinadas con el medidor de área foliar) en frecuencias. Para ello asigné las hojas según su daño en 6 categorías (0, >0-6, >6-12, >12-25, >25-50, >50-100%) y obtuve la distribución de frecuencias para cada planta. Los intervalos de daño fueron seleccionados con base en las categorías reportadas en otros estudios de herbivoría de la selva tropical seca (Dirzo y Domínguez 1995). Posteriormente analicé con una tabla de contingencia la interacción entre los factores planta X categoría de daño para probar si la distribución de daño de las hojas era independiente de la identidad de la planta. Si bien este método estadístico es satisfactorio el resultado podría ser sensible al número de categorías seleccionadas para obtener la frecuencia de hojas. Para evitar esta dificultad potencial también analicé los datos con un bootstrap (Efron y Tibshirani 1993) sobre el análisis de varianza, empleando el método de permutación y 1000 iteraciones (Genstat 4.1). Los datos fueron

convertidos mediante una transformación angular [$x = (180/\pi) * \arccos(\text{daño}^{1/2})$], con el daño por hoja expresado en proporción].

También caractericé la distribución de daño de las plantas y de las hojas (sin considerar la identidad de la planta de procedencia) a través del ajuste de modelos teóricos de distribución. La hipótesis nula de estas pruebas es que los datos observados se ajustan al modelo, y por lo tanto la bondad del ajuste es indicada por la ausencia de diferencias significativas entre las frecuencias observadas y las esperadas.

Para determinar estadísticamente si la distribución espacial del daño entre plantas era al azar o agregada, analicé si la proporción de hojas con daño observada difería de la esperada. Para ello calculé las frecuencias de daño esperadas para cada planta predichas por una distribución binomial considerando la proporción general de hojas dañadas en la población (i.e., la proporción media). A partir de las diferencias entre estos valores y los observados obtuve los residuales de Pearson correspondientes a un modelo binomial. Luego sumé los cuadrados de los residuales de Pearson y obtuve el valor de χ^2 con $n - 1$ grados de libertad ($n =$ número de plantas). En esta prueba, si el valor observado es superior al tabulado para $P < 0.05$, concluimos que la distribución de daño es agregada. Por el contrario, si es no significativo e inferior a 0.95 se puede concluir que es aleatoria, mientras que los valores de χ^2 con $P > 0.95$ indican distribuciones regulares. Los residuales estandarizados se distribuyen como una normal ($\sim N 0,1$), de tal manera que podemos afirmar con un nivel de significancia del 5% que aquellas plantas con residuales mayores en valor absoluto a 2.0 tienen una proporción de hojas dañadas diferente al esperado. Los valores positivos indican más daño que el esperado y los negativos menos daño que el esperado.

Para evaluar el efecto de la edad de las hojas sobre la intensidad de daño durante la etapa de expansión foliar (etapa en la que esperamos que la edad se corresponda con tamaño) analicé mediante una prueba de χ^2 si había diferencias entre las distribuciones estimadas de daño en las hojas al incluir o excluir las hojas pequeñas ($< 40 \text{ cm}^2$). También comparé el daño entre los dos tamaños de hojas con una t pareada ($N = 14$ plantas) previa transformación angular de la proporción de daño por planta.

RESULTADOS

Las especies de insectos fitófagos colectadas que consumen el follaje de *Cucurbita sororia* corresponden a las reportadas en otras especies de *Cucurbita* y pertenecen a los órdenes Coleoptera y Lepidoptera (Tabla 1). Entre los primeros se destacan por su abundancia los géneros de Crisomélidos *Acalymma* y *Diabrotica*, y el género de Coccinélidos *Epilachna*. La lista completa de las especies encontradas fue *Acalymma trivittatum* (Mannerheim), *Diabrotica* aff. *tibialis* (Baly), *Diabrotica balteata* (Le Conte), *Gynandro brotica* y *Disonycha glabrata* (Fab.) (Coleoptera: Chrysomelidae) y *Epilachna tredecimnotata* (Latreille) (Coleoptera: Coccinellidae). Del orden Lepidoptera el herbívoro fue *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Pyralidae, subfamilia Pyraustinae).

La intensidad de daño de la población de plantas, representada por la proporción de área foliar perdida en la totalidad de las hojas colectadas fue de 8.13% (la media aritmética por planta fue de 9.58%, con un ámbito de variación de 2.26% a 27.47%). Las plantas mostraron diferencias en la intensidad de herbivoría, como lo indicó la interacción significativa entre las plantas y las categorías de daño foliar ($\chi^2 = 237.8$; gl = 95; $P < 0.0001$). De igual modo, la proporción de varianza obtenida por el ANDEVA $F_{19, 886} = 4.61$ quedó claramente fuera del intervalo de confianza al 95% (LCI = 0.537, LCS = 1.598; $F = 1.011 \pm 0.33$) obtenido por el método de "bootstrap". Este resultado indica que la prueba de permutación de una cola al nivel del 95% rechaza la hipótesis de que las diferencias observadas entre plantas en la herbivoría pudieran haberse originado por azar.

La frecuencia de individuos agrupados en categorías de daño se distribuyó como un modelo lognormal (Fig. 2). La bondad de ajuste de la curva a dicho modelo fue indicada por la ausencia de diferencia estadística significativa entre las frecuencias observadas y las estimadas por esa función ($\chi^2 = 1.53$, gl = 2, $P = 0.4653$; $N = 22$; Genstat 4.1). El antilogaritmo natural del valor promedio de daño estimado por el modelo (± 1 EE) fue de 7.68% (+1.16, -1.00). Estos parámetros indican que cerca del 80% de las plantas perdieron entre 4 y 14% del área foliar, mientras que sólo unas pocas de ellas presentaron intensidades de daño superiores (Fig. 2).

En contraste a este patrón, la distribución de la herbivoría entre las hojas, sin considerar la identidad de la planta, no se ajustó significativamente a ningún modelo continuo debido a la gran cantidad de hojas que no estaban dañadas. Para sortear esta situación ajusté distribuciones

Tabla 1: Tipo de daño, amplitud de dieta y las principales características de los insectos fitófagos de *Cucurbita sororia* en la selva tropical seca de Chamela.

Especie	Tipo de daño	Amplitud de dieta	Observaciones
<i>Acalymma trivittatum</i>	Larvas: perforación de raíces y tallos bajo tierra. Adultos: consumidores de follaje (agujeros netos en las hojas) flores y polen.	Estenófago (Especialista en Cucurbitaceae)	Pasan la estación seca como huevos en diapausa. Vector de la enfermedad del marchitamiento producido por bacterias (<i>Erwinia</i> spp.). Multivoltismo
<i>Diabrotica</i> aff. <i>Tibialis</i>	Larvas: perforación de raíces y tallos bajo tierra, Adultos: consumidores de follaje (agujeros netos en las hojas) flores y polen.	Estenófago (Especialista en Cucurbitaceae)	Pasan la estación seca como adultos. Transmisor de virus
<i>Diabrotica balteata</i> (3,4,5)	Larvas: perforación de raíces y tallos bajo tierra, Adultos: consumidores de follaje (agujeros netos en las hojas) flores y polen. (3)	Polífago (3)	Pasan la estación seca como adultos. Transmisor de virus (1, 2). Se distribuye desde sur de EEUU hasta norte de Sudamérica (3). Multivoltismo
<i>Gynandrobrotica</i> spp.	Adultos: agujeros irregulares en las hojas	Polífago	Transmisor de virus
<i>Disonycha glabrata</i>		Polífago	
<i>Epilachna tredecimnotata</i>	Larvas: esqueletonización de hojas. Adultos: agujeros en las hojas y esqueletonización. Corta un surco circular y luego se alimenta del material foliar dentro del círculo (6).	Estenófago (Especialista en Cucurbitaceae)	
<i>Diaphania hyalinata</i>	Larvas: principalmente consume hojas y flores. En algunos casos también la pulpa de los frutos. Adultos: "robadores" de néctar de las flores.	Estenófago (Especialista en Cucurbitaceae)	Se distribuye desde EEUU hasta Argentina. con predominio en los trópicos y subtropicos.

Referencias:

1- Morales *et al.* 1999; 2- Valverde *et al.* 1995.; 3- Rodriguez-del-Bosque y Magallanes-Estala 1994.; 4- Layton *et al.* 1987; 5- Elsey 1988; 6- Carroll y Hoffman 1980

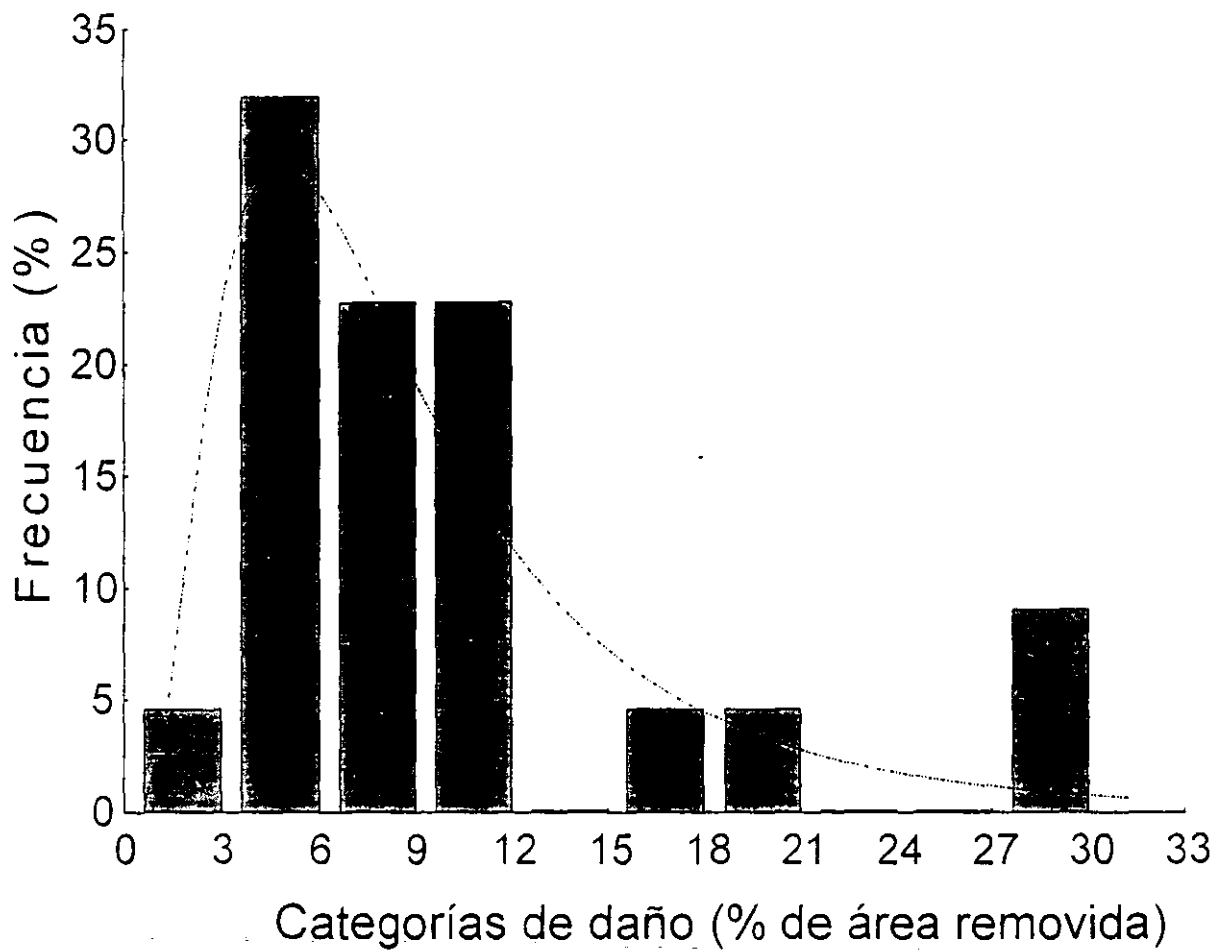


FIG. 2. Distribución de plantas en categorías de daño en una población natural de *C. sororia* en la selva baja caducifolia de Chamela. Los valores del eje x indican los límites superiores de las categorías. Las barras representan las frecuencias observadas y la línea continua el ajuste de una función lognormal (ver Material y Métodos: $N = 22$; $P = 0.47$)

discretas a las frecuencias de hojas agrupadas en categorías de daño con una amplitud de intervalo del 1% (i.e., 0, 1, 2, ... 98%). Un análisis de la bondad de ajuste indicó que el daño en las hojas se distribuyó como un modelo binomial negativo ($\chi^2 = 87.49$; $gl = 96$; $P = 0.7204$; $N_{\text{plantas}} = 22$; $N_{\text{hojas}} = 931$). La distribución binomial negativa indica que las frecuencias de hojas disminuyen monótonicamente desde un valor modal de cero daño (Pielou 1969) hacia los daños mayores (Fig. 3). Los parámetros estimados que caracterizaron la distribución fueron el valor medio de daño y el parámetro de dispersión (\pm EE): $m = 7.75 \% \pm 0.51$ y $k = 0.2565 \pm 0.0138$, respectivamente. El parámetro k mide el grado de agrupamiento de la distribución. El valor de k , menor a 1, indica que las hojas mostraron una distribución fuertemente agregada entre las categorías de daño (cuando más cercano a 0 es el valor, mayor es el grado de agrupamiento).

El patrón de herbivoría entre plantas presentado hasta aquí no cambia si se incluyen las hojas pequeñas. Los resultados del ajuste lognormal a las proporciones de herbivoría por planta, incluyendo las hojas pequeñas, indicaron valores muy semejantes a los obtenidos anteriormente (media estimada por el modelo = 7.51% (+1.12, -0.97); $\bar{x} = 9.33\%$, con 2.17-27.39 de intervalo de daño). También los parámetros estimados por el ajuste de la función binomial negativa sobre las hojas, incluyendo las hojas pequeñas fueron similares a los anteriores ($m = 7.18\% \pm 0.4764$ y $k = 0.2162 \pm 0.0112$). Sin embargo, la comparación entre las frecuencias relativas estimadas por la distribución binomial negativa a partir de los datos con y sin la inclusión de estas hojas mostró diferencias estadísticas significativas ($\chi^2 = 41.275$; $gl = 6$; $P < 0.0001$). La Figura 4 muestra que más del 80% de las hojas muy jóvenes no recibieron herbivoría, esto representa dos veces el porcentaje esperado en las hojas de mayor tamaño sin herbivoría. Esta tendencia también se puede observar en las demás categorías de daño creciente, donde las hojas pequeñas estuvieron menos representadas que las hojas más grandes. Las observaciones anteriores son corroboradas por el hecho de que en la comparación entre ambas distribuciones, el 93.6% del valor de χ^2 obtenido en la prueba fue explicado por las diferencias de frecuencias en la categoría de 0% de daño. El resultado de la prueba de t pareada fue consistente con lo anterior. En doce plantas las hojas pequeñas recibieron menos daño que las desarrolladas y solo en dos plantas la tendencia fue contraria (4.32% \pm 1.78, -1.49 vs. 8.96% \pm 1.96, -1.78 respectivamente; $t_{13} = 2.44$; $P < 0.0294$; Fig. 5).

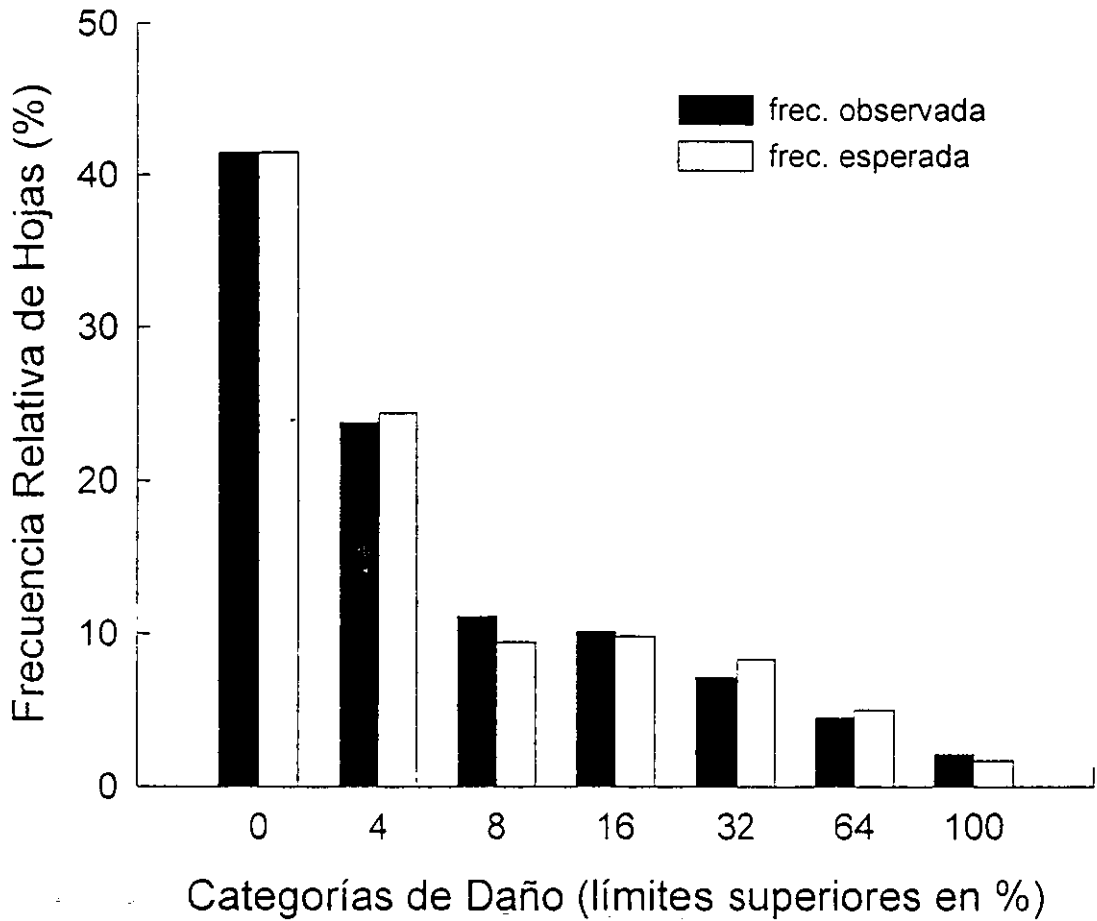


FIG. 3. Distribución de frecuencias de hojas observadas y esperadas en categorías de daño en una población natural de *C. sororia* en la selva baja caducifolia. Las frecuencias esperadas se obtuvieron por el ajuste de una función binomial negativa sobre categorías de daño con una amplitud de intervalo del 1% (para la representación gráfica cada categoría fue el doble de la anterior) ($N = 931$; $P = 0.72$)

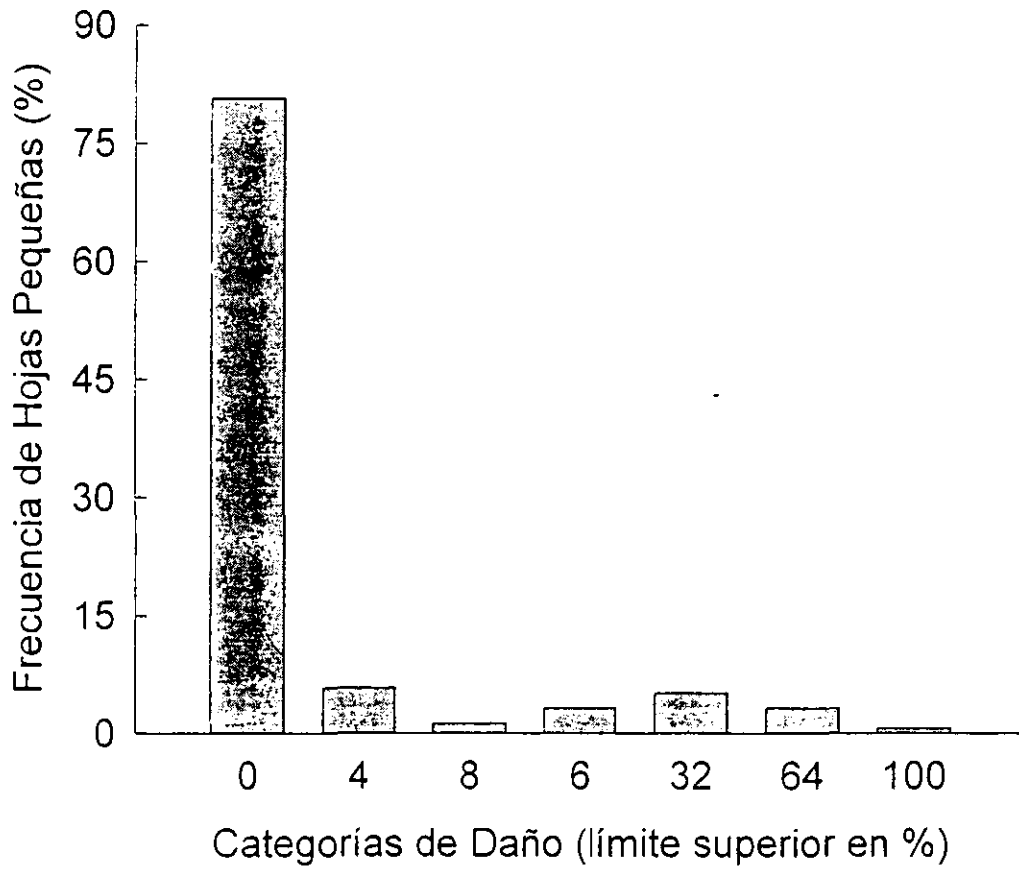


FIG. 4. Distribución de frecuencias de hojas jóvenes (< 40 cm²) observadas en categorías de daño en una población natural de *C. sororia* en la selva baja caducifolia.

El análisis de la distribución espacial de la herbivoría entre plantas, basado en la proporción de hojas por planta que recibieron algún tipo de daño, confirmó que el daño se distribuye en forma agregada ($\chi^2 = 86.53$; $gl = 21$; $P < 0.0001$) (Fig. 6). En promedio, el 41.4% (+2.2, -2.4) de las hojas de la población fueron dañadas por los herbívoros. De las 22 plantas estudiadas tres (i.e., 13.6%) recibieron más herbivoría que la esperada, mientras que otras cinco (i.e., 22.7%) tuvieron menor proporción de hojas dañadas que lo esperado por azar (Fig. 6).

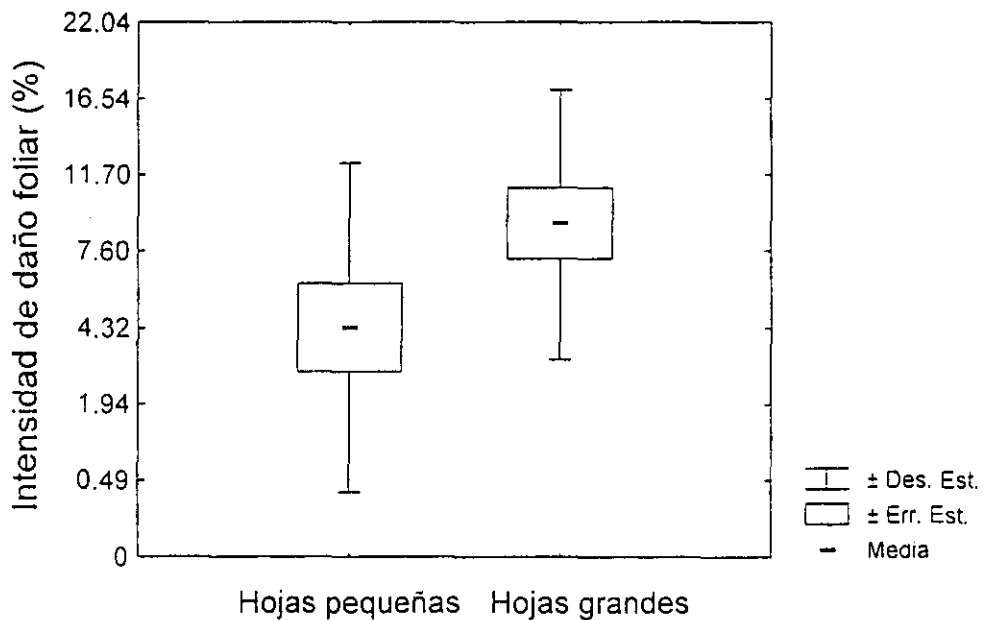


FIG. 5. Diferencias en la intensidad de daño foliar entre hojas pequeñas en expansión ($< 40 \text{ cm}^2$) y hojas desarrolladas en una población natural de *C. sororia* en la selva baja caducifolia. El daño en las dos categorías de tamaño se midió en las hojas de las mismas plantas ($N=14$).

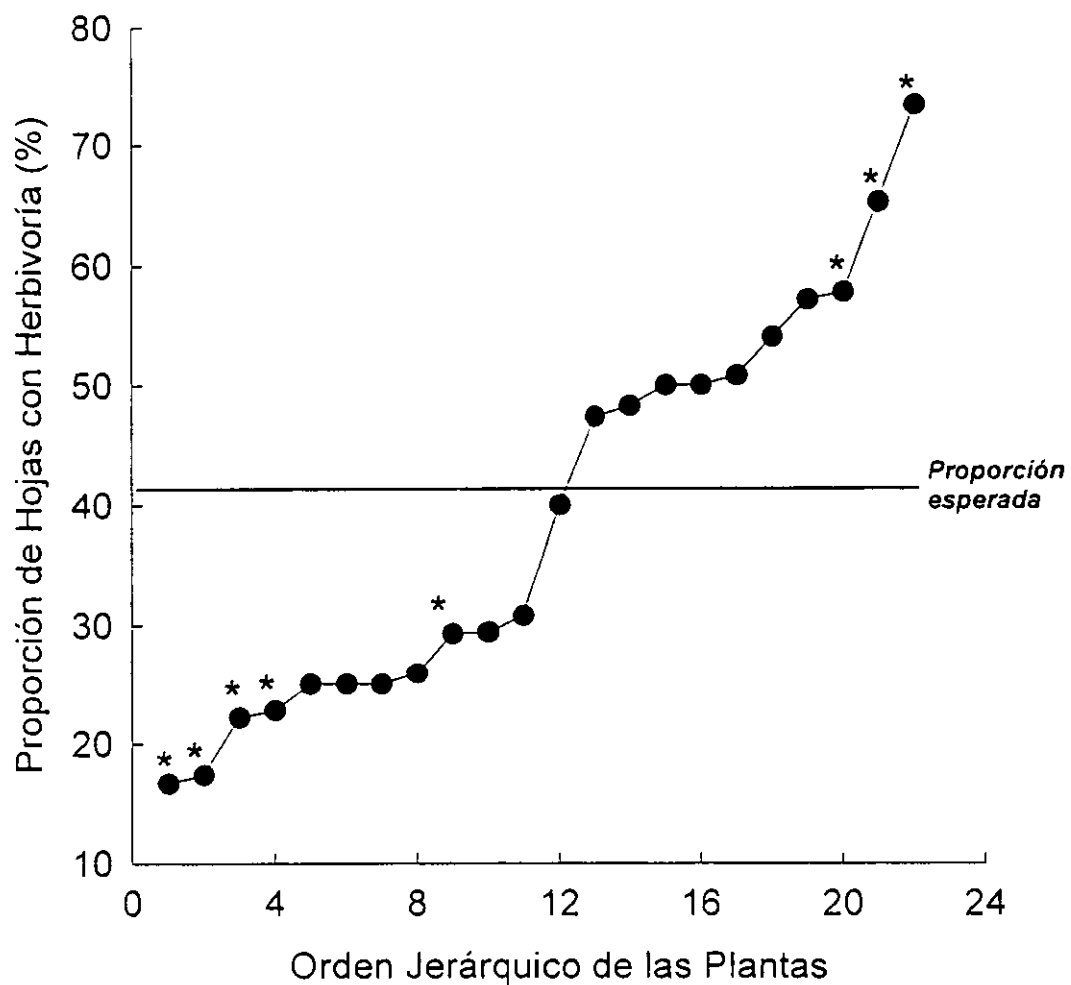


FIG. 6. Distribución de plantas ordenadas en sentido ascendente en relación a la proporción de hojas dañadas observadas. La línea horizontal representa el porcentaje promedio de hojas con herbivoría en las plantas de la población estudiada. Las plantas con asteriscos ubicadas por encima y por debajo de esta línea tuvieron proporciones de daño mayores y menores, respectivamente, que las esperadas ($P < 0.05$; ver Materiales y Métodos).

DISCUSION

Los herbívoros encontrados en las plantas de *C. sororia* pertenecen a los géneros de folívoros documentados en otras especies de Cucurbitaceae tanto silvestres como cultivadas (Carroll y Hoffman 1980, Condon y Gilbert 1990, Tallamy y McCloud 1991). Los insectos capturados se pueden clasificar en tres grupos en función del tipo de tejido vegetal consumido: a- consumidores de hojas exclusivamente (*Epilachna tredecimnotata*), b- consumidores de hojas, flores y frutos (*Diaphania hyalinata*) y c- consumidores de hojas, flores y raíces (especies de Crisomélidos). El último grupo de especies pertenecen principalmente a los géneros *Diabrotica* y *Acalymma* reconocidos por mantener una estrecha relación evolutiva con las Cucurbitaceas (Metcalf y Rhodes 1990, Metcalf y Metcalf 1992). Entre los fitófagos encontrados hay estenófagos y polífagos, sin embargo la mayoría muestra preferencias por plantas de la familia Cucurbitaceas. Los antecedentes destacan como el generalista más importante por su abundancia e intensidad de daño a *Diabrotica balteata* y como especialista (i.e., que se alimenta sólo de Cucurbitaceae) a *Diaphania hyalinata*. Los adultos de *Diabrotica* y *Acalymma* usan las cucurbitacinas como señales para localizar las plantas (i.e., kairomonas), y las hembras del *D. hyalinata* (al igual que *D. nitidalis*) utilizan compuestos volátiles liberados principalmente por los tricomas de las hojas de *Cucurbita* como señales para ovipositar sus huevos (Else y Wann 1982, Peterson *et al.* 1994). Los insectos que exhiben estos comportamientos de discriminación entre plantas pueden seleccionar las plantas de mayor calidad y dejar más descendencia que los que no poseen esta capacidad, por lo tanto este comportamiento constituyen en parte una respuesta evolutiva a la existencia de variación en la calidad de las plantas (Rausher 1983). La existencia de estos mecanismos son evidencia de una prolongada interacción evolutiva en la relación insecto-planta y destaca la importancia que la presión de herbivoría puede tener sobre *C. sororia* en particular y sobre otras especies de Cucurbitaceae en general.

El nivel de daño promedio de 8.1% encontrado en la población de plantas está comprendido dentro del intervalo de 6.73 - 9.22 % reportado para la selva tropical seca de Chamela (Filip *et al.* 1995, Dirzo y Domínguez 1995). Las mediciones de herbivoría realizadas en un sólo momento en el tiempo, como las realizadas en este estudio, generalmente subestiman la cantidad real de área foliar perdida por las plantas. Esto puede ocurrir por la imposibilidad de registrar con este método el daño de las hojas que se cayeron después de haber sido parcialmente

consumidas o el daño de las que fueron totalmente comidas. En las selvas tropicales en general y en Chamela en particular las mediciones puntuales de herbivoría subestiman en un 50% el daño foliar en relación a las mediciones repetidas en el tiempo (Dirzo y Domínguez 1995, Coley y Barone 1996). Por lo anterior es posible que en *C. sororia* la intensidad del daño sea mayor al encontrado y próximo al 14.2% documentado en los bosques tropicales secos (Coley y Barone 1996).

La frecuencia de daño entre plantas se distribuyó como una lognormal con sesgo positivo. Esta distribución indica que pocos individuos presentaron intensidades relativamente altas de herbivoría mientras que la mayoría de las plantas tuvieron intensidades de daño bajas a moderadas. Si bien el número de plantas con las que se ajustó la distribución es limitado para los valores deseables en un ajuste estadístico, el tamaño de la muestra fue representativo de la población estudiada, ya que constituyó el 55% de las plantas de la población. La distribución lognormal del daño entre plantas se ha encontrado en otros estudios de herbivoría realizado en la selva seca tropical de Guanacaste (Janzen 1981), en Palo Verde, Costa Rica y en Chamela, México (Dirzo y Domínguez 1995). En bosques de Eucalipto en Australia los datos de herbivoría también mostraron un sesgo positivo en el que la mediana representó mejor que la media aritmética la frecuencia de daño (Wotherspoon 1998).

El análisis estadístico de la distribución espacial de la herbivoría entre plantas, considerando la proporción de hojas dañadas, mostró que el daño estaba agregado y que el 32% de las plantas tuvieron intensidades de herbivoría diferente a la esperada por azar. Este resultado fue consistente con el hallazgo de diferencias significativas en la intensidad de herbivoría entre las plantas.

La distribución lognormal del daño, el patrón contagioso y la existencia de variabilidad entre plantas en la herbivoría encontrados en *C. sororia* indican que existe variación fenotípica en la intensidad de daño en la población natural estudiada. Esta variación es uno de los requisitos para que opere la selección natural (Marquis 1992) sobre caracteres de defensa de las plantas correlacionados con su adecuación.

En otro nivel de análisis, la distribución binomial negativa mostrada por la frecuencia de daño en las hojas agrupadas por categorías, independientemente del individuo al que pertenecen, también sugiere un patrón de daño contagioso con predominio de hojas sin daño.

Si se cumpliera el supuesto de que la intensidad de daño observada en las hojas esta relacionada con la abundancia de los herbívoros que forrajearon en ella (e.g., Basset 1991), entonces el daño de una hoja podría ser un estimador indirecto de la abundancia de insectos encontrada en una unidad de muestreo (i.e., la hoja). Bajo este supuesto la distribución binomial negativa ajustada representaría la distribución espacial de abundancia de insectos en la población de hojas muestreada. El patrón encontrado reflejaría la existencia de numerosas hojas con ningún o relativamente pocos herbívoros y pocas hojas con alta densidad de insectos.

La distribución binomial se ha usado frecuentemente para describir patrones agregados en la distribución de insectos (Southwood 1978, Ferguson *et al.* 1992, Reddy, *et al.* 1998), invasión de patógenos en plantas y parásitos entre hospederos individuales (Liu y Sengonca 1997, Nilssen *et al.* 1998). A pesar de la generalidad en el uso de esta distribución para caracterizar patrones espaciales contagiosos y por lo tanto no aleatorios, es posible que esta no sea la única explicación. La distribución de insectos entre hojas puede en teoría ajustar a una binomial negativa como resultado de dos procesos diferentes: uno aleatorio y otro efectivamente agregado (Young y Young 1998). El proceso aleatorio ocurrirá por ejemplo si las hembras de los herbívoros ovipositan al azar, entre hojas, grupos de huevos cuyo número cambia según una serie logarítmica. En este caso los organismos forman grupos pequeños que están distribuidos al azar entre las hojas. Por lo anterior la estructura espacial observada resultante es al azar aún cuando el ajuste corresponde a una distribución binomial negativa. El proceso agregado por el contrario, ocurrirá cuando la distribución de los herbívoros sea afectada por la atracción diferencial entre las hojas (aun cuando dentro de cada hoja se distribuyan al azar). Como consecuencia de ello, el número promedio de insectos dentro de cada hoja dependerá del atractivo de ésta y por lo tanto será diferente entre hojas (i.e., agregado espacialmente).

De lo anterior se deduce que la existencia de un patrón de agregación espacial no queda demostrada con solo ajustar una distribución teórica como la binomial negativa (Pielou 1977, Krebs 1989, Young y Young 1998), sino que se requiere de información adicional como el conocimiento del comportamiento de los herbívoros y la variación espacial de la aceptabilidad del follaje.

En este estudio, la distribución de daño fue diferente a la esperada por un proceso estocástico como el predicho por la distribución de aleatoriedad Poisson. Sin embargo queda

pendiente de probar si el mecanismo que explica la distribución binomial negativa responde efectivamente a un proceso de agregación espacial o a comportamientos de agregación derivados de las características de oviposición de los insectos como las mencionadas en el ejemplo.

Sin embargo dos consideraciones me permiten proponer que la distribución fue efectivamente contagiosa y no aleatoria. *i)* El daño registrado fue causada por varias especies de insectos que pueden presentar diferentes conductas de oviposición. Esta situación hace difícil atribuir a los diferentes patrones de oviposición la distribución del daño. *ii)* Los resultados indican que las hojas pequeñas recibieron proporcionalmente menos daño que las hojas más desarrolladas. Esta diferencias entre hojas “jóvenes” y “maduras” sugieren que los insectos seleccionaron entre hojas, posiblemente por diferencias en aceptabilidad. Ambas consideraciones apoyarían la interpretación de que el patrón de herbivoría es contagioso a consecuencia de los cambios en la intensidad de daño entre hojas ocasionados por los procesos ecológicos no aleatorios que determinan la dinámica de la interacción.

La interacción herbívoro-planta es afectada fundamentalmente por factores extrínsecos e intrínsecos a las plantas que modifican el comportamiento de forrajeo de los insectos (el cual a su vez determina la intensidad del daño). Los principales factores extrínsecos al hospedero son las condiciones microclimáticas, la distribución espacial, la diversidad de la vegetación acompañante, y la arquitectura de la planta. Por ejemplo la densidad de *Acalymma innubum*, un insecto especialista de *Cucurbita* en una selva tropical, fue afectada positivamente por el tamaño del parche de su planta hospedera (cuando la vegetación era muy densa), la existencia de sitios abiertos con baja diversidad florística, alta luminosidad y la presencia de plantas con crecimiento vertical (ubicadas en parches pequeños) (Bach 1984). La densidad de *Acalymma vittata* también fue afectada por la forma de crecimiento (Bach 1981) y la diversidad de plantas, aumentando su densidad en monocultivos en relación a los policultivos (Bach 1980).

Entre los factores intrínsecos que modifican el comportamiento de los insectos, conducente a variaciones en la intensidad de daño, destaca las variaciones en la calidad del follaje dentro y entre plantas. Los compuestos más importantes que determinan la calidad de las hojas son la concentración de nutrientes, principalmente N, y el contenido de compuestos secundarios defensivos. Las variaciones en contenido de nutrientes entre plantas o entre hojas puede inducir herbivoría diferencial de los insectos fitófagos (revisado en Ohgushi 1992). Por ejemplo

Diabrotica undecimpunctata (pero no *Acalyma vittatum*) mostró preferencia por plantas fertilizadas (Lawrence y Bach 1989).

La susceptibilidad al daño cambia con la edad de las hojas y durante la estación de crecimiento debido a variaciones en disponibilidad de nutrientes, agua y contenido de fibras y compuestos secundarios defensivos (Mauffette y Oechel 1989, Kursar y Coley 1991, Bernays y Chapman 1995). En general en los bosques tropicales las hojas jóvenes reciben más daño que las hojas maduras (revisado en Coley y Barone 1996). Esto se debe a una mayor calidad nutricional de estas hojas por un aumento en la concentración de nutrientes, menos contenido de fibras y una baja concentración de compuestos secundarios constitutivos (Coley y Barone 1996).

Efectivamente en *C. sororia* la intensidad de daño fue diferente en función de la edad de la hoja. Sin embargo la tendencia encontrada en este estudio es contraria al patrón general ya que las hojas poco expandidas presentaron menos daño que las hojas maduras. Las diferencias de herbivoría observadas entre hojas jóvenes y más desarrolladas podría explicarse por dos procesos no excluyentes: a- la probabilidad de ataque es menor por ser hojas recientes con menor tiempo de exposición al ataque de los herbívoro y b- las hojas jóvenes son de menor calidad para los herbívoros por presentar mayor cantidad de defensas lo que las hace menos aceptables como alimento, a pesar de contar con mayor concentración de nitrógeno. El primer proceso implica que las hojas jóvenes podrían escapar del daño por ser menos conspicuas o menos aparente. El segundo proceso es menos claro de explicar. Este hallazgo constituye un aspecto que merece ser estudiado en detalle.

Es posible que la existencia de una estructura de edad en la población de hojas derivada de la organización modular de las plantas genere una diversidad amplia de calidad en función de la edad. Los cambios en la edad de la población de hojas que ocurren como consecuencia del recambio foliar determinan que la calidad del follaje varíe espacial y temporalmente. Como consecuencia de este proceso los insectos percibirían a las plantas como un mosaico heterogéneo y cambiante de recursos, limitando el acceso y la disponibilidad de alimento apropiado para nutrir una gran concentración de insectos (i.e., daño).

Además de la variación en la calidad del follaje, los niveles bajos de daño encontrados en las plantas pueden ser el resultado de una protección química elevada. En comparación con los árboles, las enredaderas como *C. sororia* y las lianas en general, presentan mayores

concentraciones de compuestos defensivos químicos como alcaloides concentrados cerca de la superficie de las plantas. Como explicación para este patrón se ha propuesto que debido a una mayor proporción superficie:volumen en este tipo de plantas que en los árboles (i.e., una mayor biomasa foliar y de área foliar en relación a la biomasa total), hay mayor superficie "expuesta" a los herbívoros que debe ser defendida (Hegarty et. al. 1991). Las defensas químicas de *C. sororia* como las cucurbitacinas pertenecen a la categoría de toxinas cualitativas (*sensu* Feeny 1976 y Rhoades y Cates 1976). Los compuestos químicos cualitativos son considerados defensas efectivas contra insectos no adaptados y suelen estar presentes en plantas herbáceas (Feeny 1976, Rhoades y Cates 1976 y McKey 1979).

Las plantas silvestres de la familia de las Curbitáceas pueden responder al daño aumentando la producción de compuestos amargos como cucurbitacinas (Tallamy y McCloud 1991). Las defensas inducidas constituyen un mecanismo que permite a las plantas defenderse facultativamente de los herbívoros. Esta estrategia se considera menos costosa que la de defensas químicas permanentes, por su transitoriedad (revisado en Karban y Baldwin 1997), y sería especialmente apropiada para plantas de crecimiento rápido y anuales como *C. sororia*. Es posible prever que en las enredaderas el éxito reproductivo dependa de la elongación de los tallos, no sólo para ocupar ambientes lumínicos favorables sobre los hospederos, sino para generar nuevos meristemos reproductivos. En este escenario, el aumento en las defensas químicas por inducción sería favorecido si comprometen menos el crecimiento en relación a la alternativa de mantener, aún en ausencia de daño, altas concentraciones de defensas constitutivas.

La inducción de cucurbitacinas puede ser un factor importante que contribuye a la heterogeneidad en la calidad del follaje de *C. sororia*. Si bien la calidad del tejido de la planta es un factor importante, su relación con la aceptabilidad por el insecto depende de la presencia de compuestos químicos de defensa que atraen, repelen o disminuyen el ataque. En 15 especies de Cucurbitaceae el número de escarabajos folívoros atraídos fue proporcional al contenido de cucurbitacinas y glicósidos de las plantas (Sharman & Hall 1973). La distribución de los metabolitos secundarios de defensa puede variar dentro de las plantas (Jones 1983), entre las hojas de una rama (Schultz 1983) y aún dentro de la hoja (Whitham 1983). Es posible que uno de los factores que causan el patrón agregado de daño sea la heterogeneidad entre y dentro de plantas

en la inducción de cucurbitacinas lo cual a su vez determinaría una mayor atracción de insectos sobre los sectores del follaje con mayor concentración de este compuesto.

Es interesante destacar que aún cuando las cucurbitacinas no constituyen una defensa contra los principales herbívoros especialistas de *C. sororia* (i.e., *Acalymma*, *Diabrotica* y *Epilachna*) aún puede ser un mecanismo de defensa muy efectivo contra herbívoros generalistas (Metcalf y Metcalf 1992). Además, las plantas del género *Cucurbita* cuentan con una proteína mucilaginoso, que forma parte de la savia, como otro mecanismo de defensa química. Experimentalmente se ha probado que cuando el aparato bucal de los Crisomélidos y *Epilachna* sp. es mojado con la savia de estas plantas la proteína en contacto con el aire se gelifica y si no es removida, impide el movimiento de las mandíbulas (McCloud *et al.* 1995). Este mecanismo de defensa actuaría dificultando la capacidad masticadora de los insectos cuando estos seccionan parte del tejido foliar. Las plantas de la familia Cucurbitaceae cuentan también con otros compuestos químicos secundarios defensivos como aminoácidos no proteínicos, saponinas, esteroides, y tetraterpenoides (Hegarty *et al.* 1991).

Además de las defensas químicas *Cucurbita* presenta tricomas que podrían hacer menos atractiva para los folívoros las hojas y los tallos de las plantas, en cuyo caso podrían ser considerados defensas físicas (sin embargo como ya se discutió al menos para *D. hyalinata*, constituyen un carácter de atracción).

Las plantas en general son recursos de baja calidad para los herbívoros, generalmente impredecibles. Las plantas son un recurso muy heterogéneas en espacio y tiempo (Denno y McClure 1983), tanto cualitativamente como cuantitativamente y pueden cambiar rápidamente en calidad en respuesta al estrés ambiental y biótico, así como al daño (Hartley y Jones 1997). Diversos estudios han documentado el efecto negativo directo de la heterogeneidad sobre la densidad de la población de herbívoros y como consecuencia de ello una disminución en la intensidad del daño (Morrow y Fox 1980, Senn *et al.* 1992, Linhart y Thompson 1995). La variabilidad en la disponibilidad de recursos de buena calidad, la presencia de compuestos defensivos y la presión negativa de los enemigos naturales (i.e., depredadores y parasitoides) pueden ser los principales factores claves que determinan los niveles de daño observados en las plantas (Lawton y McNeill 1979).

En síntesis, mis resultados muestran que la herbivoría afectó a la mayoría de las plantas de la población de *C. sororia* estudiada. Existe un gremio de herbívoros especializados que las consumen, y el daño muestra gran variación entre individuos y probablemente un patrón agregado entre hojas de un individuo. Parte de esta variación se debe a que las hojas jóvenes recibieron menos daño que las hojas maduras. Además, la variación entre plantas en los niveles de daño encontrados puede ser explicada por una combinación de factores externos a la planta, tales como variaciones microambientales de suelo, exposición y diversidad de la vegetación circundante; o internos, como diferencias entre y dentro individuos en la cantidad y calidad de sus defensas y forma de crecimiento. El hecho de que el follaje sea aceptable para los herbívoros sólo bajo algunas combinaciones de estos factores podría implicar que la característica más importante que permite a las plantas disminuir el impacto de los fitófagos es la variación continua en la calidad alimenticia. Por lo anterior, aún cuando potencialmente las plantas son un recurso inmóvil y “disponible” para ser consumido, es posible, desde la percepción de los herbívoros, que la disponibilidad efectiva este limitada. Finalmente, los resultados de este estudio demuestran que, dentro del ámbito de variación interindividual detectado, existen plantas esencialmente intactas, y plantas en las que más del 70% de sus hojas están dañadas. Sería de interés evaluar las consecuencias de estos niveles de daño sobre el desempeño vegetativo y reproductivo de estas plantas.

LITERATURA CITADA

- Aide, T. M. 1988. Herbivory as a selective agent on the timing of leaf production in a tropical understory community. *Nature* 336:574-575.
- Aide, T. M. 1993. Patterns of leaf development and herbivory in a tropical understory community. *Ecology* 74:455-466.
- Aide, T. M. y J. K. Zimmerman. 1990. Patterns of insect herbivory, growth, and survivorship in juveniles of a neotropical liana. *Ecology* 71:1412-1421.
- Bach, C. E. 1980. Effects of plant density and diversity on the population dynamics of specialist herbivore, the striped cucumber beetle, *Acalymma vittata* (Fab.). *Ecology* 61:1515-1530.
- Bach, C. E. 1981. Host plant growth form and diversity: Effects of abundance and feeding preference of a specialist herbivore *Acalymma vittata* (Fab.). *Oecologia* 50:370-375.

- Bach, C. E. 1984. Plant spatial pattern and herbivore population dynamics: Plant factors affecting the movement patterns of a tropical cucurbit specialist (*Acalymma innubum*). *Ecology* 65:175-190.
- Basset, Y. 1991. The spatial distribution of herbivory, mines and galls within an Australian rain forest tree. *Biotropica* 23:271-281.
- Bernays, E. A. y R. F. Chapman. 1995. Host-plant selection by phytophagous insects. Chapman y Hall, New York.
- Bullock, S. H. 1986. Climate of Chamela, Jalisco, and trends in the south coastal region of Mexico. *Arch. Met. Geophys. Bioclimatol. B* 36:297-316.
- Bullock, S. H. y J. A. Solís Magallanes. 1990. Phenology of canopy trees of a tropical deciduous forest in México. *Biotropica* 22:22-35.
- Carroll, C. R. y C. A. Hoffman. 1980. Chemical feeding deterrent mobilized in response to insect herbivory and counteradaptation by *Epilachna tredecimnotata*. *Science* 209:414-416.
- Coley, P. D. y J. A. Barone. 1996. Herbivory and plant defenses in tropical forests. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27:305-335
- Condon, M. A. y L. E. Gilbert. 1990. Reproductive biology and natural history of the neotropical vines *Gurania* and *Psiguria*. *En: D. M. Bates, R. W. Robinson, y C. Jeffrey, eds. Biology and Utilization of the Cucurbitaceae*. Pp:150-166. Cornell University Press, Ithaca, New York.
- DaCosta, C. P. y C. M. Jones. 1971. Cucumber beetle resistance and mite susceptibility controlled by the bitter gene in *Cucumis sativa* L. *Science* 172:1145-1146.
- Delta-T-Device: Image análisis system; Dias-II. Ver. 1.12. Cambridge.
- Denno, R. F. y M. S. McClure. 1983. Variable plants and herbivores in natural and managed systems. Academic Press, New York.
- Dirzo, R. y C. A. Domínguez. 1995. Plant-herbivore interactions in mesoamerican tropical dry forests. *En: S. H. Bullock, H. A. Mooney y E. Medina, eds. Seasonally dry tropical forests*. Pp:304-325. Cambridge University Press, New York.
- Efron, B. y R. J. Tibshirani. 1993. An Introduction to the Bootstrap. Chapman and Hall. London.
- Elsley, K. D. y E. V. Wann. 1982. Differences in infestation of pubescent and glabrous forms of cucumber by pickleworms and melonworms. *Hortscience* 17:253-254.

- Elsey, K. D. 1988. Cucumber beetle seasonality in coastal South Carolina. *Environmental Entomology* 17:496-502.
- Feeny, P. 1976. Plant apparency and chemical defense. *Recent Advances in Phytochemistry* 10:1-40.
- Ferguson, C. S., M. J. Linit y G. Krause. 1992. Dispersion and density of Asiatic oak weevil (Coleoptera: Curculionidae) relative to oak density. *Environmental Entomology* 21:247-252.
- Filip, V., R. Dirzo, J. Maass y J. Sarukhán. 1995. Within and between year variation in the levels of herbivory on the foliage of trees from a Mexican deciduous forest. *Biotropica* 27:78-86.
- Gentry, A. H. 1995. Diversity and floristic composition of neotropical dry forests. *En: Mooney, H. A., S. H. Bullock y E. Medina, eds. Seasonally dry tropical forests. Pp:146-194. Cambridge University Press, New York.*
- Genstat 5, Release 4.1. 1995. Lowes Agricultural Trust (Rothamsted Experimental Station).
- Glim 4.0. 1992. Royal Statistical Society. London.
- Hartley, S. E. y C. G. Jones. 1997. Plant chemistry and herbivory or why the world is green. *En: M. J. Crawley, ed. Plant ecology. Pp:284-324. Blackwell Science, Oxford.*
- Hegarty, M. P., E. Hegarty y A. Gentry. 1991. Secondary compounds in vines with an emphasis on those with defensive functions. *En: Putz, F. E. y H. A. Mooney, eds. The biology of vines. Pp:287-310. Cambridge University Press, Cambridge.*
- Holbrook, N.M., J. L. Whitbeck y H. A. Mooney. 1995. Drought responses of neotropical dry forest trees. *En: Mooney, H. A., S. H. Bullock y E. Medina, eds. Seasonally dry tropical forests. Pp:243-276. Cambridge University Press, New York.*
- Huante, P. y E. Rincon. 1998. Responses to light changes in tropical deciduous woody seedlings with contrasting growth rates. *Oecologia* 113:53-66
- Hurd, P. D. y E. G. Linsley. 1970. A classification of the squash and gourd bees *Peponapis and Xenoglossa*. *Calif. Publ. in Entomol* 62: 1-39
- Hurd, P. D., E. G. Linsley y T. W. Whitaker. 1971. Squash and gourd bees (*Peponapis, Xenoglossa*) and the origin of the cultivated *Cucurbita*. *Evolution* 25: 218-234.
- Janzen, D. H. 1981. Patterns of herbivory in a tropical deciduous forest. *Biotropica* 13:271-282.

- Jones, C. G. 1983. Phytochemical variation, colonization and insect communities: the case of bracken fern. *En: Denno, R. F. y M. S. McClure, eds. Variable plants and herbivores in natural and managed systems. Pp:513-549. Academic Press, New York.*
- Jones, C. S. 1992. Comparative ontogeny of a wild cucurbit and its derived cultivar. *Evolution* 46:1827-1847.
- Karban, R. y I. T. Baldwin. 1997. *Induced responses to herbivory. University Chicago Press, Chicago.*
- Krebs, C. J. 1989. *Ecological methodology. Harper y Row, New York.*
- Kursar, T. A. y P. D. Coley. 1991. Nitrogen content and expansion rate of young leaves of rain forest species: implications for herbivory. *Biotropica* 23:141-150
- Lawrence, W. S. y C. E. Bach. 1989. Chrysomelid beetle movements in relation to host-plant size and surrounding non-host vegetation. *Ecology* 70:1679-1690.
- Lawton, J. H. y S. McNeill. 1979. Between the devil and the deep blue sea: on the problem of being a herbivore. *En: Anderson, R. M., B. D. Turner y L. R. Taylor, eds. Population Dynamics. Pp:223-244. Oxford.*
- Layton, M. B., D. J. Boethel y C. M. Smith. 1987. Resistance to adult bean leaf beetle and banded cucumber beetle (Coleoptera: Chrysomeliade) in soybean. *Journal of Economic Entomology* 80:151-155.
- Linhart, Y. B y J. D. Thompson. 1995. Terpene-based selective herbivory by *Helix aspersa* (Mollusca) on *Thymus vulgaris* (Labiatae). *Oecologia* 102:126-132.
- Lira, R., T. C. Andres y M. Nee. 1995. Cucurbita. *En: R. Lira, ed. Estudios taxonómicos y ecogeográficos de las Cucurbitáceas latinoamericanas de importancia económica: Cucurbita, Sechium, Sicana y Cyclanthera. Int. Plant Gen. Res. Inst. Roma.*
- Liu, B. y C. Sengonca. 1997. Seasonal population dynamic and within-plant distribution of the whitefly, *Aleurotuberculatus takahashi* David et Subramaniam (Hom., Aleyrodidae), and its parasitoid, *Eretmocerus longipes* Compere (Hym., Aphelinidae) in citrus and jasmine plantations in Fuzhou region of the southeastern China. *Anzeiger fur Schadlingskunde Pflanzenschutz Umweltschutz* 70:97-101.
- Lott, E. J., S. H. Bullock y J. A. Solís Magallanes. 1987. Floristic diversity and structure of upland and arroyo forests of coastal Jalisco. *Biotropica* 19:228-235.

- Maass, J. M., C. F. Jordan y J. Sarukhán. 1988. Soil erosion and nutrient losses in seasonal tropical agroecosystems under various management techniques. *Journal of Applied Ecology* 25:595-607.
- Marquis, R. J. 1992. The selective impact of herbivores. *En: Fritz y E. L. Simms, eds. Plant resistance to herbivores and pathogens: ecology, evolution and genetics.* Pp:301-325. Chicago University Press.
- Mauffette, Y. y W. C. Oechel. 1989. Seasonal variation in leaf chemistry of the coast live oak *Quercus agrifolia* and implications for the California oak moth *Phryganidia californica*. *Oecologia* 79:439-445
- McKey, D. 1979. The distribution of secondary compounds within plants. *En: G. A. Rosenthal y D. H. Janzen, eds. Herbivores their interaction with secondary plant metabolites.* Pp:56-134. Academic Press, New York.
- Merrick, L. C. 1990. Systematics and evolution of a domesticated squash, *Cucurbita argyrosperma*, and its wild and weedy relatives. *En: D. M. Bates, R. W. Robinson, y C. Jeffrey, eds. Biology and Utilization of the Cucurbitaceae.* Pp:77-95. Cornell University Press, Ithaca, New York.
- Merrick, L. C. y D. M. Bates. 1989. Classification and nomenclature of *Cucurbita argyrosperma*. *Baileya* 23:94-102
- Metcalf, R. L. 1986. Coevolutionary adaptations of rootworm beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) to cucurbitacins. *Journal of Chemical Ecology* 12:1109-1124.
- Metcalf, R. L. y E. R. Metcalf. 1992. Plant kairomones in insect ecology and control. Chapman and Hall, New York.
- Metcalf, R.L. y A.M. Rhodes. 1990. Coevolution of the Cucurbitaceae and Luperini (Coleoptera: Chrysomelidae): basic and applied aspects. *En: D.M. Bates, R.W. Robinson y C. Jeffrey, eds. Biology and Utilization of the Cucurbitaceae.* Pp:167-182. Cornell University Press, Ithaca, New York.
- McCloud, E. S., D. W. Tallamy y F. T. Halaweish. 1995. Squash beetle trenching behaviour: avoidance of cucurbitacin induction or mucilaginous plant sap? *Ecological Entomology* 20:51-59.

- Morales, F. J., C. M. Araya, J. C. Hernandez, J. A. Arroyave, M. Cuervo, A. C. Velasco y M. Castano. 1999. Etiología del "amachamiento" del frijol común en Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas* 52:42-48.
- Morrow, P. A. y L. R. Fox. 1980. Effects of variation in *Eucalyptus* essential oil yield on insect growth and grazing damage. *Oecologia* 45:209-219.
- Murali, K. S. y R. Sukumar. 1993. Leaf flushing phenology and herbivory in a tropical dry deciduous forest, southern India. *Oecologia* 94:114-119.
- Murphy, P. G. y A. E. Lugo. 1995. Dry forests of Central America and the Caribbean. *En*: Mooney, H. A., S. H. Bullock y E. Medina. *Seasonally dry tropical forests*. Pp:9-34. Cambridge University Press, New York.
- Nilssen, A. C., R. E. Haugerud e I. Folstad. 1998. No interspecific covariation in intensities of macroparasites of reindeer, *Rangifer tarandus* (L.) *Parasitology* 117:273-281
- Ohgushi, T. 1992. Resource limitation on insect herbivory population. *En*: M. D. Hunter, T. Ohgushi, y P. W. Price, eds. *Effects of resource distribution on animal-plant interactions*. Pp:199-241. Academic Press, New York.
- Parra-Tabla, V y S. H. Bullock. 1998. Factors limiting fecundity of the tropical tree *Ipomoea wolcottiana* (Convolvulaceae) in a mexican tropical dry forest. *Journal of Tropical Ecology* 14:615-627.
- Peterson, J. K., R. J. Horvat y K. D. Elsey. 1994. Squash leaf glandular trichome volatiles: identification and influence on behavior of female pickleworm moth [*Diaphania nitidalis* (Stoll.)] (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Chemical Ecology* 20:2099-2109.
- Pielou, E. C. 1969. *An Introduction to Mathematical ecology*. John Wiley, New York.
- Pielou, E. C. 1977. *Mathematical ecology*. John Wiley, 2ª Edición. New York. 385 p.
- Price, P. W. 1997. *Insect Ecology*. John Wiley and Sons. New York.
- Rausher, M. D. 1983. Ecology for host-selection behavior in phytophagous insects. *En*: R. F. Denno y M. S. McClure, eds. *Variable plants and herbivores in natural and managed systems*. Pp:155-220. Academic Press, New York.
- Reddy, C. N., Yeshbir Singh y V. S. Singh. 1998. Distribution pattern of *Mylabris pustulata* infesting pigeonpea. *Indian Journal of Entomology* 60:351-354.

- Reich, P. B. y R. Borchert. 1984. Water stress and tree phenology in a tropical dry forest in the lowlands of Costa Rica. *Journal of Ecology* 72:61-74.
- Rhoades, D. F. y R. G. Cates. 1976. Toward a general theory of plant antiherbivore chemistry. *Recent Advances in Phytochemistry* 10:168-213.
- Rockwood, L. L. 1973. The effect of defoliation on seed production of six Costa Rican tree species. *Ecology* 54:1363-1369.
- Rodriguez-del-Bosque, L. A. y A. Magallanes-Estala. 1994. Seasonal abundance of *Diabrotica balteata* and other Diabroticina beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) in northeastern Mexico. *Environmental Entomology* 23:1409-1415.
- Schultz, J. C. 1983. Habitat selection and foraging tactics of caterpillars in heterogeneous trees. *En: Denno, R. F. y M. S. McClure, eds. Variable plants and herbivores in natural and managed systems. Pp:61-90. Academic Press, New York.*
- Senn, J., S. Hanhimaki y E. Haukioja. 1992. Among tree variation in leaf phenology and morphology and its correlation with insect performance in the mountain birch. *Oikos* 63:215-222.
- Sharma, G. C. y C. V. Hall. 1973. Relative attractance of spotted cucumber beetle to fruits of fifteen species of Cucurbitaceae. *Environmental Entomology* 2:154-6.
- Southwood, T. R. E. 1978. *Ecological Methods*. 2ª Edición. Chapman y Hall, London.
- Solís, E. 1993. Características físicoquímicas de un suelo en un ecosistema tropical estacional. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 78 p.
- Tallamy, D. W. 1985. Squash beetle feeding behavior: An adaptation against induced cucurbit defenses. *Ecology* 66:1574-1579.
- Tallamy, D. W. y E. S. McCloud. 1991. Squash beetles, cucumber beetles, and inducible cucurbit responses. *En: D. W. Tallamy y M. J. Raupp, eds. Phytochemical induction by herbivores. Pp:155-181. John Wiley, New York.*
- Valverde, R. A., L. L. Black y D. J. Dufresne. 1995. A common virus affecting Tabasco pepper in central America. *Plant Disease* 79:421-423.
- Whitham, T. G. 1983. Host manipulation of parasites: within-plant variation as a defense against rapidly evolving pests. *En: Denno, R. F. y M. S. McClure, eds. Variable plants and herbivores in natural and managed systems. Pp:15-38. Academic Press, New York.*

- Wilson, H. D. 1989. Discordant patterns of allozyme and morphological variation in Mexican *Cucurbita*. *Systematic Botany* 14:612-623.
- Wotherspoon, K. P. 1998. Patterns of phytophagous insect herbivory and abundance on juvenile regrowth of *Eucalyptus* subgenera coexisting in southeastern Tasmania. *Australian Journal of Ecology* 23:430-442.
- Young, L. J. y J. H. Young. 1998. *Statistical Ecology: A population perspective*. Kluwer Academic Press.
- Zar, J. H. 1996. *Biostatistical analysis*. Prentice-Hall Inc., New Jersey.

Capítulo 2

Historia natural y biología de la
polinización de *Cucurbita sororia*

RESUMEN

La dinámica de la interacción mutualista que se establece entre los polinizadores y las plantas está determinada por el patrón temporal y espacial de recursos florales disponibles como el néctar y el efecto que éste tenga sobre el comportamiento de los polinizadores. La producción de néctar puede ser afectada por factores ambientales físicos y bióticos, la frecuencia de cosecha y el sexo de las flores. Sin embargo durante la vida de una flor la tasa de producción de néctar presenta un patrón característico de la población que es relativamente autónomo de los procesos anteriores y con frecuencia responde a la dinámica espacio-temporal de los polinizadores. Las plantas pueden influir a su vez sobre la eficiencia de polinización y la identidad de los polinizadores a través del patrón diario y estacional de oferta de néctar, lo cual además puede tener consecuencias sobre el grado de entrecruzamiento y la adecuación. El sistema de *Cucurbita* spp. y sus polinizadores es ideal para analizar estas relaciones. *C. sororia*, una enredadera monoica, es una de las especies predominantes del género en bosques tropicales de México.

En los trópicos los polinizadores más efectivos del género *Cucurbita* son abejas oligolécticas solitarias de los géneros emparentados *Peponapis* y *Xenoglossa*. Utilicé este sistema para analizar i) los patrones de variación en la producción de néctar en flores de ambos sexos, y ii) cómo ésto repercute en la respuesta de polinizadores específicos y generalistas; iii) el efecto de la variación fenológica de las flores sobre sus polinizadores.

El estudio lo realicé en el bosque tropical caducifolio de Chamela, en la costa de Jalisco, México. Las observaciones se realizaron durante dos años consecutivos (1994-1995) sobre poblaciones que se desfazaron por un mes en la época de floración en el segundo año. En las flores masculinas y femeninas medí el volumen y concentración diaria de la producción de néctar con diferentes frecuencias de cosecha. También registré la identidad, frecuencia y duración de las visitas, así como la conducta de los polinizadores durante toda la vida de la flor.

Dentro de un mismo año el patrón diario de producción de néctar de *C. sororia* muestra que las flores concentran su producción durante un periodo relativamente breve, cerca del amanecer. Las flores sólo producen néctar durante un poco más de dos horas en promedio y el máximo observado en algunas flores fue tres horas y media. La producción de néctar se inicia luego de la apertura floral y alcanza la tasa máxima de secreción una hora después. La mayor concentración de azúcar en el néctar se produce al inicio de la secreción. Las flores femeninas producen más néctar que las masculinas.

Las abejas de los géneros *Peponapis* y *Xenoglossa* comienzan a visitar las flores al inicio de la apertura floral, antes de la salida del sol, e incrementan sus frecuencias de visita en correspondencia con el aumento en la tasa de producción de néctar. En los primeros momentos de la antesis las hembras de ambas especies cosechan principalmente néctar y polen mientras que los machos sólo cosechan néctar.

En la comparación entre años el retraso en la floración en el segundo año del estudio observé una disminución sensible de la abundancia de los polinizadores especialistas *Peponapis* spp. y *Xenoglossa* spp. y la aparición de especies de generalistas como *Xilocopa* spp. y *Apis mellifera*. Las flores en el segundo año recibieron sólo el 16% de las visitas registradas el año anterior. La duración promedio de las visitas no difirió entre años.

Los resultados sugieren que en *C. sororia* la donación efectiva de polen a los estigmas receptivos de flores femeninas podría darse a través de los siguientes cuatro mecanismos que regulan la actividad de los polinizadores: i) momento de inicio de la antesis, ii) cambio en la proporción de oferta polen:néctar a través del tiempo, iii) la dinámica de producción de néctar en el tiempo y iv) diferencias en la producción de néctar entre sexos. Con respecto al primero, el inicio crepuscular de la apertura floral coincide con el tiempo de forrajeo predominante de las abejas oligolécticas (los polinizadores más efectivos de las plantas), las cuales contribuirían en mayor medida al proceso de fertilización. La disminución relativa a través del tiempo en la proporción de recompensa polen:néctar, puede ser un estímulo que regula el patrón de forrajeo de las abejas. Así la carencia de néctar al inicio de la antesis promueve la explotación exclusiva del polen por parte de las hembras de *Peponapis* sp. y *Xenoglossa* sp., responsables del mayor flujo de polen, favoreciendo su traslado hacia las flores femeninas que solo ofrecen néctar. Respecto al tercer mecanismo, el incremento posterior en la producción de néctar se corresponde con un aumento en la frecuencia de visitas de los polinizadores, y por consiguiente en el flujo de polen. Finalmente, la mayor

producción de néctar de las flores femeninas permitiría compensar la superioridad en densidad de flores y en la diversidad de recompensas de las flores masculinas (i.e., néctar y polen) y asegurar así las visitas de los polinizadores necesarias para completar la fertilización.

Las fallas en la sincronización fenológica con la disponibilidad estacional de polinizadores oligolécticos pueden tener consecuencias negativas sobre la calidad genética de las semillas (i. e., un aumento en la endogamia y la disminución de la variabilidad genética).

A partir de estas evidencias se puede inferir, en el contexto de las interacciones herbívoro-planta-polinizador, que los cambios en la oferta de recompensas ocasionados por factores ambientales como la herbivoría podrían alterar sensiblemente el patrón de forrajeo de las abejas especialistas. La importancia de estos efectos potenciales de la herbivoría sobre las recompensas y la fenología floral a través de su efecto sobre los polinizadores requiere estudios específicos orientados a evaluar con detalle cuáles son las consecuencias que estas interacciones múltiples tienen sobre la adecuación de la plantas, y éste es el tema central de los capítulos subsecuentes de esta tesis.

INTRODUCCION

El mutualismo que se establece entre los polinizadores y las plantas está determinada por el patrón temporal y espacial de recursos florales disponibles y el efecto que éste tenga sobre el comportamiento de los polinizadores. El desplazamiento de los polinizadores puede ser afectado, entre otras cosas, por la distribución espacial de las flores, la densidad de flores, la morfología floral, la producción de polen, así como la tasa de producción de néctar (Levin y Kerster 1974, Pyke 1981a, b, Pleasants 1983, Waser 1983, Ott *et al.* 1985, Real y Rathcke 1991) y por diversos factores del ambiente físico (Kevan y Baker 1983, Arroyo *et al.* 1985, McCall y Primack 1992).

Entre los factores bióticos, el néctar es uno de los principales atributos de las flores mediante el cual las plantas pueden alterar el comportamiento de los polinizadores (Simpson y Neff 1983, Rathcke 1992). Existen numerosos antecedentes que muestran que los polinizadores pueden responder a diferentes niveles de producción de néctar (Bell *et al.* 1984, Marden 1984, Campbell *et al.* 1991, Real y Rathcke 1991, Mitchell 1993, Schemske y Bradshaw 1999). Estas diferencias se manifiestan entre flores de la misma o diferentes plantas, durante la vida de la flor, dependiendo de la edad y/o tamaño de la planta, de la intensidad de la floración y del sexo de las flores (revisado en Rathcke 1992). En algunas plantas la secreción es estimulada por la colecta de néctar, por lo que cuanto más frecuentemente es visitada la flor, mayor es la producción total de néctar (Cruden *et al.* 1983, Pyke 1991). La tasa de producción de néctar es explicada en parte por procesos fisiológicos de la planta (Pleasants y Chaplin 1983, Willson y Ågren 1989). Estos procesos a su vez están influidos por las características genéticas de las plantas y las condiciones ecológicas que experimentan (competencia, herbivoría y disponibilidad de recursos en el suelo, entre los más importantes) y al menos parcialmente por las condiciones microclimáticas, como temperatura, humedad, viento e irradiación (Zimmerman y Pyke 1988, Wyatt *et al.* 1992, Herrera 1995). Sin embargo, durante la vida de una flor la tasa de producción de néctar presenta un patrón característico de la población que es relativamente autónomo de los procesos anteriores y con frecuencia responde a la dinámica espacio-temporal de los polinizadores (Herrera 1995). Esta dinámica está influida por presiones de selección que tienden a maximizar la adecuación tanto de los polinizadores como de las plantas (Zimmerman 1988). Los polinizadores aumentan su adecuación a través de la optimización de la búsqueda de alimento durante el forrajeo (Schoener 1971, Pyke *et al.* 1977, Pyke 1984). Las plantas, a su vez, obtienen adecuación por la vía

masculina promoviendo la exportación de polen y adecuación femenina por medio de la recepción del polen. Es por esta razón que el comportamiento de los polinizadores determina en gran medida la dinámica del flujo de polen entre los individuos y, en última instancia, influye en la estructura genética de la población (Broyles y Wyatt 1991, Rasmussen y Broedsgaard 1992, Westerbergh y Saura 1994, Sun Mei *et al.* 1998).

La producción de néctar como pago por el servicio de los polinizadores tiene probablemente para las plantas un costo asociado (Southwick 1984; Búrquez y Corbett 1991; Pyke 1991). Esto explicaría porqué algunas plantas presentan mecanismos que permiten regular la producción de néctar. Entre estos mecanismos destaca la disminución en el volumen de producción de néctar, así como la reabsorción del mismo (i.e., cambios en la concentración) (Búrquez y Corbett 1991), cuando la flor ha saturado su curva de adecuación masculina y/o femenina (exportación de todo el polen y/o recepción de polen hasta completar la fecundación de los óvulos, respectivamente).

Distintas especies de polinizadores difieren en la eficiencia de polinización de una especie de planta dada (Conner *et al.* 1995, Potts *et al.* 2001). La eficiencia suele definirse por la cantidad de polen removido por visita (para la función masculina) y la cantidad de polen recibido por visita (para la función femenina). La eficiencia de la polinización determina la dinámica del flujo de polen en el sistema, la intensidad del entrecruzamiento y en última instancia la diversidad genética de las semillas. Dicha eficiencia es función de la identidad, el comportamiento de los polinizadores y del grado de concordancia morfológica (principalmente tamaño) entre éstos y las flores (Waser 1983, Inoue y Makoto 1992). El hecho de que distintas especies de polinizadores forrajean en diferentes momentos del día y en un determinado intervalo en la estación de crecimiento determina que las plantas pueden acotar la identidad de los polinizadores a través del patrón diario y estacional (i.e., momento de la floración) de oferta de néctar (y polen) (Faegri y van del Pijl 1971, Waser 1983, Herrera 1995). Estas características de la interacción planta-polinizador permiten inferir que la variación en la dinámica temporal de disponibilidad de recompensas puede modificar el grado de entrecruzamiento y la adecuación de las plantas a través de sus consecuencias sobre los polinizadores. Por lo anterior, es crítico analizar cómo las variaciones en la dinámica temporal de oferta de néctar afectan la identidad y patrones de forrajeo de la comunidad de polinizadores.

El nivel de correspondencia que existe entre la conducta de los polinizadores y los ritmos de producción de néctar en las flores depende de la especie de polinizador, y del grado de dependencia (i.e., especialistas/generalistas) que éste tenga de la oferta del recurso de una planta en particular. Es de esperar que los polinizadores especialistas sean más sensibles a las variaciones en la oferta de néctar que los polinizadores generalistas por su mayor capacidad para reconocer las señales honestas (i.e., las que son indicadores del nivel de recompensa) de las flores.

En los trópicos el género *Cucurbita* es visitado por varias especies de polinizadores y son las abejas solitarias de los géneros emparentados *Peponapis* y *Xenoglossa* los más efectivos (Ordway *et al.* 1987, Wilson 1990, Wilson *et al.* 1994a, Willis y Kevan 1995). Estas abejas oligolécticas dependen casi exclusivamente del néctar y polen de estas plantas para sobrevivir (Whitaker y Davis 1962, Hurd y Linsley 1964, Hurd 1967, 1970, Hurd *et al.* 1974, Kevan *et al.* 1988). Ambas especies poseen modificaciones morfológicas en las patas traseras que les permiten manipular, de manera eficiente, el polen de gran tamaño que producen las flores estaminadas. Dichas modificaciones varían en diferentes especies de estos géneros con relación a las especies de *Cucurbita* con las que están asociadas. Esta evidencia, aunada a la dependencia por parte de *Peponapis* sp. y *Xenoglossa* sp. de la oferta polen/néctar que provee *Cucurbita*, sugiere que esta asociación mutualista tuvo consecuencias evolutivas para las abejas y las plantas (Hurd *et al.* 1971). Algunos antecedentes muestran que la aparición de *Peponapis* spp. durante la estación coincide con la floración de las plantas de *Cucurbita* a nivel local. Tal asociación es consistente en regiones tan distantes como Ontario, Canada (Willis y Kevan 1995), y Jalisco, México (Rozen y Ayala 1987). Debido a dicha sincronía entre el momento de floración de *Cucurbita* y la aparición de estas abejas solitarias, un desfase en el momento de la floración podría tener un efecto importante sobre la comunidad de polinizadores y con ello sobre el patrón de visitas. Las características de este sistema lo hacen ideal para analizar la variación temporal en la producción de néctar y cómo esto repercute en la frecuencia de visitas de polinizadores específicos y generalistas; así mismo, se presta para analizar el efecto de la variación fenológica de las flores sobre sus polinizadores. (En última instancia, constituye un sistema útil para evaluar el posible efecto de factores ambientales que afectan la producción de néctar (i. e., la herbivoría) y sus repercusiones sobre el éxito reproductivo de las plantas.)

Específicamente, en el presente trabajo se pretende responder a las siguientes preguntas: *i*) ¿Cuál es la variación temporal de producción de néctar en las flores masculinas y femeninas de una Cucurbita silvestre (*C. sororia*)? *ii*) ¿Cuál es el efecto de la frecuencia de cosecha sobre la tasa de producción de néctar en las flores masculinas durante la vida de la flor? *iii*) ¿En qué medida la frecuencia de visita de los polinizadores oligoléticos nativos está determinada (sincronizada) por el patrón de oferta de néctar durante la antesis? y *iv*) ¿Qué consecuencias tiene el cambio estacional de la fenología de la floración sobre la diversidad de especies, la frecuencia y los tiempos de visita de la comunidades de polinizadores?

MATERIAL Y METODOS

Especies de Estudio

Cucurbita sororia se distribuye desde México hasta Guatemala. Generalmente en áreas con climas secos y cálidos, con precipitaciones estacionales muy marcadas (Lira-Saade 1995). *C. sororia* es una enredadera anual, protándrica y monoica, con flores unisexuales de color amarillo intenso. Las flores estaminadas presentan corolas grandes con estambres fusionados, y nectarios en la base dentro de una cámara de néctar. El acceso a esta cámara se logra por tres pequeñas aperturas, algunas veces cerradas por membranas delgadas. Las flores femeninas, de ovario ínfero, también presentan nectarios, de mayor tamaño que en las flores masculinas, ubicados en la base del estilo, pero dentro de una cámara de néctar expuesta. Las flores nacen en las axilas de las hojas, generalmente solitarias. Las flores son de vida breve, ya que abren antes de la salida del sol y cierran a media mañana (obs. pers.).

Visitantes Florales

Numerosos insectos y una gran variedad de abejas visitan las flores. sin embargo sólo las abejas solitarias de los géneros *Peponapis* y *Xenoglossa* dependen para su sobrevivencia casi enteramente del polen y néctar producidos por estas plantas. Algunos detalles importantes de la fenología de la floración, características del polen, y conductas de los polinizadores han sido descritos por Hurd *et al.* (1971).

Sitio de Estudio

El estudio se realizó en octubre de 1994 y en noviembre de 1995, en una región de la costa de Jalisco, México. El régimen de precipitaciones de la zona es estival, con una marcada sequía de

octubre a mayo (Bullock 1986). La vegetación de la zona corresponde al bosque tropical caducifolio (Rzedowski 1978, Lott *et al.* 1987). En el primer año las observaciones fueron realizadas en una población natural de *Cucurbita sororia* ubicada en un área de bosque perturbado a orillas del arroyo Chamela, aproximadamente a 0.5 km de su desembocadura en el mar y a 6 km de la Estación de Biología de Chamela (19°30'N, 105°03'W). El suelo está formado por aluviones depositados en las crecientes ocasionales del río. En el segundo año continué el estudio en una población de plantas que transplante en septiembre de 1995 en una parcela experimental y floreció un mes y medio más tarde que la de 1994. La parcela estuvo ubicada en la Reserva Ecológica de Cuixmala a 15 km del primer sitio, en el kilómetro 45 de la carretera Manzanillo-Puerto Vallarta. Las plántulas se obtuvieron a partir de semillas colectadas al azar de la población observada en 1994.

Medición de néctar

La producción de néctar se midió en el primer año de observaciones. Para probar si la frecuencia de visitas afecta la producción en las flores masculinas usé dos métodos de cosecha de néctar: *i*) una sola colecta por flor (cosecha vertical) y *ii*) varias colectas en la misma flor durante la antesis (cosecha horizontal). En el primer caso medí la producción acumulada de néctar durante seis días (16 al 21 de septiembre) en 46 flores en total. En el segundo caso realicé los muestreos repetidos hasta alcanzar un total de 31 flores al cabo de cuatro días (21 al 24 de septiembre). También medí la producción de néctar en las flores femeninas entre el 23 y el 27 de septiembre ($N = 7$ flores), pero sólo con cosechas horizontales.

Las flores que iban a ser muestreadas se embolsaron la tarde anterior con una red de malla fina lo suficientemente amplia para permitir la apertura de las flores y evitar que la corola rozara con la antera y se derramara el polen contaminando el néctar. En cada muestra determiné el volumen con microcapilares de 34 μ l y la concentración de azúcar con un refractómetro de mano (Reichter, Modelo 10431, Leica Inc. Buffalo, New York), con corrección automática por temperatura (ámbito 0-50 %). La lectura de concentración de azúcar, originalmente expresada en porcentaje de equivalentes de azúcar (i.e., 100 x mg soluto x mg solución), fue convertido a mg soluto x μ l solución usando los valores tabulados en Kearns e Inouye (1993 p. 172) y combinados con los valores de volumen para estimar el total de azúcar en mg.

El muestreo se realizó sin cortar la flor ni dañar la corola. En las flores masculinas introduje el capilar suavemente por las aperturas de acceso a la cámara de néctar y luego incliné la flor para facilitar el ascenso del néctar por el capilar. En las flores femeninas colecté la secreción en al menos tres lugares diferentes de la cámara de néctar debido a su mayor tamaño. Para minimizar la posibilidad de dañar el nectario se redondeó la punta del capilar en su borde externo (sin alterar su longitud) y se introdujo en la cámara de néctar lo mínimo indispensable para no tocar el tejido del nectario.

El periodo de muestreo estuvo comprendido entre la apertura y cierre de las flores. Cada medición demandó entre 3 y 6 min lo que me permitió cosechar una flor diferente cada 7 min. En las mediciones de producción de néctar por muestreos repetidos coseché las mismas flores cada 35-45 minutos (3-10 flores por día).

Actividad de los visitantes florales

En 1994 registré la actividad de los visitantes en las flores masculinas de *C. sororia* entre el 4 y el 7 de octubre. El día previo a las observaciones seleccioné al azar las plantas y dentro de éstas tres o cuatro botones florales que abrirían en la mañana siguiente. En cada planta marqué y numeré cada botón con un flagging amarrado en el tallo adyacente. La posición de todos los botones fue localizada en un mapa del sitio para facilitar su ubicación al día siguiente debido a que las observaciones se iniciaban antes de la salida del sol.

El registro de la actividad de los visitantes comenzó inmediatamente después de completarse la apertura de las flores y se extendieron durante dos horas (6:00 a 8:00 h AM) sobre una o dos flores focales por planta y por observador. Seleccioné el método de observación ininterrumpida de la actividad de los visitantes en cada flor (vs. la alternativa de muestrear durante varios intervalos de tiempo fijos con rotación entre flores) debido a la alta frecuencia de visitas, el corto tiempo de vida de la flor y las condiciones cambiantes en la oferta de néctar y la actividad de forrajeo.

Antes de la salida del sol las observaciones se realizaron iluminando las flores con luz roja proveniente de una linterna de cabeza recubierta de papel celofán rojo. Usé luz roja para minimizar el efecto que pudiera tener sobre el comportamiento de las abejas la iluminación de las flores (Dr. R. Ayala com. pers.). Las flores se observaron a una distancia de 1 a 1.20 m. Al cabo de tres días se observaron doce flores (4-5 flores por día) acumulando 26 h de observaciones.

Antes de iniciar el periodo de mediciones los observadores se entrenaron en el reconocimiento de las especies de abejas de la colección de referencia de la Estación de Biología de Chamela y las identificaron como morfoespecies. Los reconocimientos se realizaron iluminando los ejemplares tanto con luz de día como con luz roja (proveniente de las linternas que posteriormente se usarían en el campo) debido al cambio de coloración que produce este último tipo de luz sobre los insectos.

Los observadores registraron por escrito: la identidad del visitante (usando códigos previamente asignados para el caso de los morfoespecies de abejas), hora de arribo, duración de la visita medida con la ayuda de un cronómetro hasta la centésima de segundo y tipo de actividad. Los visitantes fueron identificados al nivel de especie y de morfoespecie en el caso de las abejas, y de orden en los demás visitantes (ejemplares depositados en la colección entomológica de la Estación de Biología de Chamela, UNAM).

Los registros de la actividad de las abejas incluyeron la siguiente tipificación: 1) aproximación: sobrevuelo sobre la flor pero sin establecer contacto con la antera; 2) exploración: cuando el insecto toca la corola pero no la antera y 3) forrajeo: contacto físico del insecto con la antera para coleccionar néctar y/o polen. La segunda categoría conductual, a pesar de haber sido registrada por todos los observadores, fue eliminada posteriormente del análisis de los datos debido a que se registró sólo en *Apis mellifera*.

En 1995 se repitieron las observaciones en la población de plantas de la Reserva Ecológica de Cuixmala siguiendo el mismo protocolo que en el año anterior. Los datos se coleccionaron durante tres días, entre el 23 y 28 de noviembre, acumulando 22 h de observación ($N = 8$ flores).

Análisis de los datos

Para determinar el momento en que las flores dejan de producir néctar analicé la curva de producción de néctar a través del tiempo mediante una regresión por partes con los datos de producción de volumen de néctar por muestreo repetido. También ajusté una función logística no lineal, para modelar la producción de néctar obtenido por cosecha repetida. La primera derivada de esta función me permitió estimar la tasa de producción de néctar.

Mediante un análisis de covarianza evalué las posibles diferencias en la producción de néctar entre los métodos vertical y horizontal de cosechas de néctar. Las variables de respuestas

fueron el volumen, concentración y cantidad de azúcar. El modelo incluyó el método de cosecha (i.e., frecuencia) como factor y como covariable usé el tiempo y el cuadrado del tiempo medido en minutos a partir de las 00:00 h. La cantidad de azúcar se transformó a raíz cuadrada para cumplir con el supuesto de normalidad y homogeneidad de varianza. La producción de néctar entre las flores de diferentes sexos se analizó con un análisis de covarianza de efecto mixto con el tiempo y el cuadrado de tiempo como covariables. Las flores se anidaron dentro del día y se consideraron como efecto aleatorio y el sexo como efecto fijo. Las variables de respuesta fueron el volumen, la concentración y la cantidad de azúcar producido por el néctar secretado obtenido por cosecha horizontal.

Las diferencias en comportamiento entre los dos principales polinizadores se evaluaron comparando la actividad de *Peponapis* sp. y *Xenoglossa* sp sobre las flores masculinas. Para el análisis usé un diseño pareado considerando para ambas especies la duración y el número de visitas medidos en una misma flor. Con una prueba de *t* pareada analicé el número de visitas por flor y por hora ($N = 11$), mientras que para el tiempo de permanencia empleé una prueba pareada no paramétrica de Wilcoxon sobre la duración promedio de las visitas por flor ($N = 9$). En ambas pruebas solo consideré los datos obtenidos en 1994 por corresponder a la estación típica en que ocurre la interacción planta-polinizador.

También probé si *Xenoglossa* sp difería de *Peponapis* sp. en la frecuencia de visitas durante el día. Esta comparación se hizo con una prueba de χ^2 calculando la frecuencia de visitas de ambas especies acumuladas durante todo el periodo de estudio ($N = 11$ flores, tres días) cada 10 minutos. Como variable categórica usé las especies de abejas y los intervalos de 10 minutos comprendidos entre las 06:00 h y las 08:00 h.

Mediante un análisis de regresión probé si la tasa de producción de néctar afecta la frecuencia de visitas de las abejas oligolécticas. Para la producción de néctar calculé el volumen promedio (obtenido a partir de 30 flores) secretado cada 10 minutos entre las 6:30 y 7:40 de la mañana y la frecuencia promedio de visitas (obtenido a partir de 11 flores) cada 10 minutos de *Peponapis* sp. y *Xenoglossa* sp para ese mismo periodo.

La respuesta de los polinizadores a la variación estacional en el momento de la floración de las poblaciones de plantas fue analizada comparando entre años y para todas las especies el número de visitas por hora y por flor y su duración promedio por flor ($N = 11$ flores en 1994 y 8

flores en 1995). La frecuencia de visitas se analizó con la prueba de Mann-Whitney (luego de probar que los datos no cumplían con el supuesto de normalidad y homogeneidad de la varianza) y los tiempos de forrajeo con una prueba de t sobre el logaritmo natural del tiempo.

RESULTADOS

Producción de néctar

Las flores de *C. sororia* sólo producen néctar en un periodo de tiempo relativamente breve, entre las 06:06 (12:06 TMG) y 08:16 h. La hora en que termina la producción corresponde al punto de quiebre de la regresión por etapas calculada para la producción acumulada de néctar en el tiempo ($r^2 = 0.72$; $P < 0.001$). La tasa de secreción cambia a través del tiempo según una función semejante a una campana de Gauss (función derivada de una función logística ajustada a la producción acumulada). Las flores no tienen néctar cuando abren (a las 06:10 h, aproximadamente, obs. pers.); la secreción comienza a los pocos minutos y se incrementa rápidamente hasta alcanzar su máximo a las 07:10 h, y luego disminuye hasta terminar a las 8:16 h. Luego del cese de la producción de néctar las flores tienen néctar acumulado disponible para las abejas, potencialmente, hasta el cierre de las flores (aproximadamente 09:45 h). Sin embargo la duración efectiva de la oferta de néctar depende de la cantidad acumulada almacenada en los nectarios y de la tasa de remoción de los polinizadores, la cual a su vez depende de la intensidad de la remoción por las abejas (i.e., de la frecuencia y duración de las visitas).

La concentración de néctar es alta ($\bar{x} = 39.12\% \pm 0.51$ E.E.) al principio de la vida de la flor y se mantiene constante, a pesar de aumentar el volumen de néctar acumulado. La concentración comienza a decaer marcadamente a partir de las 08:00 h aproximadamente.

Efecto de la frecuencia de cosecha sobre la producción de néctar en flores masculinas

La comparación entre la producción de néctar (volumen) acumulado obtenido por cosecha vertical (i.e., una sola cosecha por flor) con la producción de néctar cosechado repetidamente en las flores masculinas no mostró diferencias significativas ($F_{1, 126} = 0.6382$; $P = 0.4256$). La interacción con el tiempo (minutos del día) tampoco resultó significativa ($F_{1, 126} = 0.153$; $P = 0.6962$). La concentración de néctar, por el contrario, fue diferente entre ambos tipos de cosecha como lo indica la interacción significativa del tiempo x la frecuencia de colecta (Tabla 1). Las

flores que fueron cosechadas repetidamente presentaron una reducción del 19% en la concentración de néctar en relación con las flores cosechadas una sola vez (Fig. 1). Aunque no hubo efecto de la frecuencia de cosecha sobre el volumen de néctar, las diferencias en la concentración redujeron en un 26% la cantidad de azúcar producida en comparación con las flores que recibieron una sola cosecha (Tabla 1; Fig. 1, 1 B). Estas diferencias sólo se expresaron a través del tiempo, como lo muestra la interacción significativa tiempo x frecuencia de cosecha (Tabla 1).

TABLA 1. Análisis de covarianza para comparar la producción de néctar en flores estaminadas de *C. sororia* mediante dos métodos de cosecha. Las variables de respuesta fueron la concentración ($\text{mg} \cdot \mu\text{l}^{-1}$) y la cantidad de azúcar (mg) producido por el néctar secretado obtenido por i) cosechas repetidas de las mismas flores (cosecha horizontal) y ii) cosechas únicas de un grupo de flores (cosecha vertical). Ambas mediciones se tomaron durante toda la antesis de las flores.

Efecto	g.l.	mg/ μL $r^2 = 0.84$		Mg $r^2 = 0.32$	
		F	P	F	P
Tiempo	1	18.549	< 0.0001	33.910	< 0.0001
Tiempo ²	1	30.140	< 0.0001	31.257	< 0.0001
Frecuencia	1	78.860	< 0.0001	3.898	0.0505
Tiempo x Frecuencia	1	105.818	< 0.0001	5.901	0.0165

N = 131

Comparación en la producción de néctar entre flores de diferentes sexos

La producción de néctar fue diferente entre las flores masculinas y femeninas de *C. sororia*. Las flores femeninas produjeron mayor volumen y concentración de néctar, lo que implica mayor disponibilidad de azúcar para los polinizadores (Tabla 2; Fig. 2 A-C). La forma de la función de producción de néctar fue similar para la concentración y la cantidad de azúcar (i.e., las funciones se mantuvieron paralelas; $F_{1,63} = 0.864$; $P = 0.3562$ y $F_{1,63} = 0.701$; $P = 0.4057$ respectivamente). En contraste con este resultado, el volumen de producción mostró diferencias significativas en la interacción tiempo x sexo (Tabla 2).

La mayor producción de néctar de las flores femeninas podría ser explicada por una mayor superficie de tejido secretor (i.e., mayor tamaño del nectario), más que por diferencias en la tasa de producción del tejido. Para probar esto calculé las tasas relativas de producción de néctar de

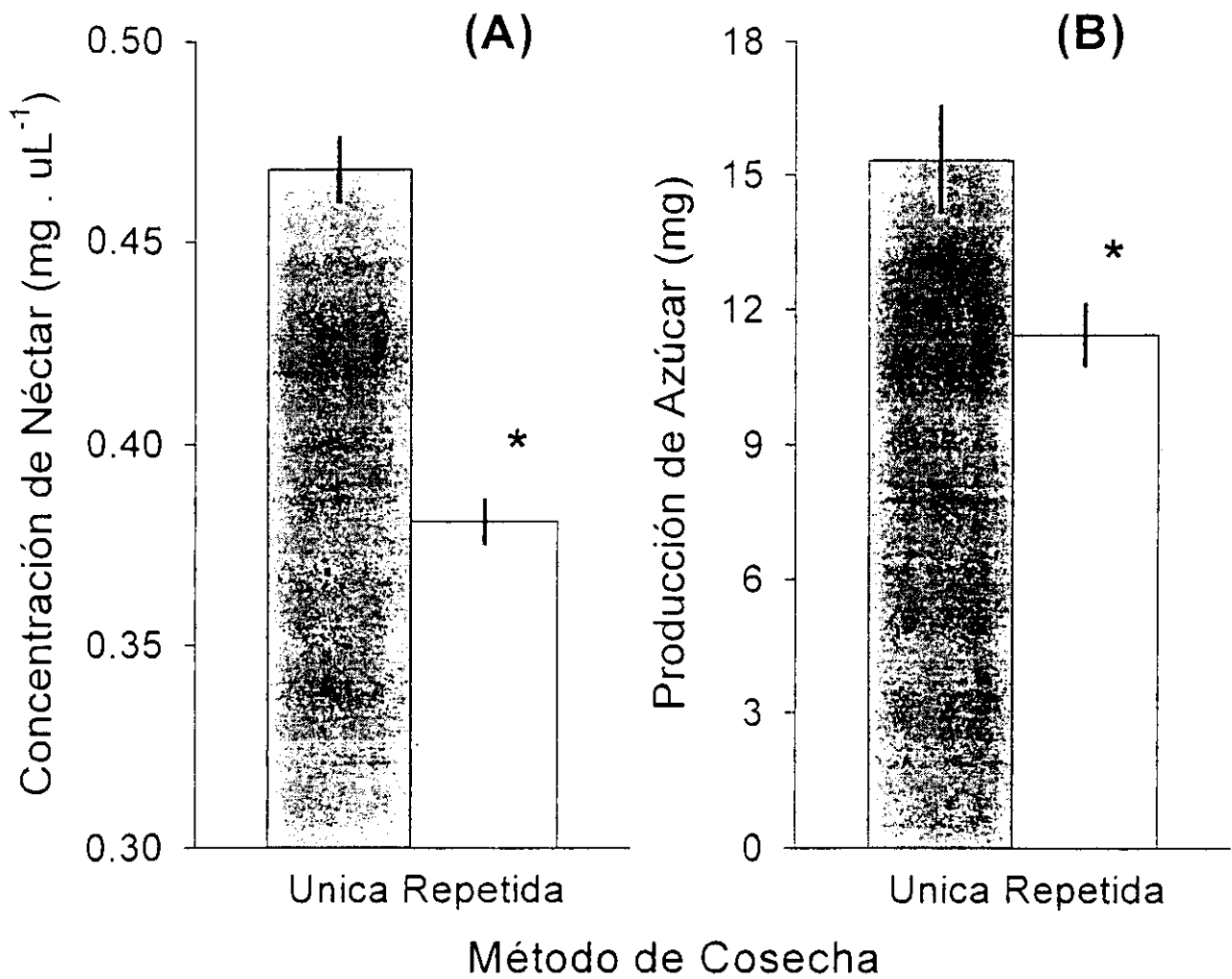


FIG. 1. Producción de néctar en flores estaminadas de *C. sororia* en relación a la frecuencia de cosecha. Las mediciones se realizaron en la selva de Chamela en 1994. Las barras representan las medias mínimas cuadradas (± 1 EE) de (A) la concentración y (B) la producción de azúcar, obtenidas por el ajuste de un análisis de covarianza. Los asteriscos indican diferencias significativas entre cosechas ($P < 0.001$).

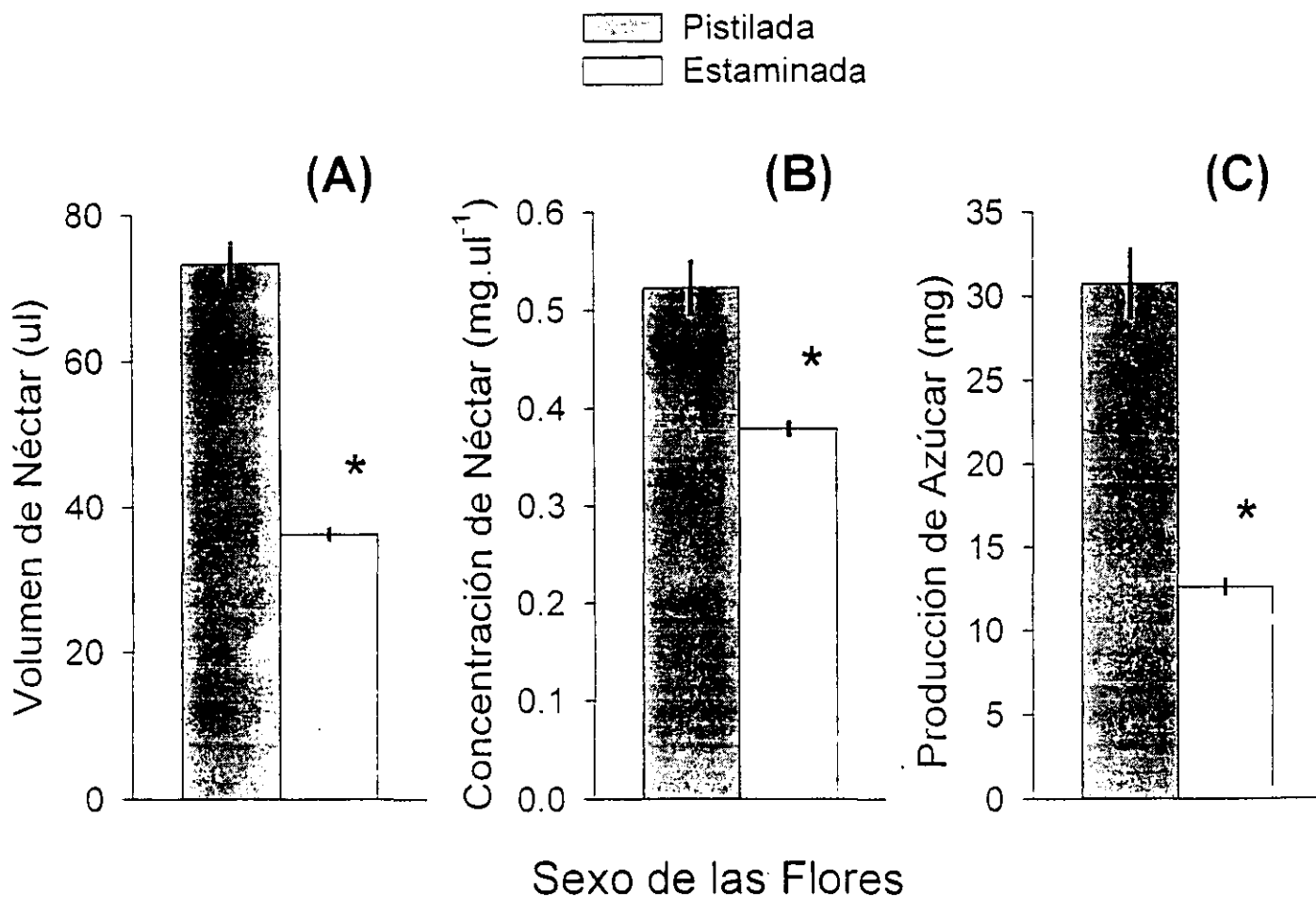


FIG. 2. Producción de néctar de flores estaminadas y pistiladas de *C. sororia*. Las mediciones se realizaron en la selva de Chamela en 1994 muestreando en una sola oportunidad cada flor. Las barras representan las medias mínimas cuadradas (i.e., el valor en el punto medio de la función de producción a través del tiempo) (± 1 EE), del (A) volumen, (B) la concentración y (C) azúcar. Los valores fueron obtenidos mediante el ajuste de un modelo mixto de ANCOVA con el tiempo como covariable (ver Materiales y Métodos). El asterisco indica diferencias significativas ($P < 0.001$).

TABLA 2. Análisis de covarianza mixto de la producción de néctar entre flores masculinas y femeninas *C. sororia*. El modelo incluyó al sexo como efecto fijo y como efecto aleatorio las flores anidadas dentro del día. Las variables de respuesta fueron el volumen (μl) ($N = 137$), la concentración ($\text{mg} \cdot \mu\text{l}^{-1}$) ($N = 107$) y la cantidad de azúcar (mg) ($N = 107$) producido por el néctar secretado obtenido por cosechas repetidas de las mismas flores (cosecha horizontal).

Efecto	g.l.	μl	$r^2 = 0.97$	$\text{mg} \cdot \mu\text{l}^{-1}$	$r^2 = 0.96$	mg	$r^2 = 0.91$
		<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Tiempo	1	189.249	< 0.0001	17.243	0.0001	101.386	< 0.0001
Tiempo ²	1	147.299	< 0.0001	33.171	< 0.0001	99.390	< 0.0001
Día	4	0.693	0.6018	5.074	< 0.0023	1.700	0.1708
Flor _(Día)	35	24.228	< 0.0001	5.123	< 0.0001	7.087	< 0.0001
Sexo	1	0.040	0.8420	27.792	< 0.0001	75.629	< 0.0001
Sexo x Tiempo	1	16.166	0.0001				

las flores de los dos sexos. La tasa relativa es expresada por unidad de tiempo y de néctar, por lo que al ser independiente de la cantidad de néctar, permite discriminar entre ambas explicaciones. La comparación se realizó tomando como base las tasas relativas del volumen, concentración y cantidad de azúcar producidos por una flor de cada sexo a las 07:00 h. Los resultados indican que las tasas de los componentes del néctar son muy semejantes entre sexos, excepto en la cantidad de azúcar, que es muy superior en las flores femeninas (Tabla 3). Es posible que esta diferencia no sea real, sino que responda a un ajuste pobre del modelo, causado por la gran curvatura de la producción de azúcar (ver Fig. 4 C). El hecho de que la tasa relativa de volumen y concentración sean semejantes apoya el argumento de que las diferencias en producción entre ambos sexos se deben a diferencias en el tamaño del tejido secretor del nectario y no a diferencias fisiológicas en la tasa de producción.

La producción de néctar se analizó por separado, para cada sexo, para determinar las diferencias en el patrón de secreción. En las flores masculinas la producción fue significativamente diferente entre flores y entre días, aunque en el caso del volumen de néctar el efecto de los días sólo fue marginal (Tabla 4). El curso temporal del volumen, la concentración y la cantidad de azúcar evolucionó como una función cuadrática del tiempo. Sin embargo, mientras que el volumen aumentó (Fig. 3 A), la concentración del néctar declinó durante la antesis (Fig. 3.B). Como resultado de estas tendencias la cantidad de azúcar alcanza su máximo en un tiempo intermedio entre el inicio y el fin de la antesis (Fig. 3 C). En las flores femeninas el volumen

acumulado de néctar aumentó según una función cuadrática del tiempo (Fig. 4 A), mientras que la concentración lo hizo según una función lineal (Fig. 4 B). La combinación de estas tendencias determinó que la mayor producción de azúcar se alcanzara 12 min antes en las flores femeninas que en las masculinas (07:50 vs 08:02 h. respectivamente; Fig. 4 C). La producción de néctar también fue significativamente diferente entre flores, sin embargo, a diferencia de lo que ocurrió con el néctar de las flores masculinas, la variación no fue explicada por los días (Tabla 5). Sólo la concentración mostró un efecto marginal de este factor (Tabla 5).

TABLA 3. Tasa relativa de volumen, concentración y cantidad de azúcar en el néctar. Los valores representan las tasas de secreción esperadas en una flor de cada sexo a las 7:00 h. El cálculo se realizó a partir de la derivada primera de la función cuadrática y/o lineal, ajustada por un modelo de regresión entre el \ln de cada una de las variables acumuladas y el tiempo. Los modelos de regresión fueron significativos $P < 0.0001$, excepto para cantidad de azúcar en las flores femeninas $P = 0.0063$.

Variables del Néctar ($\times 10^{-3}$)	Flores masculinas	Flores femeninas
μl	13.178	13.042
$\text{mg}/\mu\text{l}$	-6.4	-6.31
Mg	12.97	39.15

TABLA 4. Análisis de covarianza de la producción de néctar en flores masculinas de *C. sororia*. Las flores fueron anidadas dentro del día y consideradas como efecto aleatorio. Las variables de respuesta fueron el volumen (μl) ($N = 114$), la concentración ($\text{mg} \cdot \mu\text{l}^{-1}$) ($N = 88$) y la cantidad de azúcar (mg) ($N = 88$) producido por el néctar secretado obtenido por cosechas repetidas de las mismas flores (cosecha horizontal). Para cumplir con el supuesto de homogeneidad de varianza las variables de repuesta se transformaron con el método de Box-Cox (JMP, SAS 1995). Las mediciones se tomaron durante toda la antesis de las flores.

Efecto	g.l.	μl	$R^2 = 0.95$	$\text{mg} \cdot \mu\text{l}^{-1}$	$r^2 = 0.95$	mg	$r^2 = 0.89$
		F	P	F	P	F	P
Tiempo	1	130.639	< 0.0001	27.883	0.0001	96.510	< 0.0001
Tiempo ²	1	104.419	< 0.0001	45.215	< 0.0001	93.356	< 0.0001
Día	4	2.422	0.0699	11.079	< 0.0001	5.922	0.0012
Flor _[Día]	30	16.156	< 0.0001	4.377	< 0.0001	7.090	< 0.0001

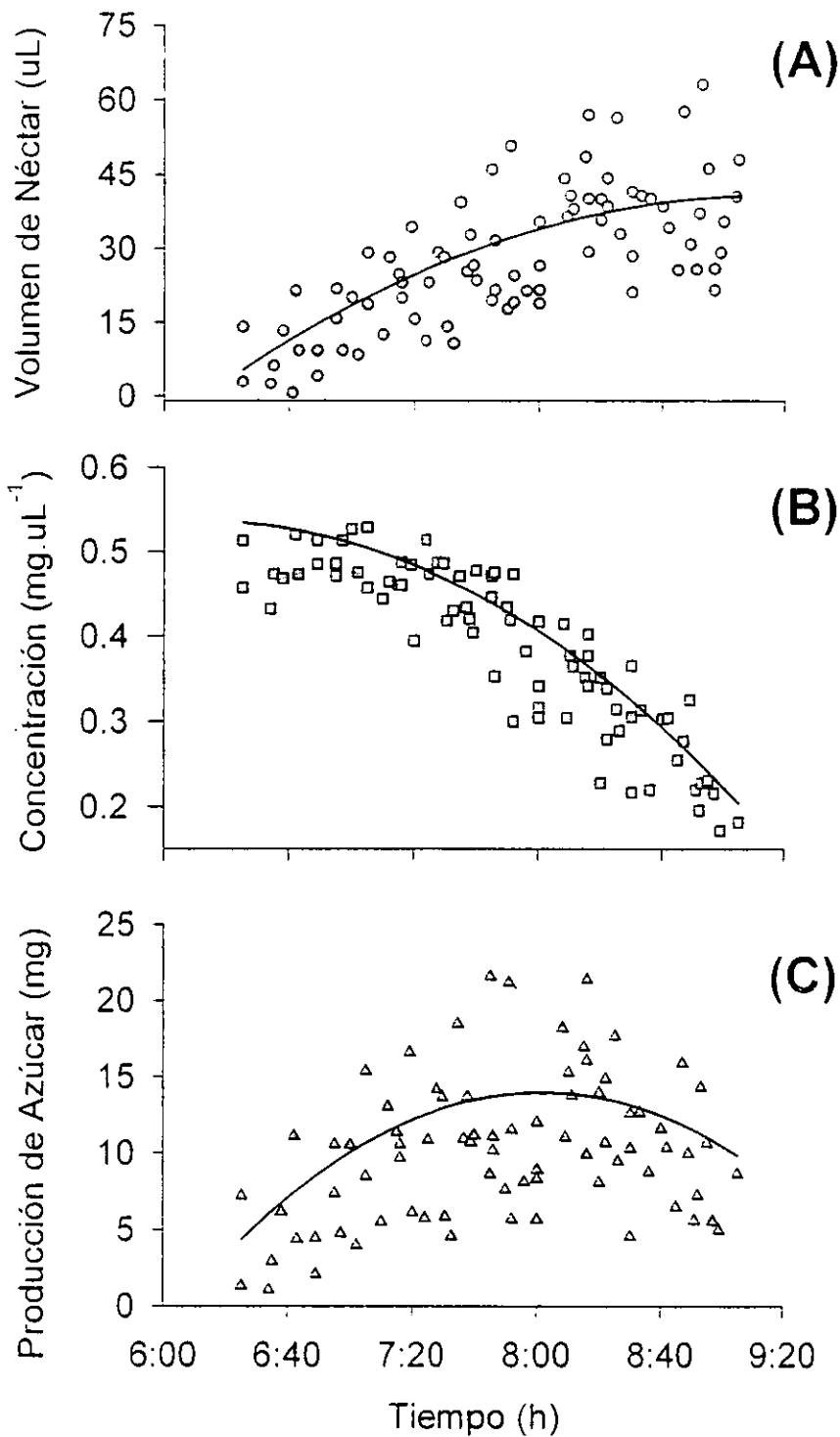


FIG. 3. Curso temporal de la producción acumulada de néctar en flores estaminadas de *C. sororia*. Los componentes de la producción de néctar, (A) el volumen, (B) la concentración y (C) la producción de azúcar total por flor fueron obtenidos por cosechas repetidas de las mismas flores. Las líneas representan la producción como una función lineal y cuadrática del tiempo estimada por un modelo de ANCOVA (que incluyó las flores como factor aleatorio).

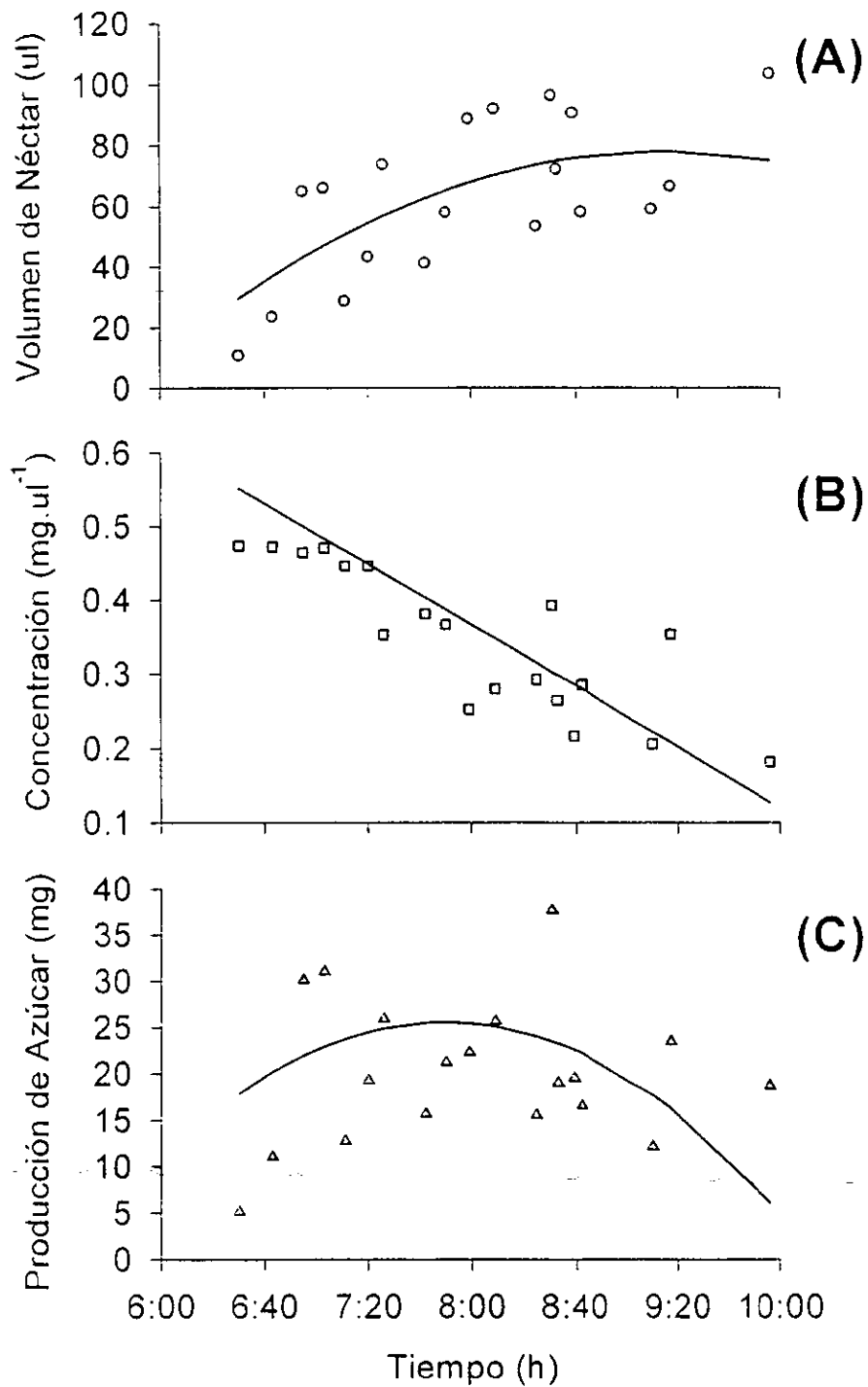


FIG. 4. Curso temporal de la producción acumulada de néctar en flores pistiladas de *C. sororia*. Los componentes de la producción de néctar, (A) el volumen, (B) la concentración y (C) la producción de azúcar total por flor fueron obtenidos por cosechas repetidas de las mismas flores. Las líneas representan la producción como una función lineal y cuadrática del tiempo estimada por un modelo de ANCOVA (que incluyó las flores como factor aleatorio).

Visitantes florales

Las abejas colectadas en las flores a principios de octubre de 1994 corresponden a dos familias principalmente (Tabla 6). De éstas la más importante fue Apidae, representada por los géneros *Xenoglossa* y *Peponapis*. *Megalopta* sp. es una abeja nocturna que no ha sido identificada a nivel de especie en México (Dr. R. Ayala com. pers.). En el segundo año además de las especies anteriores se observó a *Xilocopa* sp. y *Apis mellifera* (Tabla 6).

TABLA 5. Análisis de covarianza de la producción de néctar en flores femeninas de *C. sororia*. Las flores fueron anidadas dentro del día y consideradas como efecto aleatorio. Las variables de respuesta fueron el volumen (μl) ($N = 24$), la concentración ($\text{mg} \cdot \mu\text{l}^{-1}$) ($N = 19$) y la cantidad de azúcar (mg) ($N = 19$) producido por el néctar secretado obtenido por cosechas repetidas de las mismas flores (cosecha horizontal). Las mediciones se tomaron durante toda la antesis de las flores.

Efecto	g.l.	μl	$r^2 = 0.99$	$\text{mg} \cdot \mu\text{l}^{-1}$	$r^2 = 0.95$	mg	$r^2 = 0.85$
		<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Tiempo	1	82.992	< 0.0001	166.463	< 0.0001	13.589	0.0042
Tiempo ²	1	65.713	< 0.0001	n.s		14.021	0.0038
Día	1	0.222	0.6574	5.836	0.0528	3.700	0.1016
Flor _[Día]	5	90.864	< 0.0001	6.456	0.0049	5.864	0.0087

TABLA 6. Lista de especies de polinizadores colectados en 1994 en las flores de *Cucurbita sororia* en una población de en la selva baja caducifolia de Chamela.

Apidae:

Xenoglossa gabbii gabbii (Cresson, 1878)

Peponapis utahensis (Cockerell, 1905)

Halictidae:

Megalopta sp.

Melitoma marginella (Cresson, 1872)

Los ejemplares fueron identificados por el Dr. R. Ayala, y se depositaron en la colección de la Estación de Biología de Chamela (UNAM).

Variación diurna en las visitas de los polinizadores en 1994.

Durante la antesis las flores reciben 27.6 ± 4.5 visitas por hora de todos los polinizadores, considerados en conjunto, con una duración promedio de $34.41 \text{ s} \pm 6.24$ por visita (CV = 336.55%; $N = 345$). Las abejas comienzan a visitar las flores poco tiempo después de la apertura

floral, antes de la salida del sol, alrededor de las 06:20 h (Fig. 5), e incrementan sus frecuencias de visita en correspondencia con el aumento en la tasa de producción de néctar hasta llegar a un máximo de 6.9 ± 1.03 visitas cada 10 minutos a las 06:50 h. Las abejas podrían localizar las flores guiadas por el olor de las mismas antes de comenzar la producción de néctar o incluso por las señales químicas dejadas por visitantes anteriores (Cameron 1981). (Aunque las flores, al menos para el olfato humano, son inodoras.)

Las abejas de los géneros *Peponapis* y *Xenoglossa* son los primeros y más frecuentes visitantes de las flores de *C. sororia*, aportando el 63.1% y el 26.1% de las visitas, respectivamente (i.e., el 89.1% de todas las visitas) (Fig. 6). *Peponapis* sp. realiza más del doble de visitas por hora que *Xenoglossa* sp. (15.2 ± 3.39 vs 6.31 ± 1.42 , respectivamente; prueba pareada $t_{10} = -3.088$; $P = 0.0115$) (cf. Fig. 7).

El tiempo de forrajeo de *Peponapis* sp. y *Xenoglossa* sp. mostró diferencias marginalmente significativas (Prueba pareada de Wilcoxon: $Z = 1.718$; $P = 0.086$; $N = 9$; *Xenoglossa* sp. = 27.64 ± 47.64 s; CV = 172%; *Peponapis* sp. = 40.56 ± 50.75 s; CV = 125%). La duración más frecuente de las visitas de ambas especies fue de 10 s, con una tendencia de *Peponapis* sp. a permanecer forrajeando dentro de las flores durante más tiempo (Fig. 8). En este periodo pude observar agresiones entre ambas especies y competencia por el acceso a las flores. Esta competencia es asimétrica ya que por lo general *Xenoglossa* sp. desplaza a *Peponapis* sp. Si la flor está ocupada por *Xenoglossa* sp., *Peponapis* sp. evita ingresar, mientras que en la situación inversa es frecuente observar que *Peponapis* sp. es desplazada por *Xenoglossa* sp. Sin embargo, como los datos indican, *Xenoglossa* sp. visita con menos frecuencia las flores y limita su actividad en el tiempo. Las diferencias en frecuencias de visitas observadas entre ambas especies de abejas podrían explicarse, al menos en parte, porque *Peponapis* sp. se desplaza a mayor velocidad entre flores que *Xenoglossa* sp.

La prueba de χ^2 indicó que ambas abejas difieren en el patrón de visitas a través del tiempo de vida de la flor ($\chi^2 = 98.40$; gl = 8; $P < 0.0001$) (Fig. 6). *Xenoglossa* sp. inicia y termina su actividad sobre las flores antes (06:10 - 07:00h), alcanzando su actividad máxima a las 06:30h. *Peponapis* sp. en cambio, prolonga las visitas hasta el cierre de las flores (06:25 - 07:50h), con un pico de visitas a las 07:00h. La actividad de ambas especies se superpone durante 40 minutos entre las 06:20 h y las 07:00 h (Fig. 6). En los primeros momentos cosechan néctar y polen para

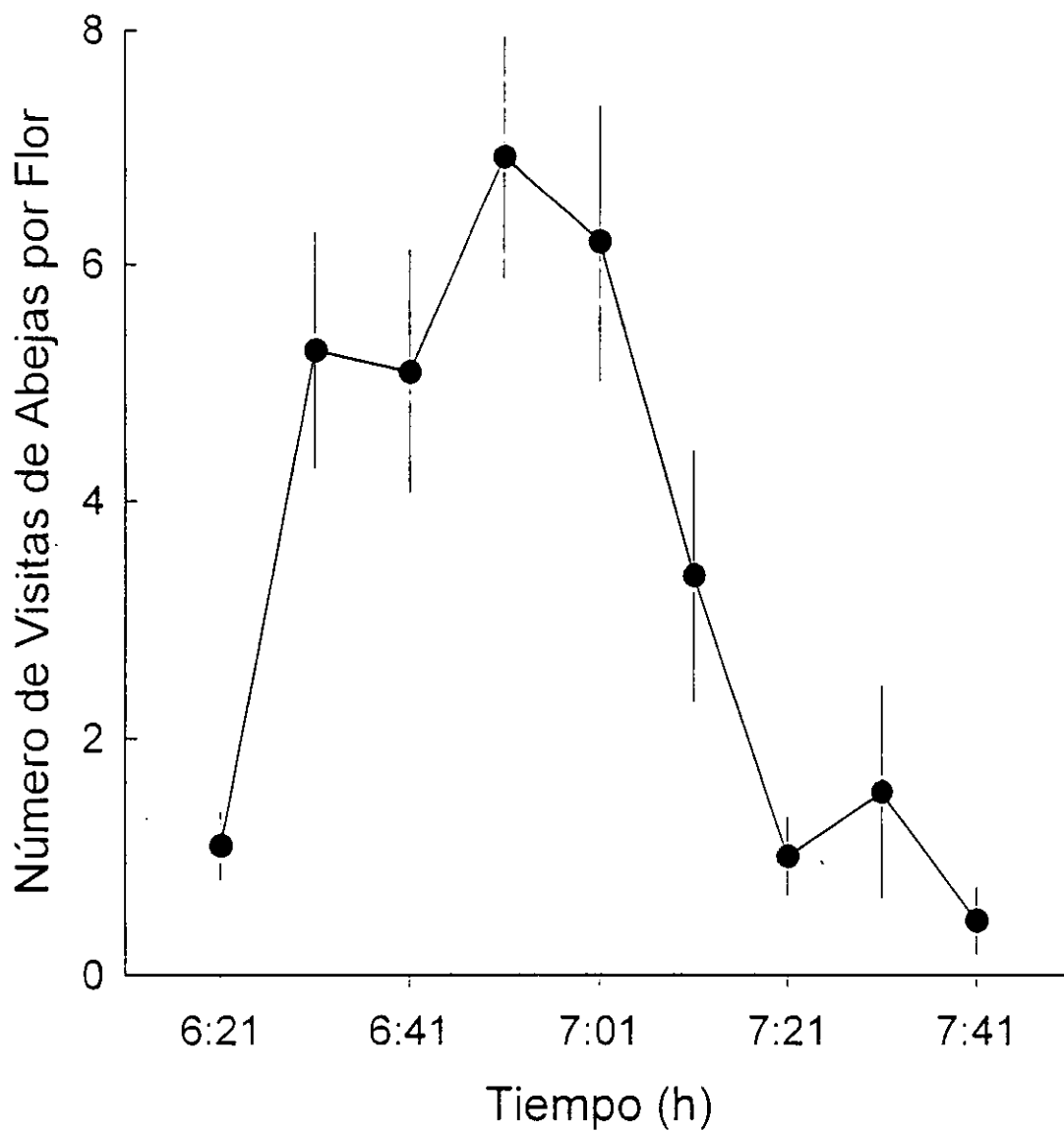


FIG. 5. Curso temporal de las visitas de los polinizadores *Peponapis* sp. y *Xenoglossa* sp a flores masculinas de *C. sororia* en la selva tropical caducifolia de Chamela. Los puntos representan el promedio (\pm 1EE) de las visitas registradas en intervalos de 10 minutos durante la antesis de 11 flores. Las mediciones se realizaron en septiembre de 1994.

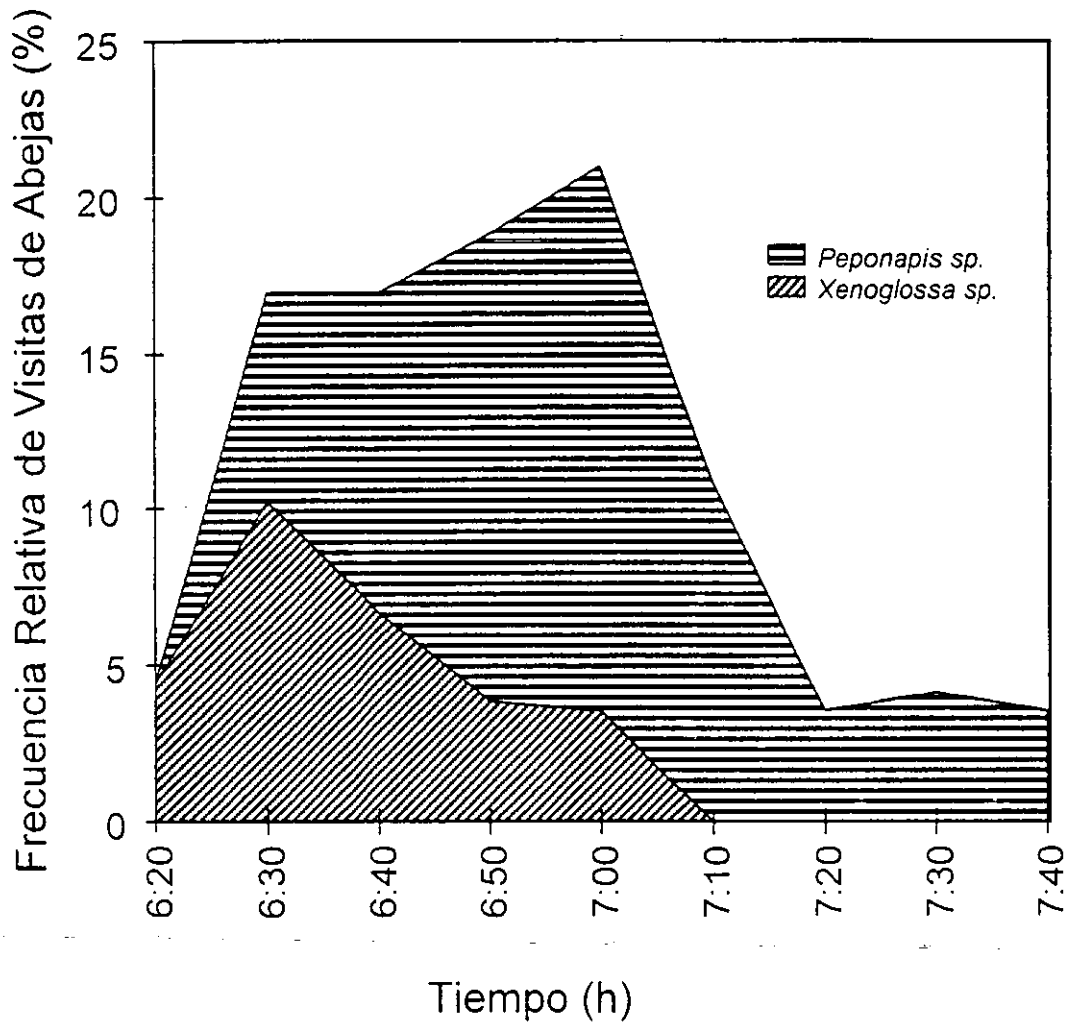


FIG. 6. Frecuencia de visitas de *Xenoglossa sp.* y *Peponapis sp.* durante la antesis de flores masculinas de *C. sororia* en la selva tropical caducifolia de Chamela. Las frecuencias se calcularon con base en el total de abejas observadas (N = 308) en 11 flores entre el 4 y el 7 de octubre de 1994.

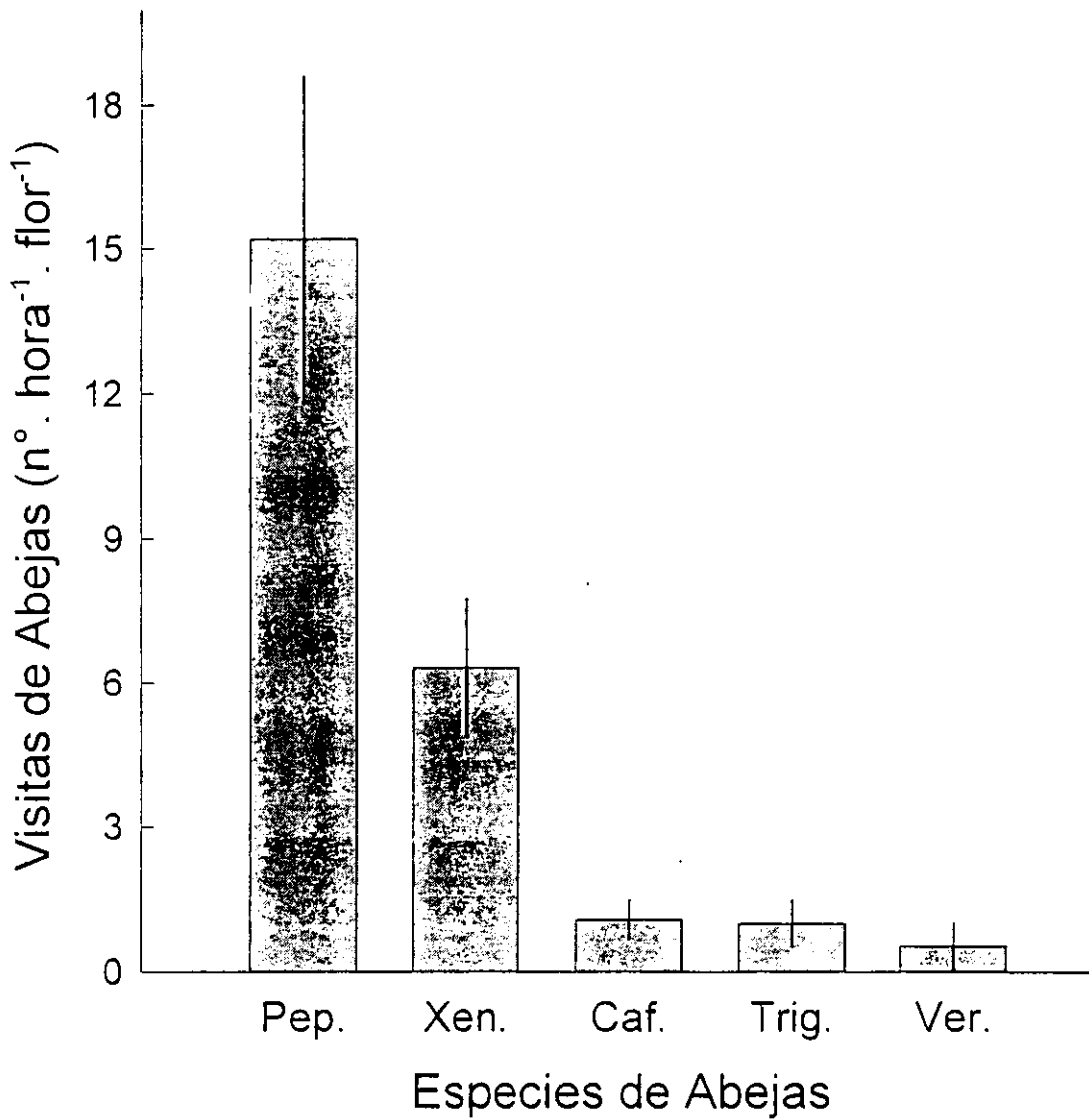


FIG. 7. Frecuencia de vistas de abejas observadas en flores estaminadas de *C. sororia* en la selva baja caducifolia de Chamela a partir de las 06:30 h de la mañana. Las barras indican el promedio (\pm IEE) de visitas observadas en septiembre de 1994. Las especies identificadas fueron: Pep.: *Peponapis* sp.; Xen.: *Xenoglossa* sp. y como morfoespecies se reconocieron: Caf: "Cafè"; Trig.: "Trigona"; Ver.: "Verde".

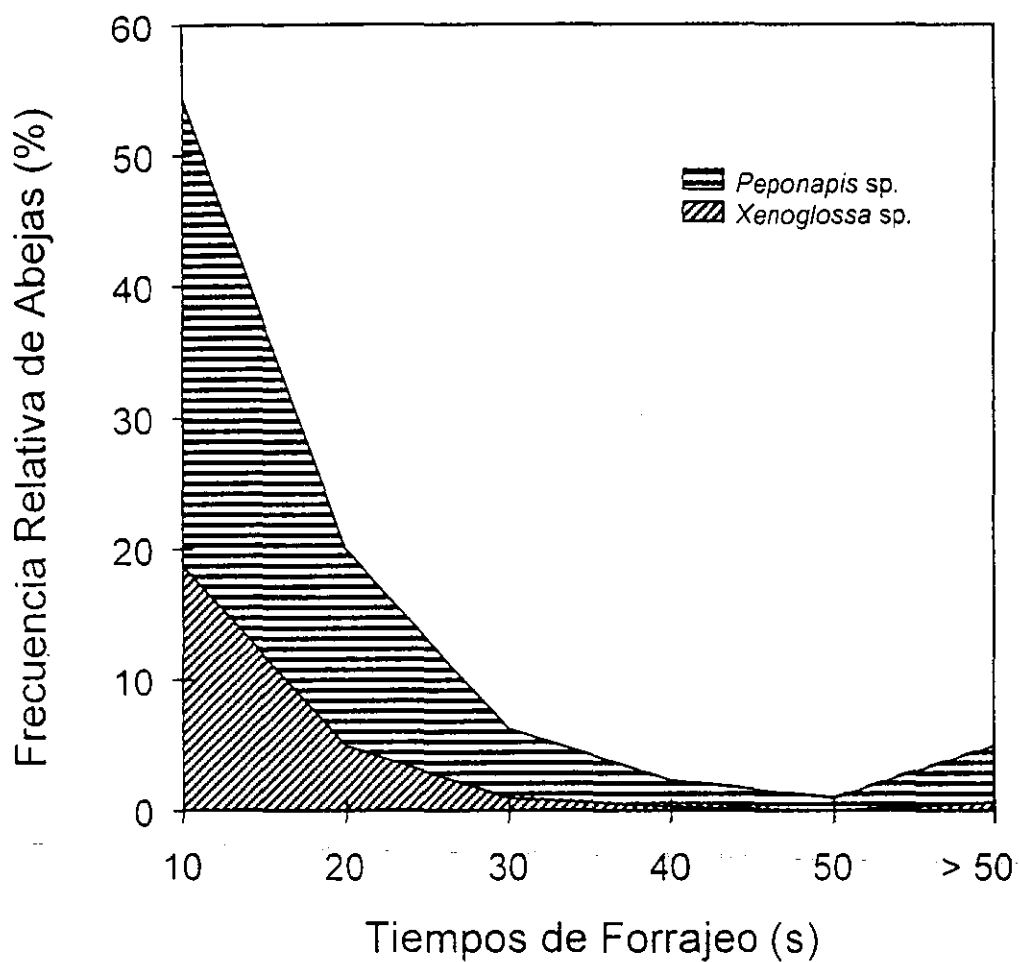


FIG. 8. Distribución de los tiempos de forrajeo de *Xenoglossa* sp. y *Peponapis* sp. en flores masculinas de *C. sororia* en la selva tropical caducifolia de Chamela. Las frecuencias se calcularon con base en el total de abejas observadas ($N = 308$) durante la antesis de 11 flores entre el 4 y el 7 de octubre de 1994. Sólo se consideraron tiempos de permanencia menores a 20 minutos.

luego continuar con néctar exclusivamente. Este cambio en el recurso floral que forrajean se debe a que la mayor parte del polen disponible es colectado durante la primera hora y media de vida de la flor (obs. pers.). Las hembras de estas especies están especialmente adaptadas para capturar el polen de *Cucurbita* sp. (Hurd *et al.* 1971). Por el contrario, los machos de *Peponapis* sp. sólo cosechan néctar y en varias ocasiones pueden permanecer dentro de la misma flor por periodos prolongados incluso hasta el cierre de la flor.

Respuesta de los polinizadores a la variación diaria en la producción de néctar

La visita de los polinizadores aumentó en relación directa al incremento en la tasa de producción de néctar representada por el volumen de néctar producido cada 10 minutos. La tasa de producción de néctar explica el 70.8% de la variación en la frecuencia de visitas de las abejas ($F_{1,8} = 14.54$; $P = 0.0088$) observada en las flores de *C. sororia*

Variación entre años en las visitas de los polinizadores.

En contraste con el comportamiento observado en octubre de 1994, en noviembre de 1995 las plantas de *C. sororia* que florecieron un mes más tarde en relación a la población del año anterior fueron significativamente menos visitadas por los polinizadores. El promedio de visitas por hora y por flor fue el 16% de las observadas el año anterior (Fig. 9; *cf.* Fig. 5) (Prueba de Mann-Whitney U; $Z = -3.163$; $P = 0.0016$).

La composición de especies también cambió entre años, agregándose dos especies nuevas en 1995: *Xilocopa* sp. y *Apis mellifera*. (Fig. 10). *Xilocopa* sp. aportó la mayoría de las visitas junto con la morfoespecie "verde" y ambas concentraron su actividad mucho más tarde en la antesis que *Peponapis* sp. y *Xenoglossa* sp. (Fig. 11). La duración de las visitas no fue diferente entre años ($t_{17} = -0.033$; $P = 0.9739$). El tiempo de permanencia más frecuente de los polinizadores en las flores fue de 10 a 20 s para todas las especies de abejas (Fig. 12); mientras que el promedio fue de 44.80 ± 13.84 s (CV 289.9%; $N = 88$).

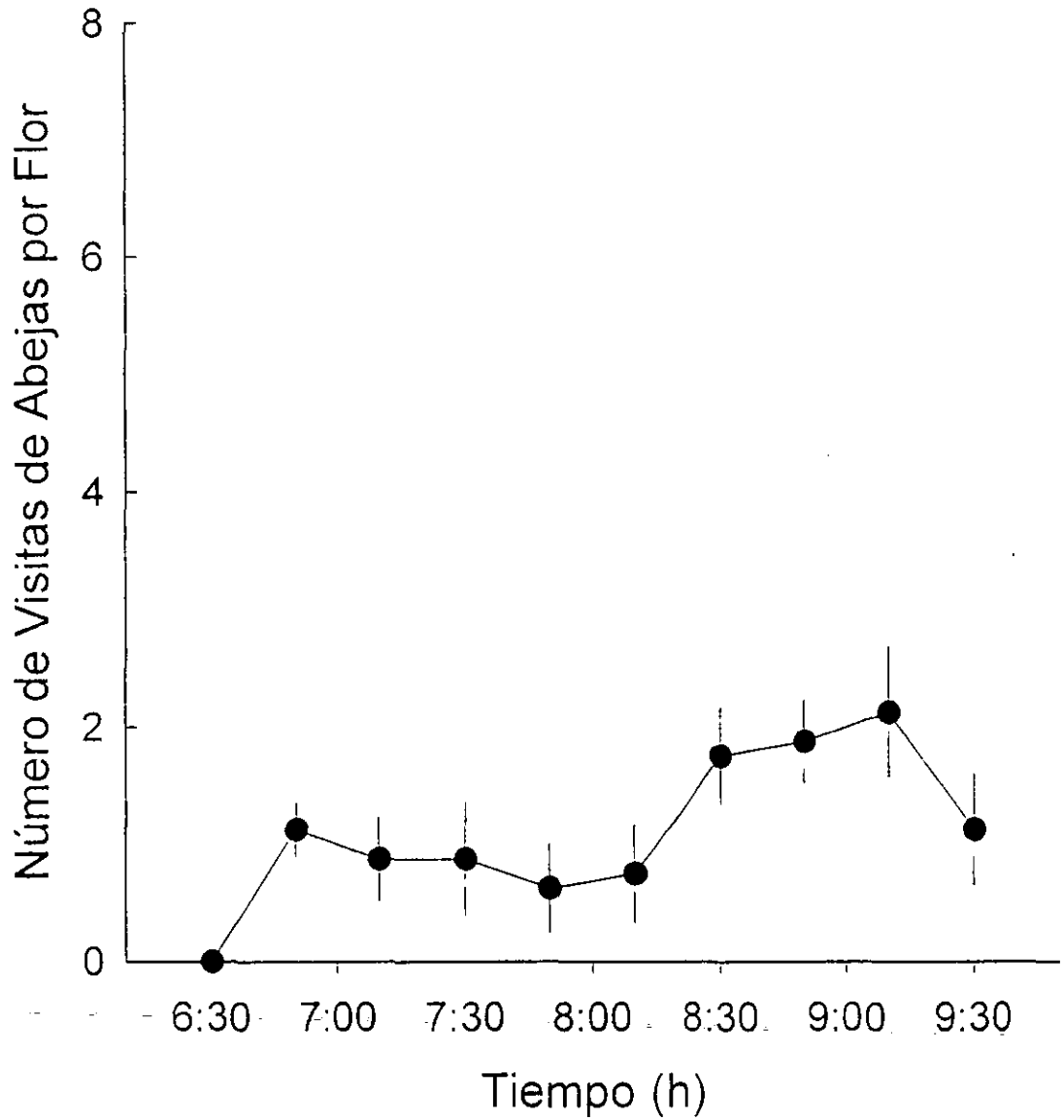


FIG. 9. Curso temporal de las visitas de polinizadores a flores masculinas de *C. sororia* en la selva tropical caducifolia de Chamela. Los puntos representan el promedio (\pm 1EE) de las visitas registradas en intervalos de 20 minutos durante la antesis de 8 flores en noviembre de 1995.

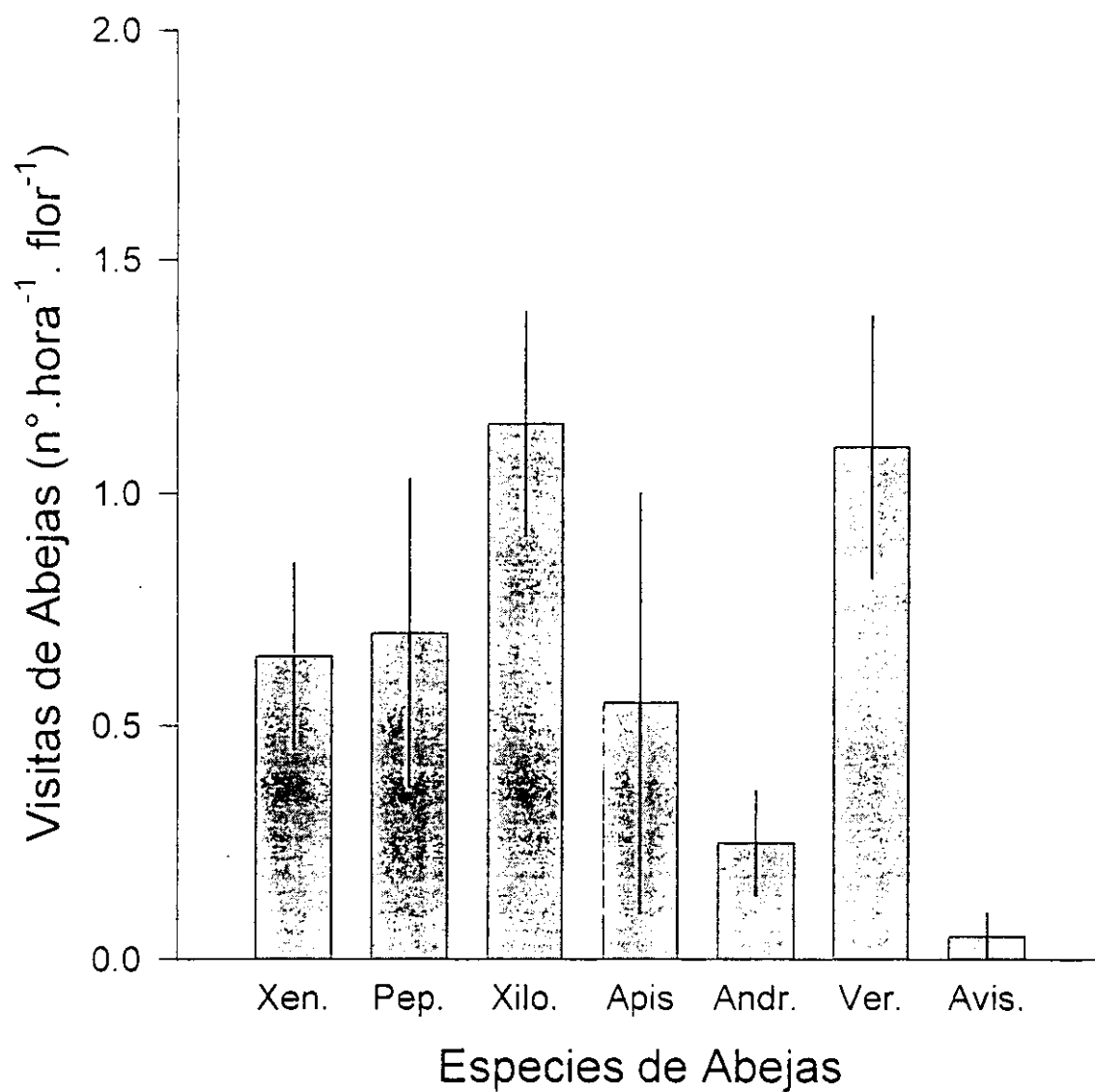


FIG. 10. Frecuencia de vistas de abejas observadas en flores estaminadas de *C. sororia*, en la selva baja caducifolia de Chamela a partir de las 06:30 h de la mañana. Las barras indican el promedio (\pm 1EE) de visitas observadas en noviembre de 1995. Las especies identificadas fueron: Pep.: *Peponapis* sp.; Xen.: *Xenoglossa* sp.; Xilo: *Xilocopa* sp.; Apis: *Apis mellifera* y como morfoespecies se reconocieron: Andr: "Andrenide"; Ver.: "Verde"; Avis: "Avispa".

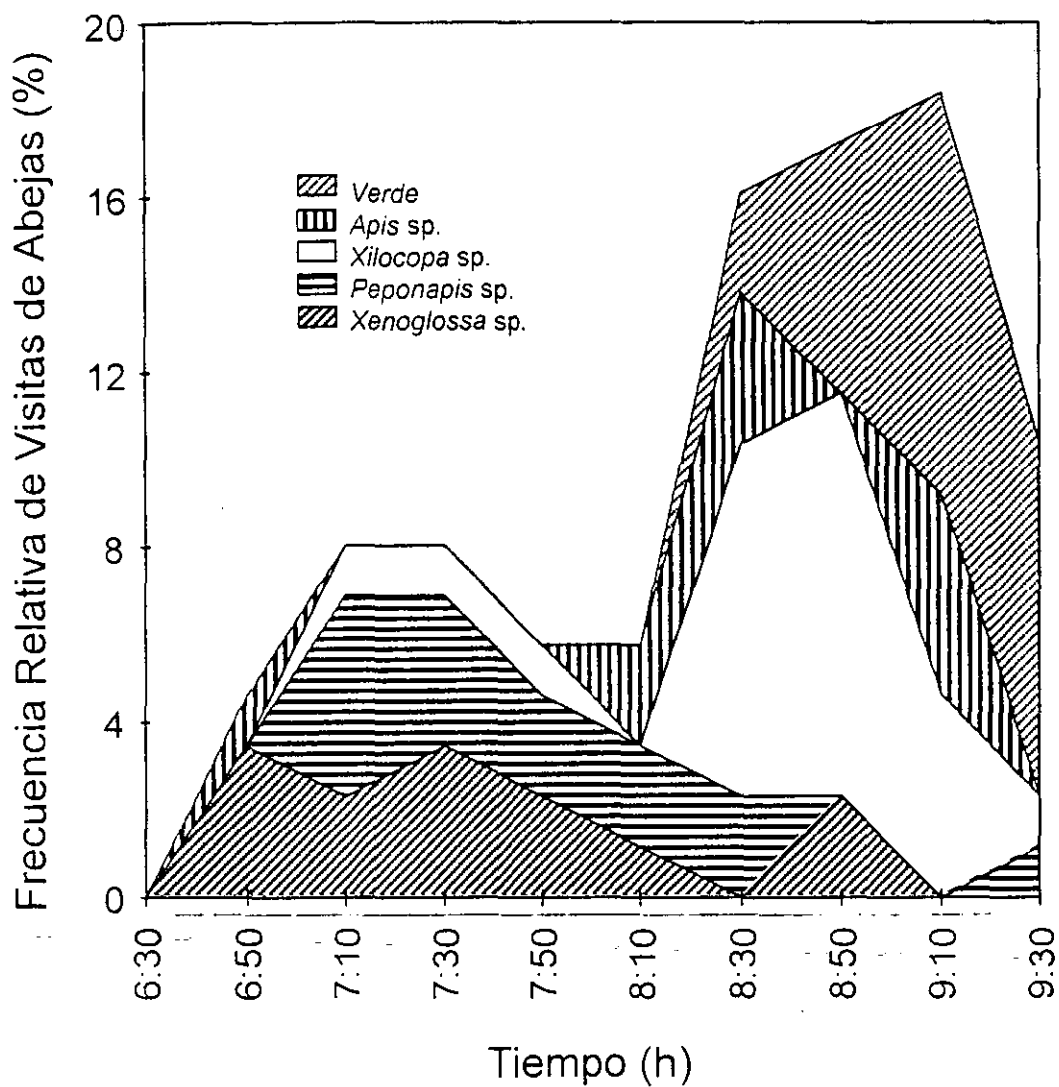


FIG. 11. Frecuencia de visitas de polinizadores durante la antesis de flores masculinas de *C. sororia* en la selva tropical caducifolia de Chamela. Las frecuencias se calcularon con base en el total de abejas observadas ($N = 89$) en 8 flores entre el 23 y el 28 de noviembre de 1995

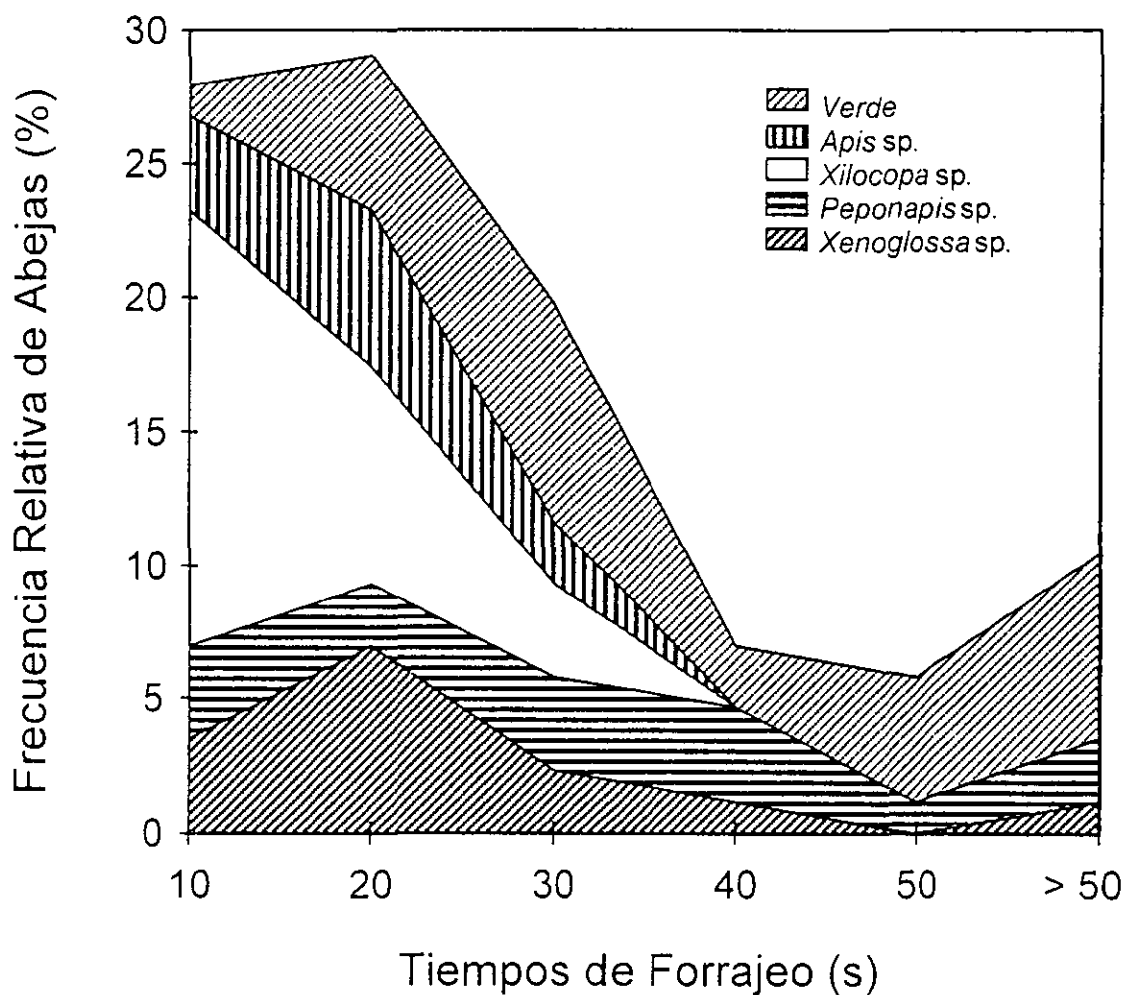


FIG. 12. Distribución de los tiempos de forrajeo de las especies de abejas que visitaron las flores masculinas de *C. sororia* en la selva tropical caducifolia de Chamela. Las frecuencias se calcularon con base en el total de abejas observadas ($N=89$) durante la antesis de 8 flores entre el 23 y el 28 de noviembre de 1995.

DISCUSION

Efecto de la frecuencia de cosecha sobre la producción de néctar en flores masculinas

La frecuencia de remoción afectó la secreción de néctar en *Cucurbita sororia*. Este efecto también se ha encontrado en otras plantas (Zimmerman y Pyke 1988, Búrquez y Corbet 1991). El aumento en la frecuencia de remoción de néctar no alteró el volumen de néctar pero disminuyó la concentración, lo cual afectó negativamente la producción de azúcar. Estos resultados indican que la cantidad de azúcar que obtienen las abejas está sobrerrepresentada por muestreos únicos y que la producción en principio no es estimulada con un aumento en la frecuencia de cosecha. También sugiere que las plantas asignan a las flores una cantidad fija de recursos para la producción de néctar como consecuencia de que *Cucurbita* almacena previamente, en forma de almidón, el azúcar que luego será hidrolizado para producir néctar (Nepi *et al.* 1996a).

Si el néctar es colectado repetidamente disminuye la dotación fija de azúcar pero no su volumen lo que resulta en una caída de su concentración. Como consecuencia de lo anterior hay una disminución en la oferta de azúcares por unidad de tiempo. Es posible que, por el contrario, las plantas que producen azúcares *ex novo* tengan la capacidad de responder al aumento en la frecuencia de cosechas con un incremento en la producción de néctar, cosa que no ocurriría en esta especie. Los resultados obtenidos podrían ser un artefacto del método de cosecha, sin embargo esto es poco probable ya que de haber ocurrido hubiera sido a favor de un aumento en la concentración de néctar obtenido por cosechas repetidas en el caso de que aumentara la evaporación del néctar y con ello su concentración. Los resultados indican la tendencia contraria. Otra posibilidad es que durante la cosecha repetida los capilares dañaran el néctario y se diluyera el néctar. Sin embargo, esta es una posibilidad remota debido a que los capilares fueron redondeados y se introdujeron con mucho cuidado minimizando la posibilidad de daño. Alternativamente el resultado observado puede ser una respuesta adaptativa que permite a las plantas dejar de invertir recursos en recompensas una vez que han sido visitadas.

Diversos antecedentes han documentado un aumento en el número de visitas de los polinizadores cuando es mayor la producción de néctar (revisado en Ratchke 1992, Weis y Campbell 1992). Este aumento puede tener consecuencias diferenciales sobre la adecuación masculina y femenina de las plantas. En algunos casos se encontró una relación positiva entre la

disponibilidad de néctar y el éxito de la polinización sobre la función femenina, evaluada como la producción de frutos (Heinrich 1975, Zimmerman 1983, Real y Rathcke 1991, Golubov *et al.* 1999), mientras que en otros no hubo relación (Pleasants y Chaplin 1983, Mitchell y Waser 1992, Mitchell 1993), o hubo un efecto negativo por el exceso de polen proveniente de la misma planta (geitonogamia) (Hodges 1995). Otros estudios mostraron una asociación positiva entre la producción de néctar de las flores masculinas y la remoción de polen (considerada como un estimador de la adecuación de la función masculina) (Pleasants y Chaplin 1983, Mitchell 1993). Esta evidencia destaca la importancia de la oferta de néctar sobre ambas funciones de adecuación a través de su efecto sobre el comportamiento de los polinizadores que son, en última instancia, los responsables de realizar el movimiento de polen entre plantas.

Los resultados indican que *C. sororia* promovería la donación efectiva de polen a los estigmas receptivos de flores femeninas a través de los siguientes cuatro mecanismos que regularían la actividad de los polinizadores: *i*) momento de inicio de la antesis, *ii*) la dinámica de producción de néctar en el tiempo, *iii*) cambio en la proporción de oferta polen:néctar a través del tiempo y *iv*) diferencias en la producción de néctar entre sexos. Enseguida analizo cada uno de estos mecanismos.

Momento de inicio de la polinización

El hecho de que la actividad de las abejas oligolécticas de *Cucurbita* comience en el amanecer, cuando aún no hay luz solar, les permitiría acceder a la recompensa floral de estas plantas, estando libres de la competencia con otras especies de abejas incapaces de volar en estas condiciones. Desde la perspectiva de la planta, esto implica que estos insectos son los primeros en acceder al polen. Las primeras visitas pueden ser especialmente importantes para la donación de polen viable, ya que éste generalmente disminuye su viabilidad a partir de la dehiscencia de la antera (Thomson y Thomson 1992). Además, este polen sería el primero en arribar a los estigmas receptivos e iniciar la germinación, colocándolos en una posición ventajosa para competir con otros granos de polen que al ser depositados más tarde, podrían no germinar si el estigma ya está saturado de polen o germinar con retraso en relación a los primeros. La ventaja que obtendría la planta de seleccionar a favor de estos polinizadores y no de otros dependería de la eficiencia de la polinización. Estudios recientes muestran que la eficiencia parece depender del ajuste entre las características morfológicas del polinizador (siendo el tamaño el más importante) y la flor, la

frecuencia de visitas de los polinizadores y de la afinidad por flores coespecíficas (Waser 1983, Neff y Simpson 1990, Rathcke 1992, Inoue y Makoto 1992). Los resultados de éste y otros estudios (Tepedino 1981, Callejas-Chavero 1992, Canto y Parra 2000) muestran que *Peponapis* sp. y *Xenoglossa* sp. realizan más visitas que las demás especies y, como ya se mencionó, son especialistas en las flores de *Cucurbita*. Las observaciones de campo también indican que existe una relación morfológica insecto-flor que favorecerían el transporte de polen. En el caso de *Peponapis* sp. la disposición vertical de la antera y lo estrecho del tubo de la corola obliga a las abejas a sujetarse de las anteras apoyando su cuerpo sobre el polen. Esta postura es adoptada por los insectos tanto para cosechar polen como para tomar néctar. Frecuentemente en el periodo de mayor actividad se puede observar en esa posición hasta tres abejas simultáneamente, forrajeando por néctar dentro de una misma flor. En *Xenoglossa* sp. el comportamiento es semejante, aunque el mayor tamaño de esta abeja impide que varios insectos ocupen al mismo tiempo la flor. Esta evidencia sugiere que el comportamiento de *Peponapis* sp. y *Xenoglossa* sp. (posiblemente condicionado por la morfología de las flores de *C. sororia*) favorecería la exportación eficiente de polen. De estas consideraciones se deduce que diferentes especies de polinizadores que varíen en sus conductas de forrajeo, sus preferencias por néctar y/o polen y su morfología pueden tener consecuencias importantes sobre el éxito reproductivo de las plantas (ver Rathcke 1992). Diversos estudios indican que la radiación evolutiva de las especies de *Peponapis* y *Xenoglossa* podría estar estrechamente ligada a la diversidad de especies de *Cucurbita* (Hurd *et al.* 1971). Esta evidencia de comportamiento y antecedentes de especialización en esta interacción planta-polinizador sugiere que ambos géneros son polinizadores eficientes de estas plantas.

Dinámica de la producción de néctar

El patrón diario de producción de néctar de *C. sororia* muestra que las flores concentran su producción durante un periodo relativamente breve, alrededor del amanecer. Las flores sólo producen néctar durante un poco más de dos horas en promedio y el máximo observado en algunas flores fue tres horas y media. La producción de néctar se inicia luego de la apertura floral y alcanza la tasa máxima de secreción una hora después. La mayor concentración de azúcar en el néctar se produce al inicio de la secreción y se corresponde con la encontrada en otras plantas de selva tropical seca polinizadas por abejas (Baker y Baker 1983). Algunos autores sugieren que el momento de la iniciación de secreción de néctar en las plantas y la tasa de producción posterior

están sincronizadas con el tiempo de mayor actividad de sus polinizadores (Cruden *et al.* 1983, Martínez del Río y Burquez 1986). En coincidencia con este patrón, en las flores de *C. sororia* a medida que la producción de néctar aumenta, las abejas del género *Peponapis* y *Xenoglossa* incrementan el número de visitas. Como era de esperarse, este comportamiento de los visitantes respondería más a la variación temporal en la disponibilidad de energía, representada por la cantidad de azúcar total, que al volumen de néctar. Al igual que ocurre con el número, es posible que la duración de las visitas también se incremente con el néctar (Neff y Simpson 1990). Diversos antecedentes indican que la duración y la frecuencia de visita de los polinizadores están en relación directa con la cantidad de polen removido (Galen y Stanton 1989), por lo que esperaríamos que la donación de polen se correlacione con el patrón de producción de azúcar. La producción de néctar cesa relativamente temprano en relación con el periodo de tiempo en el que la flor permanece abierta. Sin embargo, mis observaciones indican que la remoción de polen en algunas flores se completa en una hora y media después de la antesis, incluso antes de que la secreción de néctar termine, lo cual es coincidente con lo observado en *Cucurbita pepo*, cuando es polinizada por *Peponapis pruinosa* (Kevan *et al.* 1988).

Cambios en la proporción polen:néctar ofrecida durante la antesis

Ambos géneros de abejas forrajea tanto por néctar como por polen, pero la carencia de néctar en el momento de la apertura floral, sugiere que la principal actividad al inicio de la antesis es la cosecha de polen. Como consecuencia de esto, las plantas al diferir la presentación del néctar podrían favorecer la exportación del polen y su transferencia hacia los estigmas receptivos. Sin embargo, parecería que también existe otro mecanismo que promueve el flujo de polen. Si consideramos que la oferta de polen durante la antesis es inversamente proporcional a la de néctar (la cantidad de polen es máxima cuando las flores recién abren, declinando a partir de este momento mientras la producción de néctar aumenta) podemos inferir que el cambio relativo en la proporción de recompensa polen:néctar (que disminuye en el tiempo), puede ser un estímulo que regula el patrón de forrajeo de las abejas. Esta dinámica en la oferta de recompensas favorecería a los polinizadores que van primero por polen casi exclusivamente y luego por polen y néctar. Una evidencia que apoya la ocurrencia de este patrón es la existencia de diferencias entre los sexos de las abejas en la preferencia del recurso. Las hembras forrajean por polen desde el principio de la antesis para almacenarlo en sus nidos [más del 85% del polen acumulado en los nidos de

Xenoglossa fulva corresponde a *Cucurbita* (Callejas-Chavero 1992)]. Por el contrario, los machos inician su vuelo más tarde y forrajean principalmente por néctar (Capítulo 3. Willis y Kevan 1995). Como consecuencia de este comportamiento, la eficiencia de transporte del polen dependería del sexo de estos polinizadores. No es raro observar a los machos permanecer un largo tiempo dentro de la flor tomando néctar, y luego posarse sobre la corola y remover todo el polen adherido a su cuerpo antes de emprender el vuelo. El desperdicio de polen producido por esta conducta actuaría como una presión de selección negativa sobre la secreción de néctar de manera semejante al efecto producido por los ladrones de néctar (Ratchke 1992) porque la planta no obtuvo el beneficio de la exportación del polen, a pesar de la inversión potencial de recursos que demandó la producción del néctar. Por lo anterior, mientras que las hembras podrían ser una presión de selección para que aumente la producción de néctar en las plantas, los machos impondrían un límite a esta presión si su comportamiento es similar a los ladrones de néctar.

Producción de néctar entre flores de diferentes sexos

Las flores femeninas de *Cucurbita sororia* producen más néctar que las masculinas, al igual que lo encontrado en *C. pepo* (Nepi *et al.* 1996b) y otras especies (Kay *et al.* 1984, McDade 1986, revisado en Willson y Ågren 1989). La mayor cantidad de azúcar de las flores femeninas podría estar explicada por un mayor desarrollo del tejido del nectario en relación a las flores masculinas.

Los antecedentes muestran que las plantas necesitan un número mayor de visitas para remover el polen de una flor masculina (i. e., adecuación masculina) que el requerido para recibir el polen en los estigmas y alcanzar un nivel equivalente de adecuación femenina (Willson 1994, Wilson *et al.* 1994b, Aizen y Basilio 1998). Esta evidencia se ha usado para explicar la tendencia encontrada en las plantas cuyas flores masculinas producen más néctar que las femeninas (Devlin y Stephenson 1985, Klinkhamer y de Jong 1990, Aizen y Basilio 1998). La aparente falta de apoyo a esta evidencia en el caso de las flores femeninas como las de *C. sororia* puede ser resuelta si consideramos la proporción sexual en las plantas de las poblaciones naturales de *Cucurbita sororia*. La relación entre sexos es aproximadamente 10:1 flores masculinas:femeninas por día (obs. pers.). Si además de la mayor densidad de flores masculinas consideramos que éstas ofrecen no solo néctar sino también polen, parece razonable invocar a la mayor producción de néctar por las flores femeninas como un medio para atraer a los polinizadores a pesar de su baja densidad. Esto puede ser cierto aún cuando las flores femeninas requieran menos visitas que las

flores masculinas debido a que su baja densidad puede afectar negativamente *i*) la probabilidad de que una flor sea encontrada o no, así como *ii*) el número de encuentros posibles.

Efecto del retraso fenológico sobre la comunidad de polinizadores

y sus posibles consecuencias sobre el flujo génico

Las condiciones ambientales de las selvas estacionales determinan que la abundancia de los polinizadores especialistas decline a medida que avanza la estación. La sincronización fenológica puede ser, por lo anterior, un factor importante para la intensidad de la exogamia de las plantas. El retraso en la floración en el segundo año del estudio determinó un cambio dramático en la composición y abundancia de especies. Mientras que los polinizadores especialistas *Peponapis* sp. y *Xenoglossa* sp. declinaron sensiblemente en abundancia, otras especies de generalistas como *Xilocopa* sp. aparecieron y otras, como *Apis mellifera*, incluso aumentaron. Los antecedentes muestran que la calidad del servicio de la transferencia de polen varía ampliamente entre diferentes especies de polinizadores (Stanton *et al.* 1991, Wilson y Thomson 1991, Thomson y Thomson 1992). Como ya se discutió, en *C. sororia* lo anterior puede ser particularmente cierto. Un antecedente que puede indicar lo contrario es que las plantas del género *Cucurbita* pueden ser polinizadas por un gremio amplio de especies de abejas, lo que podría explicar porqué su ámbito de distribución se extiende hacia regiones donde no se encuentran sus polinizadores más afines. Por lo anterior, podemos concluir que la disminución o ausencia de sus abejas especialistas no limitan la capacidad de las plantas para formar semillas. Sin embargo, la mayoría de estas plantas son cultivadas, y por lo tanto controladas genéticamente por el hombre. Esta situación dificulta el uso de esta evidencia para hacer inferencias sobre cuál es el efecto que tendría la ausencia de los polinizadores especialistas sobre la calidad genética de las semillas. Lo expuesto en este estudio, sin embargo, sugiere que el momento del día en que ocurre la antesis de las flores, su duración, el patrón de oferta de recompensa y la cantidad ofertada están íntimamente asociados al comportamiento de *Peponapis* sp. y *Xenoglossa* sp. Es posible que la ausencia de estos polinizadores o su disminución, como ocurrió cuando la población floreció más tarde en la estación, tenga consecuencias no sobre el número de semillas por planta, pero sí sobre la calidad de las mismas, lo cual a su vez puede limitar el número de descendientes que lleguen a la edad reproductiva. Esto podría ocurrir si polinizadores diferentes a los más efectivos (*Peponapis* sp. y *Xenoglossa* sp.) aumentan la endogamia. En otras especies de *Cucurbita* las plantas han mostrado

evidencia de depresión por endogamia (Johannsson *et al.* 1998), por lo que podría ser posible que esta especie tenga las mismas características. Es razonable suponer, considerando que se trata de plantas monoicas con flores unisexuales, que el nivel de entrecruzamiento es importante para estas poblaciones de plantas. Mantener un nivel significativo de variabilidad genética podría ser crítico para sobrevivir en un ambiente estacional como la selva seca para especies colonizadoras como *C. sororia*. Esta es una línea de investigación promisorio, que merece ser explorada.

Este estudio muestra que las flores de *C. sororia* tienen un patrón diario y estacional de oferta de néctar que es seguido estrechamente por abejas oligolecticas, pero no por las abejas generalistas. A partir de esta evidencia se puede inferir, en el contexto de las interacciones herbívoro-planta-polinizador, que los cambios en la oferta de recompensas ocasionados por la herbivoría (ver Capítulo 4) podrían alterar sensiblemente el patrón de forrajeo de las abejas especialistas. Los efectos podrían ocurrir tanto sobre la abundancia de las visitas durante la anthesis como sobre la composición de especies, si se produce un retraso en la floración. Como ya se discutió, este efecto puede tener consecuencias diferentes sobre la función masculina y femenina. Para igual grado de reducción en el número de visitas esperamos que la función masculina sea más afectada que la función femenina (si la reproducción no está limitada por polen). De igual manera, además de la adecuación, podría afectarse la estructura genética de los descendientes si se produce un reemplazo en la comunidad de polinizadores de las especies más eficientes para la planta, por especies menos eficientes. La importancia de estos efectos potenciales de la herbivoría sobre las recompensas y la fenología floral a través de su efecto sobre los polinizadores requieren estudios específicos orientados a evaluar con detalle cuáles son las consecuencias que estas interacciones múltiples tienen sobre la adecuación de la plantas, y este es el tema central de los capítulos subsecuentes de esta tesis.

LITERATURA CITADA

Aizen, M. A. y A. Basilio. 1998. Sex differential nectar secretion in protandrous *Alstroemeria aurea* (Alstroemeriaceae): Is production altered by pollen removal and receipt? *American Journal of Botany* 85:245-252.

- Arroyo, M. T. K., J. Armesto y R. Primack. 1985. Community studies in pollination ecology in the high Andes of central Chile. II. Effect of temperature on visitation rates and pollination possibilities. *Plant Systematics and Evolution* 149:187-203.
- Baker, H. G. e I. Baker. 1983. A brief historical review of the chemistry of floral nectar. *En:* Bentley, B. y T. Elias, eds. *The biology of nectaries*. Pp:126-152. Columbia University Press. New York.
- Bell, G., L. Lefebvre, L-A. Giraldeau y D. Weary. 1984. Partial preference of insects for the male flowers of an annual herb. *Oecologia* 64:287-294.
- Broyles, S. B. y R. Wyatt. 1991. Effective pollen dispersal in a natural population of *Asclepias exaltata* : The influence of pollinator behavior, genetic similarity, and mating success. *American Naturalist* 138:1239-1249.
- Bullock, 1986. Climate of Chamela, Jalisco, and trends in the south coastal region of México. *Arch. Met. Geoph. Biocl. Ser. B* 36:297-316.
- Búrquez, A. y S. A. Corbett. 1991. Do flowers reabsorb nectar? *Functional Ecology* 5:369- 379.
- Callejas Chavero, A. 1992. Biología de anidación y actividad de pecoreo en *Xenoglossa fulva* Smith (Hymenoptera; Anthoporidae). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México.
- Cameron, S. A. 1981. Chemical signals in bumblebee foraging . *Behav. Ecol. Sociobiol.* 9:257-260.
- Campbell, D. C., N. M. Waser, M. V. Price, E. A. Lynch y R. J. Mitchell. 1991. A mechanistic analysis of phenotypic selection: Pollen export and flower corolla width in *Ipomopsis aggregata*. *Evolution* 45:1458-1467.
- Canto-Aguilar M. A. y V. Parra-Tabla. 2000. Importance of conserving alternative pollinators: Assessing the pollination efficiency of the squash bee, *Peponapis limitaris* in *Cucurbita moschata* (Cucurbitaceae). *Journal of Insect Conservation* 4:203-210.
- Conner, J. K., R. Davis y S. Rush. 1995. The effect of wild radish floral morphology on pollination efficiency by four taxa of pollinators. *Oecologia.* 104:234-245.
- Cruden, R. W., S. M. Hermann y S. Peterson. 1983. Patterns of nectar production and plant-pollinator coevolution. *En:* Bentley, B. y T. Elias, eds. *The biology of nectaries*. Pp:80-125. Columbia University Press. New York.

- Devlin, B. y A. G. Stephenson. 1985. Sex differential floral longevity, nectar secretion, and pollinator foraging in a protandrous species. *American Journal of Botany* 72:303-310.
- Faegri, K. y L. van der Pijl. 1979. *The principles of pollination ecology*. Pergamon Press, Oxford.
- Galen, C. y M. L. Stanton. 1989. Bumblebee pollination and floral morphology: Factors influencing pollen dispersal in the alpine sky pilot, *Polemonium viscosum* (Polemoniaceae). *American Journal of Botany* 76:419-426
- Golubov, J. L. E. Eguiarte, M. C. Mandujano, J. López-Portillo y C. Montaña. 1999. Why be a honeyless honey mesquite? Reproduction and mating system of nectarful and nectarless individuals. *American Journal of Botany* 86:955-963.
- Heinrich, B. 1975. Energetics of pollination. *Annual Review of Ecology and Systematics* 6:139-170.
- Herrera, C. M. 1995. Microclimate and individual variation in pollinators: flowering plants are more than their flowers. *Ecology* 76: 1516-1524.
- Hodges, S. A. 1995. The influence of nectar production on hawkmoth behavior, self pollination, and seed production in *Mirabilis multiflora* (Nyctaginaceae). *American Journal of Botany* 82:197-204.
- Hurd, P. D. 1967. Squash and gourd bees of the genus *Xenoglossa* (Hymenoptera: Apoidea). *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 60:988-1007.
- Hurd, P. D. 1970. A classification of the squash and gourd bees (*Peponapis* and *Xenoglossa*). Univ. California: Publ. Ent. 62:1-39.
- Hurd, P. D. y E. G. Linsley. 1964. The squash and gourd bees-genera *Peponapis* Robertson and *Xenoglossa* Smith- inhabiting America North of Mexico (Hymenoptera: Apoidea). *Hilgardia* 35:375-477.
- Hurd, P. D., E. G. Linsley y T. W. Whitaker. 1971. Squash and gourd bees (*Peponapis*, *Xenoglossa*) and the origin of the cultivated Cucurbita. *Evolution* 25:218-234.
- Hurd, P. D., E. G. Jr. Linsley, A. E. Michelbacher. 1974. Ecology of the squash and gourd bee, *Peponapis pruinosa*, on cultivated cucurbits in California (Hymenoptera: Apoidea). *Smithsonian Contributions to Zoology* 168:17.
- Inoue, T. Y K. Makoto. 1992. Inter and intraspecific morphological variation in bumblebee species and competition in flower utilization. *En: M. D. Hunter, T. Ohgushi, y P. W.*

- Price, eds. Effects of resource distribution on animal-plant interactions. Pp:394-427. Academic Press, New York.
- Johannsson, M. H., M. J. Gates y A. G. Stephenson. 1998. Inbreeding depression affects pollen performance in *Cucurbita texana*. *Journal of Evolutionary Biology* 11:579-588.
- Kay, Q. O. N., A. J. Lack, F. C. Bamber y C. R. Davies. 1984. Differences between sexes in floral morphology, nectar production and insect visits in a dioecious species, *Silene dioica*. *New Phytologist* 98:515-529.
- Kevan, P. y H. Baker. 1983. Insects as flower visitors and pollinators. *Annual Review of Entomology* 28:407-453.
- Kevan, P. G., N. A. Mohr, M. D. Offer y J. R. Kemp. 1988. The squash and gourd bee, *Peponapis pruinosa* (Hymenoptera: Anthophoridae) in Ontario, Canada. *Proceedings of the Entomological Society of Ontario* 119: 9-15.
- Klinkhamer, P. G. L. y T. J. de Jong. 1990. Effects of plant size, plant density and sex differential nectar reward on pollinator visitation in the protandrous *Echium vulgare* (Boraginaceae). *Oikos* 57:399-405.
- Levin, D.A. y H. W. Kerster. 1974. Gene flow in seed plants. *Evolutionary Biology* 7: 139- 220.
- Lira-Saade, R. 1995. Estudios Taxonómicos y Ecogeográficos de las Cucurbitaceae Latinoamericanas de Importancia Económica. Systematic and Ecogeographic Studies on Crop Genepools. 9. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- Lott, E. J., S. H. Bullock y J. A. Solís-Magallanes. 1987. Floristic diversity and structure of upland and arroyo forests in lowland Jalisco. *Biotropica* 19:228-235.
- Marden, J. H. 1984. Remote perception of floral nectar by bumblebees. *Oecologia* 64:232-240.
- Martínez del Río C. y A. Burquez. 1986. Nectar production and temperature dependent pollination in *Mirabilis jalapa*. *Biotropica* 18:28-31.
- McCall, C. y R. B. Primack. 1992. Influence of flower characteristics, weather, time of day, and season on insect visitation rates in three plant communities. *American Journal of Botany* 79:434-442.
- McDade, L. A. 1986. Protandry, synchronized flowering and sequential phenotypic unisexuality in neotropical *Pentagonia macrophylla* (Rubiaceae). *Oecologia* 68:218-223.
- Mitchell, R. 1993. Adaptive significance of *Ipomopsis aggregata* nectar production: observation

- and experiment in the field. *Evolution* 47:25-35.
- Mitchell, R. J. y N. M. Waser. 1992. Adaptive significance of *Ipomopsis aggregata* nectar production: Pollination success of single flowers. *Ecology* 73:633-638
- Neff, J. L. y B. B. Simpson. 1990. The roles of phenology and reward structure in the pollination biology of wild sunflower (*Helianthus annuus* L. Asteraceae). *Isr. J. Bot.* 39:197-216.
- Nepi, M., F. Ciampolini y E. Pacini. 1996a. Development and ultrastructure of *Cucurbita pepo* nectaries of male flowers. *Annals of Botany* 78:95-104.
- Nepi, M., F. E. Pacini y M. T. M. Willemse. 1996b. Nectary biology of *Cucurbita pepo*: Ecophysiological aspects. *Acta Botanica Neerlandica* 45:41-54.
- Ordway, E. S., L. Buchmann, R. O. Kuehl. C. W. Shipman. 1987. Pollen dispersal in *Cucurbita foetidissima* (Cucurbitaceae) by bees of the genera *Apis*, *Peponapis* and *Xenoglossa* (Hymenoptera: Apidae, Anthophoridae). *Journal of the Kansas Entomological Society.* 60:489-503.
- Ott, J. R., L. Real y E. Silverfine. 1985. The effect of nectar variance on bumblebee patterns of movement and potential gene dispersal. *Oikos* 45:333-340
- Pleasants, J. M. 1983. Nectar production patterns in *Ipomopsis aggregata* (Polemoniaceae). *American Journal of Botany* 70:1469-1475
- Pleasants, J. M. y S. J. Chaplin. 1983. Nectar production rates of *Asclepias quadrifolia*: causes and consequences of individual variation. *Oecologia* 59:232-238
- Potts, S. G., A. Dafni. G. Ne'eman. 2001. Pollination of a core flowering shrub species in Mediterranean phrygana: variation in pollinator diversity, abundance and effectiveness in response to fire. *Oikos.* 92: 1, 71-80.
- Pyke, G. H. 1981a. Optimal foraging in nectar-feeding animals and coevolution with their plants. *En: A. C. Kamil y T. D. Sargent. eds. Foraging behavior: ecological, ethological, and psychological approaches. Pp:19-48* Garland, New York.
- Pyke, G. H. 1981b. Optimal nectar production in a hummingbird pollinated plant. *Theoretical Population Biology* 20:326-343
- Pyke, G. H. 1984. Optimal foraging theory: A critical review. *Annual Review of Ecology Systematics* 15:523- 575.
- Pyke, G.H. 1991. What does it cost a plant to produce floral nectar? *Nature* 350:58-59.

- Pyke, G. H., H. R. Pulliam y E. L. Charnov. 1977. Optimal foraging: A selective review of theory and tests. *Q. Rev. Biol.* 52:137-154.
- Rasmussen, I. R. y B. Broedsgaard. 1992. Gene flow inferred from seed dispersal and pollinator behaviour compared to DNA analysis of restriction site variation in a patchy population of *Lotus corniculatus* L. *Oecologia* 89:277-283.
- Rathcke, B. J. 1992. Nectar distributions, pollinator behavior, and plant reproductive success. *En: M. D. Hunter, T. Ohgushi, y P. W. Price, eds. Effects of resource distribution on animal-plant interactions.* Pp:113-138. Academic Press, New York.
- Real L. A. y B. J. Rathcke. 1991. Individual variation in nectar production and its effect on fitness in *Kalmia latifolia*. *Ecology* 72:149-155.
- Rozen J. G. y R. Jr. Ayala. 1987. Nesting biology of the squash bee *Peponapis utahensis* (Hymenoptera; Anthophoridae; Eucerini). *Journal of the New York Entomological Society.* 95:28-33.
- Rzedowski, J. 1978. *Vegetación de México.* Editorial Limusa, México.
- Schemske, D. W. y H. D. Bradshaw, Jr. 1999. Pollinator preference and the evolution of floral traits in monkeyflowers (*Mimulus*). *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96:11910-11915.
- Schoener T. W. 1971. Theory of feeding strategies. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 2:369-404.
- Simpson, B. B. y J. L. Neff. 1983. Evolution and diversity of floral rewards. *En: C. E. Jones y R. J. Little, eds. Handbook of experimental pollination biology.* Pp:142-159. Scientific and Academic Editions, Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- Southwick, E. E. 1984. Photosynthate allocation to floral nectar: a neglected energy investment. *Ecology* 65:1775-1779.
- Stanton, M. L., H. J. Young, N. C. Ellstrand y J. Clegg. 1991. Consequences of floral variation for male and female reproduction in experimental populations of wild radish, *Raphanus sativus* L. *Evolution* 45:268-280.
- Sun Mei, K. C. Wong y Joe S. Y. Lee. 1998. Reproductive biology and population genetic structure of *Kandelia candel* (Rhizophoraceae), a viviparous mangrove species. *American Journal of Botany* 85:1631-1637.

- Tepedino, V. J. 1981. The Pollination Efficiency of the Squash Bee (*Peponapis pruinosa*) and the Honey Bee (*Apis mellifera*) on Summer Squash (*Cucurbita pepo*). *Journal of the Kansas Entomological Society* 54:359-377.
- Thomson, J. D. y B. A. Thomson. 1992. Pollen presentation and viability schedules and their consequences for reproductive success through animal pollination. *En: R. Wyatt, ed. Ecology and evolution of plant reproduction: new approaches. Pp:1-24. Chapman and Hall, New York.*
- Waser, N. M. 1983. The adaptative nature of floral traits. *En: Real L, ed. Polination biology. Pp:242-285. Academic Press, New York.*
- Weis, A. E. y D. R. Campbell. 1992. Plant genotype: a variable factor in insect-plant interactions. *En: M. D. Hunter, T. Ohgushi, y P. W. Price, eds. Effects of resource distribution on animal-plant interactions. Pp:113-138. Academic Press, New York.*
- Westerbergh, A. y A. Saura. 1994. Gene flow and pollinator behaviour in *Silene dioica* populations. *Oikos* 71:215-224.
- Whitaker, T. W. y G. N. Davis. 1962. The cucurbits-botany, cultivation and utilization. *World Crops Books. Leonard Hill Lm, London.*
- Willis, D. S. y P. G. Kevan. 1995. Foraging dynamics of *Peponapis pruinosa* (Hymenoptera: Anthophoridae) on pumpkin (*Cucurbita pepo*) in southern Ontario. *Canadian Entomologist* 127:167-175.
- Willson, M. F. 1994. Sexual selection in plants: perspective and overview. *American Naturalist* 144:S13-S19.
- Willson, M. F. y J. Ågren. 1989. Differential floral rewards and pollination by deceit in unisexual flowers. *Oikos* 55:23-29.
- Wilson, H. D. 1990. Gene flow in squash species. *BioScience*. 40:449-455.
- Wilson, H. D., R. Lira e I. Rodriguez. 1994a. Crop/weed gene flow: *Cucurbita argyrosperma* Huber and *C. fraterna* L. H. Bailey (Cucurbitaceae). *Economic Botany* 48:293-300.
- Wilson, P. y J. D. Thomson. 1991. Heterogeneity among floral visitors leads to discordance between removal and deposition of pollen. *Ecology* 72:1503-1507.
- Wilson, P., J. D. Thomson, M. L. Stanton y L. P. Rigney. 1994b. Beyond floral batemania: gender biases in selection for pollination success. *American Naturalist* 143:283-296.

- Wyatt, R., S. B. Broyles y G. S. Derda. 1992. Environmental influences on nectar production in milkweeds (*Asclepias syriaca* and *A. exaltata*). *American Journal of Botany* 79:636-642.
- Zimmerman, M. 1983. Plant reproduction and optimal foraging: Experimental nectar manipulations in *Delphinium nelsonii*. *Oikos* 41: 57-63.
- Zimmerman, M. 1988. Nectar production, flowering phenology, and strategies for pollination. *En: Lovett Doust J. y L. Lovett Doust, eds. Plant reproductive ecology. Oxford University Press, Oxford.*
- Zimmerman, M. y A. H. Pyke. 1988. Experimental manipulations of *Polemonium foliosissimum*: effects on subsequent nectar production, seed production, and growth. *Journal of Ecology* 76:777-789.

Capítulo 3

Efectos de la herbivoría sobre el crecimiento y el éxito reproductivo masculino y femenino de *Cucurbita sororia*

RESUMEN

La organización modular de las plantas y su compartimentalización fisiológica determinan un gradiente de respuesta al daño foliar que abarca desde la compensación hasta la pérdida total de adecuación. El tipo de respuesta depende del momento en que se produce el daño, su distribución en la planta y la disponibilidad de recursos con que ésta cuenta. Los efectos de la herbivoría sobre el crecimiento y la reproducción pueden manifestarse mediante cambios en los parámetros de demografía foliar que determinan la capacidad fotosintética de la planta. En las especies cosexuales, el éxito reproductivo se logra a través de las funciones masculinas y femeninas (vía polen y óvulo), por lo tanto es importante examinar el efecto que tiene la herbivoría sobre ambos componentes de la reproducción.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del daño foliar sobre los parámetros demográficos del crecimiento y el éxito reproductivo medido como la producción de flores masculinas y femeninas así como la relación entre ambos en una enredadera protándrica monoica *Cucurbita sororia*. Los tratamientos consistieron de dos niveles de intensidades de daño artificial (25% y 75%) y un testigo en un diseño totalmente aleatorizado en el invernadero. Tanto la demografía foliar (natalidad, mortalidad y longevidad) como la producción de flores masculinas y femeninas fueron medidos para evaluar el crecimiento de la planta y el esfuerzo reproductivo, respectivamente. También medió la producción de polen, el tamaño de la corola y el tiempo de desarrollo de las flores. El daño foliar afectó la natalidad, mortalidad y longevidad de las hojas. El 25% de daño foliar aumentó la natalidad de hojas, marginalmente la longevidad, pero no la mortalidad en relación al testigo. Las plantas con daño severo tuvieron menor número de hojas debido al aumento de la mortalidad y la disminución de la longevidad, a pesar de que mantuvieron la misma natalidad que las plantas testigo. El daño foliar redujo la producción de flores y sus efectos fueron más severos sobre las flores femeninas. Las plantas con mayor daño retrasaron la floración, produjeron significativamente menos flores masculinas, comparado con el testigo, y no produjeron flores femeninas. El retraso en la floración fue causado por un aumento en el tiempo de desarrollo de las flores masculinas y del número de flores que abortan. El daño moderado también disminuyó la producción de flores femeninas, pero no afectó la producción de flores masculinas. La producción de polen se mantuvo con daño moderado y disminuyó con daño severo en relación con el testigo. El tamaño de la corola fue afectado en ambos niveles de daño (25% y 75%). La defoliación produjo una correlación negativa entre la natalidad foliar y la producción de flores masculinas, y una correlación positiva entre natalidad y mortalidad de hojas pero sólo en las plantas con daño severo.

Las plantas con daño severo incrementaron la proporción de asignación de recursos para el crecimiento en detrimento de la reproducción, mientras que las plantas con daño moderado compensaron tanto el crecimiento como la reproducción masculina. El daño afectó más la función sexual que mayores costos impone a la planta. Las plantas responden al daño priorizando diferencialmente la asignación de recursos entre crecimiento, reproducción masculina y reproducción femenina. Las plantas monoicas como *C. sororia* al poder desacoplar las inversiones de recursos entre sexos regulan la inversión en la reproducción entre las funciones masculina y femenina disminuyendo los compromisos entre reproducción y crecimiento. El crecimiento es priorizado aún en niveles muy altos de daño en relación a la reproducción. La reproducción masculina es más compatible con el crecimiento que la reproducción femenina. Esta modificación en las proporciones internas de asignación ante el daño permiten compensar la reproducción masculina y el crecimiento. Como consecuencia de ello las enredaderas con daño foliar pueden continuar la reproducción mientras colonizan nuevos ambientes lumínicos de la selva.

INTRODUCCION

Las interacciones herbívoro-planta se caracterizan por la amplitud de respuesta que presentan las plantas al daño. Esta amplitud de respuestas se puede manifestar asociada a la heterogeneidad ambiental y puede ser expresada a través de plasticidad fenotípica o diferenciación genética (Boege y Dirzo 2001). No obstante, aún dentro de una misma población y en condiciones ambientales relativamente restringidas, la variación en la respuesta es considerable. Tal variación a nivel local es el resultado de la forma de crecimiento de las plantas, a través de la reiteración de módulos (Harper 1977, White 1979, 1984) y de su organización fisiológica en subunidades funcionales relativamente autónomas (Watson y Casper 1984, Pitelka y Ashmun 1985). Una consecuencia de esta compartimentalización es que la dirección del transporte de recursos dentro de la planta está determinada por la ubicación relativa de las áreas de suministro (i. e., fuentes: hojas y órganos de almacenamiento) y de utilización (i. e., sumideros: meristemas activos, flores, frutos, órganos de almacenamiento) (Watson y Casper 1984, Wardlaw 1990) de recursos.

Las plantas pueden cambiar las relaciones fuente-sumidero en respuesta al daño y modificar los patrones de distribución y repartición de recursos entre las funciones de crecimiento, almacenamiento, defensa y reproducción (Haukioja *et al.* 1990, Herms y Mattson 1992, Trumble *et al.* 1993, Rosenthal y Kotanen 1994, Karban y Baldwin 1997). Los cambios en las relaciones fuente-sumidero están determinados por el número de meristemas que se activan en respuesta al daño y por la flexibilidad del programa morfogénico de construcción de la planta, lo que determina la intensidad de la demanda de recursos internos (Whitham *et al.* 1991). Esta demanda puede ser satisfecha con aumentos en la tasa de fotosíntesis de las fuentes (por ejemplo hojas y tallos fotosintéticos) (Painter y Detling 1981, Caldwell *et al.* 1981, Heichel y Turner 1983, revisado en Welter 1989, Bowman y Conant 1994) y con movilizaciones de nutrientes y glúcidos almacenados, así como a través de modificaciones en la capacidad de asimilación de nutrientes del suelo (Ruess 1988).

La variación en la respuesta a través de estos cambios difiere entre taxa y depende del momento de desarrollo en que se encuentra la planta cuando recibe el daño, así como de su nivel de integración vascular, de la tasa intrínseca de crecimiento y de la capacidad de almacenar nutrientes y glúcidos (Rosenthal y Kotanen 1994).

Las características más importantes del tipo de daño que producen los folívoros y que condicionan estas repuestas son: la cantidad y edad de las hojas (área foliar) removidas por los folívoros; el momento del ataque con respecto al desarrollo de la planta; la frecuencia de daño y la distribución espacial del daño dentro de la planta (Dirzo 1984, Marquis 1996).

La interacción entre las características del daño y de la capacidad de reacción de la planta determina un gradiente de respuestas que puede abarcar desde la compensación hasta la pérdida total de adecuación (Whitham *et al.* 1991). A pesar de esta amplitud de respuestas, los herbívoros que se alimentan de hojas con frecuencia afectan negativamente a las plantas al limitar su capacidad de generar recursos para el crecimiento y la reproducción (revisado por Crawley 1983, Hendrix 1988, Louda *et al.* 1990, Fritz y Simms 1992, Marquis 1992).

Los efectos de la herbivoría sobre el crecimiento de las plantas pueden manifestarse cuantitativamente mediante cambios en la natalidad y mortalidad de sus hojas, así como en las expectativas de vida de las mismas. Estos cambios modifican la dinámica (i. e., el recambio foliar), el número y distribución de las hojas y el área foliar total (Louda 1984). Dichas modificaciones determinan la capacidad fotosintética de la planta para sostener el crecimiento y, finalmente, la reproducción.

Asociado a los efectos del daño foliar sobre la capacidad fotosintética (Whittaker 1984), la herbivoría puede reducir dramáticamente el crecimiento de las plantas (Kulman 1971, Marquis 1984), la sobrevivencia (Rausher y Feeney 1980, Clark y Clark 1985), alterar la arquitectura, demorar o disminuir la reproducción sexual (Crawley 1983, Whitham *et al.* 1991), cambiar la expresión sexual (Freeman *et al.* 1980, Whitham y Mopper 1985, Hendrix y Trapp 1989) y puede, finalmente, limitar la adecuación de la planta (Marquis 1988, 1992a, Hendrix 1988).

Se estima que entre el 80 y 90% de las Angiospermas existentes son cosexuales (Lloyd 1979, Yampolsky y Yampolsky 1922). En las especies cosexuales, el éxito reproductivo se logra a través de la contribución masculina y femenina (i. e., vía polen y óvulos respectivamente). La mayoría de la información disponible sobre los efectos de la herbivoría sobre la reproducción aborda las consecuencias de tal efecto sobre el éxito reproductivo por la vía femenina (frutos y producción de semillas) (Stephenson 1981, Stephenson 1982, Roach y Wulff 1987, Lee 1988, Marquis 1988, ver revisión de Hendrix 1988, Marquis 1992, Snow y Lewis 1993, Obeso 1993). En contraste, pocos estudios han intentado documentar los efectos sobre el éxito masculino

(Sacchi *et al.* 1988, Hendrix y Trapp 1989, Allison 1990, Mutikainen *et al.* 1994, Quesada *et al.* 1995, Strauss *et al.* 1996, Gronemeyer *et al.* 1997, Aizen y Raffaele 1998). Las plantas cosexuales pueden cambiar la asignación de recursos entre componentes femeninos y masculinos en respuesta al daño (Whitham y Mopper 1985, Allison 1990, Snyder 1993, Frazee y Marquis 1994, revisado en Strauss 1997, Lehtilä y Strauss 1999), y al momento de su ocurrencia (Watson 1995, Mutikainen y Delph 1996, Strauss *et al.* 1996). Por lo tanto, es importante examinar el efecto de la herbivoría sobre ambos componentes de la reproducción (Mutikainen y Delph 1996, Schlichting y Delesalle 1997). Bajo el enfoque tradicional es concebible, por ejemplo, que la herbivoría no afecte la producción de frutos y/o semillas de una planta dada. La conclusión de que la herbivoría no afecta el éxito reproductivo de dicha planta puede ser inválida si no se documenta que tampoco afectó la producción de granos de polen y su probabilidad de fecundar óvulos de otra planta.

Los antecedentes en este sentido han explorado cómo la herbivoría afecta el esfuerzo reproductivo masculino y femenino en especies con flores imperfectas o unisexuales, en plantas dioicas (i. e., Hendrix y Trapp 1981, 1989, Allison 1990, Delph 1990, Snyder 1993) y en especies con flores perfectas (McKone 1989, Frazee y Marquis 1994, Strauss *et al.* 1996, Lehtilä y Strauss 1999).

En el estudio del efecto de la herbivoría sobre la adecuación masculina es importante determinar las consecuencias del daño sobre el número de flores, así como el número y calidad de granos de polen, ya que éstos determinarán el número de gametas producidas por la planta para su reproducción y constituyen el efecto directo de la herbivoría. Sin embargo, también es importante explorar las consecuencias sobre los caracteres florales, ya que éstos inciden sobre el comportamiento de los polinizadores. El daño puede afectar el tamaño de la corola y la producción de néctar de las flores, caracteres que conjuntamente con el número de flores y la producción de néctar pueden alterar el comportamiento de los polinizadores y con ello la probabilidad de exportación de polen y finalmente la adecuación masculina.

La teoría de asignación de recursos en la planta predice un aumento en la competencia entre las diversas funciones que ejercen una demanda de dichos recursos como consecuencia de una disminución en la disponibilidad de los mismos. Tal disminución en la disponibilidad de recursos puede ocurrir como respuesta a un aumento en el nivel de estrés que ocasiona la remoción foliar. Esto puede conducir a la aparición de conflictos entre funciones como el

crecimiento vs la reproducción. así como entre la reproducción por la vía masculina vs la reproducción por la vía femenina. Por lo anterior, para lograr una comprensión adecuada de los efectos que tiene la herbivoría sobre las plantas, es importante realizar estudios que evalúen tanto el impacto del daño foliar sobre cada una de estas funciones como sobre los conflictos que pudieran generarse entre ellas: es decir, se requiere comprender cuáles son las "decisiones" que toma la planta en respuesta al daño en la asignación de sus recursos.

Con el fin de evaluar de una manera más integral el impacto de la herbivoría sobre las plantas cosexuales, en este estudio analicé experimentalmente, en condiciones de invernadero, el efecto de la defoliación sobre el crecimiento y la reproducción de una planta monoica anual. Las preguntas específicas que se investigaron fueron: *i*) ¿Cuál es el efecto del daño foliar sobre los parámetros demográficos del crecimiento: natalidad, mortalidad y longevidad de las hojas? *ii*) ¿Cómo afecta la herbivoría el éxito reproductivo evaluado como la producción de flores masculinas y femeninas? *iii*) ¿Tiene la herbivoría un efecto diferencial entre ambas funciones reproductivas? *iv*) ¿Cómo incide el daño foliar sobre las relaciones entre el crecimiento y el éxito reproductivo, evaluado como posibles compromisos entre ambas? *v*) ¿Cuáles son los mecanismos, si hubiera, de efecto compensatorio ante el daño tanto en el crecimiento y cómo en el éxito reproductivo?

MATERIAL Y METODOS

Cucurbita sororia (*C. argyrosperma* ssp. *sororia* (L. H. Bailey) Merrick y Bates (Merrick y Bates 1989)) ("augüichichi, calabacilla") es una enredadera anual de crecimiento indeterminado, monoica (flores masculinas y femeninas en la misma planta) y protándrica, con un sistema de cruzamiento autocompatible. Esta es una especie silvestre, considerada como el progenitor de la especie cultivada *C. argyrosperma* ssp. *argyrosperma*, anteriormente conocida como *C. mixta* Pang (Merrick y Bates 1989, Merrick 1990, Jones 1992) (ver Wilson 1989). Ambas especies generalmente coexisten en áreas cultivadas.

Cucurbita sororia es una especie nativa con una amplia distribución, que abarca desde el sur de Norteamérica hasta Centroamérica (México hasta Nicaragua). Las poblaciones forman parte de la selva baja caducifolia de las zonas costeras y pueden extenderse hasta elevaciones menores

las sierras. Típicamente ocupan un ámbito altitudinal de 0 a 1900 m s.n.m., en áreas con climas cálidos y secos y con una marcada estacionalidad en la precipitación (Lira *et al.* 1995).

Las plantas son más frecuentes en áreas con perturbación natural o antrópica como son las áreas próximas a los cursos de agua, orillas del camino y áreas próximas a campos agrícolas. Las plantas pueden ser observadas trepadas sobre arbustos y árboles, o postradas con guías de hasta 7 m de largo, expuestas a una alta intensidad lumínica (Merrick 1990, N. Mariano obs. pers.). Las hojas son simples, orbiculares a ovado-deltoides (8-13 cm de largo x 7-13 de ancho), con 3-5 lóbulos (Lira *et al.* 1995) y son producidas continuamente durante toda la estación de crecimiento. La forma de las hojas cambia durante la ontogenia de la planta (i.e., son heteroblásticas). Las hojas en la fase de crecimiento vegetativo de las plantas presentan lóbulos someros, en contraste con las hojas muy lobuladas que se producen en la fase reproductiva (Jones 1992). Los tallos presentan ramilletes con 3-4 ramificaciones. Las plantas florecen desde julio hasta enero y fructifican principalmente entre noviembre y diciembre, aunque pueden encontrarse frutos en agosto (Lira *et al.* 1995). Después de un periodo de crecimiento vegetativo (~ 50 días), se producen flores axilares en las axilas de las hojas más recientes (Jones 1992). Las grandes flores de color amarillo sobreviven durante un corto periodo que comprende entre el amanecer y media mañana (hasta las 10:30 h). Las flores son campanuladas y están constituidas por 5 pétalos fusionados hasta la mitad de su longitud (7-10 cm de diámetro de la corolla) formando un tubo floral (5-7 cm de largo). Las flores pistiladas presentan una corola más reducida y son de ovario ínfero. La base de las flores estaminadas está fusionada, mientras que las flores pistiladas poseen un estilo que remata en tres grandes estigmas bilobulados. Los frutos son tipo pepo, globosos o piriformes, con cáscara rígida, típicamente de 8 x 7 cm de largo y diámetro respectivamente (Merrick 1990).

Los principales polinizadores son abejas solitarias del género *Peponapis* y *Xenoglossa* (Hurd y Linsley 1970, Hurd *et al.* 1971, N. Mariano obs. pers.). Las raíces, tallos, hojas, flores y frutos presentan concentraciones elevadas de metabolitos secundarios genéricamente conocidos como cucurbitacinas (triterpenoides tetracíclicos). Estos compuestos son tóxicos y le confieren un sabor muy amargo a los tejidos. Ambas características son indicadoras de que pueden funcionar como metabolitos antiherbívoro (alomonas, Metcalf y Rhodes 1990). No obstante, los coleópteros de los géneros *Acalima* y *Diabrotica* (Coleoptera: Chrysomelidae) son atraídos por estos compuestos. Estos crisomélidos usan las cucurbitacinas como señales para la selección de la

planta hospedera (kairomonas) (Chambliss y Jones 1966, Metcalf y Rhodes 1990). Otros folívoros importantes de *C. sororia* pertenecen al género *Epilachna* (Coleoptera: Coccinellidae) (Tallamy 1985, Tallamy y McCloud 1991, McCloud *et al.* 1995, N. Mariano obs. pers.) y dos especies de lepidóptero de la familia Noctuidae (N. Mariano obs. pers.).

En las poblaciones naturales en la selva tropical seca de México los niveles de daño por planta presentan una distribución lognormal (i.e., con predominio de plantas con poco daño, y algunas pocas con daño intenso; ver Capítulo 1), como es característico de numerosas especies. Además, cerca de los asentamientos humanos las plantas también son severamente dañadas por grandes herbívoros domésticos cuando disminuye la disponibilidad de otras especies vegetales palatables al final de la estación húmeda (N. Mariano obs. pers., pero ver Metcalf y Rhodes 1990).

Procedimiento experimental

Los experimentos fueron conducidos en el invernadero del Instituto de Ecología, UNAM, en la Ciudad de México, entre mayo y octubre de 1994. Para este experimento, usé plantas de una familia genética ("maternal sibships") para lo cual seleccioné al azar semillas del mismo fruto. Luego de pesar las semillas y sumergirlas en agua durante 10 h, las germiné en agar al 1.5% en recipientes refractarios de vidrio. La incubación para la germinación la realicé en una cámara de germinación (Conviro) programadas a 25°C y 12 h de luz por día. Cuando las semillas germinadas desplegaron sus cotiledones, las trasplanté en macetas de plástico (5500 cm³) rellenas con una mezcla homogeneizada de arena, suelo y mantillo (1:1:1). En cada maceta trasplanté dos plántulas asignadas al azar. Además agregué una dosis mínima de fertilizante NPK de liberación lenta, para evitar competencia por nutrientes entre los microorganismos del suelo y las plántulas en la primera etapa de descomposición del mantillo. Para minimizar la heterogeneidad en la cantidad de nutrientes entre macetas incorporé el fertilizante homogeneamente en la mezcla antes de distribuirla entre las macetas. En un estadio posterior, cuando las plántulas tenían dos hojas, removí una de ellas, la que consideré visualmente menos vigorosa, para aumentar la uniformidad entre los individuos y aumentar la probabilidad de éxito en la intalación de las plántulas. Todas las macetas fueron regadas, al atardecer de cada tercer día, hasta saturación permitiendo que drenara el exceso de agua por percolación.

Los tratamientos experimentales de herbivoría consistieron en dos niveles de daño foliar artificial (25 y 75% del área foliar removida, en cada una de las hojas) y un testigo (sin remoción

foliar). Los tratamientos los apliqué en plantas seleccionadas al azar ($N = 20$ por tratamiento) y constituyeron un diseño completamente aleatorizado. La remoción de área foliar la realicé con tijeras, cortando en cada hoja el área foliar correspondiente, en tres ocasiones: a los 32, 45 y 79 días de la aparición de la primera hoja verdadera (24 de junio, 7 de julio y 10 de agosto respectivamente). Estas fechas correspondieron a los 17 y 4 días antes de floración y a los 30 días posteriores al inicio del periodo de floración (11 de julio).

Crecimiento

El crecimiento de las plantas lo evalué por medio de un análisis de la demografía foliar (natalidad y mortalidad de hojas). Esta técnica permite determinar cuáles son los efectos de la pérdida de área foliar sobre el flujo de hojas en el tiempo, a través de parámetros demográficos como tasas de natalidad y mortalidad de las hojas (Bazzaz y Harper 1977, Dirzo 1984, Louda 1984, McGraw y Garbutt 1990, Jefferies y Rudmik 1991).

Los censos de la dinámica de hojas los realicé cada 12-20 días, entre el 1° de julio y el 22 de septiembre. Si las hojas tenían un tamaño tal que no podían pasar a través de un anillo de plástico de 1.4 cm de diámetro, las considé como hojas "nacidas". Todas las hojas nuevas nacidas entre dos censos estaban identificadas con un anillo de alambre, forrado de plástico de color. Establecí un código de colores de acuerdo al número de nudo en el que se encontraban. Consideré como hoja muerta aquella en la cual el 50% o más de su área foliar era de color amarillo. La expectativa de vida de las hojas la calculé según la fórmula de Krebs (1985):

$$E_0 = \frac{\sum_{x=0}^n L_x \times n_x}{l_0} ; \text{ con } L_x = 0.5 \times (l_x + l_{(x+1)})$$

donde:

l_x : sobrevivencia de la cohorte original de hojas en la edad x (cf., $l_0 = 1$)

L_x : sobrevivencia promedio entre la sobrevivencia a la edad x y la edad $x+1$

n_x : número de días comprendidos en la edad x

E_0 : expectativa de vida de las hojas (i. e. esperanza de vida de una hoja promedio recién nacida)

El análisis demográfico lo realicé en 16 plantas por tratamiento seleccionadas al azar.

Producción de flores

Usé la producción de flores como un indicador del éxito reproductivo. Las flores masculinas y femeninas producidas en cada planta las conté cada 1-2 días y las identifiqué con el número de nudo en el que se encontraban. Debido a que no todas las plantas sobrevivieron, para la producción de flores femeninas analicé 19 plantas testigo, y 17 y 18 plantas con 25% y 75% de defoliación respectivamente. Debido a este desbalance y por requerimientos del análisis estadístico de la producción de flores masculinas a través del tiempo, en este análisis se balanceó el número de plantas a 17 por tratamiento (ver detalles en el análisis de los datos).

También conté el número de yemas florales masculinas abortadas en cada planta de los tres niveles de defoliación ($N = 19$ plantas testigo, 17 plantas con 25% de defoliación y 18 plantas con 75% de defoliación), dos días después de la segunda remoción de área foliar.

Producción de polen

Para determinar el efecto de la herbivoría sobre la producción de polen y el tamaño de las flores estaminadas, tomé una muestra representativa de flores. Todas las flores que colecté, en las plantas muestreadas, pertenecían a hojas que en la segunda aplicación de herbivoría (7 de julio; 45 días) estuvieron ubicadas próximas al meristemo apical del eje principal. Mediante este procedimiento intenté controlar las posibles diferencias (que pudieran producirse en el suministro de recursos que recibe la flor en diferentes plantas), generadas por variaciones en la edad de las hojas y el estado de diferenciación del meristemo floral al momento en que la planta y la hoja particular reciben el daño. Esto implica que la remoción del área foliar se realizó sobre hojas jóvenes y aproximadamente de la misma edad. Esto significa también que las hojas estaban próximas a su óptimo de eficiencia fotosintética (*cf.*, Harper 1989), lo que podría haber intensificado las consecuencias de la herbivoría. Es importante destacar que al momento de la aplicación del daño no existían diferencias significativas en el número de nudos entre plantas de diferentes tratamientos, es decir, que ontogenéticamente las plantas eran semejantes (a lo que se agrega la semejanza en desarrollo de la hoja). Por lo tanto, las consecuencias de la herbivoría sobre la producción de polen fueron evaluadas sobre la base de la semejanza en el crecimiento y desarrollo de las plantas (Coleman *et al.* 1994) más que sobre una base cronológica. Debido a que no todas las plantas presentaron flores en estos nudos (especialmente algunas plantas que recibieron el tratamiento de daño más severo), el muestreo de flores fue desbalanceado.

Para medir la producción de polen colecté 27 flores estaminadas de 16 plantas testigo (1-2 flores por planta), 27 flores estaminadas de 15 plantas con 25% de defoliación y 21 flores de 12 plantas con 75% daño. Las flores se colectaron al final de la mañana, al terminar la antesis y cuando estaban completamente cerradas. La extracción de polen la realicé con la técnica de acetólisis (ver Anexo 1).

Luego de la extracción el polen de cada flor se mantuvo en 1.5 ml de una solución de etanol al 60% en tubos eppendorf. De esta solución se extrajo con pipeta un mínimo de 10 muestras de polen (35 μ l cada muestra) y posteriormente las muestras se contaron en microscopio estereoscópico. Debido al tamaño del grano de polen de *C. sororia* y al color oscuro que adquiere como resultado de la acetólisis no fue necesario teñir el material. El conteo se realizó con el auxilio de una retícula de plástico milimetrada aplicada sobre el cubreobjetos y un contador manual (\bar{x} = 509.27 granos de polen/muestra; CV=7%; N=10).

Tamaño floral

Para evaluar el efecto de la folivoría sobre el tamaño de las flores estaminadas medí el diámetro y altura de las flores masculinas. Para ello, con un vernier digital medí tres diámetros de la corola en posiciones seleccionadas al azar, desde el borde externo de un pétalo hasta el borde externo del opuesto siguiendo una recta imaginaria que pasaba por el centro de la flor. Posteriormente obtuve el promedio de las tres medidas. La longitud de la flor se midió desde la base de la flor en su intersección con el pedúnculo, hasta el final del desarrollo del tubo de la corola, donde los pétalos toman una posición perpendicular al eje longitudinal. Ambas medidas de largo y ancho representan los planos de mayor desarrollo de las flores en vista de frente y perfil, respectivamente, y son aproximadamente perpendiculares entre sí.

Debido a que las flores están abiertas solamente unas pocas horas de la mañana (~ 3-4 h dependiendo de la planta y la temperatura), realicé las mediciones durante 1 h aproximadamente. Este lapso estaba comprendido dentro del periodo en el que las flores permanecían completamente abiertas. Debido a estas restricciones sólo pudieron medirse 15 flores por planta por día, en plantas seleccionadas al azar dentro de cada tratamiento. Estos registros se repitieron en tres ocasiones (30 de julio, 4 y 5 de agosto, es decir a los 68, 73 y 74 días). En total se midieron 16 flores estaminadas de 14 plantas testigo (1-2 flores por planta), 15 flores estaminadas de 11 plantas con 25% de defoliación y 15 flores de 9 plantas con 75% de daño. Las diferencias en el

número de plantas dentro de los tratamientos se debieron a las diferencias en la disponibilidad de flores en cada día.

Efecto del daño sobre el tiempo de desarrollo de las flores

Para estudiar esta variable medí el tiempo de desarrollo de la flor, tomando como tiempo inicial el día de nacimiento de la hoja adyacente ya que ésta constituye un módulo junto con la yema floral y el nudo asociado (Harper 1977) y como tiempo final el día de apertura de la flor. Medí 86 flores del tratamiento testigo en 16 plantas, y de éstas, en doce plantas pude medir seis flores por planta y dos, tres, cuatro, y cinco flores en las cuatro plantas restantes. En el tratamiento con 25% de daño medí 86 flores en quince plantas (en trece plantas se midieron seis flores por individuo; tres y cinco flores en las dos restantes). Del tratamiento 75% de daño foliar medí 63 flores en trece plantas (en 8 plantas se midieron seis flores, tres flores en tres plantas, dos y cuatro flores en los dos individuos restantes).

Todas las flores analizadas estaban asociadas a hojas que recibieron la segunda aplicación de herbivoría, comenzando desde la más joven con daño, y siguiendo hacia la base de la planta. De esta forma, en los datos obtenidos quedó representado un gradiente creciente de edades de hojas con daño a medida que aumentaba la distancia del meristema apical. De esta manera se aseguró que el estudio fuera comparativo entre plantas en términos de las edades de las hojas asociadas a las flores estudiadas (semejanza ontogenética de las hojas) y el tamaño de las plantas ya que, en esta fecha de censo, no hubo diferencias en el crecimiento por planta (medido como el número de nudos) entre los diferentes tratamientos.

Como criterio de selección de las flores también consideré que estuvieran asociadas a hojas próximas al máximo de actividad fotosintética al momento de recibir el daño.

Análisis de los datos

Crecimiento

Las plantas asignadas a los diferentes tratamientos no mostraron diferencias en el tamaño inicial previo a la aplicación de los niveles de daño (como estimador de tamaño usé el número de nudos por planta a los 32 días del "nacimiento", ANDEVA $F_{2,45} = 0.424$, $P = 0.6573$). Este estimador del tamaño de las plantas representa también el número total de hojas, porque hasta ese momento en ninguna planta observé mortalidad de hojas.

Los análisis se realizaron con el procedimiento GLM, con el Tipo III de suma de cuadrados (SAS 1989). Los supuestos de homogeneidad de varianza y normalidad fueron verificados por inspección visual de los desvíos estándar de los diferentes tratamientos, por gráficos de probabilidad normal de los residuales, y por la prueba de Shapiro-Wilk (Shapiro y Wilk 1965). En los análisis univariados probé la homogeneidad de varianza con la prueba de Cochran (Underwood 1997) en los casos en que el diseño era balanceado. En los restantes usé la prueba de Levene (Milliken y Johnson 1984). En los análisis multivariados probé el supuesto de normalidad por inspección visual de los gráficos de normalidad de las correlaciones, y usé la prueba de Box M (Anderson 1958) para probar homogeneidad de varianza y covarianza. Para mejorar la normalidad y la homoscedasticidad de los datos calculé la raíz cuadrada del número de hojas nacidas acumuladas y el de hojas muertas acumuladas (Sokal y Rohlf 1995).

El efecto del incremento del daño foliar sobre la demografía foliar se analizó a través de un análisis multivariado de varianza de medidas repetidas (MANOVAR) (Potvin *et al.* 1990, Von Ende 1993); utilicé este análisis porque las mediciones no son independientes en el tiempo debido a que las mismas plantas fueron censadas periódicamente. El análisis alternativo univariado (ANOVAR) fue desechado aún cuando es comparativamente de mayor potencia, debido a que los datos no superaban las condiciones necesarias para aplicarlo, como suele ocurrir cuando las medidas se repiten en el tiempo. El MANOVAR cumplió los requisitos para asegurar una potencia adecuada, dado que superó la condición impuesta por la desigualdad $N - M > k - 9$ (donde $N = 48$ plantas; $M = 3$ niveles del tratamiento y $k = 8$, medidas en el tiempo, resultando: $45 > 17$) (Maxwell y Delaney 1990).

El análisis distingue dos efectos principales: el efecto entre plantas debido al tratamiento (i. e. nivel de daño) y el efecto dentro de las plantas, debido al factor tiempo y a la interacción tiempo por tratamiento. El efecto "dentro" de tratamientos se probó mediante la transformación de los datos en $p - 1$ contrastes (donde $p =$ número de medidas en el tiempo) (Potvin *et al.* 1990).

Las variables dependientes fueron: hojas nacidas acumuladas, hojas muertas acumuladas, hojas netas y expectativas de vida de las hojas. Las hojas nacidas acumuladas y las hojas muertas acumuladas se transformaron a raíz cuadrada para homogeneizar la varianza. Para evaluar el efecto del tratamiento a través del tiempo y el de la interacción tiempo X tratamiento (efecto dentro) sobre el número de hojas netas, hojas nacidas y muertas, probé los contrastes generados

con las diferencias entre dos fechas consecutivas de muestreo (i. e., contraste de perfiles). Los contrastes significativos para las interacciones tiempo X tratamiento en un intervalo dado implican cambios de pendientes entre tratamientos, las cuales se pueden representar como tasas de cambio. Estas tasas tienen significado demográfico cuando la variable dependiente es el número acumulado de hojas (nacidas o muertas). Por lo anterior, cuando los contrastes en un intervalo mostraron diferencias significativas en la interacción, calculé la tasa de la variable dependiente acumulada (i. e., tasa de natalidad o mortalidad) para facilitar la interpretación del resultado, aún cuando no fue ésta la variable usada en el análisis estadístico.

Para el análisis de las expectativas de vida, usé el contraste de polinomios para evaluar la tendencia lineal y cuadrática entre esta variable y el tiempo y la interacción tiempo X tratamiento. De los cuatro estadísticos que usa la prueba de MANOVA se reporta únicamente Wilks λ como estimador de F . Sin embargo, en el análisis de la interacción tiempo X tratamiento de los nacimientos acumulados de hojas, las probabilidades obtenidas por este estadístico fueron diferentes de las obtenidas con "Roy's greatest root". En este caso se optó por reportar Roy's greatest root como sugiere Scheiner y Gurevitch (1993), debido a que es el estadístico de mayor potencia cuando la prueba tiene suficientes grados de libertad. Las diferencias entre medias se probaron por medio de comparaciones planeadas múltiples entre pares de medias por el método de ajuste secuencial de Bonferroni (Sokal y Rohlf 1995).

Producción de flores masculinas

Para el análisis de la producción de flores masculinas usé un modelo log-lineal con análisis de devianza (Crawley 1993). El efecto de la defoliación fue incluido en el modelo como un factor con tres niveles (0, 25 y 75% de daño foliar). El tiempo fue incorporado en el modelo log-lineal como una covariable continua y no como un factor discreto (*cf.* Mead 1988).

Debido a que el número de flores producidas mostró un patrón marcadamente bimodal, incluí en el modelo el efecto tiempo como un polinomio de cuarto orden, capaz de generar valores predichos con dos máximos separados, tal como se observó en el invernadero. La significancia de cada término, sin embargo, fue probada individualmente para evaluar si realmente la bimodalidad observada era estadísticamente significativa. Para realizar el ajuste del modelo se empleó un procedimiento a pasos ("stepwise"), como el que se usa en la regresión múltiple y recomendado para el ajuste de curvas por medio de polinomios (Hunt 1982, Sokal y Rohlf 1995).

Debido a que los datos fueron obtenidos por medidas repetidas, realicé un análisis siguiendo las sugerencias de Von Ende (1993) para este tipo de problemas. El efecto de la defoliación fue analizado primero como un factor entre plantas (i. e., entre sujetos). Para ello, acumulé el número total de flores producidas por cada una de las plantas individuales, y comparé las diferencias entre los tratamientos de defoliación por medio de una prueba χ^2 . Luego analicé el efecto del tiempo y de la interacción entre el tiempo y la defoliación. Sin embargo, como la producción de flores por planta y por día fue demasiado baja para satisfacer el supuesto de un modelo log-lineal, no se usaron las plantas individuales como réplicas para este segundo análisis. En lugar de ello, usé la suma de las flores producidas por día por todas las plantas individuales dentro de cada tratamiento.

En resumen, analicé las diferencias entre los tratamientos de defoliación sumando sus efectos a través del tiempo, y analicé el efecto del tiempo y su interacción con los tratamientos de defoliación sumando sus efectos en todas las plantas individuales dentro de cada tratamiento. Para el ajuste del modelo para el tiempo y la interacción tiempo X tratamientos, la variable predictiva tiempo se transformó según el modelo $x_i - \bar{x}$, donde x_i es tiempo en días y \bar{x} es el número promedio de días. Esta transformación elimina la correlación entre potencias pares e impares de los términos del polinomio y disminuye los errores de computación (Sokal y Rohlf 1995). Cuando encontré sobredispersión en los modelos log-lineales, los datos se reescalaron como sugiere Crawley (1993). Esta transformación permite probar de manera conservadora cada uno de los factores, tomando en consideración la alta variabilidad observada en los datos. En estos casos el modelo se probó mediante una prueba de F en lugar de una prueba de χ^2 (Crawley 1993). El análisis se realizó con GLIM 4.02 (1992 Royal Statistical Society).

Producción de flores femeninas

El efecto de la pérdida de área foliar sobre el esfuerzo reproductivo femenino fue analizado a través del número de flores femeninas. Debido a que la respuesta reproductiva por la vía femenina de las plantas estuvo restringida a las que produjeron entre una o dos flores femeninas por planta, y las que no produjeron flores femeninas, consideré sólo la presencia o ausencia de flores femeninas para el análisis estadístico. La conversión a datos binarios permitió evaluar el efecto de los tres tratamientos mediante un modelo GLM logit, con error binomial. El análisis fue realizado con GLIM 4.02 (1992 Royal Statistical Society). Si bien el criterio adoptado implicó asignar el

mismo peso a las plantas que produjeron una flor que a las que produjeron dos flores femeninas. el análisis es conservador (i. e., a favor de la hipótesis nula), ya que la mayor cantidad de plantas que produjeron dos flores pertenecen al tratamiento testigo. De esta forma, el análisis estadístico seleccionado tiene la capacidad de evaluar si el efecto de la herbivoría incide sobre el éxito o fracaso de las plantas en producir flores femeninas, al mismo tiempo que evita las restricciones estadísticas de los métodos de análisis convencionales debidas a la presencia de gran cantidad de ceros. Estos datos también fueron analizados a través de la prueba de independencia de G (Sokal y Rohlf 1995).

El número de flores masculinas abortadas por planta en los tres tratamientos se analizó a través de un modelo log-lineal con error Poisson y logaritmo como función de ligamiento. La prueba de diferencias entre niveles del tratamiento se realizó con el mismo procedimiento descrito en el análisis de la producción de flores masculinas.

Producción de granos de polen, tamaño de flores y tiempo de desarrollo de las flores

El número de granos de polen por planta se analizó con un análisis de varianza (ANDEVA) de una vía, calculando el promedio de polen por flor en las plantas con dos flores muestreadas.

El efecto de la herbivoría sobre el tamaño de las flores se analizó mediante un análisis multivariado de varianza (MANOVA), considerando el diámetro y el largo de la corola. Cuando el MANOVA resultó significativo se hicieron las comparaciones planeadas entre tratamientos de defoliación para cada una de las variables medidas. También calculé la relación entre el diámetro de la corola y la altura de la flor, que posteriormente se analizó con un análisis de varianza (ANDEVA) de una vía.

El efecto de la herbivoría sobre el tiempo de desarrollo de las flores se analizó con un ANDEVA de una vía y se probaron las diferencias con comparaciones planeadas entre el testigo y los tratamientos de defoliación.

Correlación de caracteres vegetativos con caracteres reproductivos

Para evaluar los posibles conflictos en la asignación de recursos entre el crecimiento y la reproducción se analizaron las posibles relaciones entre las tasas de natalidad de hojas y muerte de hojas con la tasa de producción de flores masculinas de las plantas de cada tratamiento. Para ello, se hicieron las correlaciones de Pearson entre estas variables ($N = 16$ plantas por

tratamiento). La producción de flores femeninas no se incluyó en estos análisis, debido a su escaso número por planta y a su predominancia en uno de los tratamientos.

Las tasas de producción de flores se calcularon a partir del total de flores masculinas producidas por planta, entre el número de días de producción. De igual manera, las tasas de natalidad y mortalidad de hojas se obtuvieron como el número acumulado de hojas nacidas y muertas, entre el número de días en que se registraron ambos eventos. Para la natalidad consideré el número de días que duró el experimento, y para la mortalidad consideré el tiempo transcurrido entre el comienzo de la mortalidad y la culminación del experimento.

RESULTADOS

Crecimiento

Efecto del daño sobre la natalidad de hojas

El análisis multivariado de varianza para medidas repetidas (MANOVAR) mostró que el tiempo y la interacción tiempo X tratamiento, tuvieron un efecto significativo sobre la natalidad de hojas (i. e., diferencias en las tasas de natalidad entre tratamientos, ver Material y Métodos). Por el contrario, el tratamiento no tuvo efecto sobre la producción de hojas, cuando se considera como variable de respuesta el promedio de las hojas acumuladas entre censos consecutivos (Tabla 1). Estos resultados indican que la herbivoría afectó la natalidad de hojas de las plantas de manera diferencial a través del tiempo.

El curso temporal de la producción de hojas muestra que durante la mayor parte del experimento las plantas de los tres niveles de daño tuvieron una respuesta similar (Fig. 1). Sin embargo, como indica el análisis de contrastes, a partir de los 100 días de crecimiento (aproximadamente 3 semanas después de la tercera remoción de área foliar), las plantas con daño moderado (25%) presentaron mayores tasas de natalidad de hojas que las plantas testigo y con daño severo (75%). Por el contrario, la natalidad de hojas entre las plantas testigo sin daño y las que recibieron daño intenso fue similar durante toda la estación de crecimiento. Las plantas con daño moderado mantuvieron una tasa de natalidad significativamente más alta que las plantas testigo durante 24 días (99 - 123 días) (promedio del número hojas nacidas/día \pm 1 EE: 0.411 ± 0.028 vs 0.271 ± 0.039 y 0.375 ± 0.028 vs 0.234 ± 0.04 para el primer y segundo intervalo de tiempo, respectivamente). El contraste, aunque estadísticamente significativo, fue menor en

relación a las plantas con 75% de daño y sólo se observó en el periodo 99 -111 días ($0.411 \pm .028$ vs 0.312 ± 0.038) (Tabla 1).

TABLA 1. Análisis de varianza múltiple (medidas repetidas) del efecto de la defoliación y del tiempo sobre la producción acumulada de hojas por planta. La variable de respuesta fue transformada a la raíz cuadrada.

Fuente de variación	g.l.	Wilks' λ	F	P
Entre individuos				
Daño	2, 45	0.994	0.138	0.8716
Dentro de individuos				
Tiempo	7, 39	3.991e-3	1390.464	0.0001
Tiempo X Daño	14, 78	0.633	1.431	0.1592
<i>Roy's Max Root</i>	7, 40	0.503	2.875	0.0157
Contrastes				
99-111 días				
Tiempo	1, 45	0.138	281.251	0.0001
Tiempo X Daño	2, 45	0.835	4.448	0.0173
Tiempo X H ₁ vs T ‡	1, 45	0.842	8.417	0.0057
Tiempo X H ₂ vs T ‡	1, 45	0.984	0.725	0.3989
Tiempo X H ₂ vs H ₁ ‡	1, 45	0.915	4.201	0.0463
111-123 días				
Tiempo	1, 45	0.201	178.513	0.0001
Tiempo X Daño	2, 45	0.871	3.318	0.0453
Tiempo X H ₁ vs T	1, 45	0.873	6.541	0.0140
Tiempo X H ₂ vs T	1, 45	0.978	1.022	0.3176
Tiempo X H ₂ vs H ₁	1, 45	0.950	2.393	0.1289

Nota: la interacción Tiempo X Daño según *Roy's Max Root*_(7, 40) = 0.503, $F = 2.875$, $P = 0.0157$; ‡ Las abreviaturas para tratamientos son: H₁, remoción del 25% de cada hoja; H₂; remoción del 75% de cada hoja; T, testigo.

Las consecuencias del daño sobre la tasa de natalidad se reflejan en los cambios de pendiente de la curva en la Figura 1. Se puede observar que las plantas de 25% de daño muestran, hacia el final del crecimiento, mayor pendiente que los otros tratamientos, mientras que las curvas de las plantas testigo y con herbivoría intensa son muy similares. Es interesante notar que el daño foliar no afectó la natalidad durante los meses de julio y agosto, aún cuando durante este periodo se realizaron los tres eventos de remoción de área foliar. Este hecho, aunado a la evidencia de que las plantas con daño moderado aumentaron la producción de hojas, muestra que *C. sororia* tiene la capacidad de responder a la herbivoría compensando a través del nacimiento

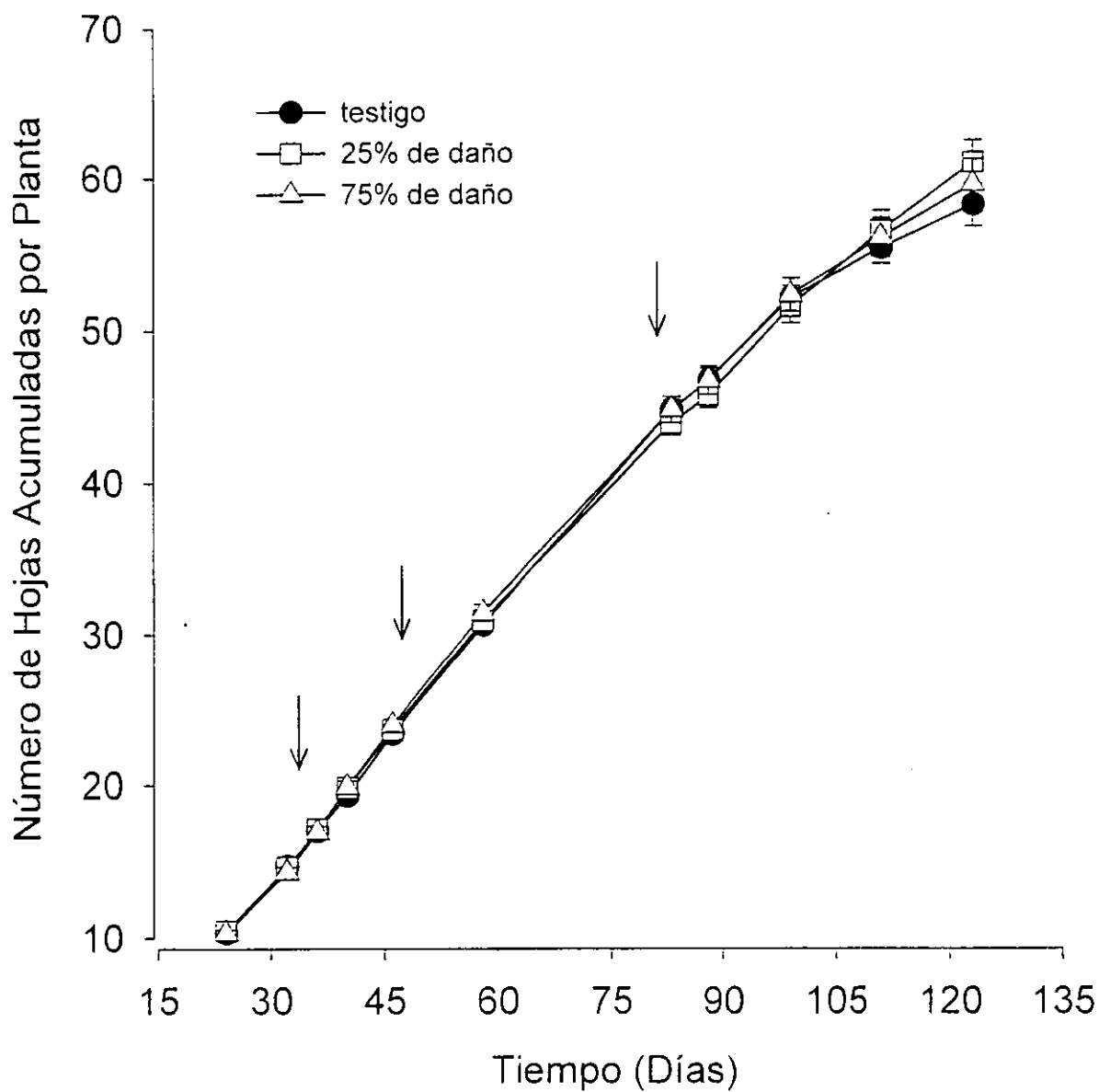


FIG. 1. Curso temporal del número de hojas acumuladas por planta durante el periodo de crecimiento de *C. sororia* bajo tres tratamientos de daño foliar. Los símbolos representan los valores medios \pm 1 E.E. ($N = 16$ plantas por tratamiento). Las flechas indican los momentos de aplicación de los tratamientos de defoliación.

de hojas nuevas. Este mecanismo explica porqué no hubo diferencias significativas entre tratamientos cuando se excluyó del análisis el tiempo y sólo se consideró el promedio de la producción de hojas como se analizó previamente.

Efecto del daño sobre la mortalidad de hojas

Las primeras hojas muertas (1 o 2 hojas por planta) se observaron en algunas plantas a los 40 días (1 de julio) de crecimiento, aproximadamente una semana después de la primera defoliación artificial (Fig. 2). En esa fecha la frecuencia de plantas con al menos una hoja muerta no fue independiente de los tratamientos aplicados ($G_{(d.f. 2)} = 0.01159$; $P = 0.01159$). El tratamiento de 75% de daño presentó la menor proporción de individuos con hojas muertas (12.5%) en relación a los tratamientos de 25% de daño y testigo (43.75% y 62.5%, respectivamente). Esto implica que se produjo un retraso en la mortalidad temprana de las hojas ocasionado por el daño foliar severo.

El MANOVAR mostró un efecto significativo del tratamiento sobre la mortalidad de las poblaciones de hojas (i. e., efecto entre plantas) ($F = 3.422$; $P = 0.0414$; Tabla 2) y las comparaciones entre tratamientos indicaron que las diferencias se manifestaron entre las plantas con daño foliar severo y las plantas con daño moderado y testigo (Tabla 2). Por el contrario, no hubo diferencias en la mortalidad de las hojas entre las plantas testigo y las plantas con daño moderado (Tabla 2). Asimismo, se detectaron efectos significativos del tiempo y de la interacción tiempo X tratamiento (i. e., diferencias en las tasas de mortalidad entre tratamientos, ver Material y Métodos) ($F = 4.150$; $P < 0.0001$; Tabla 2).

El análisis de contrastes indicó que en el periodo entre los 58 y los 83 días de crecimiento (que comprende la segunda y tercera fecha de corte) las plantas con daño severo aumentaron significativamente la tasa de mortalidad de hojas en relación a las plantas sin daño (tasa de mortalidad promedio (No. de hojas muertas / día) ± 1 EE: 0.553 ± 0.035 vs 0.35 ± 0.029 , respectivamente). Por el contrario, las plantas con daño moderado presentaron tasas de mortalidad semejantes a las plantas testigo (Tabla 2 y Fig. 2). En el periodo siguiente, entre los 83 y 88 días (que siguió inmediatamente posterior a la tercera fecha de corte), las plantas testigo aumentaron sus tasas de mortalidad en relación a las plantas con daño severo y moderado (0.50 ± 0.093 vs 0.25 ± 0.070 y 0.238 ± 0.071) (Tabla 2 y Fig. 2). En este intervalo de tiempo en el tratamiento de 75% disminuyó la tasa de mortalidad en relación al periodo en

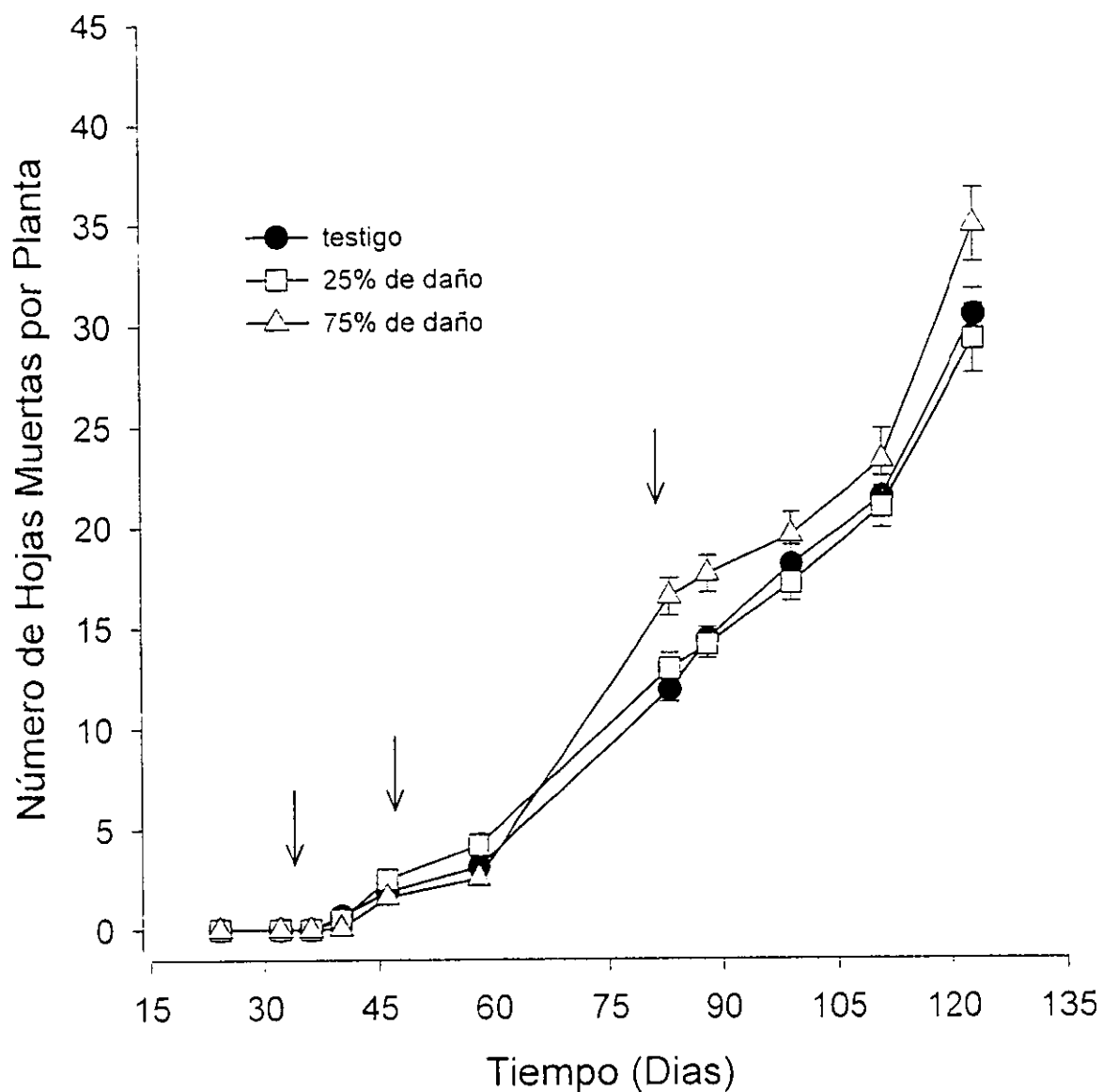


FIG. 2. Curso temporal del número de hojas muertas acumuladas por planta durante el periodo de crecimiento de *C. sororia* bajo tres tratamientos de daño foliar. Los símbolos representan los valores medios \pm 1 E.E. ($N = 16$ plantas por tratamiento). Las flechas indican los momentos de aplicación de los tratamientos de defoliación

un 45%. Los periodos restantes de censo no presentaron diferencias significativas entre tratamientos ni en la interacción tiempo X tratamiento.

TABLA 2. Análisis de varianza múltiple (medidas repetidas) del efecto de la defoliación y del tiempo sobre la producción acumulada de hojas muertas por planta. La variable de respuesta fue transformada a raíz cuadrada y no se usó la primera fecha

Fuente de variación	g.l.	Wilks' λ	F	P
Entre individuos				
Daño	2, 45	0.868	3.422	0.0414
H ₁ vs T ‡	1, 45	0.100	0.005	0.9441
H ₂ vs T ‡	1, 45	0.895	5.290	0.0261
H ₁ vs H ₂ ‡	1, 45	0.901	4.971	0.0308
Dentro de individuos				
Tiempo	5, 41	0.021	383.775	0.0001
Tiempo X Daño	10, 82	0.441	4.150	0.0001
Contrastes				
58-83 días				
Tiempo	1, 45	0.049	871.528	0.0001
Tiempo X Daño	2, 45	0.561	17.595	0.0001
Tiempo X H ₁ vs T	1, 45	0.992	0.341	0.5624
Tiempo X H ₂ vs T	1, 45	0.659	23.239	0.0001
Tiempo X H ₁ vs H ₂	1, 45	0.606	29.206	0.0001
83-88 días				
Tiempo	1, 45	0.476	49.625	0.0001
Tiempo X Daño	2, 45	0.851	3.928	0.0268
Tiempo X H ₁ vs T	1, 45	0.891	5.478	0.0238
Tiempo X H ₂ vs T	1, 45	0.878	6.278	0.0159
Tiempo X H ₁ vs H ₂	1, 45	0.999	0.027	0.8696

Nota: ‡ probabilidad corregida por el método de Bonferroni

Efecto de la herbivoría sobre la disponibilidad neta de hojas

La remoción del área foliar afectó diferencialmente las tasas de natalidad y mortalidad de las hojas dependiendo del tratamiento, de manera que la disponibilidad neta de hojas también resultó afectada diferencialmente como lo muestran las diferencias significativas del MANOVAR para todos los términos del modelo (el factor entre tratamientos, el factor tiempo y la interacción tiempo X tratamiento; Tabla 3). Las comparaciones entre tratamientos mostraron diferencias significativas entre el tratamiento más severo de daño y los tratamientos de daño moderado y testigo (Tabla 3). Las plantas con daño severo contaron en gran parte del periodo de crecimiento con un menor número neto de hojas que las plantas testigo (Fig. 3). Por el contrario, no hubo

diferencias significativas entre el tratamiento de daño moderado y el testigo (Tabla 3; Fig. 3). Sin embargo, el efecto más importante de la herbivoría se manifestó en su interacción con el tiempo (Tabla 3).

TABLA 3. Análisis de varianza múltiple (medidas repetidas) del efecto de la defoliación y del tiempo sobre la producción de hojas por planta. La variable de respuesta no fue transformada

Fuente de variación	g.l.	Wilks' λ	F	P
Entre individuos				
Daño	2, 45	0.866	3.492	0.0389
H ₁ vs T †	1, 45	0.995	0.214	0.6458
H ₂ vs T †	1, 45	0.917	4.088	0.0492
H ₁ vs H ₂ †	1, 45	0.879	6.174	0.0168
Dentro de individuos				
Tiempo	7, 39	0.016	355.006	0.0001
Tiempo X Daño	14, 78	0.258	5.403	0.0001
Contrastes				
40-46 días				
Tiempo	1, 45	0.110	362.660	0.0001
Tiempo X Daño	2, 45	0.786	6.115	0.0045
Tiempo X H ₁ vs T	1, 45	0.791	11.888	0.0012
Tiempo X H ₂ vs T	1, 45	0.968	1.481	0.2300
Tiempo X H ₂ vs H ₁	1, 45	0.900	4.977	0.0307
58-83 días				
Tiempo	1, 45	0.408	65.216	0.0001
Tiempo X Daño	2, 45	0.505	22.065	0.0001
Tiempo X H ₁ vs T	1, 45	0.965	1.612	0.2107
Tiempo X H ₂ vs T	1, 45	0.533	39.462	0.0001
Tiempo X H ₂ vs H ₁	1, 45	0.642	25.122	0.0001
83-88 días				
Tiempo	1, 45	0.974	1.193	0.2805
Tiempo X Daño	2, 45	0.877	3.158	0.0521
Tiempo X H ₁ vs T †	1, 45	0.909	4.488	0.1191
Tiempo X H ₂ vs T †	1, 45	0.900	4.972	0.0924
Tiempo X H ₂ vs H ₁	1, 45	0.100	0.012	0.9117

Nota: † probabilidad corregida por el método de Bonferroni

El análisis de contrastes indicó que en la semana posterior al primer corte de hojas, entre los 40 y 46 días, las plantas con daño moderado mostraron menores tasas netas de producción de hojas que las plantas con daño severo y testigo (número neto de hojas/día: 0.302 ± 0.038 vs 0.417 ± 0.0304 y 0.479 ± 0.0399 respectivamente), mientras que no hubo diferencias

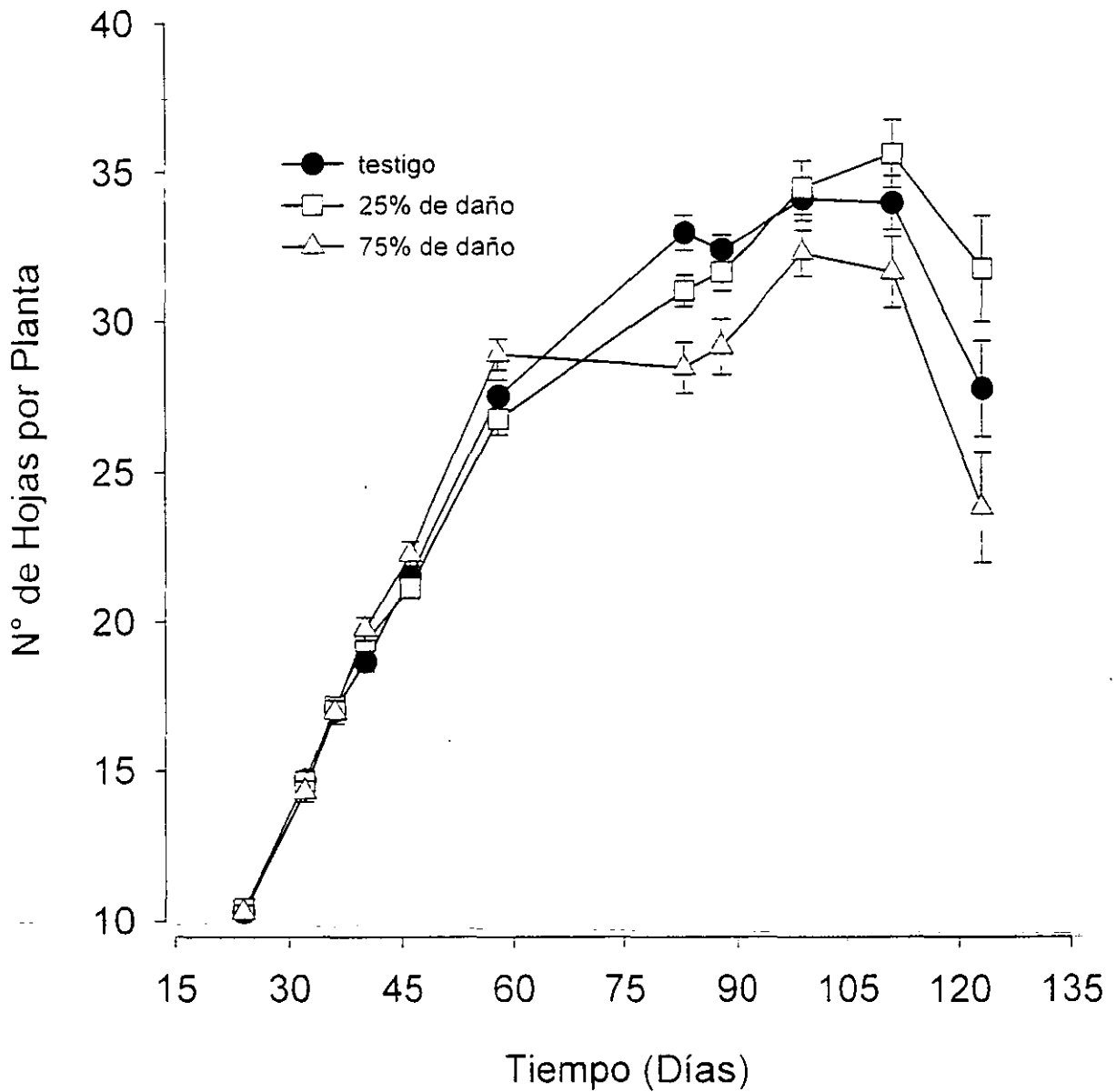


FIG. 3. Producción de hojas durante el periodo de crecimiento de *C. sororia* bajo tres tratamientos de daño foliar. Los símbolos representan los valores medios \pm 1 E.E. ($N = 16$ plantas por tratamiento). Las flechas indican los momentos de aplicación de los tratamientos de deroliación.

significativas en la producción de hojas entre las plantas testigo y las plantas con daño severo (Tabla 3; Fig. 3). Entre los 58 y 83 días (en el periodo posterior al segundo evento de defoliación) las plantas con daño severo presentaron una tasa negativa de producción neta de hojas, dado que la mortalidad fue mayor que la natalidad en este lapso. Esta tasa fue significativamente menor que la encontrada en las plantas con daño moderado y sin daño (-0.018 ± 0.034 vs 0.17 ± 0.022 y 0.218 ± 0.021 , respectivamente) (Tabla 3; Fig. 3). Además, en contraste con el periodo anterior, no hubo diferencias en la producción de hojas entre las plantas testigo y las que recibieron daño moderado. En el intervalo siguiente, comprendido entre los 83 y 88 días (en el periodo posterior al tercer evento de daño), la interacción tiempo X tratamiento resultó marginalmente significativa ($P = 0.0521$) (Tabla 3).

A partir de este momento (Fig. 3) las plantas con daño moderado presentaron una tendencia a mantenerse con mayor producción neta de hojas, mientras que las plantas sin daño ocuparon una posición intermedia y las plantas con daño severo mostraron los menores valores de producción. La respuesta de las plantas con 25% de daño se debió a las mayores tasas de natalidad, como indiqué anteriormente (cf. Tabla 1).

Expectativa de vida de las hojas

Asociado a los efectos de la defoliación en las variables descritas anteriormente, se detectó un efecto sobre la expectativa de vida de las hojas dependiendo del tratamiento. El análisis MANOVAR indicó diferencias significativas para el tiempo y la interacción tiempo X tratamiento, pero no para el efecto entre tratamientos (Tabla 4; Fig. 4). El contraste de polinomios indicó que en general hubo un aumento de la longevidad de hojas a través del tiempo, independientemente del nivel de daño foliar (Tabla 4, Fig 4).

El análisis de contrastes para probar el factor tiempo sobre la longevidad de hojas mostró una tendencia lineal y cuadrática significativa. Esto indica que las cohortes de hojas emergidas hasta los 50 días de crecimiento de las plantas aumentaron proporcionalmente más sus expectativas de vida que las cohortes de hojas precedentes. En cambio, las cohortes emergidas en el último periodo incrementaron su longevidad proporcionalmente menos (Tabla 4, Fig. 4).

Las hojas de las plantas con daño severo mostraron una modificación a este patrón debido a que inicialmente decayó la longevidad de las cohortes y luego se incrementó, siguiendo la tendencia de los otros tratamientos (Fig. 4). El contraste sobre la interacción tiempo X tratamiento fue significativo tanto para la tendencia lineal como para la cuadrática (Tabla 4). El

tratamiento de daño severo fue significativamente diferente en comparación al tratamiento de daño moderado y el testigo, tanto en la tendencia lineal como en la cuadrática. Sin embargo, como se puede observar en la Figura 4, la importancia de las diferencias en relación a los otros dos tratamientos dependió de la "forma" de la curva que se comparó. Las plantas con daño severo fueron marcadamente diferentes de las plantas con daño moderado en relación a la tendencia lineal. Esta diferencia estuvo determinada por una menor tasa de incremento de la longevidad en las plantas con daño severo vs las plantas con daño moderado. En cambio, esta diferencia fue menor en relación a las plantas testigo ($P = 0.0496$), que iniciaron con una longevidad semejante a las plantas con daño moderado, pero inferior a las plantas con daño severo, y terminaron en una posición intermedia entre los dos tratamientos de daño. Por el contrario, cuando se comparó la "curvatura" de la longevidad a través del tiempo, las diferencias más importantes resultaron entre el tratamiento de daño severo y el testigo.

A diferencia de lo anterior las comparaciones entre el testigo y el tratamiento de daño moderado no fueron significativas con la tendencia cuadrática y solo marginalmente significativa con la lineal ($P = 0.0598$) (Tabla 4).

TABLA 4. Análisis de varianza múltiple (medidas repetidas) del efecto de la defoliación y del tiempo sobre la expectativa de vida de las hojas por planta. La variable de respuesta no fue transformada

Fuente de variación	g.l.	Wilks' λ	F	P
Entre individuos				
Daño	2, 45	0.907	2.316	0.1103
Dentro de individuos				
Tiempo	4, 42	0.166	52.668	0.0001
Tiempo X Daño	8, 84	0.541	3.775	0.0008
Tendencia lineal				
Tiempo	1, 45	0.187	195.783	0.0001
Tiempo X Daño	2, 45	0.743	7.799	0.0012
Tiempo X H ₁ vs T	1, 45	0.923	3.729	0.0598
Tiempo X H ₂ vs T	1, 45	0.917	4.073	0.0496
Tiempo X H ₂ vs H ₁	1, 45	0.743	15.596	0.0003
Tendencia cuadrática				
Tiempo	1, 45	0.833	9.037	0.0043
Tiempo X Daño	2, 45	0.824	4.8	0.0129
Tiempo X H ₁ vs T	1, 45	0.986	0.63	0.4316
Tiempo X H ₂ vs T	1, 45	0.834	8.943	0.0045
Tiempo X H ₂ vs H ₁	1, 45	0.903	4.826	0.0332

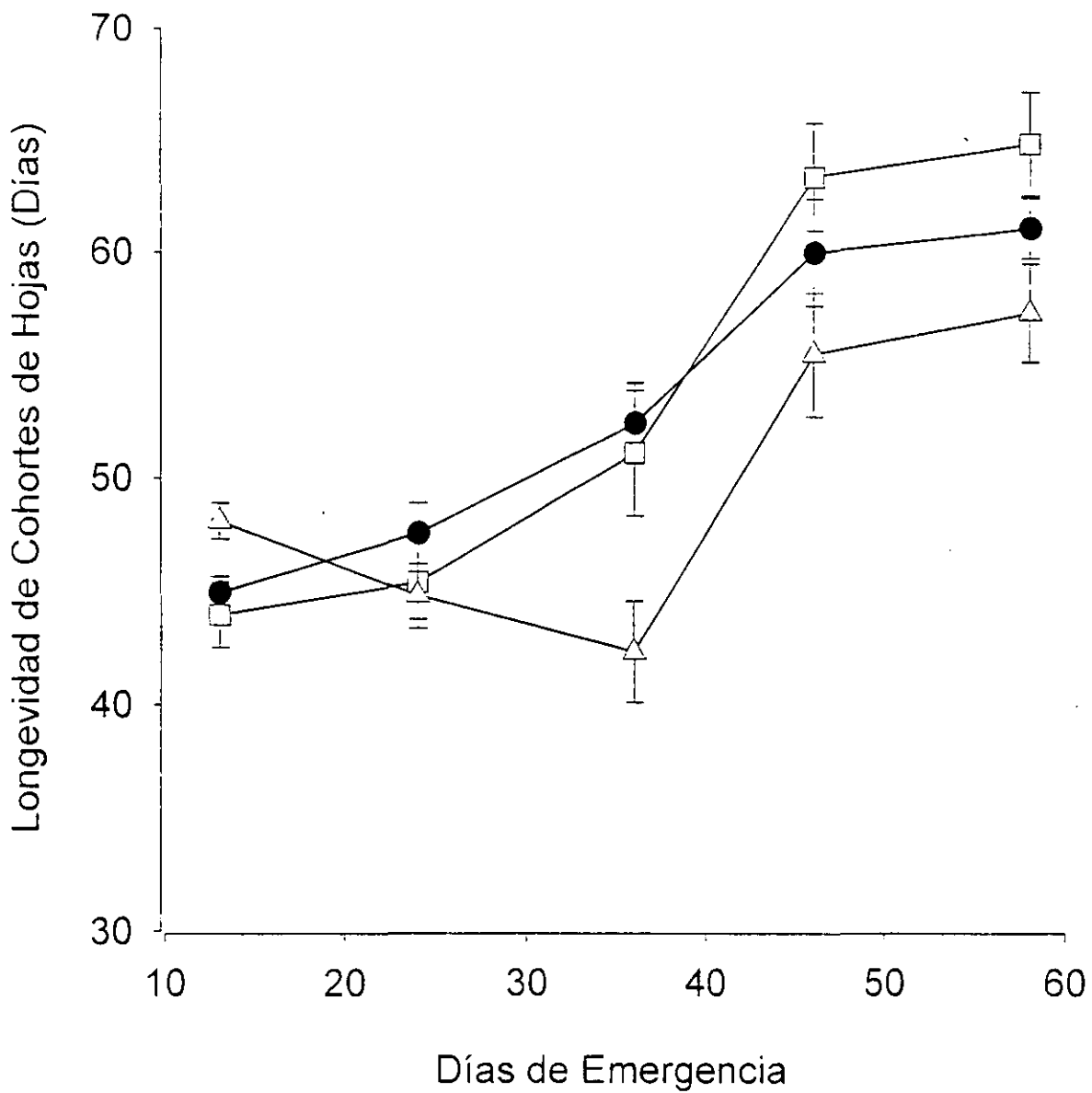


FIG. 4. Diferencias en las expectativas de vida de cohortes de hojas de *C. sororia*, bajo tres tratamientos de daño foliar. En el eje de la abscisa se indica el tiempo de nacimiento de lastes cohortes de hojas en relación a la edad de las plantas. Los símbolos representan los valores medios por planta ± 1 E.E. ($N = 16$ plantas por tratamiento).

Producción de flores

Producción total de flores masculinas

La producción acumulada total de flores masculinas por planta en fue afectada significativamente por los niveles de defoliación ($F_{2, 48} = 9.3$; $P < 0.0004$; Tabla 5). El tratamiento de defoliación severo presentó la menor producción total de flores. Las plantas que recibieron niveles de defoliación de 25%, por otra parte, no mostraron diferencias en la producción de flores con respecto a las plantas testigo ($F_{1, 49} = 0.07$; $P < 0.79$), y estos dos grupos de plantas sobrepasaron la producción total de flores de las plantas de 75% de daño por un factor de 1.74 (Fig. 5).

TABLA 5. Análisis lineal generalizado del efecto de la herbivoría sobre la producción total de flores por planta. Se asumió una distribución de probabilidad Poisson y la función de ligamiento fue el logaritmo natural. El parámetro fue escalado a 3.654 para corregir por sobredispersión. $N = 51$; 17 plantas por tratamiento.

Fuente de variación	Devianza	g.l.	Dm	F	P
Daño	23.837	2	11.919	9.336	0.0004
Error	61.279	48	1.277		
Total	85.116	50			

Producción de flores masculinas a través del tiempo

El curso temporal de la producción de flores por planta se muestra en la Figura 6. En global, la producción de flores a través del tiempo aumentó rápidamente para alcanzar un pico máximo y luego decaer gradualmente. Hacia el final del ciclo de vida hubo un segundo aumento pero de menor importancia, a continuación del cual la producción decayó marcadamente y prácticamente cesó a los 90 días en el caso de las plantas testigo y defoliación al 25% (Fig. 6). El modelo log-lineal representó este patrón mediante el ajuste significativo de un polinomio de 4° orden (Tabla 6).

El análisis estadístico reveló que no hubo diferencias significativas entre los coeficientes del polinomio ajustado a la producción de las plantas sin daño y el correspondiente a las que recibieron daño de 25% (Tabla 7). Esto implica que el patrón de producción es estadísticamente indistinguible entre estos dos tratamientos. En contraste, la herbivoría severa afectó esta tendencia en el tiempo en relación a las plantas testigo y las plantas con daño moderado, como lo indican las diferencias significativas entre coeficientes para los cuatro términos del polinomio en el modelo ajustado. Se puede observar que las plantas con daño severo presentaron un retraso en

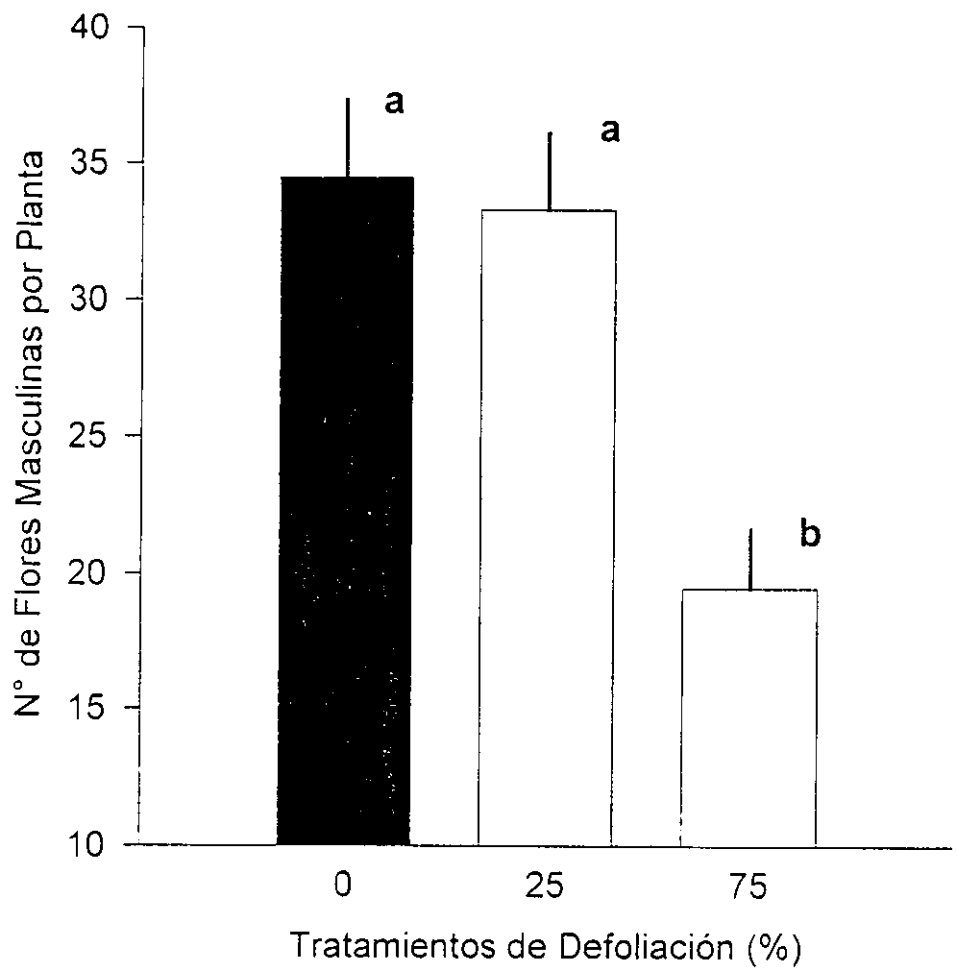


FIG. 5. Número total final de flores masculinas producidas por planta de *C. sororia* bajo tres niveles de defoliación: 0%, 25% y 75% ($N = 17$ plantas por tratamiento) ± 1 E.E. Los valores constituyen el antilogaritmo de los estimados obtenidos por el ajuste de un modelo log-lineal con error poisson. Las letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.001$).

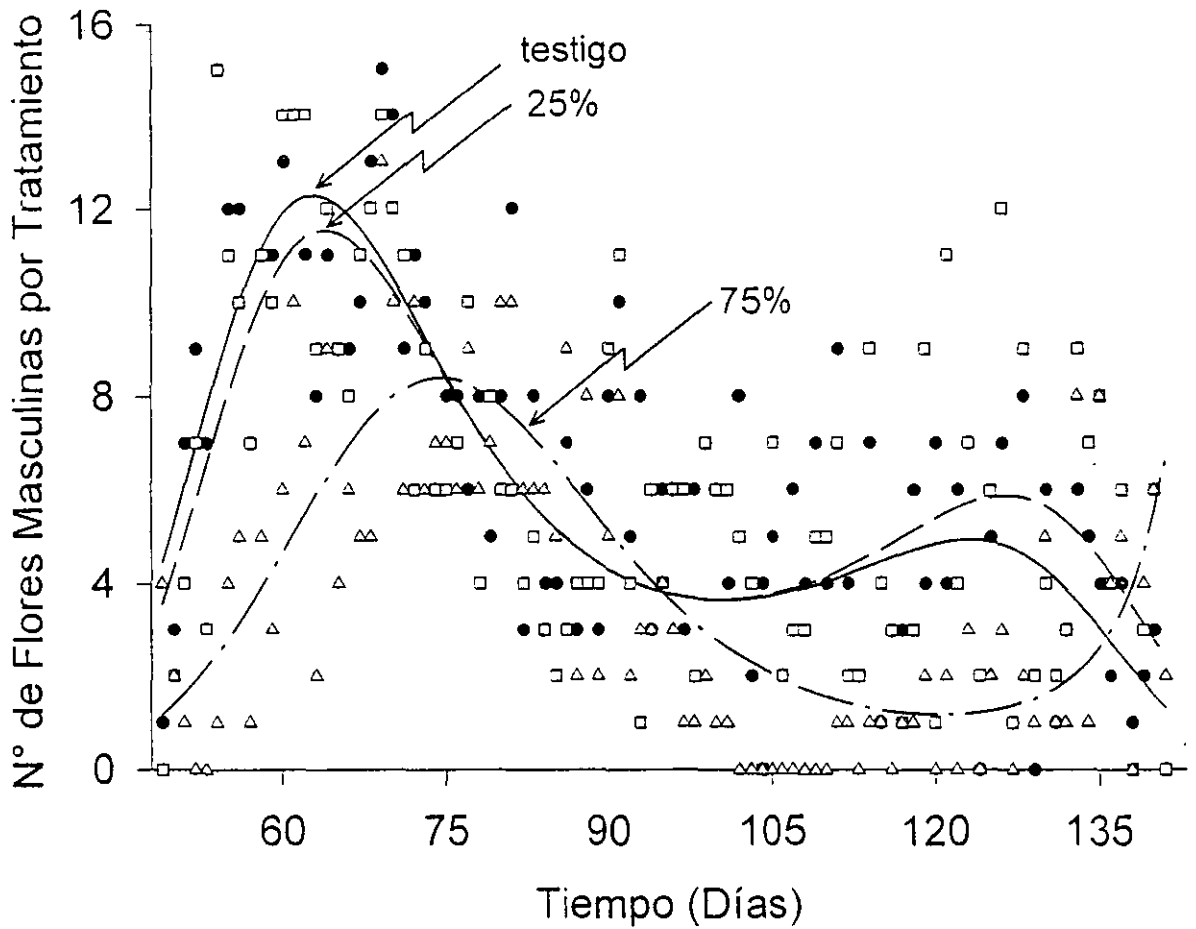


FIG. 6. Producción de flores masculinas por día en plantas de *C. sororia*, bajo tres niveles de pérdida de área foliar. Los puntos representan el número de flores acumulado por día por tratamiento ($N = 16$ plantas) : ● testigo; □ 25% de daño; △ 75% de daño. Las curvas corresponden a los estimados obtenidos por el ajuste de un modelo log-lineal (ver análisis estadístico en el texto).

la producción de flores con respecto a las plantas sin daño o con daño moderado (Fig. 6), de tal manera que el máximo de producción ocurrió a los $74 (\pm 3)$ días, en contraste con el de las plantas testigo y de 25% de defoliación (63 ± 2 y 64 ± 3 respectivamente).

TABLA 6. Análisis lineal generalizado del efecto de la herbivoría sobre la producción de flores por tratamiento a través del tiempo. Se asumió una distribución de probabilidad Poisson y la función de ligamiento fue el logaritmo natural. La variable explicativa fue transformada ($x = x - \text{media}$), como recomienda Sokal y Rohlf para ajustes de polinomios. El modelo ajustado fue:

$$1 + dia + dia^2 + dia^3 + dia^4 + dia.trat + dia^2.trat + dia^3.trat + dia^4.trat$$

Para corregir por sobredispersión el modelo fue escalado.

Parámetros	Coefficientes estimados	E.E.
<i>1</i>	1.3380	0.065
<i>dia</i>	-0.0163	0.005
<i>dia</i> ²	0.0015	0.0002
<i>dia</i> ³	1.46e-6	3.99e-6
<i>dia</i> ⁴	-8.15e-7	1.41e-7
<i>dia</i> x <i>trat</i> (2)	-5.19e-5	0.0069
<i>dia</i> x <i>trat</i> (3)	-0.0461	0.0084
<i>dia</i> ² x <i>trat</i> (2)	5.5e-5	0.0003
<i>dia</i> ² x <i>trat</i> (3)	-0.0019	0.0003
<i>dia</i> ³ x <i>trat</i> (2)	4.29e-6	5.42e-6
<i>dia</i> ³ x <i>trat</i> (3)	3.70 e-5	6.10e-6
<i>dia</i> ⁴ x <i>trat</i> (2)	1.58e-08	1.77e-7
<i>dia</i> ⁴ x <i>trat</i> (3)	9.53e-07	2.15e-7

Esta diferencia fue ocasionada por una reducción en la tasa de producción de flores de las plantas con daño severo, como lo indica la menor pendiente del término lineal del polinomio (Tabla 6). Posterior a este máximo la producción de flores de las plantas con defoliación al 75% cae pronunciadamente a niveles de producción inferiores a los presentados por las plantas de los otros dos tratamientos. El aumento final que se observa en el ajuste también representa un retraso con respecto al segundo pico observado en la producción de las plantas testigo y con daño moderado.

Efecto de la herbivoría sobre el número de abortos de flores masculinas

El daño foliar produjo un aumento en la incidencia de abortos de flores masculinas, como lo refleja el análisis log-lineal (Tabla 8). En global el número de abortos por planta varió de cero a diez, pero la distribución es marcadamente sesgada a los números inferiores de abortos en las plantas testigo y se desplaza marcadamente, hacia las categorías de mayor número de abortos, a

TABLA 7. Análisis lineal generalizado del efecto de la herbivoría sobre la producción de flores por tratamiento a través del tiempo. Se asumió una distribución de probabilidad Poisson y la función de ligamiento fue logarítmica. La variable explicativa fue transformada $x = x\text{-media}$, como recomienda Sokal y Rohlf para ajustes de polinomios.

Fuente de variación	Devianza	g.l.	DM	F	P
Variación explicada	293.54	12	24.46	22.390	< 0.0001
Efecto Tiempo					
Lineal	107.53	1	107.53	98.424	< 0.0001
Cuadrático	0.66	1	0.66	0.604	0.43
Cúbico	47.57	1	47.57	43.542	< 0.0001
Cuartico	33.26	1	33.26	30.443	< 0.0001
<i>Efecto Tiempo x Tratamiento</i>					
<i>dia</i> x <i>trat</i> (1&2-3)	4.47	1	4.47	4.091	0.04
<i>dia</i> x <i>trat</i> (1-2)	2.92	1	2.92	2.673	0.10
<i>dia</i> ² x <i>trat</i> (1&2-3)	39	1	39	35.697	< 0.0001
<i>dia</i> ² x <i>trat</i> (1-2)	0.18	1	0.18	0.165	0.68
<i>dia</i> ³ x <i>trat</i> (1&2-3)	33.15	1	33.15	30.343	< 0.0001
<i>dia</i> ³ x <i>trat</i> (1-2)	0.56	1	0.56	0.513	0.47
<i>dia</i> ⁴ x <i>trat</i> (1&2-3)	23.96	1	23.96	21.931	< 0.0001
<i>dia</i> ⁴ x <i>trat</i> (1-2)	0.28	1	0.28	0.256	0.61
Residuo	290.61	266	1.09		
Total	584.15	278			
	R ²	0.50			

TABLA 8. Análisis loglineal del efecto de la defoliación sobre el aborto de flores estaminadas. El ajuste del modelo usó una distribución Poisson y la función de ligamiento fue logarítmica.

Fuente de variación	X ² observado	g.l.	P
Testigo - 25% def.	7.166	1	0.0074
Testigo -25%-75% def.	108.665	2	< 0.0001

medida que aumenta la intensidad del daño (Fig. 7 A). Esta distribución diferencial se refleja en un gradiente de incidencia de abortos promedio por planta, en el sentido 75% >> 25% > testigo (Fig. 7 B).

Producción de flores femeninas

Las plantas produjeron entre una y dos flores femeninas por planta, con una proporción elevada de plantas que no produjeron flores femeninas en los dos tratamientos de defoliación (Fig. 8 A). Por lo tanto, comparé la proporción de plantas que produjeron flores femeninas y aquellas que no

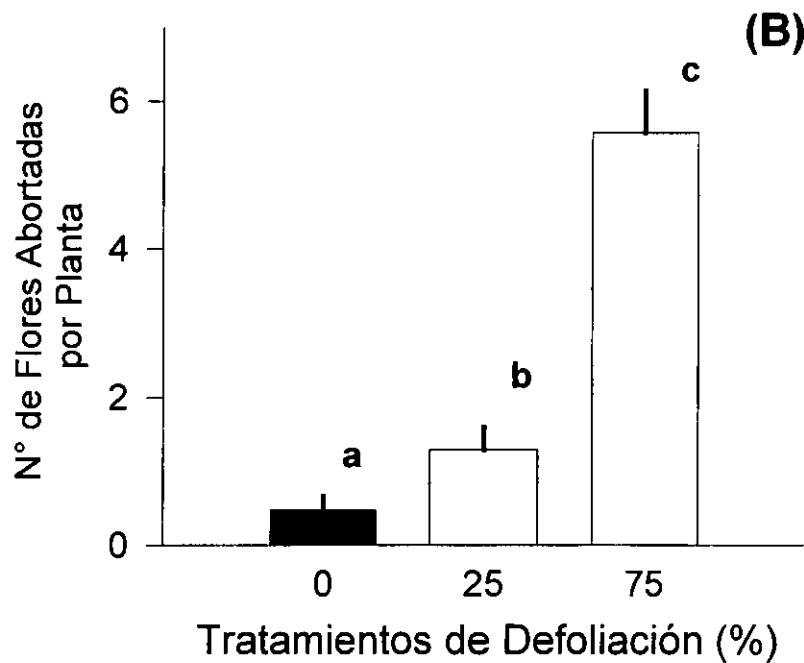
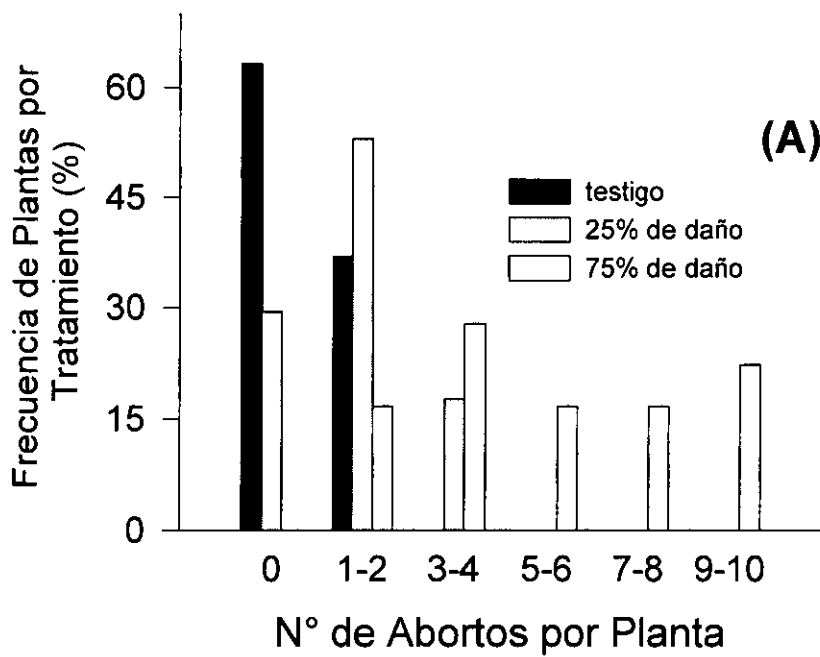


FIG. 7. Diferencias en la aborción de flores en plantas de *C. sororia* bajo tres tratamientos de defoliación. (A) Distribución de frecuencia por tratamiento de plantas con diferentes números de flores masculinas abortadas. (B) Número de flores masculinas abortadas por planta en los tratamientos de defoliación: 0% ($N = 19$ plantas), 25% ($N = 17$ plantas) y 75% ($N = 18$ plantas). Las barras representan el promedio por planta (+1 E.E) en cada tratamiento. Los valores constituyen el antilogaritmo de los estimados obtenidos por el ajuste de un modelo log-lineal con error poisson. Las letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.001$).

lograron producir este tipo de flores (Fig. 8 B). Las diferencias en las proporciones entre tratamientos fueron significativas según el modelo logit aplicado. el cual detectó que entre las plantas testigo la mayoría produjeron flores en comparación con las plantas defoliadas ($\chi^2 = 13.07$; $P = 0.0003$). Por el contrario, las plantas de los dos niveles de daño, que prácticamente no produjeron flores femeninas, formaron un grupo estadísticamente indistinguible ($\chi^2 = 1.309$; $P = 0.253$).

Producción de polen

Se detectó una variación significativa en la producción de granos de polen por flor por planta entre tratamientos (Tabla 9). La pérdida de área foliar no afectó la producción de polen por flor en las plantas con daño moderado en relación a las plantas testigo ($F_{1,40} = 0.618$; $P = 0.4360$); (Fig. 9). Sin embargo, bajo el tratamiento de remoción del 75% del área foliar la producción de polen se redujo en un 16.2 %, en comparación con el promedio de los otros dos tratamientos, y la diferencia fue altamente significativa (75% vs testigo, $F_{1,40} = 7.339$; $P = 0.0099$; 25% vs 75%, $F_{1,40} = 11.566$; $P = 0.00015$) (Fig. 9). Esta respuesta fue similar a la observada para la producción de flores masculinas.

Tabla 9. Efecto del daño foliar sobre el número de granos de polen. Medias mínimas cuadradas ± 1 E.S. del número de granos de polen por flor estaminada en plantas sin daño foliar ($n = 16$), con 25% de lamina foliar ($n = 15$) y 75% de lamina foliar removida ($n = 12$) en cada hoja de *Cucurbita sororia*.

Tratamiento	Medias Min. Cuadradas	E.E.	Media
T *	22424.700	785.879	22424.7
H ₁ †	23313.195	811.653	23313.2
H ₂ ‡	19172.695	907.455	19172.7

Cuando se considera la producción total de polen por planta (i.e., número de flores estaminadas x número de granos de polen / flor), el 75% de daño foliar reduce la producción total de polen en un 48.2 % en relación al promedio de producción de los otros dos tratamientos (373292 vs 774538 granos de polen por planta en los tratamientos de 75% y testigo-25%, respectivamente)

Tamaño de flores masculinas

La defoliación produjo un efecto significativo sobre la morfología floral cuando se consideraron el diámetro y la longitud del tubo en el análisis multivariado (Lamda de Wilk = 0.571; $F_{4,60} =$

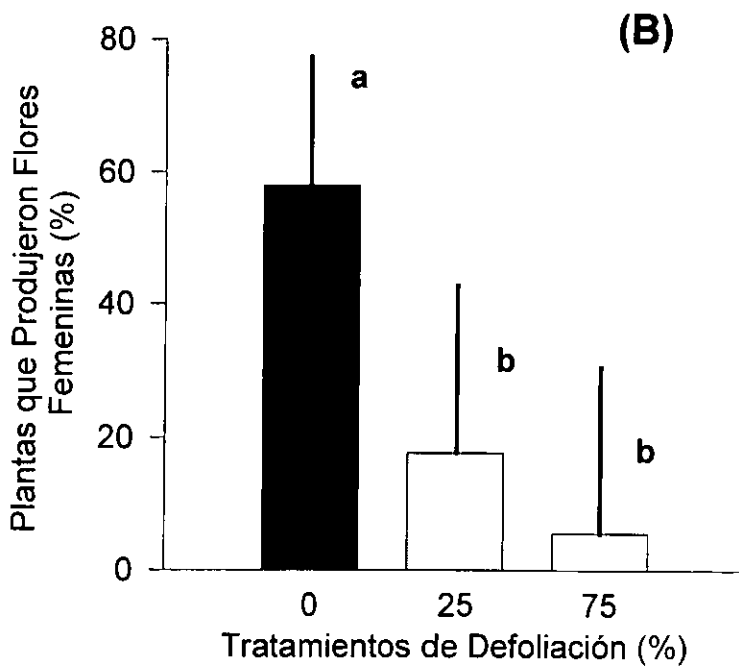
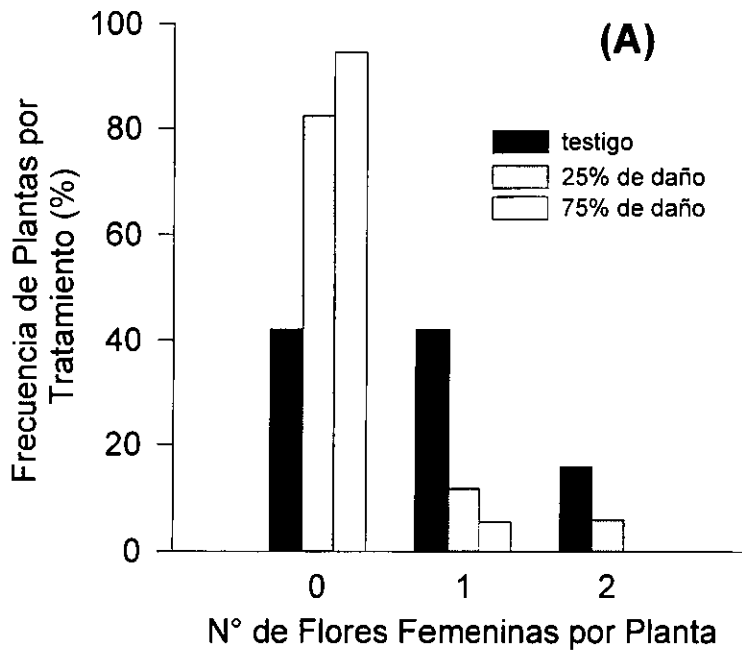


FIG. 8. Producción de flores femeninas en plantas de *C. sororia* bajo tres tratamientos de defoliación: 0, 25% y 75%. (A) Distribución de frecuencias por tratamiento de plantas con diferente número de flores femeninas. Las barras representan las frecuencias de plantas con 0, 1 o 2 flores femeninas por tratamiento. (B) Porcentaje de plantas que produjeron al menos 1 flor femenina en cada tratamiento: 0% ($N = 19$), 25% ($N = 17$) y 75% ($N = 18$). Las columnas representan los porcentajes medios y las barras de error representan los límites de confianza al 95%. Ambos parámetros fueron obtenidos por transformación de los valores estimados por el ajuste de un modelo logit con error binomial (ver Materiales y Métodos). Las letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

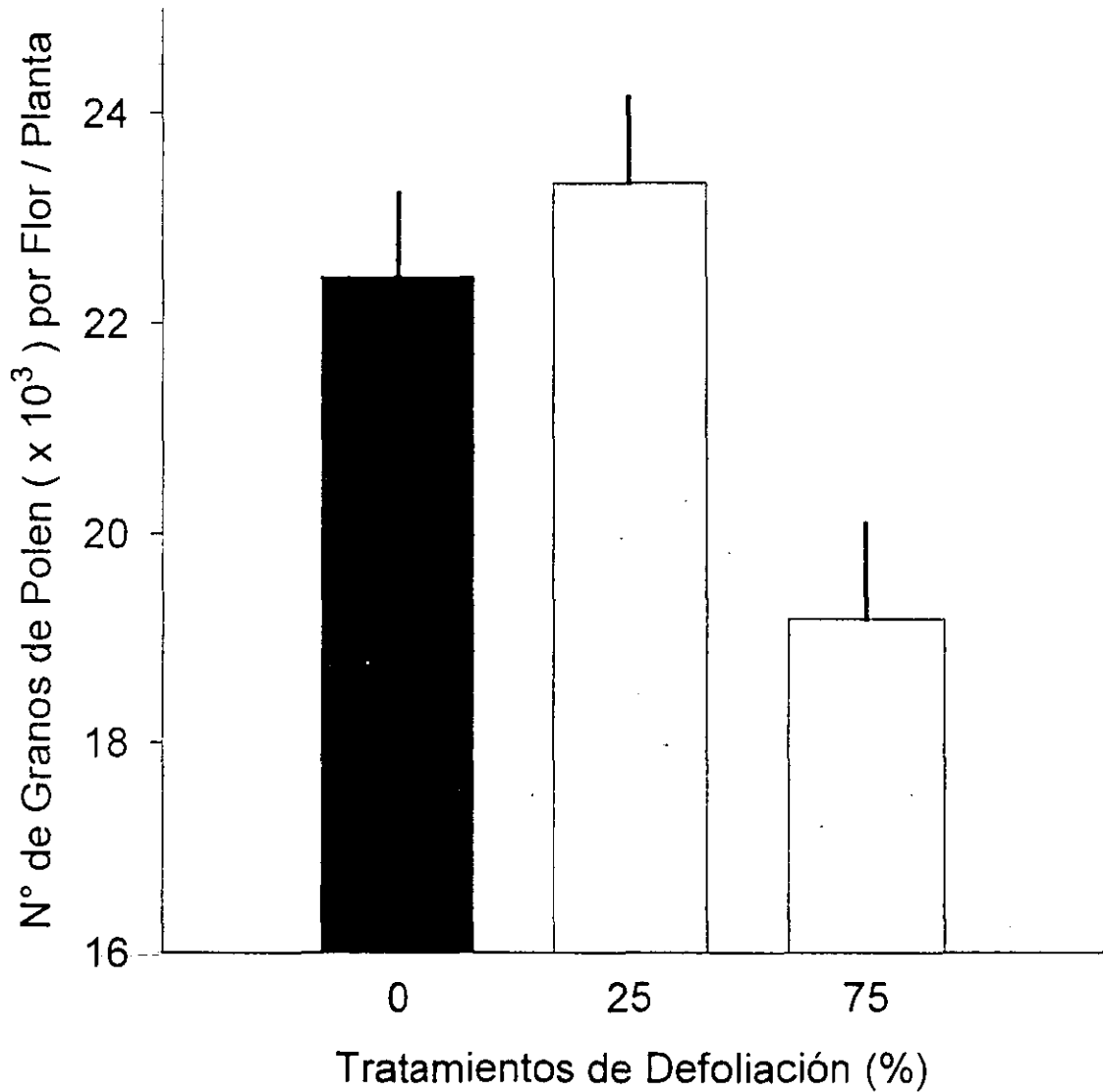


FIG. 9. Producción de granos de polen por flor masculina en plantas de *C. sororia* bajo tres tratamientos de defoliación: 0% ($N = 16$ plantas), 25% ($N = 15$ plantas) y 75% ($N = 12$ plantas). Las barras representan los valores medios ± 1 E.E.. Las letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

4.847; $P = 0.0019$). El análisis de contrastes univariado, corregido por la prueba secuencial de Bonferroni, reveló que el diámetro medio de las flores por planta fue significativamente menor en las plantas con el 25% de daño comparadas con las plantas testigo ($F_{1,31} = 8.727$; $P = 0.0176$) mientras que no hubo diferencias significativas con las plantas de 75% de daño ($F_{1,31} = 1.460$; $P = 0.236$) (Fig. 10 A). Sorprendentemente no hubo diferencias al comparar el 75% de daño con el testigo ($F_{1,31} = 2.294$; $P = 0.140$) (Fig. 10 A).

A diferencia del patrón descrito para el diámetro, la longitud media del tubo de las flores fue significativamente menor en las plantas con 75% de daño comparadas tanto con las plantas con 25% de daño ($F_{1,31} = 6.768$; $P = 0.0418$) como con las plantas testigo ($F_{1,31} = 5.857$; $P = 0.0428$) (Fig. 10 B). En la comparación entre las plantas con 25% de daño y testigo por su parte, no hubo diferencias estadísticamente significativas ($F_{1,31} = 0.113$; $P = 0.7393$) (Fig. 10 B). Los resultados anteriores sugieren que las dos dimensiones florales están relacionadas negativamente en relación a las dos intensidades de daño.

El patrón que parece emerger de los resultados es que el daño redujo la inversión total en el tamaño de la corola, y generó cambios morfológicos según una relación inversamente proporcional entre el diámetro y el largo del tubo al aumentar la intensidad del daño. Esto implica que el tratamiento de daño severo produjo flores con diámetros proporcionalmente mayores que el 25% de daño aún cuando no hubo diferencias en el tamaño total de la corola entre ambos tratamientos.

Para evaluar esta explicación se examinó el efecto del daño sobre una nueva variable de respuesta que se calculó a partir de las anteriores y representó la superficie total de la corola. Esta variable se calculó como la suma de la superficie de un círculo, estimado a partir del diámetro, más la superficie de un cilindro, calculado a partir de la altura y suponiendo un radio constante ($x = 9.42$ cm ; $n = 21$; $CV = 6.38$ % flores obtenidas al azar de la población experimental total). Esta estimación es equivalente a la suma ponderada de las dimensiones lineales originales: $(0.5 \cdot x_1)^2 + x_2 \cdot a$, donde x_1 y x_2 son el diámetro y la altura respectivamente y a es una constante ($a = \text{cuadrado del radio del tubo}$). Esta transformación le dió un mayor peso relativo al diámetro que a la altura (porque la mitad del diámetro está elevada al cuadrado), y por ello no es estrictamente equivalente a la simple suma del diámetro de la corola y el largo del tubo.

Con esta variable se probó primero si el daño disminuye la inversión en la corola en relación al testigo (i. e., se comparó el testigo contra la combinación de los dos niveles de daño)

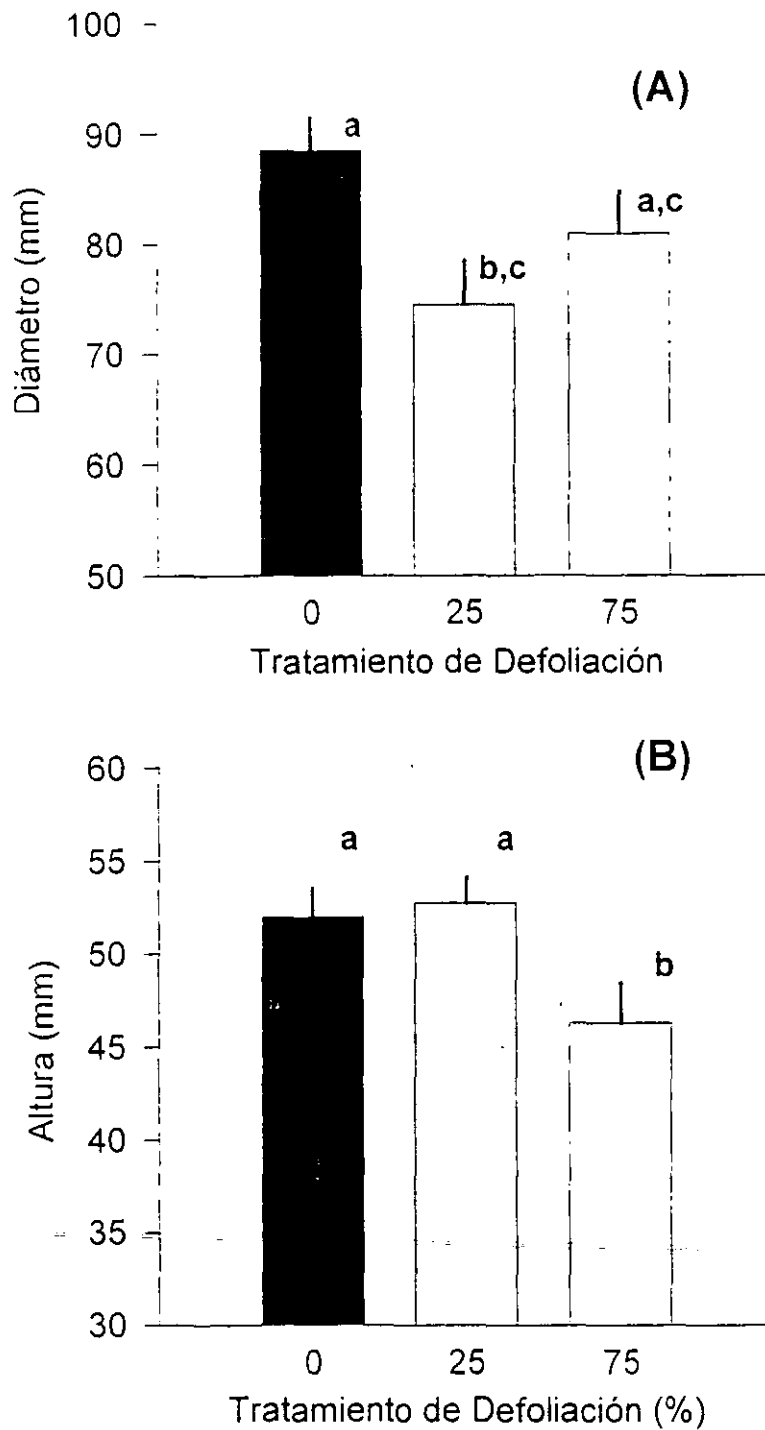


FIG. 10. Efecto del daño foliar experimental sobre (A) el diámetro de la corola y (B) la altura del tubo por flor masculina por planta. "0" corresponde al tratamiento testigo; "25%" corresponde al 25% de defoliación; y "75%" corresponde al 75% de defoliación. Las barras de error representan ± 1 EE de la media. Las medias con letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre sí ($P < 0.05$).

y, segundo, si existían diferencias en la inversión entre el 25% y el 75% de daño (en ambas comparaciones se corrigieron las probabilidades con la prueba de Bonferroni).

El resultado del ANDEVA para la comparación entre el testigo y los dos niveles de daño indicó que el daño reduce significativamente el tamaño total de la corola ($F_{1,31} = 6.612; P < 0.03$), mientras que el contraste entre los dos niveles de daño no mostró diferencias significativas en el tamaño total de la corola ($F_{1,31} = 0.019; P < 0.89$). Este resultado, aunado con los contrastes por separado para cada dimensión, confirma que el efecto del daño fue *i*) reducir el tamaño total de la corola y *ii*) modificar en forma inversa las relaciones morfológicas diámetro:altura de las flores. Cabe destacar que la reducción en el tamaño de la corola no fue proporcional al incremento en la intensidad de daño, lo que sugiere que las plantas compensaron la inversión en la corola.

Por otra parte, el cambio en las proporciones morfológicas podría ser consecuencia de un compromiso entre ambas dimensiones explicado por relaciones alométricas entre el largo del tubo con la longitud de la antera y de esta última dimensión con la producción de polen. La relación cantidad de polen-longitud de la antera se ha verificado en varias especies aunque no fue medido para esta en particular. Esta explicación es apoyada por el hecho de que las plantas con daño severo, cuyas flores tuvieron tubos más corto, son las que a su vez produjeron menos polen, mientras que las plantas con daño moderado no mostraron diferencias en la longitud del tubo, ni en la producción de polen en relación a las plantas testigo.

En síntesis, el patrón de cambio morfológico puede ser el resultado de la existencia de una relación negativa entre el diámetro de la corola y el largo del tubo por un lado, y una relación positiva entre este último y el largo de la antera. El hecho de que la herbivoría limitara la inversión total en la corola en la misma medida en los dos tratamientos de daño, pero sólo se redujera el tamaño de la antera (es decir la producción de polen) con el daño severo, determinó que las plantas limitadas por polen pudieran desplegar un diámetro mayor. Por el contrario, en las plantas con daño moderado el desarrollo de la antera (equivalente a las plantas testigo) determinó el largo del tubo, a costa del ancho de la corola.

Tiempo de desarrollo de las flores masculinas

El análisis de la remoción foliar sobre el tiempo de desarrollo de las flores (Tabla 10) demostró que las plantas con daño severo retrasan el desarrollo de sus flores masculinas desde su formación en la axila de las hojas hasta la antesis, con respecto a los tiempos de desarrollo de las

flores de plantas con daño moderado ($F_{1,41} = 17.669$; $P = 0.0001$) y testigo ($F_{1,41} = 12.486$; $P = 0.0021$) (Fig. 11). Estos efectos fueron detectables aún cuando las flores de los diferentes tipos de plantas estuvieron asociados a hojas de la misma edad. Estas diferencias en tiempos para alcanzar el desarrollo no se observaron entre las plantas testigo y las que presentaban daño moderado ($F_{1,41} = 0.574$; $P = 0.4511$) (Fig. 11).

TABLA 10. Análisis de varianza del número de días requerido para el desarrollo hasta antes de las flores estaminadas en plantas de *Cucurbita sororia* con diferentes intensidades de daño foliar: sin daño foliar ($N = 16$), con 25% ($N = 15$) y 75% de lamina foliar removida ($N = 13$).

Fuente de Variación	g.l.	C. M.	F	P
Tratamiento	2	5.052	9.941	0.0003
Error	41	0.508		

Correlación de caracteres vegetativos con caracteres reproductivos

Los análisis de correlación entre pares de variables demostraron que en las plantas sin daño no hubo relación entre la tasa de producción de flores masculinas y las tasas de natalidad ($r = 0.3271$; $P = 0.216$) o mortalidad de hojas ($r = 0.3153$; $P = 0.234$), y que entre estas últimas tampoco se presentó una relación significativa ($r = 0.2668$; $P = 0.318$) (Fig 12). Esto puede reflejar independencia en la asignación de recursos a los módulos reproductivos versus los vegetativos. En contraste, en las plantas que recibieron daño moderado hubo una correlación negativa, marginalmente significativa, entre la producción de flores masculinas y la tasa de natalidad de hojas ($r = -0.4894$; $P = 0.054$). Esta relación sugiere la existencia de un compromiso entre la reproducción y el crecimiento, es decir que las plantas que produjeron mayor cantidad de flores masculinas invirtieron recursos que no pudieron ser canalizados hacia nuevo crecimiento vegetativo, y por el contrario, las plantas con menor producción de flores pudieron asignar más recursos a los meristemos de crecimiento vegetativo. En este grupo de plantas las relaciones restantes no fueron significativas ni entre la producción de flores y las tasas de mortalidad ($r = 0.0803$; $P = 0.767$) ni entre estas últimas y las tasas de natalidad ($r = 0.3265$; $P = 0.217$).

El patrón que sugiere la existencia de un compromiso entre reproducción y crecimiento resultó aún más claro en las plantas con daño de 75%. que mostraron una correlación negativa significativa entre las tasas de producción de flores masculinas y las tasas de natalidad ($r = -0.6447$; $P = 0.007$) y las tasas de mortalidad ($r = -0.5638$; $P = 0.023$). A su vez, en estas plantas

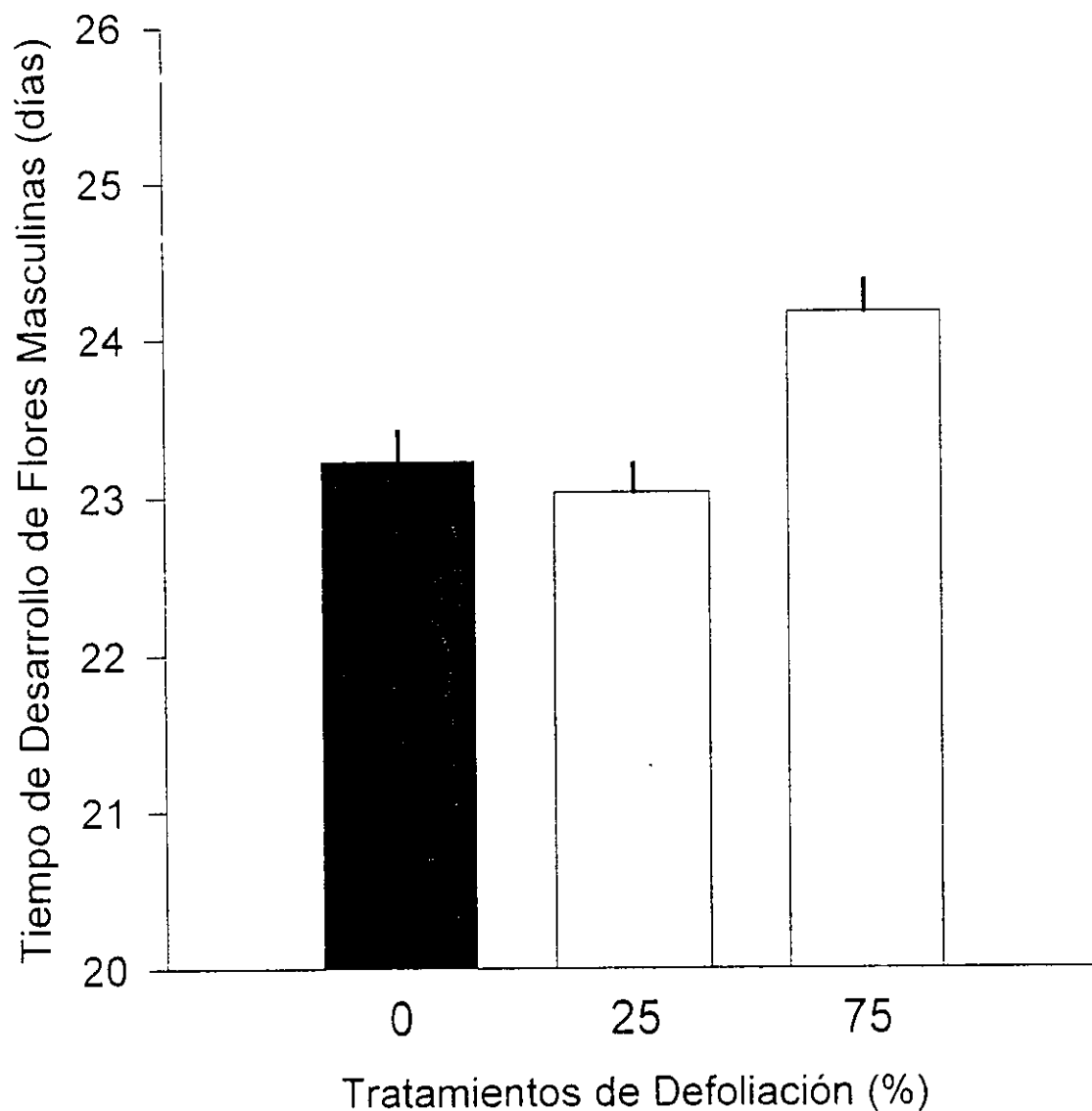


FIG. 11. Efecto de la defoliación sobre el tiempo de desarrollo hasta la antesis de las flores masculinas en plantas de *C. sororia*. Los tratamientos de defoliación fueron: 0% ($N = 16$ plantas), 25% ($N = 15$ plantas) y 75% ($N = 13$ plantas). Las barras representan los valores medios ± 1 E.E.. Las letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.01$).

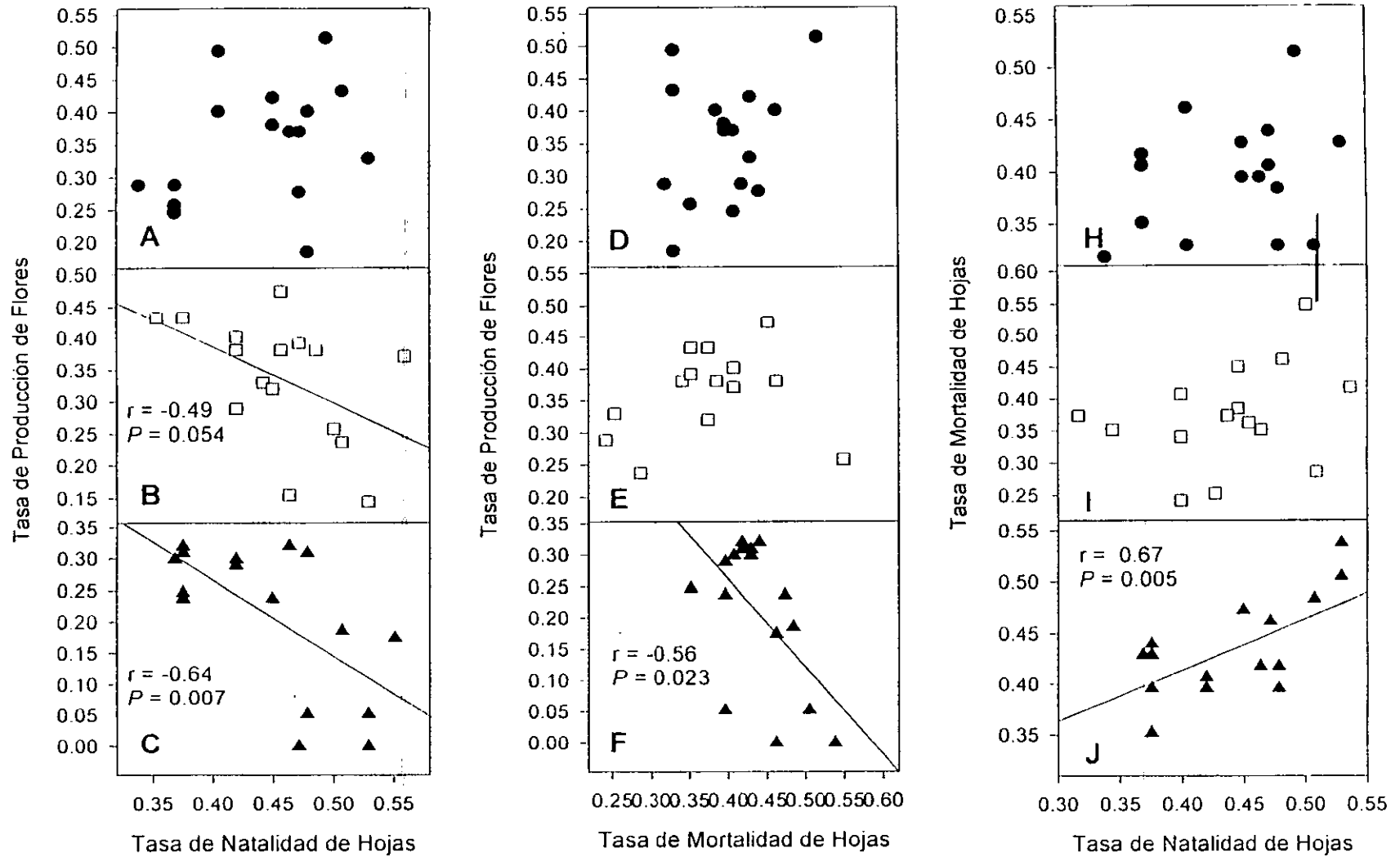


FIG. 12. Correlación entre los parámetros demográficos de natalidad de hojas, mortalidad de hojas y tasa de producción de flores estaminadas, en una población de *C. sororia* bajo tres tratamientos de defoliación. A - C relación entre la tasa de natalidad y de producción de flores; D - F relación entre la tasa de mortalidad y de producción de flores, H - J relación entre la tasa de mortalidad y la tasa de natalidad. Las gráficas superiores, medias e inferiores corresponden a los tratamientos testigo, 25% y 75% de defoliación respectivamente.

se produjo una correlación positiva entre ambas variables demográficas ($r = 0.6692$; $P = 0.005$). Estos resultados, considerados en conjunto para los tres grupos de plantas, sugieren que un aumento en la intensidad de daño foliar intensifica las relaciones negativas entre las actividades reproductivas y vegetativas, así como las relaciones positivas de los parámetros que regulan el crecimiento como son las tasas de natalidad y la mortalidad de hojas.

DISCUSION

La herbivoría es un estrés ambiental que puede disminuir la cantidad de recursos disponibles en las plantas y generar una alteración en la proporción de recursos asignados al crecimiento y a la reproducción (Briske *et al.* 1996). En las plantas anuales estos recursos son generados exclusivamente por el contingente de hojas vivas disponibles a través del tiempo. Las plantas perennes, además de este capital fotosintético, pueden movilizar reservas de años anteriores. Por esta razón la herbivoría puede afectar con mayor intensidad a las plantas semelparas anuales (Klinkhamer *et al.* 1997).

En *C. sororia* la herbivoría no tuvo consecuencias negativas sobre la natalidad de hojas de las plantas, aún bajo niveles severos de daño. Esta respuesta también se ha encontrado en otras plantas (Kotanen y Jefferies 1989, Houle y Simard 1996, Negrón-Ortiz y Gorchoy 2000). Sin embargo, el contingente neto de hojas de las plantas con mayor nivel de daño disminuyó por el aumento en las tasas de mortalidad de hojas. Esto también se vió reflejado en una menor longevidad de las mismas. Las hojas, además de producir fotosintatos, actúan como órganos de reserva de nutrientes, por lo que durante el proceso de senescencia y envejecimiento de una hoja los nutrientes son movilizados hacia a las zonas de mayor actividad meristemática de crecimiento y reproducción (Chabot y Hick 1982, Gan y Amasino 1997).

Es posible que mediante este mecanismo de repuesta las plantas con 75% de herbivoría aceleraron la movilización de nutrientes a partir de las hojas viejas para subsidiar la construcción de hojas nuevas y de esta forma mantener el mismo ritmo de crecimiento que las plantas testigo. Por lo anterior, estas plantas tuvieron menos recursos netos disponibles provenientes de la fotosíntesis. El hecho de que estas plantas mantuvieran las mismas tasas de natalidad de hojas (e incremento en la longitud del tallo) que las plantas sin daño, a pesar de contar con menor capital fotosintético, probablemente condujo a la disminución de la inversión en reproducción, en relación a las plantas de los demás tratamientos. En síntesis, la herbivoría incrementó la

proporción de asignación de recursos para el crecimiento en relación a la reproducción en los individuos con 75% de defoliación, en comparación con los individuos sin daño o con daño de menor intensidad.

Las plantas con 25% de daño compensaron en parte la pérdida de área foliar a través del aumento en el contingente neto de hojas hacia el final del periodo de crecimiento. El incremento fue consecuencia tanto del aumento en la tasa de natalidad, como del mantenimiento de las tasas de mortalidad, al mismo nivel que las plantas sin daño. En algunos periodos inclusive, las tasas de mortalidad fueron menores que en las plantas testigo. Como consecuencia de esto, al inicio del crecimiento las expectativas de vida de las hojas con 25 % de pérdida de área foliar fueron similares a las de las hojas de las plantas testigo y posteriormente las superaron. Si la muerte de una hoja está determinada por un umbral de eficiencia fotosintética (carbón asimilado /carbón respirado por la hoja) de tal manera que las hojas que no pueden mantener un determinado nivel de eficiencia son eliminadas (Miller y Mooney 1976), es razonable suponer que la eficiencia fotosintética de estas hojas aumentó y con ello se extendió su longevidad.

En este estudio incluso las plantas sin daño cambiaron sus expectativas de vida a través del desarrollo de la planta. A medida que la planta creció y se diferenciaba, las hojas extendieron su longevidad. Este patrón puede interpretarse como un aumento en la "amortización" del costo de fabricación de una hoja. Es decir, si interpretamos el proceso de crecimiento en forma análoga a los modelos económicos de costos y beneficios, el capital invertido en la construcción de las hojas nuevas (i.e., fotosintatos y nutrientes) rinde intereses (i.e., nuevos fotosintatos) durante mayor tiempo antes de ser reemplazada. Esto puede ocurrir en la etapa en que las plantas deben asignar mayor proporción de los recursos a la reproducción. Debido a esto en este periodo no sería posible mantener el mismo ritmo de producción de nuevas hojas que, aunque más eficientes, también implican mayor demanda de recursos. Las plantas podrían aplicar el mismo principio de aumento en la "capacidad de amortizar" el costo de las hojas en respuesta al daño (que implica la menor disponibilidad de recursos, al igual que en el caso de la reproducción), es decir, aumentar las expectativas de vida de sus hojas como mecanismo compensador.

La senescencia de la hoja, que conduce a su muerte y determina su longevidad, se reconoce como un proceso programado (i. e., bajo control genético) que permite reasignar recursos dentro de la planta (Gan y Amasino 1997). Sin embargo, existe consenso de que este proceso sería parte de una estrategia adaptativa más general de las plantas (Thomas y Stoddart

1980, Chabot y Hicks 1982). Los resultados de este estudio apoyarían esta interpretación ya que las diferencias en las expectativas de vida de las hojas sugiere que *C. sororia* ajusta facultativamente la longevidad de sus hojas en respuesta a las diferencias de demandas de recursos durante la ontogenia y la disponibilidad efectiva condicionada por la intensidad de la herbivoría que reciben.

En síntesis, *C. sororia* respondió al daño moderado por medio de dos mecanismos: aumento en la tasa de natalidad de hojas y retención de sus hojas durante mayor tiempo, probablemente con un aumento en la eficiencia fotosintética de estas últimas. En diversas especies de plantas dañadas por herbívoros masticadores, se ha observado un aumento en la capacidad fotosintética de las hojas acompañantes no dañadas (Welter 1989). Uno de los mecanismos propuestos para explicar esta tendencia es que la herbivoría, al disminuir el área foliar de las hojas maduras que funcionan como fuente (i.e., productoras de fotosintatos), aumenta la proporción sumideros-fuentes incentivando de este modo la producción de fotosintatos a través de un incremento en la tasa de fotosíntesis (Welter 1989). Este incentivo en la generación de recursos podría permitir que las plantas con herbivoría construyan nuevas hojas como mecanismo de compensación, dependiendo de la intensidad del daño. Estos cambios condujeron al rejuvenecimiento de las poblaciones de hojas de las plantas con daño foliar moderado, en relación a las plantas sin daño. Los cambios que introdujo la herbivoría en la estructura de edades de hojas de las plantas son compatibles con tal argumento. Las plantas sin daño presentan, al final del periodo de crecimiento, la estructura de edades típica de las poblaciones viejas: una gran proporción de hojas de edad avanzada y una escasa proporción de hojas jóvenes. En cambio, las plantas con daño moderado mantienen una estructura poblacional de hojas distribuidas más equitativamente entre las distintas categorías de edad.

Además de afectar el crecimiento, la herbivoría tuvo consecuencias importantes sobre la reproducción. El efecto de la remoción de área foliar en *C. sororia* fue diferente para la reproducción masculina y femenina. El daño foliar afectó la producción de flores femeninas en mayor proporción que la producción de flores masculinas. Este resultado fue similar al obtenido en plantas de *C. texana* que recibieron herbivoría artificial (Quesada *et al.* 1995). Las diferencias de respuesta entre la función masculina y femenina ocurrieron en la misma dirección predicha por la teoría de los costos diferenciales de los sexos en las plantas. Es decir, la pérdida de recursos determinada por el daño afectó más a la función sexual que impone mayores costos a la

planta. Charnov (1982) usó estos costos diferenciales para explicar la evolución de la protandria en las plantas con expresión sexual secuencial, como es el caso de la planta de estudio. Su modelo predice que la ocurrencia del sexo más caro puede ser demorada durante el desarrollo hasta que las plantas alcanzan un estado de crecimiento tal, que le permita satisfacer una mayor demanda de recursos. De igual manera, siguiendo el principio de este modelo, las plantas con limitaciones de recursos (por daño, por ejemplo) podrían diferir el sexo más costoso, si las condiciones ambientales lo permiten, o no expresarlo. Este fue el caso de algunas plantas con daño foliar severo, que sólo se produjeron flores masculinas.

A diferencia de la respuesta de la función femenina a la herbivoría, el esfuerzo reproductivo masculino fue indiferente a la remoción del 25% del área foliar. Las plantas con daño moderado sostuvieron el esfuerzo reproductivo masculino, tanto en la producción de flores masculinas, como en el número de granos de polen por flor, al mismo nivel que las plantas sin daño. Tampoco se produjo un retraso en la producción de flores en relación al testigo. Sin embargo, el éxito reproductivo no parece depender únicamente del número de flores producidas, sino de la regularidad en el tiempo de las flores disponibles. Mientras que el análisis de la producción de flores masculinas acumuladas no revela diferencias entre las plantas sin daño y las que tuvieron daño moderado, los efectos son evidentes en el caso de la producción diaria de flores. Esto puede ser explicado a través de un análisis de patrones de constancia o regularidad en la producción de flores. Por ejemplo, si una planta no produce flores un día determinado, y el siguiente produce dos; y en contraste otra planta produce una flor en cada uno de los dos días, la producción acumulada para ambas plantas puede ser la misma, pero la oferta diaria puede mostrar mayor variabilidad en el primer caso. Esta situación puede ser muy importante en condiciones naturales. Una oferta más irregular de las flores de una planta puede disminuir la frecuencia de visitas de los polinizadores y así afectar la adecuación por reducción del flujo de polen.

Los efectos de la herbivoría sobre el comportamiento de los polinizadores han recibido recientemente alguna atención (Strauss *et al.* 1996, Lehtilä y Strauss 1997, Mothershead y Marquis 2000). Estos efectos indirectos revisten particular importancia en las plantas polinizadas principalmente por abejas especialistas como en el caso de *C. sororia*, ya que es razonable suponer que el comportamiento de estos polinizadores estará más estrechamente relacionado con las características de la flor que en el caso de los polinizadores generalistas (ver Capítulo 2).

Las abejas solitarias que forrajean sobre las flores masculinas de *C. sororia* son atraídas tanto por el polen como por el néctar. Ambos recursos podrían ser "evaluados" previamente por las abejas a través del tamaño y la forma de la corola (Rathcke 1992). Por ello, modificaciones en estas características de la flor podrían modificar el comportamiento de los polinizadores. Dado que el daño foliar moderado afectó el tamaño de la corola, esto podría tener consecuencias sobre la tasa de visitas y la adecuación masculina de las plantas (Strauss *et al.* 1996).

La remoción del 75 % de área foliar redujo la producción de flores masculinas. El principal mecanismo de regulación de la producción de flores de la planta fue la aborción de las yemas florales. Sin embargo, un segundo mecanismo fue el retraso en el desarrollo de las yemas florales no abortadas. El primero determinó la reducción en la producción de flores y el segundo el retraso en la reproducción masculina. Ambos factores pueden limitar el éxito reproductivo, tanto al ofrecer menor cantidad de polen al flujo de polen de la población, como por la oportunidad de la oferta en el tiempo, en relación a la disponibilidad de flores femeninas receptoras. Estos aspectos pueden tener consecuencias sobre la estructura poblacional de la generación futura. Menor cantidad de polen implica menor representación de algunos genotipos en la población (en este caso las plantas con daño severo), con lo que la diversidad genética en la generación filial puede ser menor en relación a la parental. De igual manera, en el caso de las poblaciones en las cuales la oferta de flores receptoras femeninas está relativamente acotada en el tiempo, el desfase en la exportación de polen puede disminuir la probabilidad de encontrar flores para fecundar.

En el caso de las poblaciones de *C. sororia* en la selva seca caducifolia, la marcada estacionalidad en las precipitaciones y la falta de latencia en las semillas determina la germinación relativamente sincrónica de las plantas al inicio de la estación húmeda (ver Apéndice 1). Este hecho, aunado a la jerarquización en la captación de recursos de las flores femeninas, que determina que las primeras flores fecundadas desarrollen mejores frutos que las últimas (por competencia interna en la planta y por condiciones ambientales propicias al desarrollo; Stephenson 1981, 1992, Lee 1988), implicaría que aún cuando hubiera flores disponibles tardías en la estación, la probabilidad de formar semillas es baja en relación a las primeras flores.

Hasta aquí he analizado por separado las consecuencias de la herbivoría sobre el crecimiento y la reproducción. Sin embargo ambos procesos están integrados durante la

ontogenia de las plantas e interactúan sobre la base de recursos comunes. Por lo anterior, la herbivoría, al disminuir estos recursos, puede modificar las "prioridades" de asignación entre funciones dentro de las plantas (Watson y Casper 1984)

La correlación negativa entre las tasas de crecimiento (tasas de natalidad de hojas) con respecto a la tasa de producción de flores masculinas indica que las plantas con daño severo muestran un compromiso claro entre crecimiento y reproducción. Esta respuesta se puede explicar por la teoría de asignación de recursos entre diferentes sumideros que compiten dentro de la planta, en este caso el desarrollo de los meristemos foliares y el meristemo apical del tallo, versus las yemas florales en las plantas con daño severo. Al disminuir la disponibilidad de recursos que se comparten, aumenta el compromiso dentro de la planta. Si bien el crecimiento compensatorio se observó sólo en las plantas con daño moderado, las plantas con daño severo también asignaron proporcionalmente más al crecimiento que a la reproducción. En estas plantas se restringe de manera severa la reproducción femenina, y en menor medida (pero significativamente) la función masculina, y comparativamente menos el crecimiento. Las plantas con 25% de defoliación también mostraron una caída importante de la reproducción femenina. Estos resultados indican que las plantas de *C. sororia* responden al daño priorizando diferencialmente la asignación de recursos entre crecimiento, reproducción masculina y reproducción femenina. La disminución de recursos por efecto de la herbivoría produce una caída de la función femenina hasta un extremo en el que no hay reproducción. Por el contrario, la función masculina sólo se ve afectada cuando el daño es severo. Finalmente, el crecimiento es priorizado aún en niveles muy altos de daño. En estos niveles la tasa de natalidad de hojas no se altera, pero sí la tasa de mortalidad.

Esta modificación en las proporciones internas de asignación ante el daño, podría ser un mecanismo muy importante de compensación en las plantas, particularmente en las enredaderas. En este tipo de formas de vida el crecimiento axial predomina sobre el radial. Esto asegura la exploración de nuevos microambientes compatibles con el crecimiento observado en las selvas en las que estas plantas "colonizan" arbustos y árboles de escasa altura, cubriendo sus copas. En este tipo de comportamiento (crecimiento) caracterizado por Lovett Doust, (1981) como de "guerrilla", la prioridad es asegurar nuevos espacios permanentemente. Esta colonización implica lograr la exposición correcta de sus grandes hojas a ambientes lumínicos adecuados, así como el colocar sus grandes flores en microambientes visibles, favorables para el éxito de la visita de sus

polinizadores. Por otro lado, nuevos nudos implican nuevos meristemas potencialmente reproductivos. Si además de esto el éxito de una flor está ligado a las hojas cercanas (Watson y Casper 1984) existe la posibilidad de que los eventos históricos (daños del pasado) no condicionen la reproducción futura, siempre y cuando las condiciones ambientales sean adecuadas para el crecimiento y la reproducción.

Si bien estas plantas crecen en la selva tropical seca caducifolia, que se caracteriza por una gran estacionalidad, existe gran variabilidad en el comienzo y finalización de la estación, lo que da la oportunidad de "apostar" al indeterminismo en el crecimiento (como una forma de plasticidad) para aprovechar al máximo la longitud propicia de cada estación. Sin embargo este escenario es razonable si las plantas pueden desacoplar las inversiones de recursos entre sexos, de tal manera que puedan regular la inversión en la reproducción, no sólo entre las funciones masculina y femenina, sino en cantidad y oportunidad para realizarlo.

El presente estudio demuestra que una comprensión adecuada de los efectos de la herbivoría sobre el desempeño de la planta requiere evaluar no sólo los efectos sobre la reproducción masculina y femenina, y las consecuencias sobre el crecimiento, sino también las decisiones que toma la planta al respecto de la asignación de sus recursos.

LITERATURA CITADA

- Aizen, M. A. y E. Raffaele. 1998. Flowering-shoot defoliation affects pollen grain size and postpollination pollen performance in *Alstroemeria aurea*. *Ecology* 79:2133-2142.
- Allison, T. D. 1990. The influence of deer browsing on the reproductive biology of Canada yew (*Taxus canadensis* Marsh.) II. Pollen limitation: an indirect effect. *Oecologia* 83:530-534.
- Anderson, T. W. 1958. An introduction to multivariate statistical analysis. New York: Wiley.
- Bazzaz, F. A. y J. L. Harper. 1977. Demographic analysis of the growth of *Linum usitatissimum*. *New Phytologist* 78:193-208.
- Boege, K. y R. Dirzo. 2001. Intraspecific variation in growth, defense and herbivory mediated by edaphic heterogeneity: ecological and evolutionary consequences for *Dialium guianense* (Caesalpinaceae). *En prensa*.
- Bowman W. D. y R. T. Conant. 1994. Shoot growth dynamics and photosynthetic response to increased nitrogen availability in the alpine willow *Salix glauca*. *Oecologia* 97:93-99.

- Briske, D. D., T. W. Boutton y Z. Wang. 1996. Contribution of flexible allocation priorities to herbivory tolerance in C₄ perennial grasses: an evaluation with ¹³C labeling. *Oecologia* 105:151-159.
- Caldwell M. M., J. H. Richards, D. A. Johnson, R. S. Nowak y R. S. Dzurec. 1981. Coping with herbivory: photosynthetic capacity and resource allocation in two semiarid *Agropyron* bunchgrasses. *Oecologia* 50:14-24.
- Chabot B. F. y D. J. Hicks. 1982. The ecology of leaf life spans. *Annual Review of Ecology and Systematics* 13:229-259.
- Chambliss, O.L. y C.M. Jones. 1966. Cucurbitacins: specific insect attractants in *Cucurbitaceae*. *Science* 153:1392-1393.
- Charnov, E. L. 1982. *The theory of sex allocation*. Princeton University Press, Princeton. New Jersey.
- Clark, D. B. y D. A. Clark. 1985. Seedling dynamics of a tropical tree: impacts of herbivory and meristem damage. *Ecology* 66:1884-1892.
- Coleman J. S., K. D. M. McConnaughay y D. D. Ackerly. 1994. Interpreting phenotypic variation in plants. *Trends in Ecology and Evolution* 9:187-191.
- Crawley, M. J. 1983. *Herbivory: the dynamics of animal-plant interactions*. Berkeley: University California Press.
- Crawley, M. J. 1993. *Glim for ecologists*. Blackwell Scientific Publications. Oxford.
- Delph, L. F. 1990. Sex-differential resource allocation patterns in the subdioecious shrub *Hebe subalpina*. *Ecology* 71:1342-1351.
- Dirzo, R. 1984. Herbivory: A phytocentric overview. *En: R. Dirzo y J. Sarukhán, eds. Perspectives in plant population biology*. Pp:141-165. Sinauer, Sunderland, MA.
- Frazer, J. E. y R. J. Marquis. 1994. Environmental contribution to floral trait variation in *Chamaecrista fasciculata* (Fabaceae: Caesalpinoideae). *American Journal of Botany* 81:206-215.
- Freeman, D. C., K. T. Harper y E. L. Charnov. 1980. Sex change in plants: old and new observations, and new hypotheses. *Oecologia* 47: 222-232.
- Fritz, R. S. y E. L. Simms, eds. 1992. *Plant Resistance to Herbivores and Pathogens: Ecology, Evolution and Genetics*. University of Chicago Press, Chicago.
- Gan, S. y R. M. Amasino. 1997. Making sense of senescence. *Plant physiology* 113:313-319.

- Glim 4.02. 1992. Royal Statistical Society. London.
- Gronemeyer P. A., B. J. Dilger, J. L. Bouzat y K. N. Paige. 1997. The effects of herbivory on paternal fitness in scarlet gilia: better moms also make better pops. *American Naturalist* 150:592-602.
- Haukioja E., K. Ruohomäki, J. Senn, J. Suomela, y M. Walls 1990. Consequences of herbivory in the mountain birch (*Betula pubescens* ssp. *tortuosa*): importance of the functional organization of the tree. *Oecologia* 82:238-247.
- Harper, J. L. 1977. Population biology of plants. Academic Press. London.
- Harper, J. L. 1989. The value of a leaf. *Oecologia* 80:53-58.
- Heichel, G. H. y N. C. Turner. 1983. CO₂ assimilation of primary and regrowth foliage of red maple (*Acer rubrum* L) and red oak (*Quercus rubra* L): Adaptation to defoliation. *Oecologia* 57:14-19.
- Hendrix, S. D. 1988. Herbivory and its impact on plant reproduction. *En: J. Lovett-Doust y L. Lovett-Doust, eds. Plant reproductive ecology: patterns and strategies. Pp:246-266. Oxford University Press.*
- Hendrix, S. D. y E. J. Trapp. 1981. Plant -herbivore interactions: insect-induced changes in host plant sex expression and fecundity. *Oecologia* 49: 119-122.
- Hendrix, S. D. y E. J. Trapp. 1989. Floral herbivory in *Pastinaca sativa*: Do compensatory responses offset reduction in fitness? *Evolution* 43:891-895.
- Herms, D. A. y W. J. Mattson. 1992. The dilemma of plants - to grow or defend? *Quarterly Review of Biology* 67:283-335
- Houle, G. y G. Simard. 1996. Additive effects of genotype, nutrient availability and type of tissue damage on the compensatory response of *Salix planifolia* ssp. *planifolia* to simulated herbivory. *Oecologia* 107:373-378.
- Hunt, R. 1982. Plant growth curves: The functional approach to plant growth analysis. Edward Arnold. Scotland.
- Hurd, P. D. y E. G. Linsley. 1970. A classification of the squash and gourd bees *Peponapis* and *Xenoglossa*. *Calif. Publ. in Entomol* 62: 1-39
- Hurd, P. D., E. G. Linsley y T. W. Whitaker. 1971. Squash and gourd bees (*Peponapis*, *Xenoglossa*) and the origen of the cultivated Cucurbita. *Evolution* 25: 218-234.

- Jefferies, R. L. y T. Rudmik. 1991. Growth, reproduction and resource allocation in halophytes. *Aquatic Botany* 39:3-16
- Jones, C. S. 1992. Comparative ontogeny of a wild cucurbit and its derived cultivar. *Evolution* 46:1827-1847.
- Karban, R. y Y. T. Baldwin 1997. Induced responses to herbivory. Chicago University Press. Chicago.
- Klinkhamer, P. G.L., T. Kubo y Y. Iwasa. 1997. Herbivores and the evolution of the semelparous perennial life-history of plants. *Journal of Evolutionary Biology* 10:529-550.
- Kotanen, P. M. y R. L. Jefferies. 1989. Responses of arctic sedges to release from grazing: Leaf demography of *Carex flavicans*. *Canadian Journal of Botany* 67:1408-1413.
- Krebs, C. J. 1985. Ecology. Harper y Row, New York.
- Kulman, H. M. 1971. Effects of insect defoliation on growth and mortality of trees. *Annual Review of Entomology* 16: 289-324.
- Lehtilä K. y S. Y. Strauss. 1997. Leaf damage by herbivores affects attractiveness to pollinators in wild radish, *Raphanus raphanistrum*. *Oecologia* 111:396-403
- Lovett Doust, L. 1981. Population dynamics and local specialization in a clonal perennial (*Ranunculus repens*). I. The dynamics of ramets in contrasting habitats. *Journal of Ecology* 69:743-755.
- Louda, S. M. 1984. Herbivore effect on stature, fruiting, and leaf dynamics of a native crucifer. *Ecology* 65:1379-1386.
- Lee, T. D. 1988. Patterns of fruit and seed production. *En: J. Lovett Doust y L. Lovett Doust, eds. Plant reproductive ecology: patterns and strategies. Pp:179-202. Oxford University Press, New York.*
- Lehtilä K., y S. Y. Strauss. 1999. Effects of foliar herbivory on male and female reproductive traits of wild radish, *Raphanus raphanistrum*. *Ecology* 80:116-124.
- Lira, R., T. C. Andres y M. Nee. 1995. Cucurbita. *En: R. Lira, ed. Estudios taxonómicos y ecogeográficos de las Cucurbitáceas latinoamericanas de importancia económica: Cucurbita, Sechium, Sicana y Cyclanthera. Int. Plant Gen. Res. Inst. Roma.*
- Louda, S. M., K. H. Keeler y R. D. Holt. 1990. Herbivore influences on plant performance and competitive interactions. *En: J. B. Grace y D. Tilman, eds. Perspectives on Plant Competition. Pp:413-444. Academic Press, New York.*

- Lloyd, D. G. 1979. Parental strategies of angiosperms. *N. Z. J. Bot.* 17:595-606.
- Marquis, R. J. 1984. Leaf herbivores decrease fitness of a tropical plant. *Science* 226: 537-539.
- Marquis, R. J. 1988. Phenological variation in the neotropical understory shrub *Piper aricanum*: causes and consequences. *Ecology* 69:1552-1565.
- Marquis, R. J. 1992. The selective impact of herbivores. *En: R. S. Fritz y E.L. Simms, eds. Plant resistance to herbivores and pathogens: ecology, evolution and genetics.* Chicago University Press. Pp:301-325.
- Marquis, R. J. 1996. Plant architecture, sectoriality and plant tolerance to herbivores. *Vegetatio* 127:85-97.
- Maxwell, S. E. y H. D. Delaney. 1990. Designing experiments and analyzing data: A model comparison perspective. Wadsworth, Belmont.
- Merrick, L. C., y D. M. Bates. 1989. Classification and nomenclature of *Cucurbita argyrosperma*. *Baileya* 23:94-102.
- Merrick, L. C. 1990. Systematics and evolution of a domesticated squash, *Cucurbita argyrosperma*, and its wild and weedy relatives. *En: D. M. Bates, R. W. Robinson, y C. Jeffrey, eds. Biology and Utilization of the Cucurbitaceae.* Pp:77-95. Comstock Publishing Associates, Ithaca, New York.
- McKone, M. J. 1989. Intraspecific variation in pollen yield in brome grass (Poaceae: *Bromus*). *American Journal of Botany* 76:231-237.
- McCloud, E. S., D. W. Tallamy, y F. T. Halaweish. 1995. Squash beetle trenching behavior: Avoidance of cucurbitacin induction or mucilaginous plant sap?. *Ecological Entomology* 20:51-59.
- McGraw, J. B. y K. Garbutt. 1990. The analysis of plant growth in ecological and evolutionary studies. *Trends in Ecology and Evolution* 5:251-254.
- Mead, R. 1988. The design of experiments: statistical principles for practical applications. Cambridge University Press, Cambridge.
- Metcalf, R. L. y A. M. Rhodes. 1990. Coevolution of the Cucurbitaceae and Luperini (Coleoptera:Chrysomelidae): basic and applied aspects. *En: D.M. Bates, R.W. Robinson y C. Jeffrey, eds. Biology and utilization of the Cucurbitaceae.* Pp:167-182. Cornell University Press, Ithaca, New York.

- Miller, P. C. y H. A. Mooney. 1976. The origin and structure of American arid zone ecosystems. The producers: interactions between environment, form, and function. *En*: G. W. Arnold, C. T. de Wit, eds. Critical evaluation of systems analysis in ecosystems research and management Pp:38-59. Wageningen: Centre Agr. Publ. Document.
- Milliken, G. A. y D. E. Johnson. 1984. Analysis of messy data. Vol. I. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Mothershead, K. y R. J. Marquis. 2000. Fitness impacts of herbivory through indirect effects on plant-pollinator interactions in *Oenothera macrocarpa*. *Ecology* 81:30-40.
- Mutikainen P. y L. F., Delph 1996. Effects of herbivory on male reproductive success in plants. *Oikos* 75:353-358.
- Mutikainen, P., M. Walls y A. Ojala. 1994. Sexual differences in responses to simulated herbivory in *Urtica dioica*. *Oikos* 69: 397-404.
- Negrón-Ortiz V. y D. L. Gorchov. 2000. Effects of fire season and postfire herbivory on the cycad *Zamia pumila* (Zamiaceae) in slash pine Savanna, everglades national park, Florida. *International Journal of Plant Sciences* 161:659-669.
- Obeso, J. R. 1993. Does defoliation affect reproductive output in herbaceous perennials and woody plants in different ways? *Functional Ecology* 7:150-155.
- Painter, R. H. y J. K. Detling. 1981. Effects of defoliation on net photosynthesis and regrowth of western wheatgrass. *Journal of Range Management* 34:68-71.
- Pitelka L. F. y J. W. Ashmun 1985. Physiology and integration of ramets in clonal plants. *En*: J. Jackson, L. W. Buss y R. E. Cook, eds. *Population Biology and Evolution of Clonal Organisms*. Pp:399-435. Yale University Press, New Haven, CT.
- Potvin, C., M. J. Lechowicz, y S. Tardif. 1990. The statistical analysis of ecophysiological response curves obtained from experiments involving repeated measures. *Ecology* 71:1389-1400.
- Quesada, M., K. Bollman y A. G. Stephenson. 1995. Leaf damage decreases pollen production and hinders pollen performance in *Cucurbita texana*. *Ecology* 76:437-443.
- Rathcke, B. J. 1992. Nectar distributions, pollinator behavior, and plant reproductive success. *En*: M. D. Hunter, T. Ohgushi, y P. W. Price, eds. *Effects of resource distribution on animal-plant interactions*. Pp:113-138. Academic Press, New York.

- Rausher, M. D. y P. Feeney. 1980. Herbivory, plant density and plant reproductive success: the effect of *Battus philenor* on *Aristolochia reticulata*. *Ecology* 61:905-917.
- Roach, D. A. y R. D. Wulff. 1987. Maternal effects on plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18:209-235.
- Rosenthal, J. P. y P. M. Kotanen 1994. Terrestrial plant tolerance to herbivory. *Trends in Ecology and Evolution* 9:145-148.
- Ruess, R. W. 1988. The interaction of defoliation and nutrient uptake in *Sporobolus kentrophyllus*, a short grass species from the Serengeti Plains. *Oecologia* 77:550-556.
- Sacchi, C.F., P.W. Price, T.P. Craig y J.K. Itami. 1988. Impact of shoot galler attack on sexual reproduction in the arroyo willow. *Ecology* 69: 2021-2029.
- Scheiner, S. M. y J. Gurevitch, eds. 1993. Design and analysis of ecological experiments. Chapman y Hall, New York.
- Schlichting, C.D. y V. A. Delesalle. 1997. Stressing the differences between male and female functions in hermaphroditic plants. *Trends in Ecology and Evolution*: 12:51-52
- Shapiro, S. S. y M. B. Wilk. 1965. An analysis of variance test of normality (complete samples). *Biometrika* 52:591-611.
- Snow, A. A. y P. O. Lewis. 1993. Reproductive traits and male fertility in plants: empirical approaches. *Annual Review of Ecology and Systematics* 24:331-351.
- Snyder, M. A. 1993. Interactions between Abert's squirrel and ponderosa pine: the relationship between selective herbivory and host plant fitness. *American Naturalist* 141:866-879
- Sokal, R. R. y F. J. Rohlf. 1995. *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. State University of New York at Stony Brook. Stony Brook, New York.
- Stephenson, A. G. 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 12:253-279.
- Stephenson, A. G. 1982. The role of extrafloral nectaries of *Catalpa speciosa* in limiting herbivory and increasing fruit production. *Ecology* 63:663-669.
- Stephenson, A. G. 1992. The regulation of maternal investment in plants. *En*: C. Marshal y J. Grace, eds. *Fruits and seed production: aspects of development, environmental physiology and ecology*. Pp:151-172. Cambridge University Press. Cambridge.
- Strauss, S. Y. 1997. Floral characters link herbivores, pollinators, and plant fitness. *Ecology* 78:1640-1645.

- Strauss, S. Y., J. K. Conner, y S. L. Rush. 1996. Foliar herbivory affects floral characters and plant attractiveness to pollinators: implications for male and female plant fitness. *American Naturalist* 147:1098-1107.
- Tallamy, D. W. 1985. Squash beetle feeding behavior: An adaptation against induced cucurbit defenses. *Ecology* 66:1574-1579.
- Tallamy, D. W. y E. S. McCloud. 1991. Squash beetles, cucumber beetles, and inducible cucurbit responses. *En: D. W. Tallamy y M. J. Raupp, eds. Phytochemical induction by herbivores. Pp:155-181. New York.*
- Thomas, H. y J. L. Stoddart. 1980. Leaf senescence. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 31:83-111.
- Trumble, J. T., D. M. Kolodnyhirsch y I. P. Ting. 1993. Plant compensation for arthropod herbivory. *Annual Review of Entomology* 38: 93-119.
- Underwood, A. J. 1997. *Experiments in ecology: their logical design and interpretation using analysis of variance.* Cambridge University Press, Melbourn.
- Von Ende, C. N. 1993. Repeated-measures analysis: Growth and other time-dependent measures. *En: S. M. Scheiner y J. Gurevitch, eds. Chapter 6: Design and Analysis of Ecological Experiments. Pp:113-137. Chapman and Hall, New York.*
- Watson, M. A. 1995. Sexual differences in plant developmental phenology affect plant-herbivore interactions. *Trends in Ecology Evolution* 10:180-182.
- Watson, M. A. y B. B. Casper 1984. Morphogenetic constraints on patterns of carbon distribution in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 15:233-258.
- Welter, S. C. 1989. Arthropod impact on plant gas exchange. *En: E. A. Bernays, ed. Insect-plant interactions, vol 1. CRC, Boca Raton, FL: Press, pp 135-150.*
- Whitham, T. G. y S. Mopper. 1985. Chronic herbivory: impacts on architecture and sex expression of pinyon pine. *Science* 288:1089-1091.
- Whitham, T. G., J. Maschinski, K. C. Larson y K. N. Paige. 1991. Plant responses to herbivory: The continuum from negative to positive and underlying physiological mechanisms. *En: P. W. Price, T. M. Lewinsohn, G. Wilson Fernandes y W. W. Benson, eds. Plant-animal interactions: Evolutionary Ecology in Tropical and Temperate Regions. Pp:227-256. John Wiley, New York.*
- Whittaker, J. B. 1984. Responses of sycamore (*Acer pseudoplatanus*) leaves to damage by typhlocybine leaf hopper. *Journal of Ecology* 72: 455-462.

- White, J. 1979. The plant as a metapopulation. *Annual Review in Ecology and Systematics* 10:109-145.
- White, J. 1984. Chapter 1. Plant metamerism. *En: R. Dirzo y J. Sarukhán, eds. Perspectives on plant population ecology.* Pp:15-47. Sinauer Associates Inc. Sunderland, Massachusetts.
- Wardlaw, Y. F. 1990. The control of carbon partitioning in plants. *New Phytologist* 116:341-381.
- Wilson, H. D. 1989. Discordant patterns of allozyme and morphological variation in mexican Cucurbita. *Systematic Botany* 14:612-623.
- Yampolsky, E. y H. Yampolsky. 1922. Distribution of sex forms in the phanerogamic flora. *Bibliogr. Genet.* 3:1-62.

ANEXO 1

Protocolo de extracción de polen por acetólisis en las flores de *Cucurbita sororia*

El método de extracción de polen de las flores de *C. sororia*, se basó en la técnica de acetólisis (Kearns e Inouye 1993) modificada para procesar flores grandes.

Para obtener el polen colecté las flores inmediatamente después de finalizar la antesis, cuando la corola había cerrado, y las guardé en bolsas de plástico individuales con su identificación. Luego el material fue ultracongelado a -75°C hasta su procesamiento en el laboratorio.

Para extraer el polen se dispuso cada flor en un tubo redondo de polipropileno para centrifuga de 15 ml de capacidad (16 x 80mm), resistente a ácidos y temperatura. Para comenzar a deshidratar el material agregué 4ml de ácido acético a cada tubo y maceré ligeramente las flores con una varilla de vidrio (identificada con el rotulo de la flor), procurando que el ácido llegara a todas las cavidades de la flor para facilitar la pérdida homogénea de agua de los tejidos. Cuando terminé la maceración retiré la varilla de los tubos evitando acarrear el polen que pudiera haberse adherido. Las flores se mantuvieron en ácido al menos 2 h antes de procesar la muestra, siempre y cuando se hubiera eliminado previamente el exceso de agua de las flores descongeladas con papel toalla. En los casos en que no seguí este procedimiento el material se mantuvo embebido en ácido acético por 12 h (durante la noche). Pasado ese lapso eliminé el exceso de ácido acético de las muestras en cada tubo.

Este procedimiento se puede realizar con una pipeta de 10 ml cuidando de no perder polen al desechar el ácido. Sin embargo, como medida de control para evitar la pérdida de polen, vertí el ácido contenido en la pipeta sobre filtros de papel de toalla dispuestos en embudos colocados sobre un vaso de precipitado. Cada filtro fue rotulado con la identificación de la flor, para examinar y contar posteriormente el polen que pudiera contener. Luego de este procedimiento los tubos se mantuvieron en hielo.

Antes de continuar manipulando las muestras preparé una solución 9:1 anhídrido acético y ácido sulfúrico (la cantidad necesaria en función del número de muestras a procesar en el día, ya que la solución debe emplearse dentro de las 24 h de haber sido preparada). La solución se preparó agregando nueve volúmenes de anhídrido acético y luego lentamente un volumen de ácido sulfúrico. La solución se preparó en un vaso de precipitado de 50 ml que se mantuvo frío con hielo (es importante pre-enfriar el vaso porque la reacción es exotérmica) dentro de una campana de extracción forzada. Esta solución se homogeneizó con una varilla de vidrio antes de ser usada. Luego de unos minutos, cuando los tubos con las flores se habían enfriado en el hielo, se vertió con mucho cuidado 4 ml en cada tubo de la solución ácido sulfúrico:anhídrido acético recién preparada (ver Nota al final de este Anexo). Luego de agregar la solución permití que reposara y se enfriara durante unos minutos, y posteriormente maceré ligeramente la flor. La digestión del material se completó al calentar la solución. Para ello sumergí los tubos hasta un

tercio de su longitud en 100 ml de agua contenida en un vaso de precipitado de 250 ml sobre una plancha caliente. Las varillas de vidrio, también identificadas con el rótulo de la flor, permanecieron dentro del tubo. Continué macerando intermitentemente todas las flores mientras el agua se calentaba hasta hervor para facilitar la digestión de la materia orgánica. Luego de 15 min pasé todos los tubos a hielo. Cuando los tubos se enfriaron los centrifugué a 1500 rpm durante 5 min. Luego extraje el sobrenadante de la solución con una pipeta de vidrio (con perilla de vacío), cuidando de no extraer polen. Este sobrenadante se vertió sobre los filtros previamente instalados de papel. Si bien el papel puede ser digerido por esta solución, esto no ocurre si se enjuaga levemente con agua inmediatamente después de usado.

A cada tubo luego le agregué agua con una pipeta (aprox. 5 ml) y resuspendí el polen con la ayuda de una varilla de vidrio. Posteriormente repetí la centrifugación y el filtrado para poder extraer el sobrenadante y dejar el polen limpio en el fondo del tubo. Enseguida agregué 1ml de una solución de alcohol al 70% con una micropipeta automática de 1ml y puntas de 1ml recortadas (a 1 mm de la punta para aumentar el diámetro de apertura) y extraje el polen del fondo del tubo. En este procedimiento es útil verter y recuperar repetidamente parte del alcohol sobre el polen: de esta manera se puede resuspender en la solución de alcohol y extraerlo homogéneamente. Las puntas son rotuladas para examinar si quedaron granos adheridos a las paredes. El polen limpio y en alcohol se pasa a tubos ependorf graduados de 1.5 ml. Finalmente se completa la solución de alcohol hasta los 1.5 ml en volumen.

Nota: Precaución: si la muestra todavía contiene demasiada agua (por haber procedido incorrectamente en la etapa previa de deshidratación), al entrar en contacto con la solución puede hervir y expulsar violentamente el líquido fuera del tubo. Si esto ocurre podría perderse el polen, y lo que es más importante, la solución puede producir quemaduras en la piel. Por lo anterior es importante trabajar con guantes y lentes protectores.

Capítulo 4

Efectos directos e indirectos de la herbivoría sobre la adecuación femenina y masculina en *Cucurbita sororia*

RESUMEN

La herbivoría puede tener efectos negativos *directos* sobre la adecuación de las plantas a través de la disminución de los recursos necesarios para el crecimiento y la producción de semillas, o efectos *indirectos* si limita la adecuación a través de sus efectos sobre el comportamiento de los polinizadores conducente a una reducción en la transferencia de polen entre plantas. Este estudio, con la enredadera silvestre *Cucurbita sororia*, explora la relación entre herbívoros-caracteres florales-respuesta de los polinizadores evaluando el efecto del daño foliar sobre *i*) la adecuación femenina y varios componentes de la adecuación masculina, *ii*) los caracteres florales de atracción y recompensa y *iii*) el comportamiento de los polinizadores. En una parcela experimental apliqué tres niveles de defoliación (0, 25 y 75%) y medí el tamaño de las flores, la producción de néctar y de polen, así como la frecuencia de visitas y tiempo de forrajeo de los polinizadores. La herbivoría disminuyó de manera severa el número de flores femeninas y de frutos, pero no afectó la proporción frutos/flores. Por el contrario, el daño no afectó la producción de flores masculinas aunque produjo un retraso en la floración. El efecto diferencial del incremento del daño sobre las flores de ambos sexos aumentó la expresión sexual masculina al reducir la proporción de flores femeninas. La herbivoría afectó el número pero no el tamaño del polen: las plantas con daño moderado produjeron más polen por flor que las testigo. Este efecto fue sólo marginalmente significativo en las plantas con daño severo. La herbivoría también afectó negativamente dos componentes de atracción de los polinizadores: producción de néctar y tamaño de la corola, y en consecuencia, la frecuencia-duración de visitas disminuyó en la dirección $0 > 25 = 75\%$. El daño recurrente desde las primeras etapas del crecimiento determinó que las plantas ajustaran el éxito reproductivo femenino disminuyendo la producción de frutos como consecuencia directa de una reducción en la producción de flores femeninas. Estos resultados indican que el efecto del daño foliar sobre la adecuación femenina fue directo y no debido a limitaciones de polen (i.e., efectos indirectos). Por el contrario, la herbivoría no tuvo un efecto directo sobre la adecuación masculina, pero sí un marcado efecto indirecto al reducir la tasa de visita de los polinizadores y el tiempo acumulado de visitas. Esto se explica por la disminución en el tamaño pero no el número de las flores y la producción de néctar. La plantas sobrecompensaron la producción de polen y compensaron el número de flores masculinas y el tamaño del polen en respuesta al daño. Mientras que el daño no limitó la oferta potencial de polen, sí afectó su traslado hacia los estigmas receptivos. Dada una relación directa entre la tasa de visitas y la adecuación de las plantas, la herbivoría puede afectar más la adecuación masculina que la adecuación femenina. Este efecto negativo no se correspondió linealmente con la intensidad de daño debido a que las plantas compensaron el tamaño y la producción de néctar en el tratamiento más severo. Es posible que la selección natural limitara la variación de aquellos caracteres florales con mayor impacto sobre la adecuación por su importancia en la mediación de las relaciones mutualistas polinizador-planta. Parecería importante conservar esta relación en plantas que, como *C. sororia*, maximizan la adecuación total priorizando el éxito reproductivo masculino en respuesta al estrés por herbivoría. Este escenario sólo sería esperable en sistemas en los que participan polinizadores especialistas que dependen casi totalmente de las recompensas producidas por la planta, como en *Cucurbita-Peponapis*.

Este trabajo muestra que el estudio de los efectos de la herbivoría sobre la adecuación total de las plantas debe considerar las consecuencias sobre ambas funciones reproductivas. Los escasos antecedentes que han documentado las consecuencias del daño foliar sobre ambas vías reproductivas hasta el momento, no permiten delinear un patrón general para las plantas cosexuales. La naturaleza y dirección de las relaciones herbívoros/polinizadores con las plantas, así como su interacción múltiple probablemente determinan las presiones de selección que moldean la evolución de diversos atributos de plantas y animales.

INTRODUCCION

El daño foliar ocasionado por los herbívoros puede tener efectos negativos *directos* sobre la adecuación de las plantas a través de la disminución de los recursos necesarios para el crecimiento y la producción de semillas (Dirzo 1984, Marquis 1984). Si además esta disminución afecta la fenología de la floración y los caracteres florales de atracción y recompensa que determinan el comportamiento de los polinizadores, la herbivoría también puede tener efectos *indirectos* sobre la adecuación por sus consecuencias negativas sobre el éxito de polinización y fertilización de las plantas dañadas.

Los antecedentes de estudios tanto de ecología de la polinización y biología reproductiva, como de ecología de la interacción planta-herbívoro indican que los polinizadores (Young y Stanton 1990a, Campbell *et al.* 1996, Conner *et al.* 1996ab, Galen 1996, Herrera 1993a, Johnson y Steiner 1997) y los herbívoros (revisado en Marquis 1992a) son factores importantes de selección natural sobre las plantas. Sin embargo hay muy pocos estudios que muestren el efecto conjunto de ambos grupos de animales sobre la ecología y la evolución de las plantas (ver Strauss 1997).

Numerosos antecedentes de los efectos directos de la herbivoría han mostrado las consecuencias negativas producidas por el daño foliar sobre el crecimiento de las plantas (Kinsman y Platt 1984, Marquis 1984, Strauss 1991), la expresión sexual (Hendrix y Trapp 1981), y la reproducción (Marquis 1992a, Meyer y Root 1993, Wise y Sacchi 1996, Juenger y Bergelson 1997). Al respecto del impacto sobre la reproducción estos antecedentes documentan, como común denominador, las consecuencias del daño sobre el éxito reproductivo a través de la función femenina (i.e., semillas), sin considerar la contribución a la adecuación que logran las plantas a través de la función masculina (i.e., vía polen que contribuye a la conversión de óvulos en semillas).

Esta es una laguna importante en los estudios de la interacción planta-animal, ya que entre el 80 y el 90% de las Angiospermas existentes actualmente son cosexuales (hermafroditas) (Yampolsky y Yampolsky 1922). Es decir, en la gran mayoría de las plantas predominantes en la Tierra, su éxito reproductivo se alcanza tanto a través de la contribución femenina como la masculina. Este sesgo en el conocimiento no sería crítico si hubiera una correlación positiva entre ambos tipos de adecuación. Sin embargo, los antecedentes disponibles sobre la biología

reproductiva y selección natural en las plantas arrojan resultados mixtos sobre la relación entre el éxito reproductivo de la función femenina y el éxito reproductivo de la función masculina (Mutikainen y Delph 1996). Mientras que en algunos estudios la correlación es positiva (Broyles y Wyatt 1990, Devlin y Ellstrand 1990, Dudash 1991), en otros es negativa (Bertin 1982) o no existe correlación (Marshall y Ellstrand 1986, Schlichting y Devlin 1989). Además, aún cuando se demostrara la existencia de una correlación positiva, la herbivoría podría tener un efecto diferencial sobre ambos tipos de adecuación a través de cambios en la asignación de recursos entre las dos vías reproductivas (Mutikainen y Delph 1996, Strauss 1997). Algunos estudios han mostrado que las plantas pueden modificar esta asignación en respuesta a condiciones adversas para el crecimiento (Mutikainen y Delph 1996), incluyendo entre ellas el daño por herbívoros (Whitham y Mopper 1985, Allison 1990, Snyder 1993, Frazee y Marquis 1994, Lehtilä y Strauss 1999). Por lo anterior, es necesario considerar que los antecedentes acumulados sobre las consecuencias de la herbivoría sólo analizan parcialmente el impacto de ella debido a su énfasis exclusivo en la reproducción femenina.

La importancia de las deficiencias en el conocimiento aquí expuestas, explican el surgimiento reciente de estudios con énfasis en las consecuencias de la herbivoría sobre la función masculina, así como el surgimiento de las primeras evidencias de los efectos directos e indirectos de la herbivoría sobre los dos componentes de la adecuación. El surgimiento de esta línea de investigación está representado por un número muy restringido de publicaciones (Quesada *et al.* 1995, Mutikainen y Delph 1996, Strauss *et al.* 1996, Lehtilä y Strauss 1997, 1999, Mothershead y Marquis 2000), por lo que es prioritario contar con estudios que se aboquen a examinar las diferentes facetas del impacto de la herbivoría sobre las plantas, y esa es la motivación del presente estudio. Con el fin de resaltar la importancia del campo, enseguida presento una revisión de los componentes críticos del impacto de la herbivoría sobre el éxito reproductivo de las plantas.

Efectos de la herbivoría sobre la función femenina

La pérdida de tejido foliar en las plantas, ocasionada por los herbívoros, puede limitar la asignación de recursos a la reproducción femenina. La organización modular de las plantas y los procesos progresivos de diferenciación de tejidos en estructuras reproductivas durante el desarrollo, permiten descomponer la inversión materna en componentes individuales. Estos

componentes comprenden desde la producción de las flores y óvulos dentro de las flores, hasta la formación de las semillas dentro de los frutos. En esta organización secuencial la contribución de cada componente al potencial reproductivo es acotada por la etapa anterior, la que a su vez pudo haber sido modificada por la interacción de la planta con el ambiente (Lovett-Doust y Eaton 1982). De este modo, a través de la regulación progresiva de cada etapa, las plantas pueden adaptar su potencial reproductivo materno a las variaciones en la disponibilidad de recursos durante el desarrollo (Lloyd 1980). Los principales mecanismos de regulación reproductiva femenina de las plantas son: el control del número de meristemos florales que se activan, el desarrollo de óvulos antes de la antesis (Lloyd 1980) y la aborción selectiva de flores, frutos y semillas (Stephenson 1981, Lee 1988). La evidencia disponible muestra que las plantas pueden responder a la herbivoría modificando el número de flores, el número de óvulos por flor, la proporción de frutos/ flores ("fruit set"), el número de frutos y el número de semillas (Stephenson 1981, Lee y Bazzaz 1982, Lee 1988, Marquis 1992a).

Diversos estudios han mostrado que gran parte de la variación en el patrón de regulación entre los componentes reproductivos, depende del estado de desarrollo en el que se encuentra una planta cuando recibe un tratamiento de estrés como densidad, competencia, falta de nutrientes o defoliación (Lee y Bazzaz 1982, Harper y Wallace 1987, Pyke 1989, Matthies 1990). En particular, los componentes de la reproducción femenina que son afectados dependen de la intensidad, así como del momento en que se produce el daño en relación al estado de desarrollo de la planta (*cf.* Watson 1995). Si la herbivoría ocurre temprano en la fase de crecimiento vegetativo, la planta puede compensar el daño; si ocurre durante las primeras etapas del desarrollo de las flores, puede inducir el aborto de primordios florales; pero si el daño es posterior a la antesis la planta puede abortar flores fertilizadas, frutos en desarrollo y/o semillas dentro de frutos (Whitham *et al.* 1991). También es posible que la herbivoría afecte el tamaño de las semillas dentro del fruto (Gange *et al.* 1989). Los órganos formados que luego son abortados, implican una pérdida de recursos que es mayor en las etapas tardías de la reproducción (semillas y frutos) que en las tempranas (flores). Además, si la planta no está limitada por la disponibilidad de meristemos reproductivos, el daño temprano puede ser compensado con la formación de nuevas flores (Whitham *et al.* 1991, Rosenthal y Kotanen 1994; Strauss *et al.* 1996). Por esta razón, en general, las plantas que son dañadas tardíamente durante la formación de frutos y

semillas muestran una reducción mayor en su adecuación debido a: i) el nivel de recursos que demandan en esta etapa; ii) el elevado costo de aborción y iii) la disminución en la disponibilidad de nuevos meristemos reproductivos (al disminuir el crecimiento) (ver Whitham *et al.* 1991). El patrón espacial de distribución del daño en las plantas es otro factor importante que influye sobre la reproducción (Mauricio *et al.* 1993). En algunas especies vegetales la misma intensidad de daño, concentrado en una parte de la planta produce una disminución mayor de la adecuación que el daño distribuido en forma dispersa en toda la planta (Marquis 1992b, 1996, Horton y Lacey 1994). Sin embargo este tipo de respuesta parece depender del diseño de integración vascular de las diferentes partes de la planta y de la capacidad que posean los individuos para modificar este diseño en respuesta al daño (Watson y Casper 1984, Watson 1986, Sprugel *et al.* 1991).

Efectos de la herbivoría sobre la función masculina

Para que una planta logre su adecuación por medio de la función masculina debe trasladar sus genes a través del polen a la siguiente generación, cubriendo varias etapas consideradas como los componentes de la adecuación masculina. Estas son: producción de polen; remoción y traslado hacia un estigma receptivo y no saturado; germinación, desarrollo de tubos polínicos y fertilización del óvulo; desarrollo de la semilla; dispersión y establecimiento como plántula. De estas etapas sólo la primera ocurre en la planta donadora, mientras que la remoción y traslado del polen es realizado por un agente externo que en el caso de ser un vector biótico puede ser influenciado por la fenología de la floración y los caracteres florales del donador. Finalmente, las últimas etapas (exceptuando el establecimiento de las plántulas) se desarrollan en la planta receptora y el éxito en la fertilización depende únicamente de la capacidad de desarrollo del polen (desempeño del gametofito) y de su interacción con el esporofito materno.

La herbivoría puede afectar en forma directa la reproducción materna debido a que la secuencia de pasos que siguen las plantas para lograr la adecuación femenina transcurre totalmente en la planta madre. En cambio, los efectos de la herbivoría sobre los componentes de la función masculina son más complejos y pueden ser directos cuando afectan al polen o su desempeño *per se*, o indirectos cuando afectan el traslado del polen. Aunque aún son escasos, los estudios disponibles muestran que la herbivoría puede afectar uno o varios de estos componentes y limitar potencialmente la adecuación masculina (Quesada *et al.* 1995, Strauss *et al.* 1996, Delph *et al.* 1997, Lehtilä y Strauss 1999).

Efectos directos de la herbivoría sobre la función masculina

Producción de polen

El número de granos de polen es uno de los componentes de la adecuación masculina que puede ser afectado de manera directa por la herbivoría. La pérdida de tejido fotosintético puede reducir el número de flores (Hendrix y Trapp 1989, Allison 1990, Mauricio *et al.* 1993, Karban y Strauss 1993, Quesada *et al.* 1995, Juenger y Bergelson 1997, Mothershead y Marquis 2000, pero ver Lehtilä y Strauss 1997, 1999) al limitar la formación de nuevas flores o inducir la aborción de primordios florales. Además, puede disminuir el número de granos de polen por flor (Frazee y Marquis 1994, Quesada *et al.* 1995, Strauss *et al.* 1996; Lehtilä y Strauss 1997, 1999; pero ver Aizen y Raffaele 1998) si altera la provisión de recursos a las anteras durante la formación del polen en las flores que logran desarrollarse hasta la antesis. Como resultado de estos procesos la herbivoría puede disminuir la producción total de polen disponible para ser donado por las plantas. Esto podría reducir la adecuación masculina si afecta la cantidad de polen que arriba a los estigmas de las flores receptoras (Schoen y Stewart 1986, Campbell 1989, Broyles y Wyatt 1990, Dudash 1991, Devlin *et al.* 1992, Galen 1992).

En las plantas anemófilas (i.e., polinizadas por el viento), en las que existe una alta correlación entre la producción de polen y la paternidad (Schoen y Stewart 1986), este sería un efecto directo causado por la disminución del flujo de polen. En cambio, en las plantas polinizadas por animales, en las que parte del polen es usado como recompensa, se podría esperar que el flujo de polen podría reducirse tanto por disminución de la oferta de polen (i.e., efecto directo) como por disminución en las visitas de los polinizadores en respuesta a la cantidad de polen producido (i.e., efecto indirecto). En suma, se podría hipotetizar que los polinizadores (e.g. abejas) visitarían menos a las flores con escasez de polen porque son poco atractivas (i.e., ofrecen menos recompensa) y, además, la fracción de polen disponible para ser trasladado a los estigmas sería menor.

Desempeño del polen

También existe evidencia que indica que la herbivoría puede limitar la capacidad del polen para fertilizar óvulos en condiciones de competencia polínica (Delph *et al.* 1997). En las plantas con flores puede haber competencia cuando el número de granos de polen que germina sobre el estigma excede el número de óvulos. Bajo este escenario se esperaría que la variación en las tasas

de crecimiento de los tubos polínicos determinase el resultado de la competencia por los óvulos disponibles (Mulcahy 1979). Si bien se ha demostrado que esta variación depende en parte de la carga genética haploide del polen, existe consenso entre los autores en el sentido de que las condiciones ambientales prevalecientes en la planta donadora durante su formación explican una parte importante de tal variación (Stephenson *et al.* 1992, Delph *et al.* 1997). Es concebible que la herbivoría puede disminuir las reservas acumuladas en el polen durante su formación en las anteras, lo que a su vez puede reducir la velocidad de desarrollo del tubo polínico.

Por otra parte, el tamaño del grano puede ser un indicador de la cantidad de reservas acumuladas (Lau *et al.* 1995 y referencias), por lo que éste ha sido usado como un carácter para medir el efecto del daño por herbívoros sobre la calidad del polen (Quesada *et al.* 1995, Aizen y Raffaele 1998), bajo el supuesto de que existe una relación positiva entre tamaño-reservas acumuladas-velocidad de desarrollo del tubo polínico (Cruzan 1990, Young y Stanton 1990b, Young 1992). Algunos estudios realizados en plantas sometidas a estrés ambiental de tipo físico (Lau y Stephenson 1993, 1994, Delph *et al.* 1997 y referencias) y estrés por herbivoría (Aizen y Raffaele 1998) apoyan tal relación. Si bien escasa, la evidencia disponible muestra que los tubos polínicos producidos por plantas con daño foliar se desarrollan a menor velocidad (Mutikainen y Delph 1996, Aizen y Raffaele 1998) y fecundan menos óvulos (Quesada *et al.* 1995, Delph *et al.* 1997, Aizen y Raffaele 1998). El desempeño deficiente del polen de una planta puede ser particularmente negativo para el éxito en la fertilización bajo condiciones de competencia con el polen de otros individuos (véase Schlichting 1986).

Efectos de la herbivoría sobre la asignación sexual

La herbivoría puede afectar la inversión de recursos en reproducción diferencialmente entre las dos vías reproductivas. Los escasos antecedentes que han explorado el efecto de la herbivoría sobre la adecuación masculina y femenina hasta el presente, muestran dos tendencias principales asociadas con diferencias en sistemas reproductivos. Algunos estudios muestran que plantas con flores hermafroditas perfectas, como consecuencia del daño, disminuyen la adecuación masculina y compensan la adecuación femenina (Frazee y Marquis 1994, Strauss *et al.* 1996, Lehtilä y Strauss 1997, 1999). En contraste, otros estudios han mostrado que las plantas dañadas con flores unisexuales disminuyeron menos la adecuación masculina que la adecuación femenina (Snyder 1993, Quesada *et al.* 1995). En conjunto estos antecedentes sugieren que ambas funciones no

están correlacionadas positivamente, y que las plantas, en respuesta al daño, pueden modificar el aporte relativo del componente masculino y del femenino a la adecuación total.

En contraste, es menos claro cuál es la relación entre tipo de sistema reproductivo y el sexo que compensa el daño.

Efectos indirectos de la herbivoría

Hasta aquí he analizado dos componentes de la adecuación masculina (i.e., producción y desempeño de polen) que pueden ser afectados directamente por la herbivoría. Además he dejado ver que en las plantas polinizadas por animales la existencia de una relación causal entre la producción de polen y el desarrollo del polen en el gineceo de la flor receptora depende del comportamiento de los polinizadores. Las plantas pueden influir sobre este comportamiento a través de los caracteres florales de atracción y recompensa para lograr el traslado del polen a los estigmas y aumentar su adecuación masculina. Numerosos estudios han mostrado que la variación natural en atributos tales como el tamaño, la forma, el número de flores, la producción de néctar y de polen pueden afectar la capacidad de atracción de las flores a los polinizadores (e.g., Willson y Price 1977, Klinkhamer *et al.* 1989, Galen 1989, Young y Stanton 1990a, Real y Rathcke. 1991, Herrera 1993b, Mitchell 1993, Cresswell y Robertson 1994, Campbell *et al.* 1996, Conner y Rush 1996). Esta evidencia sugiere que el daño foliar puede tener un efecto indirecto negativo sobre las plantas si reduce la capacidad de atracción de los caracteres florales para los polinizadores y esto a su vez disminuye el éxito reproductivo.

Efectos de la herbivoría sobre los caracteres florales

Además de los efectos ya mencionados de la herbivoría sobre el número de flores, y la producción de polen, también pueden ser afectada otros atributos florales de atracción de los polinizadores. El daño foliar puede reducir el tamaño de las flores (Michaud 1991, Frazee y Marquis 1994, Strauss *et al.* 1996, Lehtilä y Strauss 1997, 1999, Mothershead y Marquis 2000), retrasar el inicio de la floración (Marquis 1988, Meyer y Root 1993, Frazee y Marquis 1994, Strauss *et al.* 1996, Juenger y Bergelson 1997) o afectar la producción de néctar. Los antecedentes del efecto del daño sobre la producción de néctar, que es considerado el principal carácter de recompensa, y susceptible de ser afectado por factores ambientales (ver Mutikainen y Delph 1996 y referencias), han producido resultados mixtos. Mientras que en un estudio (Pleasants y Chaplin 1983) se encontró que el daño puede reducir la producción de néctar, en

otros estudios la respuesta fue marginal (Aizen y Raffaele 1996, Strauss *et al.* 1996) o no hubo respuestas (Zimmerman y Pyke 1988a). Esta variedad de resultados probablemente se deba a diferencias de costo del néctar ya que en algunas especies la producción de néctar puede depender de los fotosintatos corrientes de la planta, mientras que en otras las estructuras reproductivas son fotosintéticas y proveen al menos parte de los recursos necesarios (ver Bazzaz *et al.* 1979).

Los cambios que el daño foliar produce sobre los caracteres florales pueden afectar la frecuencia de visita y la duración de las visitas, y ambos comportamientos determinan la eficiencia de polinización (Rathcke 1992). En dos estudios recientes se ha demostrado que el daño foliar puede afectar ambos parámetros (Strauss *et al.* 1996, Mothershead y Marquis 2000). Entre los caracteres florales que inciden sobre la frecuencia de visita se encuentra el número de flores y el tamaño de la flor (Campbell 1989, Young y Stanton 1990a, Johnston 1991, Johnson *et al.* 1995, Strauss *et al.* 1996), mientras que la producción de néctar y de polen pueden explicar el tiempo de permanencia de los polinizadores, ya que constituyen los recursos alimentarios que proveen las flores (Heinrich y Raven 1972, Galen y Plowright 1984).

Las visitas de los polinizadores pueden afectar la reproducción masculina y la femenina. Sin embargo, la reproducción masculina parece más sensible a los cambios en el comportamiento de los polinizadores debido a que se requieren más visitas para remover el polen de una flor que las necesarias para completar el llenado de semillas ("seed set") (Lloyd y Yates 1982, Harder y Thomson 1989, Willson 1994, Willson *et al.* 1994, Aizen y Basilio 1998). La reproducción femenina puede ser afectada tanto si hay limitación de polen en la población, como bajo condiciones de exceso de polen. En este último caso la reducción en el número de visitas puede disminuir las cargas de polen sobre el estigma lo que a su vez relajaría la competencia entre tubos polínicos por acceso a los óvulos. En estas condiciones disminuiría la presión de selección sobre los genotipos paternos que constituirán las semillas, pudiendo afectar negativamente el vigor de la progenie (Mulcahy 1979, Winsor *et al.* 2000).

La revisión y análisis de la literatura aquí presentada hacen evidente la necesidad de estudiar, en un mismo sistema, el impacto de factores ambientales como la herbivoría, sobre la adecuación femenina y masculina de las plantas, incluyendo los efectos directos y los efectos indirectos a través del impacto sobre los polinizadores. Dada el predominio de plantas cosexuales

polinizadas por animales en el reino vegetal de la actualidad. este tipo de estudios son necesarios para entender la ecología evolutiva de las plantas.

La existencia de plantas monoicas de ciclo de vida corto en las que la interacción con herbívoros y polinizadores es un atributo importante de su historia natural. constituyen un sistema ideal para abordar dichos estudios. En este estudio investigo, simultáneamente, las consecuencias del daño foliar sobre la adecuación femenina y sobre los componentes de la adecuación masculina. El estudio utiliza como modelo experimental a una especie anual, *C. argyrosperma* ssp. *sororia*, polinizada por abejas solitarias, manipulando experimentalmente intensidades de herbivoría que simulan situaciones naturales de campo. El estudio evalúa también las consecuencias indirectas del daño a través de su impacto sobre el comportamiento de los polinizadores. Específicamente pretendo contestar las siguientes preguntas:

- 1- ¿Cuál es el efecto del daño foliar en *Cucurbita sororia* sobre la adecuación femenina y varios componentes de la adecuación masculina?
- 2- ¿Cuál es el efecto directo del daño foliar sobre los caracteres florales masculinos?
- 3- ¿Cómo afecta la variación en los caracteres florales el comportamiento de los polinizadores y de forma indirecta el éxito reproductivo masculino?

MATERIAL Y METODOS

Sistema de estudio

Cucurbita sororia (*C. argyrosperma* ssp. *sororia* (L. H. Bailey) Merrick y Bates (Merrick y Bates 1989) es una enredadera anual silvestre, de hábito rastrero y trepador con crecimiento indeterminado. Las plantas son monoicas (flores masculinas y femeninas en la misma planta) y protándricas, con sistema de cruzamiento autocompatible de polinización entomófila. *C. sororia* es una especie nativa con una amplia distribución, que abarca desde el sur de Norteamérica hasta Centroamérica (México hasta Nicaragua). Las poblaciones de esta especie forman parte de la selva baja caducifolia de las zonas costeras y pueden extenderse hasta las sierras. Típicamente ocupan un ámbito altitudinal de 0 a 1900 m s.n.m., en áreas con climas cálidos, secos y con una marcada estacionalidad en la precipitación (Lira *et al.* 1995). Las plantas son más frecuentes en áreas con perturbación natural o antrópica como son las zonas próximas a los cursos de agua, orillas del camino y áreas próximas a campos agrícolas. Las plantas pueden ser observadas

trepadas sobre arbustos y árboles, o postradas con guías de hasta 7 m. de largo, y expuestas a una alta intensidad lumínica (Merrick 1990, N. Mariano, obs. pers.).

Las plantas florecen desde julio hasta enero y fructifican principalmente entre noviembre y diciembre, aunque pueden encontrarse frutos en agosto (Lira *et al.* 1995). Después de un periodo de crecimiento vegetativo (~ 50 días), se producen flores solitarias (estaminadas o pistiladas) en las axilas de las hojas más recientes (Jones 1992). Las grandes flores son color amarillo brillante y tienen capacidad de reflejar la radiación ultravioleta (Hurd *et al.* 1971). Luego de la antesis sobreviven durante un corto periodo de tiempo que comprende entre el amanecer y media mañana (~7 a 10:30 h).

Las flores son de forma campanulada y están constituidas por cinco pétalos fusionados hasta cerca de la mitad de su longitud (7-10 cm de diámetro de la corola), formando un tubo floral (5-7 cm de largo) que contiene una antera fusionada (de ~2cm de largo). Las flores pistiladas son de ovario ínfero, con un estilo que remata en tres grandes estigmas bilobulados y su corola es más reducida que en las flores estaminadas. Ambos tipos de flores producen abundante néctar con altas concentraciones de azúcar (30-45%) (N. Mariano, datos no publicados). Las flores de *C. sororia* sólo producen néctar en un periodo de tiempo relativamente breve. La producción inicia con la apertura floral, cerca de las 7:00 AM, y se incrementa notablemente durante dos horas. A partir de ese momento, en la siguiente hora y media, la producción decae hasta cesar completamente. La concentración de azúcar disminuye durante este periodo en relación inversa al volumen (N. Mariano, datos no publicados).

Los principales polinizadores de esta especie, como ocurre con todo el género *Cucurbita*, son abejas solitarias del género *Peponapis* y *Xenoglossa* (Whitaker y Davis 1962, Hurd y Linsley 1970, N. Mariano, obs. pers.). Las abejas de estos dos géneros dependen casi enteramente de la disponibilidad de néctar y polen de *Cucurbita* spp. para su sobrevivencia durante todo su ciclo de vida. Esta especialización es de tal magnitud que cada especie de abeja de estos géneros forrajea sobre un grupo diferente de especies de *Cucurbita* (Hurd y Linsley 1970). Los frutos son globosos o piriformes, de cáscara rígida, generalmente de 8 cm de largo x 7 cm de diámetro (Merrick 1990; Lira *et al.* 1995).

Las raíces, tallos, hojas, flores y frutos presentan concentraciones elevadas de metabolitos secundarios genéricamente conocidos como cucurbitacinas (triterpenoides tetracíclicos)

(Chambliss y Jones 1966). Estos compuestos son tóxicos y le confieren un sabor muy amargo a los tejidos de las plantas. Ambas características son indicadoras de que pueden funcionar como metabolitos antiherbívoros (Metcalf y Rhodes 1990). No obstante, los coleópteros de los géneros *Acallima* y *Diabrotica* (Coleoptera: Chrysomelidae) son atraídos por estos compuestos. Estos crisomélidos usan las cucurbitacinas como señales para la selección de la planta hospedera (Chambliss y Jones 1966, Metcalf y Rhodes 1990). Otros folívoros importantes de *C. sororia* pertenecen al género *Epilachna* (Coleoptera: Coccinelidae) (Tallamy 1985, Tallamy y McCloud 1991, McCloud *et al.* 1995, N. Mariano, obs. pers.) y dos especies de lepidóptero de la familia Noctuidae (N. Mariano, obs. pers.). En las poblaciones naturales en la selva tropical seca de México los niveles de daño por planta, causado por insectos, presentan una distribución lognormal (i.e., con predominio de plantas con poco daño, y algunas pocas con daño intenso), como es característico de numerosas especies (ver Cap. 2). Además, cerca de asentamientos humanos las plantas también son severamente dañadas por grandes herbívoros domésticos cuando disminuye la disponibilidad de otras especies vegetales palatables (N. Mariano, obs. pers.). [Metcalf y Rhodes (1990, pp. 170, citando a Watt y Breyer-Brandwyk 1962) indican que como resultado de este comportamiento alimenticio los animales pueden presentar síntomas de intoxicación por ingestión de cucurbitacina.]

Sitio de estudio y diseño experimental

El estudio consistió en un experimento de defoliación controlada que realicé entre junio y octubre de 1997, en una parcela (28 x 30 m) del campo experimental del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Pecuarias (INIFAP), en Zacatepec, Morelos (18° 39' N, 99° 11' O; 920 m s.n.m.). Para este experimento establecí plantas en posiciones equidistantes (4 m) en la parcela.

El experimento lo inicié el 24 de junio con la siembra de semillas provenientes de diferentes plantas maternas. En la parcela experimental sembré grupos de 10 semillas por posición. Las semillas de cada grupo las seleccioné al azar de un mismo fruto y posteriormente las pesé. Por lo anterior, cada grupo constituía una familia genética de medios hermanos maternos. Previamente a la siembra agregué 700 g de materia orgánica en cada posición de siembra, para asegurar condiciones de fertilidad apropiadas para la instalación de las plantas. Cuando las plantas se establecieron, aproximadamente a los 15 días, en cada grupo seleccioné al

azar una planta entre las más vigorosas y eliminé las plantas excedentes. Posteriormente cuando las ramas principales de las plantas tenían aproximadamente 40 cm de longitud, fueron guiadas mediante estructuras de conducción. Estas estructuras estaban constituidas por tres varas ubicadas alrededor de la planta, equidistantes entre sí y unidas en la parte superior a una altura de 1.90 m sobre el nivel del suelo. Entre las varas coloqué cuerdas regularmente espaciadas desde la base hasta la parte superior, las cuales servían de puntos de apoyo a las ramas de cada planta.

Los tratamientos experimentales consistieron en dos niveles de daño foliar artificial (25% y 75% de área foliar removida, en cada una de las hojas) y un testigo (sin remoción foliar). Los tratamientos fueron aplicados en plantas seleccionadas al azar ($N=11$ por tratamiento) y constituyeron un diseño completamente aleatorizado. La defoliación se realizó con tijeras, cada 7-8 días, durante todo el periodo de crecimiento. Este tipo de daño experimental es similar al corte neto que realizan las orugas de lepidópteros en las hojas de *C. sororia* en la selva caducifolia (N. Mariano, obs. pers.). Todas las plantas, incluyendo las testigo, recibieron aplicaciones periódicas (cada 25 días) de insecticida (Sevin) para impedir que la herbivoría natural modificara los niveles originales de daño del experimento. Las aplicaciones las realicé a última hora de la tarde para no perjudicar a los polinizadores. Además previne la aparición de enfermedades con aplicaciones periódicas de terramicina (cada 25 días) y de fungicida (Benomil) (2 aplicaciones). Las plantas fueron regadas por medio de surcos de irrigación y solo ocasionalmente, cuando se presentaba un déficit hídrico en el suelo debido a la disminución de la precipitación en algunos periodos durante la temporada de crecimiento.

Las variables de respuesta

Efecto de la herbivoría sobre la fenología, producción de flores y producción de frutos

Diariamente o cada dos días medí la producción de flores estaminadas y pistiladas por planta en once plantas testigo, once plantas con 25% de herbivoría y diez plantas con 75% de daño foliar. Con estos datos, además de contar el número de flores de los dos sexos en los tres tratamientos, evalué el impacto de la herbivoría sobre el patrón fenológico de la floración, en términos del número de días requeridos hasta el inicio de la floración. Al final de la temporada de crecimiento conté el número de frutos formados por planta.

Efecto de la herbivoría sobre la producción de polen

Para evaluar el efecto de la herbivoría sobre la producción de polen colecté 39 flores en las plantas testigo (3 - 5 flores por planta; n = 9 plantas), 25 flores en las plantas con 25% de daño (2 - 4 flores por planta; n = 8 plantas) y 37 flores en las plantas con 75% de daño (3 - 6 flores por planta; n = 9 plantas). La tarde anterior a la antesis, cada una de las flores estaminadas que se colectaron fue cubierta con una bolsa de malla de tejido sintético de 0.2 mm de apertura. Esto aseguró que se evitara la visita de abejas. Las bolsas eran de un tamaño adecuado para permitir la expansión total de las flores utilizadas. Al día siguiente, inmediatamente después de la antesis, recolecté las anteras de cada una de las flores y las coloqué en viales identificados de 20 ml. En cada planta colecté la antera de las flores ubicadas entre la tercera y octava flor del eje principal o ramas principales de cada planta. El polen dentro de cada vial fue secado en un horno a 40°C por 3 días y después ultracongelado a -75 °C. Posteriormente envié las muestras al laboratorio de Dr. Andrew Stephenson (Universidad de Pennsylvania) donde el polen fue rehidratado por 1 día en una solución al 1% de ClNa. Después de este tratamiento se determinó el número y el tamaño de los granos de polen con un contador electrónico de partículas Elzone EX180 (Particle Data, Inc., Elmhurst, Illinois, USA).

Efecto del daño sobre la morfología floral

Para este fin hice grabaciones de video de la primera, segunda y cuarta flor del eje principal de cada planta, con una cámara de video portátil (Sony CCD-TR 750). Estas flores fueron aportadas por once plantas testigo, once plantas con 25% de daño y diez plantas con 75% de daño. También hice tomas adicionales de las flores de las ramas principales. De cada flor hice dos grabaciones, una del frente y otra del perfil de la flor, cuidando de que en ambas tomas el lente de la cámara se mantuviera paralelo al plano seleccionado, y que la imagen incluyera una escala de medida de referencia de 2 cm (graduada cada cm) colocada en el mismo plano que se estaba grabando y un rótulo que indentificaba el número de flor y la planta. Las grabaciones fueron realizadas antes de las 8:30 de la mañana cuando la corola de la flor estaba completamente abierta. Posteriormente, calculé el área de las flores mediante el procesamiento digital de las imágenes con el programa MorphoSys versión 1.26 (Meachan y Duncan 1990).

Colecta de néctar

Para evaluar el efecto del daño foliar sobre la producción de recompensas florales medí la producción de néctar acumulado en flores de los diferentes tratamientos, las cuales habían sido embolsadas la tarde anterior. Para cubrir las flores usé el mismo procedimiento descrito para la colecta de polen. En cada flor medí el volumen de néctar con microcapilares y medí la concentración de azúcar en % de equivalente de sacarosa con un refractómetro de mano con compensación por temperatura (Reichter, Modelo 10431, Leica Inc. Buffalo, New York). La lectura de concentración de azúcar, originalmente expresada en porcentaje de equivalentes de azúcar (i.e., $100 \times \text{mg soluto} \times \text{mg solución}$), fue convertido a $\text{mg soluto} \times \mu\text{l solución}$ usando los valores tabulados en Kearns e Inouye (1993) y combinados con los valores de volumen para estimar el total de azúcar en mg.

Las cosechas de néctar las hice sobre las flores ubicadas en el eje principal de cada planta para evitar la posible variabilidad entre ramas de diferente vigor. Recolecté el néctar de una a cinco flores por planta (una por día), en plantas de diferentes tratamientos durante seis días. Para controlar la variabilidad que pudiera existir en la producción de néctar, en función del tiempo durante la antesis, todas las mediciones de néctar las realicé entre las 8:20 y 9:20 h de cada día y además anoté la hora de cada colecta con el objetivo de usarla como covariable en el análisis estadístico. La elección de este período de tiempo se basó en los patrones de curvas de néctar para la especie (N. Mariano, datos no publicados) y constituye un compromiso que satisface la condición de obtener el mayor volumen posible de néctar acumulado, sin que haya disminuido excesivamente la concentración de azúcar.

Como medida adicional para evitar efectos confundidos entre el momento de la cosecha y el efecto del tratamiento, varias personas iniciamos el muestreo simultáneamente en flores de tratamientos diferentes y luego continuamos con flores de plantas de otros tratamientos. Este procedimiento se repitió hasta colectar un número similar de flores por observador y por tratamiento, al finalizar el intervalo del día previsto para realizar las mediciones. De este modo me acerqué lo más posible a que las flores medidas presentaran una distribución de tiempos de cosecha semejante entre tratamientos. Debido a las limitaciones impuestas por el método de cosecha y la disponibilidad de observadores en relación al número de flores muestreadas por día, sólo una fracción de las plantas del experimento pudo ser muestreadas cada día. Por lo anterior,

para obtener una muestra de flores estadísticamente representativa en todas las plantas del estudio, el procedimiento se repitió durante seis días.

Las mediciones se realizaron entre el 30 de agosto y el 5 de septiembre, en días soleados. Los muestreos se realizaron sorteando al azar las plantas que serían muestreadas por día. El esfuerzo de muestreo fue de una a cinco flores por planta, obteniéndose 32 flores aportadas por diez plantas en el tratamiento testigo, 21 flores de siete plantas del tratamiento de 25%, y 24 flores de nueve plantas del tratamiento 75% de daño.

Visitas de polinizadores

La visita de polinizadores fue registrada en cinco mañanas diferentes, totalizando 81 horas-persona de observación. Las observaciones se iniciaban inmediatamente después de la antesis, desde las 07:00 h hasta las 10:00 h, cuando las flores comenzaban a cerrarse. La antesis comenzaba alrededor de las 06:40-06:45 h, dependiendo de la planta, y el cierre ocurría en algunos casos a las 09:40 h o más tarde.

Cada flor de cada planta era observada en total durante 1 h en turnos de 5 min, distribuidos entre las tres horas de antesis, de tal forma que cada observador rotaba entre tres plantas, una de cada tratamiento, consecutivamente. Los diferentes observadores a su vez iniciaban la toma de datos simultáneamente en plantas de diferentes tratamientos de tal forma que en cada tiempo de registros, y durante las tres horas de observación de cada día, se registró al mismo tiempo el comportamiento de los polinizadores en flores de plantas de los tres tratamientos. Las plantas que iban a ser observadas cada día fueron seleccionadas al azar la tarde anterior, después de identificar todas las flores disponibles sobre el eje principal, o las ramas primarias de mayor vigor.

En cada periodo de observación se registró la frecuencia de visitas por especies, el sexo (solo en *Peponapis* spp.), el comportamiento y el tiempo de actividad de cada visitante. Los comportamientos registrados fueron: el número de aproximaciones de visitantes (sobrevuelo de las abejas sobre la flor pero sin tocar la antera y visitas efectivas), y de visitas efectivas (actividades de colecta de polen y/o de néctar). En total se observaron 27 flores por tratamiento ($N = 81$) provenientes de nueve plantas testigo (2 - 4 flores por planta), once plantas con 25% de daño (1 - 4 flores por planta) y diez plantas con 75% de daño (2 - 4 flores por planta). Las observaciones se completaron en cinco días (4 - 7 tripletes de plantas por día), con un esfuerzo de

muestreo de 81 horas-personas. Las mediciones se realizaron el 6, 7, 8, 13 y 14 de septiembre de 1997, en días claros y solcados.

Análisis de los datos

Efecto de la herbivoría sobre la fenología de las plantas, la producción de flores y frutos y la proporción sexual

El efecto de la herbivoría sobre el número de días hasta el inicio de la floración de las plantas lo analicé con la prueba de la mediana (Sokal y Rohlf 1995) porque los datos no satisfacían el criterio de normalidad de las pruebas paramétricas.

La producción de flores masculinas y femeninas fue analizada simultáneamente con un análisis multivariado de varianza (MANOVA) y como resultó significativo, posteriormente realicé los análisis de varianza univariados (ANDEVA) de la producción de flores de cada sexo. También evalué el efecto del daño sobre la proporción sexual de las plantas y sobre el número de frutos producidos por planta mediante análisis de varianza de una vía (ANDEVA). La proporción sexual fue calculada como el cociente entre el número de flores masculinas y la producción total de flores por planta (i.e., flores estaminadas + flores pistiladas). El análisis estadístico lo conduje sobre la transformación arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción sexual de cada una de las plantas del experimento. También el número de frutos fue transformado a raíz cuadrada para satisfacer el criterio de normalidad.

Efecto de la herbivoría sobre la producción de polen, néctar y visita de los polinizadores

Las consecuencias del daño sobre la producción de polen las analicé por medio de un modelo mixto de ANDEVA para el número y el diámetro de los granos de polen por flor. Las variables explicativas fueron el tratamiento de herbivoría como efecto fijo y las plantas anidadas dentro de los tratamiento como efecto aleatorio. En ambos modelos incluí como covariable el número del nudo asociado a la flor muestreada, para evaluar el efecto de la posición de la flor sobre la planta, así como la interacción tratamiento x posición. El número de granos de polen fue transformado a logaritmo natural previo al análisis.

La producción de néctar la analicé con un modelo mixto de ANDEVA. Consideré el tratamiento de daño como efecto fijo y las plantas anidadas dentro de tratamiento como efecto aleatorio. También incluí en el modelo el tiempo (i.e., la hora de colecta) como covariable y analicé la interacción tiempo x tratamiento. Además en este diseño consideré como bloques los

días en que se tomaron los datos para controlar el efecto que pudieran tener sobre la producción de néctar las condiciones meteorológicas y del estado hídrico del suelo de cada día. El mismo análisis lo repetí para las siguientes variables de respuesta: el volumen de néctar, la concentración de néctar y la producción de azúcar por día y por flor en cada planta.

El efecto del tratamiento de daño foliar sobre el tamaño de las flores lo analicé con un ANDEVA de una vía sobre el promedio de las flores de cada planta.

Para comparar la visita de los polinizadores a las flores de diferentes tratamientos usé un modelo mixto de ANDEVA, con tratamiento y día como efectos fijos y las plantas anidadas dentro de los tratamientos como efecto aleatorio. Los días constituyeron bloques. La variable de respuesta fue la frecuencia de visitas efectivas de todas las especies de polinizadores por día y por flor en cada planta. Esta variable fue transformada a la raíz cuadrada de la frecuencia de visitas $\sqrt{y + 0.5}$ (Zar 1996). La frecuencia de visita puede estar afectada no sólo por los caracteres de atracción y recompensa de la flor observada, sino que también puede estar afectada por el número de flores en cada planta. Para probar si este efecto existía agregué en el modelo el número total de flores (masculinas y femeninas) en la planta. Su contribución no fue significativa, por lo que se descartó del modelo. Con el mismo diseño evalué el comportamiento de las abejas del género *Peponapis*, a través de la frecuencia de aproximaciones y de visitas efectivas. Este análisis lo realicé porque estas abejas constituyen el principal polinizador conocido de *C. sororia* (ver Sistema de Estudio) y porque aportaron más del 80% de las visitas totales durante el periodo de observación. También comparé la duración de las visitas efectivas de *Peponapis* spp. entre flores de diferentes tratamientos. Para este análisis usé un modelo mixto de ANDEVA, con el tratamiento de herbivoría y el sexo de las abejas como efectos fijos y las plantas anidadas dentro de los tratamientos como efecto aleatorio. Los días de observación constituyeron bloques. Como covariable consideré la hora (tiempo) en que se realizó cada observación (en minutos). Además incluí en el modelo las interacciones tiempo x tratamiento y sexo x tratamiento. La duración de las visitas fue transformada a logaritmo natural.

El tiempo total por día que permanecieron las abejas dentro de una flor lo calculé como el producto de la duración de una visita promedio en el día x la frecuencia de visitas acumulada durante el día (equivalente a 1 h de observación). Esta variable fue transformada a raíz cuadrada de $y + 0.5$ (Zar 1996) y analizada con un modelo mixto de ANDEVA, con el tratamiento de daño

como efecto fijo y las plantas anidadas en el tratamiento como efecto aleatorio. El día lo usé como bloque, como en el análisis anterior.

Los análisis se realizaron con JMP (SAS 1995) con el Tipo III de suma de cuadrados. Los supuestos de homogeneidad de la varianza y normalidad fueron verificados en primera instancia por inspección visual de las gráficas de la distribución de los residuos en función de los valores estimados. Luego de corroborar la ausencia de algún patrón sistemático en la distribución, comprobé la normalidad de los residuos por medio de la prueba de Shapiro-Wilk (Shapiro-Wilk 1965) y examiné las gráficas de probabilidad normal de los residuos. También verifiqué los supuestos de homogeneidad de varianza por medio de la inspección visual de los desvíos estándar de los diferentes tratamientos. En los análisis univariados probé la homogeneidad de la varianza con la prueba de Brown-Forsythe (SAS 1995) en los casos en que el diseño era balanceado; en los restantes usé la prueba de Levene (Milliken y Johnson 1984).

En general, las comparaciones entre tratamientos se realizaron por medio de pruebas de contrastes múltiples entre pares de promedios ajustando la probabilidad ($\alpha=0.05$) con la prueba secuencial de Bonferroni (Sokal y Rohlf 1995). Sin embargo, en el análisis de la duración de las visitas de las abejas en las flores de diferentes tratamientos, la interacción sexo x daño se analizó a través de contrastes planeados que probaban si había diferencias en la duración de las visitas entre tratamientos. Para ello se realizaron comparaciones lineales y cuadráticas ortogonales entre los niveles de daño para cada sexo por separado. Esta clase de contrastes se pueden aplicar a los niveles de un factor si estos pueden representarse en una escala de intensidad, como es el caso de los niveles crecientes de daño del tratamiento de herbivoría en este estudio. Para interpretar las diferencias entre los niveles del tratamiento con este tipo de comparaciones es necesario considerar conjuntamente los resultados del contraste lineal y el cuadrático. La interpretación que se deduce de los diferentes resultados posibles en el uso de este tipo de contrastes se ilustran en la Figura 1. En la sección A la variable de respuesta de los tratamientos disminuye con el incremento en el nivel de daño. Si superponemos una línea sobre las medias de cada tratamiento la función resultante es lineal. Por lo anterior se esperaría que el juego de contrastes acusara diferencias significativas en el contraste lineal pero no en el cuadrático. En la sección B y C la media del tratamiento intermedio de daño es similar (B) o superior al testigo (C), mientras que el efecto del daño intenso es menor que ambos. Una línea superpuesta uniendo los puntos semejaría

una función cuadrática. Por lo anterior se esperaría que ambos contrastes resulten significativos y el contraste cuadrático será más significativo en el caso C que en el B. Finalmente en el caso D el contraste cuadrático es significativo, pero el lineal no.

En síntesis, la información conjunta de ambos contrastes muestra si la "alineación" de las medias semeja una función lineal o una cuadrática, con lo cual podemos interpretar el tipo de respuesta de los individuos al incremento de la intensidad del tratamiento (eg., herbivoría).

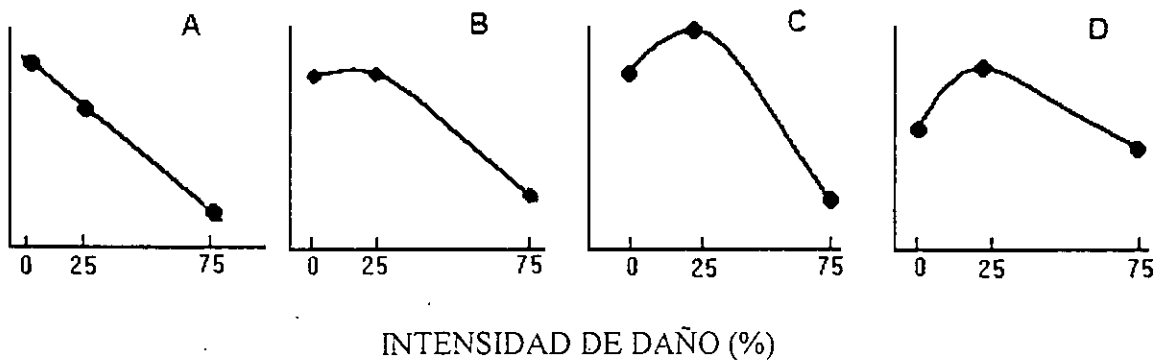


Fig. 1. Representación gráfica de los contrastes planeados de la duración de las visitas entre tratamientos, definidos como una escala creciente de intensidad de daño (ver detalles en el texto). Los gráficos A-D representan cuatro resultados experimentales hipotéticos.

Estas comparaciones se analizaron en JMP. Para formar los contrastes se emplearon los coeficientes correspondientes a polinomios ortogonales lineales y cuadrático. Estos coeficientes se obtuvieron con el procedimiento ORTHPOL (Genstat 5 ver. 4.1), debido a que los niveles del tratamiento no estaban igualmente espaciados (Fig. 1).

En todos los casos, a menos que se indique otra cosa, los valores que presento son el promedio \pm 1 error estándar.

RESULTADOS

Efecto del daño foliar sobre la fenología y la producción de flores y frutos

La mediana del número de días hasta la floración por planta fue significativamente mayor en el tratamiento de 75% de daño que en el testigo ($\bar{x} = 59.5 \pm 2.23$ vs 54.4 ± 0.62 respectivamente; Prueba de la mediana, $\chi^2_1 = 6.109$, $P = 0.04$). Por el contrario, no hubo diferencias significativas en el inicio de la floración en el tratamiento de 25% de herbivoría con relación al testigo ($57.1 \pm$

2.61 vs 54.4 ± 0.62 : $\chi^2_1 = 0.188$. $P = 0.6646$) y al 75% de daño (57.1 ± 2.61 vs 59.5 ± 2.23 . $\chi^2_1 = 1.173$. $P = 0.2787$).

El daño foliar severo produjo un retraso en el inicio en la floración, pero no afectó la producción total de flores estaminadas. Estos resultados sugieren que las plantas con daño intenso aumentaron la producción de flores estaminadas en relación a los otros tratamientos. Para probar este efecto analicé la producción de flores a través del tiempo mediante el ajuste de un modelo lineal generalizado adaptado para datos longitudinales (GEE; Liang y Zeger 1986). El incremento en la producción de las flores estaminadas en el tratamiento de daño severo hacia el final de la estación de crecimiento fue significativamente mayor que en los tratamientos testigo y de daño moderado, como lo indica la interacción estadísticamente significativa con el tiempo ($P < 0.0001$) (Fig. 1, Tabla 1). Este resultado indica que las plantas lograron compensar el retraso producido por la herbivoría hacia el final del período reproductivo aumentando la producción de flores.

Con respecto a la producción de flores, el análisis de varianza multivariado (MANOVA) indicó que el daño foliar también afectó significativamente el número medio de flores de ambos sexos producidas por planta (λ de Wilk = 0.634; $F_{4, 56} = 3.586$; $P = 0.0113$). El análisis univariado posterior mostró que no hubo diferencias entre tratamientos en el número promedio de flores estaminadas producidas por planta (testigo, 231.8 ± 28.5 ; 25% de daño, 205.5 ± 31.7 y 75% de daño, 289.5 ± 53.3 ; ANDEVA, $F_{2, 29} = 0.697$; $P = 0.5064$). En contraste, la producción promedio de flores femeninas por planta (Fig. 2) fue significativamente diferente entre tratamientos (ANDEVA, $F_{2, 29} = 5.822$; $P = 0.0075$). El tratamiento de 75% de herbivoría redujo el número de flores femeninas promedio por planta a casi un tercio en relación al testigo ($F_{1, 29} = 11.552$; $P = 0.0060$) mientras que, si bien las plantas con 25% de daño produjeron el doble de flores pistiladas que las plantas con 75% de daño en promedio (Fig. 2), las diferencias no fueron estadísticamente significativas ($F_{1, 29} = 2.315$; $P = 0.1390$). Las plantas con 25% de daño también tuvieron menor número de flores femeninas que las plantas testigo (una diferencia de un poco menos del doble, Fig. 2), y la diferencia fue marginalmente significativa ($F_{1, 29} = 3.700$; $P = 0.0643$).

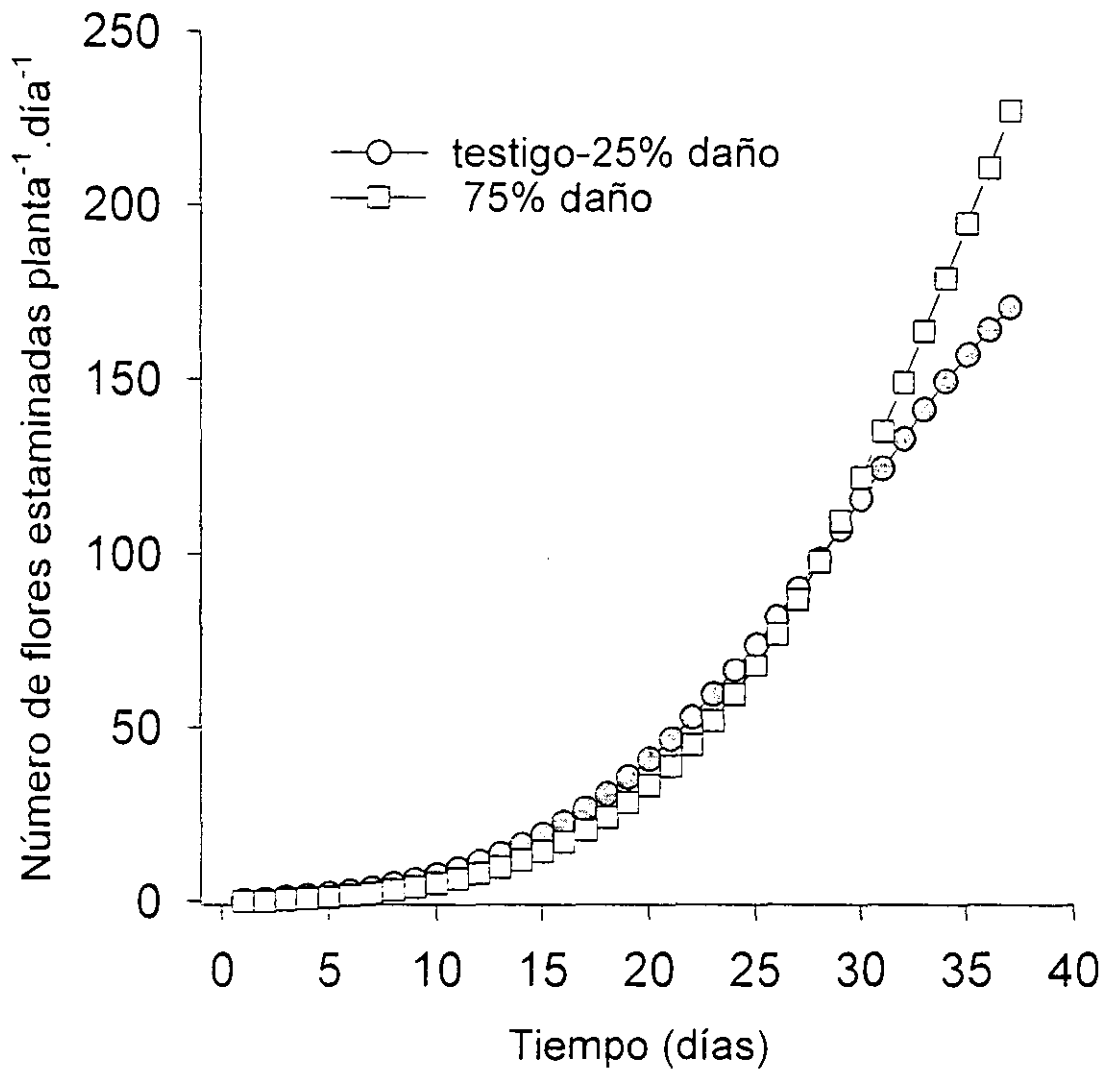


FIG. 1. Curso temporal de la producción de flores estaminadas en plantas de *Cucurbita sororia* bajo tres tratamientos de herbivoría experimental (0, 25 y 75% de defoliación). Las líneas representan el ajuste obtenido con un modelo GLM para medidas repetidas

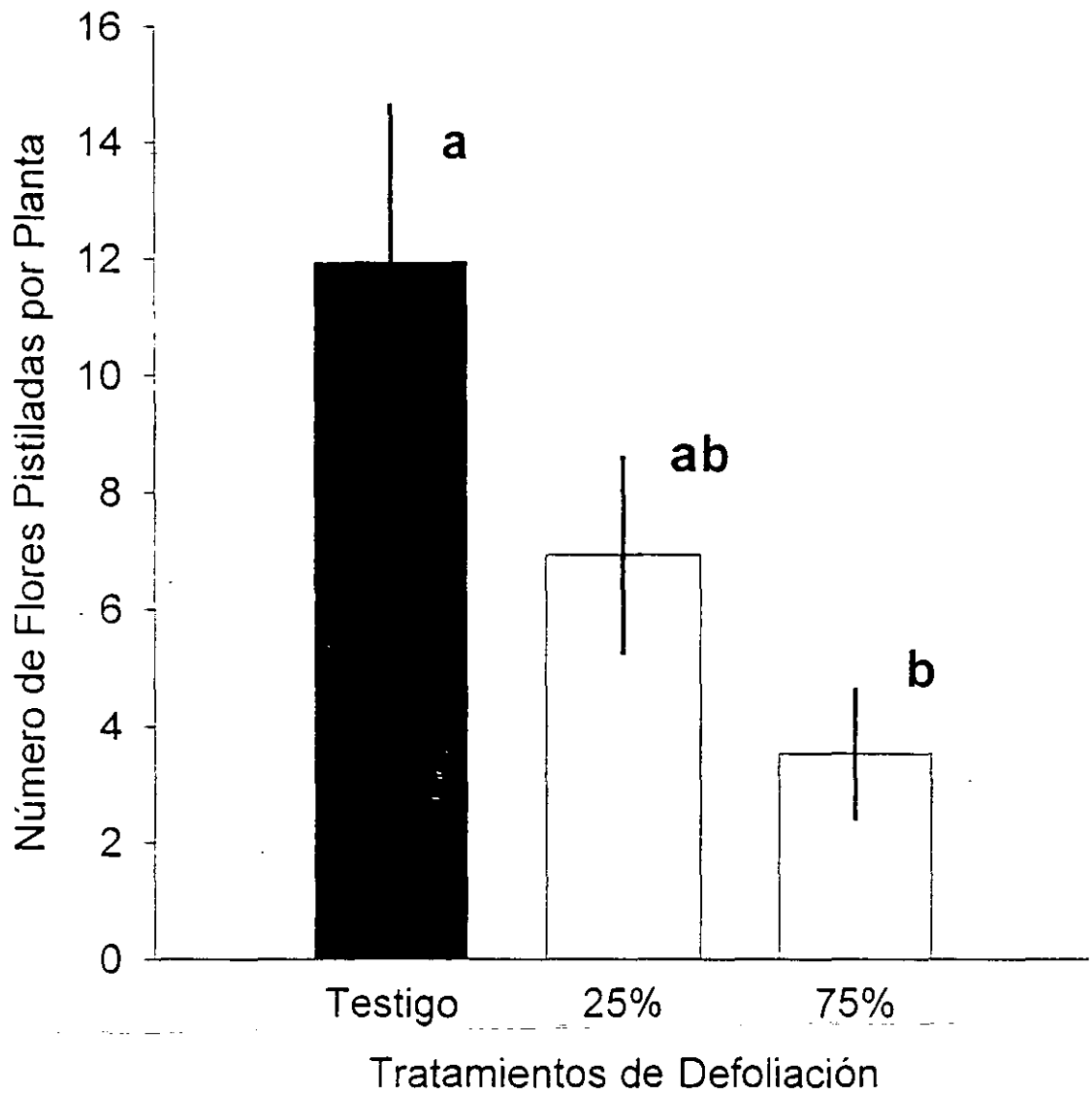


FIG. 2. Efecto del daño foliar experimental (0, 25 y 75% de defoliación) sobre el número de flores pistiladas por planta de *Cucurbita sororia*. Las barras representan el promedio \pm 1 EE. Las medias con letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

TABLA 1. Modelo de regresión cuadrática del número de flores estaminadas producidas por planta en tres tratamientos de defoliación. El modelo se ajustó con el procedimiento GEE (GENSTAT 5 ver. 4.1), que considera la autocorrelación de los datos obtenidos por medidas repetidas a través del tiempo. La variable de respuesta se transformó al logaritmo natural del número acumulado de flores estaminadas + 1. Los tratamientos testigo y 22% de daño no mostraron diferencias significativas por lo que el modelo mínimo significativo incluyó solo dos categorías de daño: severo (66% de herbivoría) y moderado (incluye el testigo y el 22% de daño). Además se incluyó como variable continua la expresión lineal y cuadrática del tiempo (en días), y la interacción cuadrática con el tratamiento. El modelo ajustado es: $a + b*(\text{día}) + c*(\text{día}^2) + d*(\text{Tratamiento}) + e*(\text{Tratamiento} \times \text{día}^2)$. La sección A de la tabla muestra el análisis de varianza del modelo, y la sección B los coeficientes estimados por el modelo y su significancia estadística.

(A)

Fuente de Variación	g.l.	CM	F	P
Modelo	4	668.51	727.3	< 0.0001
Error	1204	0.92		

(B)

Efectos	parámetros	valores estimados	EE	t_{1204}	P
Constante	a	0.0022	0.109	0.020	0.9840
día	b	0.2425	0.020	11.876	< 0.0001
día ²	c	-0.0028	4.7 e ⁻⁴	-5.957	< 0.0001
H ₁	d	-0.3988	0.263	-1.518	0.1293
H ₂ x día ²	e	0.0005	1.2 e ⁻⁴	4.167	< 0.0001

La ecuación que estima la producción de flores estaminadas para el tratamiento de daño moderado (testigo y 22% de daño) y daño intenso es: $\text{Exp}(0.0022+0.242*\text{día}-0.0028*\text{día}^2)-1$ y $\text{Exp}(-0.397+0.242*\text{día}-0.0023*\text{día}^2)-1$ respectivamente.

Como consecuencia de que el efecto negativo de la herbivoría se manifestó sólo a través de la producción de flores femeninas, hubo cambios significativos entre tratamientos en la expresión sexual de las plantas (nº de flores estaminadas / nº total de flores; Fig. 3) (ANDEVA, $F_{2, 29} = 6.589$, $P = 0.0044$). La prueba de contrastes mostró que las plantas con mayor nivel de daño (75%) presentaron una proporción significativamente mayor de flores masculinas tanto en relación a las plantas testigo ($F_{1, 29} = 12.995$, $P = 0.0035$) como a las plantas con daño moderado, aunque en esta última comparación las diferencias fueron apenas marginalmente significativas

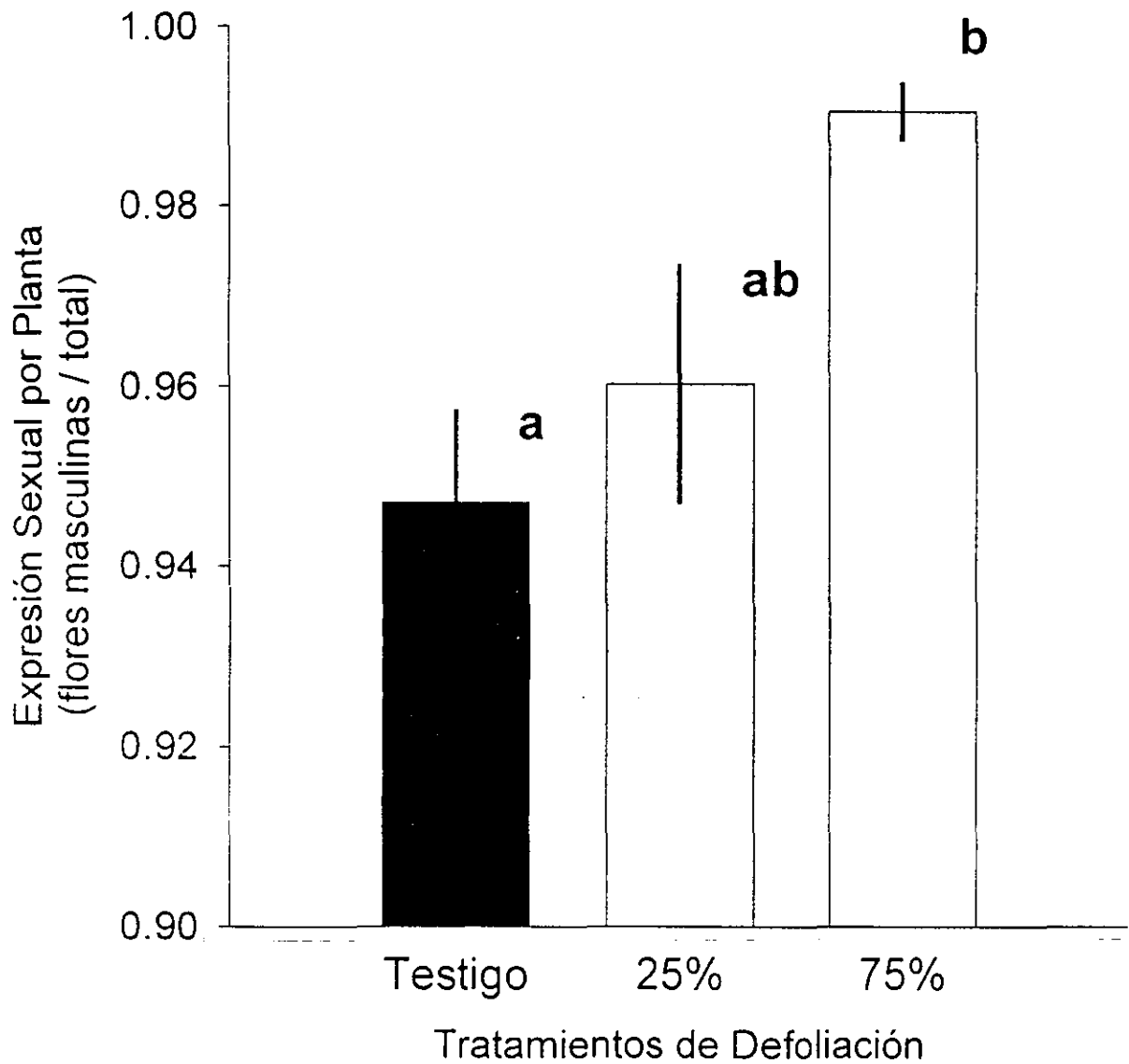


FIG. 3. Efecto del daño foliar experimental (0, 25 y 75% de defoliación) sobre la expresión sexual masculina por planta de *Cucurbita sororia*. La expresión sexual indica la proporción de flores masculinas en relación al total de flores de ambos sexos producidas por planta. Las barras representan el promedio \pm 1 EE. Las medias con letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

($F_{1,29} = 5.068$, $P = 0.064$). Por el contrario, no hubo diferencias entre las plantas con 25% de daño y las plantas testigo ($F_{1,29} = 1.923$, $P = 0.1761$).

Los resultados presentados hasta aquí, en relación a las consecuencias fenológicas del daño foliar, destacan tanto el retraso en el inicio de la floración, como la disminución del número de flores femeninas producidas en las plantas. Esto, sumado a la carencia de consecuencias del daño sobre la producción de flores masculinas, determinó un sesgo significativo hacia la masculinidad en las plantas con mayor herbivoría.

El análisis de la proporción de frutos logrados a partir de las flores femeninas producidas por planta ("fruit set") mostró que no hubo diferencias entre tratamientos (0.667 ± 0.083 , 0.617 ± 0.091 y 0.550 ± 0.158 en las plantas testigo, 25% y 75% de daño respectivamente) (ANDEVA, $F_{2,24} = 0.317$, $P = 0.7312$). Sin embargo, el número absoluto de frutos producidos por planta sí fue afectado significativamente por la herbivoría (ANDEVA, $F_{2,29} = 5.086$, $P = 0.0128$). Las comparaciones entre tratamientos (Fig. 4) indicaron que las plantas dañadas al 75% produjeron sólo el 28 % de los frutos obtenidos, en promedio, por las plantas testigo ($F_{1,29} = 10.124$, $P = 0.0105$), mientras que las plantas con 25% de daño produjeron el 60 % del número de frutos de las plantas sin daño, aunque esta disminución fue sólo marginalmente significativa ($F_{1,29} = 3.038$, $P = 0.0919$). A diferencia de los resultados anteriores, el contraste entre el 75% y el 25% de herbivoría no mostró diferencias significativas ($F_{1,29} = 2.193$, $P = 0.1495$) en esta variable (Fig. 4). Este resultado negativo de la defoliación sobre la producción de frutos parece ser consecuencia directa de la disminución en la producción de flores femeninas, más que de fallas en la fertilización y el llenado de los frutos, si consideramos que el cociente frutos/flores fue estadísticamente indistinguible entre los tratamientos.

Efecto de la herbivoría sobre los caracteres florales masculinos: producción de polen, producción de néctar y el tamaño de las flores estaminadas

El diámetro de los granos de polen no fue afectado por la herbivoría simulada (media mínima cuadrada en μm , testigo: 134.38 ± 0.44 ; 25% de daño: 134.22 ± 0.65 ; 75% de daño: 134.15 ± 0.41 ; Tabla 2). En cambio, el daño foliar afectó el número de granos de polen producidos por flor, como lo muestran los ANDEVAS de efecto mixto (Tabla 2). Las diferencias en la producción de polen se manifestaron tanto entre las medias mínimas cuadradas de tratamientos como en la interacción tratamiento x número de nudos. Los análisis de la interacción revelaron una relación

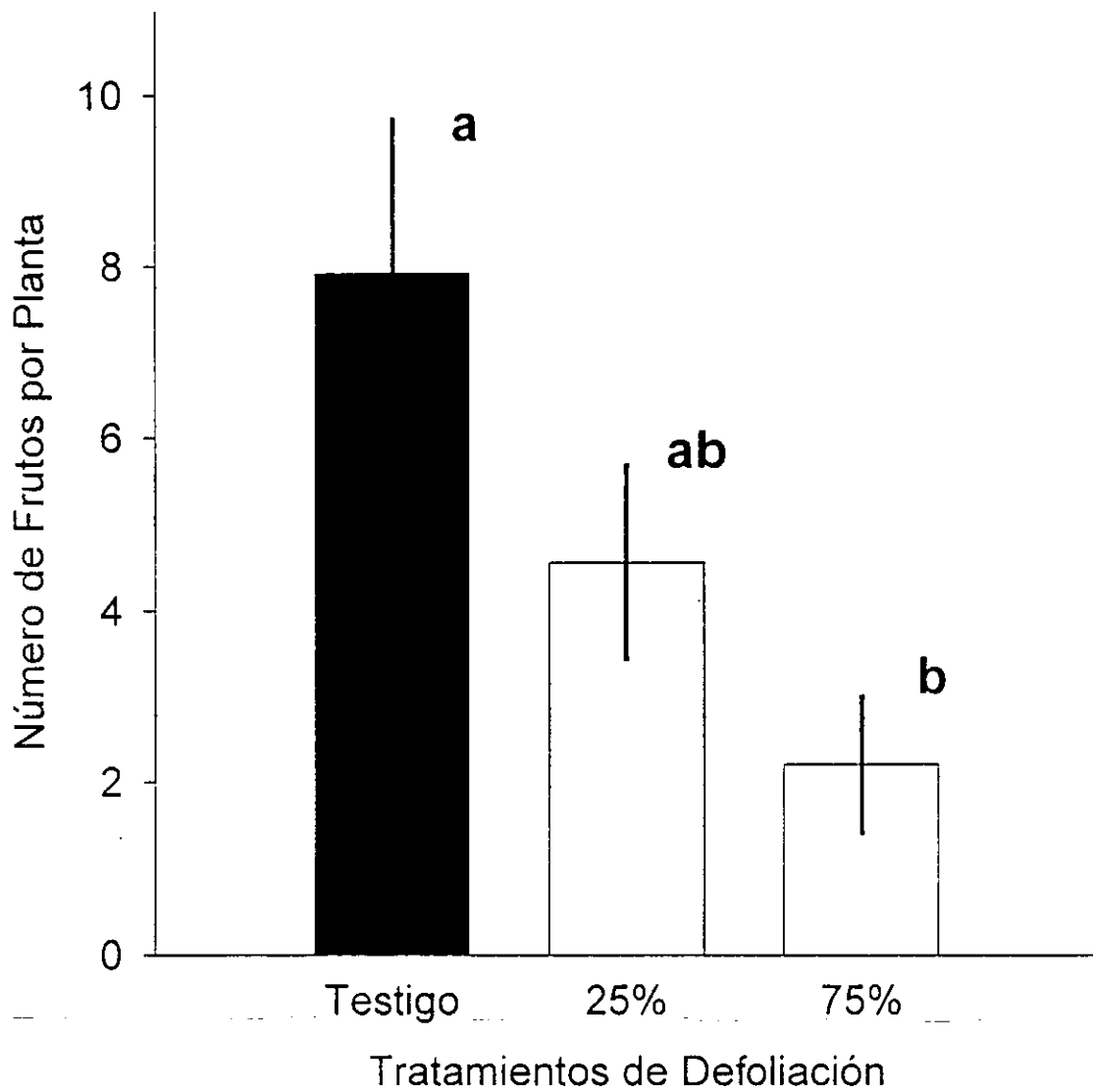


FIG. 4. Efecto del daño foliar experimental (0, 25 y 75% de defoliación) sobre el número de frutos por planta de *Cucurbita sororia*. Las barras representan el promedio \pm 1 EE. Las medias con letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

negativa entre el número de granos de polen y el número de nudo de la flor en las plantas con daño moderado. mientras que, por el contrario, esta relación fue positiva tanto en las plantas testigo como en las plantas con 75% de daño (Fig. 5 A). Las comparaciones basadas en las medias mínimas cuadradas revelan que, inesperadamente, las plantas con 25% de daño produjeron más polen por flor tanto en relación a las plantas testigo ($F_{1, 72} = 12.384, P < 0.0021$) como a las plantas con 75% de daño, aunque en esta última comparación las diferencias fueron tan sólo marginalmente significativas ($F_{1, 72} = 4.044, P < 0.0930$) (Fig. 5 B). También hubo mayor producción de polen, marginalmente significativa, en las flores de las plantas con 75% de daño en relación a las plantas testigo ($F_{1, 72} = 4.055, P < 0.0920$) (Fig. 5).

TABLA 2. Modelo mixto de análisis de varianza para el número y el tamaño de granos de polen por flor por planta en los tres tratamientos de defoliación. El número de granos de polen fue transformado [$y = \ln(n^\circ \text{ de granos})$]. En ambos modelos se usó el número de nudo en el que se ubicaba la flor muestreada como covariable para evaluar el efecto de la posición sobre el número y tamaño del polen.

Fuente de Variación	g.l.	Número de granos de polen			Tamaño de granos de polen		
		CM	F	P	CM	F	P
Daño	2	0.049	5.937	0.0038	12.661	2.154	0.1231
Planta [Daño]	23	0.130	18.000	0.0001	20.840	3.618	< 0.0001
Nº nudo	1	1.11e-6	2.0e-4	0.9901	15.400	2.674	0.1064
Daño x Nº nudo	2	0.046	6.323	0.0030	12.415	2.155	0.1233
Error	72	7.242e-3			5.760		

nº de polen: $r^2 = 0.86$; r^2 ajustado = 0.81; $N = 101$; tamaño de polen: $r^2 = 0.59$, r^2 ajustado = 0.44, $N = 101$

Para explicar porqué las pendientes de la producción de polen son diferentes entre tratamientos es interesante considerar que en el periodo en que fueron muestreadas las flores estaminadas para la extracción de polen, las plantas de los tratamientos testigo, 25% y 75% de daño produjeron respectivamente 2.89 ± 4.34 , 3.13 ± 3.87 y 1 ± 1 flores pistiladas por planta. Cuando las flores se sumaron por tratamiento, constituyeron el 24.07%, 43.10% y el 22.5% del total de flores producidas por cada tratamiento en la temporada. Estos datos sugieren que en este intervalo el mayor esfuerzo relativo en la función femenina fue realizado por las plantas con daño moderado, no solo en proporción al total de las flores producidas por el tratamiento, sino en la producción promedio por planta que, en valores absolutos, superó incluso a las plantas testigo. La

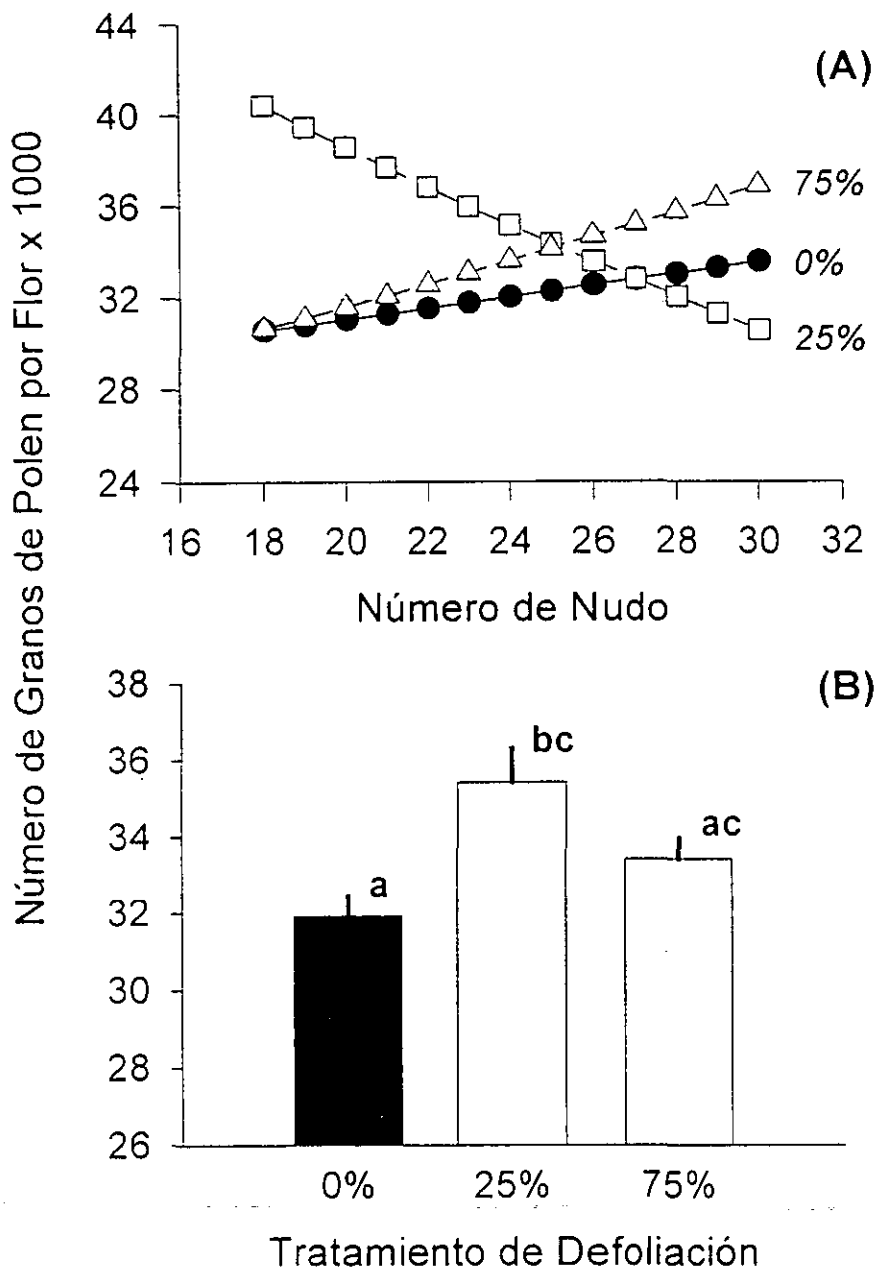


FIG. 5. Diferencias entre los tres tratamientos experimentales de daño foliar (0, 25 y 75% de defoliación) en el número de granos de polen por flor durante el crecimiento de *Cucurbita sororia*. (A) Producción de polen en función del número de nudo sobre el que se ubican las flores muestreadas. Las líneas representan la producción de polen estimada por un modelo mixto de ANDEVA que incluyó el número del nudo asociado a la flor muestreada como covariable. La figura resalta la interacción significativa ($P < 0.05$) entre el número de nudo de la flor y el tratamiento de defoliación. (B) Número de granos de polen producidas por flor de *C. sororia* bajo los tres niveles de defoliación. Las barras representan el promedio mínimo cuadrado (eliminando la variabilidad debida al número de nudo asociado a la flor muestreada) por planta en cada tratamiento. Las barras de error estándar positivas representan 1 E.E. Las medias con letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

comparación del esfuerzo reproductivo masculino vs el femenino entre tratamientos sugiere que aunque las plantas con daño moderado produjeron la mayor cantidad de polen por flor, en ellas se produjo un compromiso entre la producción de polen y la formación de flores femeninas-llenado de frutos, cuya consecuencia fue la declinación en la producción de polen durante el crecimiento. Por el contrario, las plantas sin daño y daño intenso en el mismo periodo invirtieron proporcionalmente menos recursos en la producción de flores femeninas y por esta causa el esfuerzo reproductivo masculino aumentó, posiblemente en respuesta al incremento de tamaño de las plantas. Es ilustrativo que este resultado surge de analizar exclusivamente las flores ubicadas en el eje principal de cada planta, lo que permitió usar la posición de la flor en la planta como covariable. Sin embargo, si no considero esta covariable no se detectan diferencias entre tratamientos, aún cuando aumente el número de muestra por la inclusión de la producción de polen de las flores provenientes de las ramas principales.

En contraste con el efecto sobre el número de granos de polen, el análisis de varianza de efecto mixto reveló que la producción de néctar fue afectada significativamente por la herbivoría tanto en la concentración de néctar como en la producción de azúcar y el volumen a través del tiempo (Tabla 3). Este efecto no se manifestó en el factor daño del modelo por sí solo, sino a través de la interacción del daño x tiempo en las tres variables medidas, si bien en el caso del volumen el efecto fue marginalmente significativo ($P = 0.0740$) (Tabla 3, Fig. 6). Este resultado indica que la “tasa” de producción de néctar fue diferente entre tratamientos. El efecto del tiempo sobre la producción de néctar indicó una tendencia lineal positiva significativa del volumen de néctar (Fig. 6 A) y de la producción de azúcar (Fig. 6 C) a través del tiempo desde el inicio de la antesis. Por el contrario, la concentración de néctar decayó con el tiempo en el mismo intervalo, como lo indica la tendencia lineal negativa marginalmente significativa ($P = 0.0542$) (Tabla 3, Fig. 6 B).

El factor día usado como bloque fue significativo en los tres análisis, lo que sugiere que las condiciones meteorológicas del día de medición y/o las características de humedad del suelo afectaron la producción del néctar en las plantas. Las comparaciones realizadas sobre las medias mínimas cuadradas entre tratamientos, incluidos todos los términos del modelo ajustado (Fig. 7 A-C), indicaron que las flores de las plantas con 25% de daño y las plantas con 75% de daño redujeron significativamente el volumen, la concentración y la producción de azúcar, en

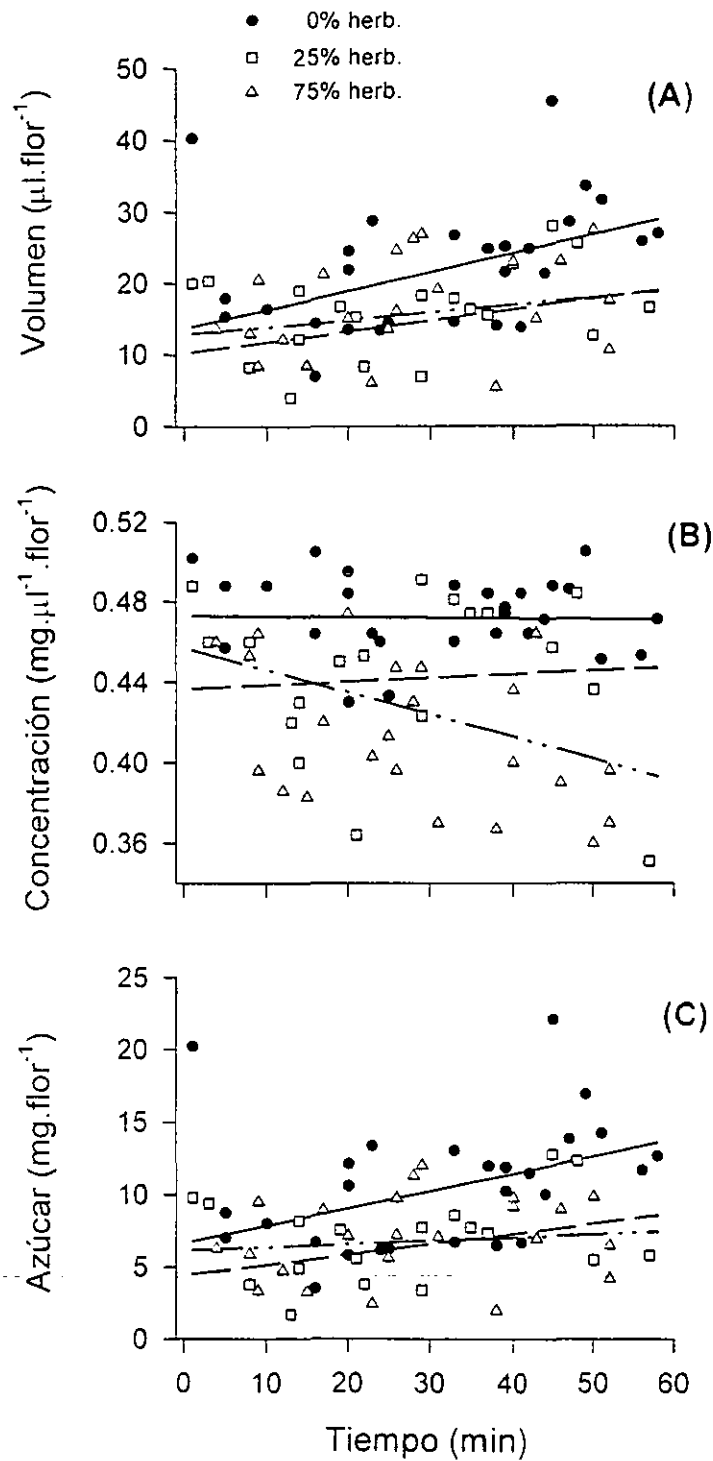


FIG. 6. Efecto del daño foliar experimental sobre el curso temporal de la producción de néctar por flor durante la antesis de *Cucurbita sororia*. (A) Volumen de néctar, (B) concentración de néctar y (C) producción de azúcar total. El eje de las x indica el tiempo en minutos a partir de la apertura floral. Los símbolos representan los valores observados. Las líneas representan la producción de néctar estimada por un modelo mixto de ANDEVA que incluyó el tiempo como covariable. Las líneas enteras, mixtas y discontinuas corresponden a los ajustes lineales de los tratamientos testigo, 25% y 75% de daño foliar respectivamente. Las figuras resaltan la interacción significativa ($P < 0.05$) entre el tratamiento de defoliación y el tiempo.

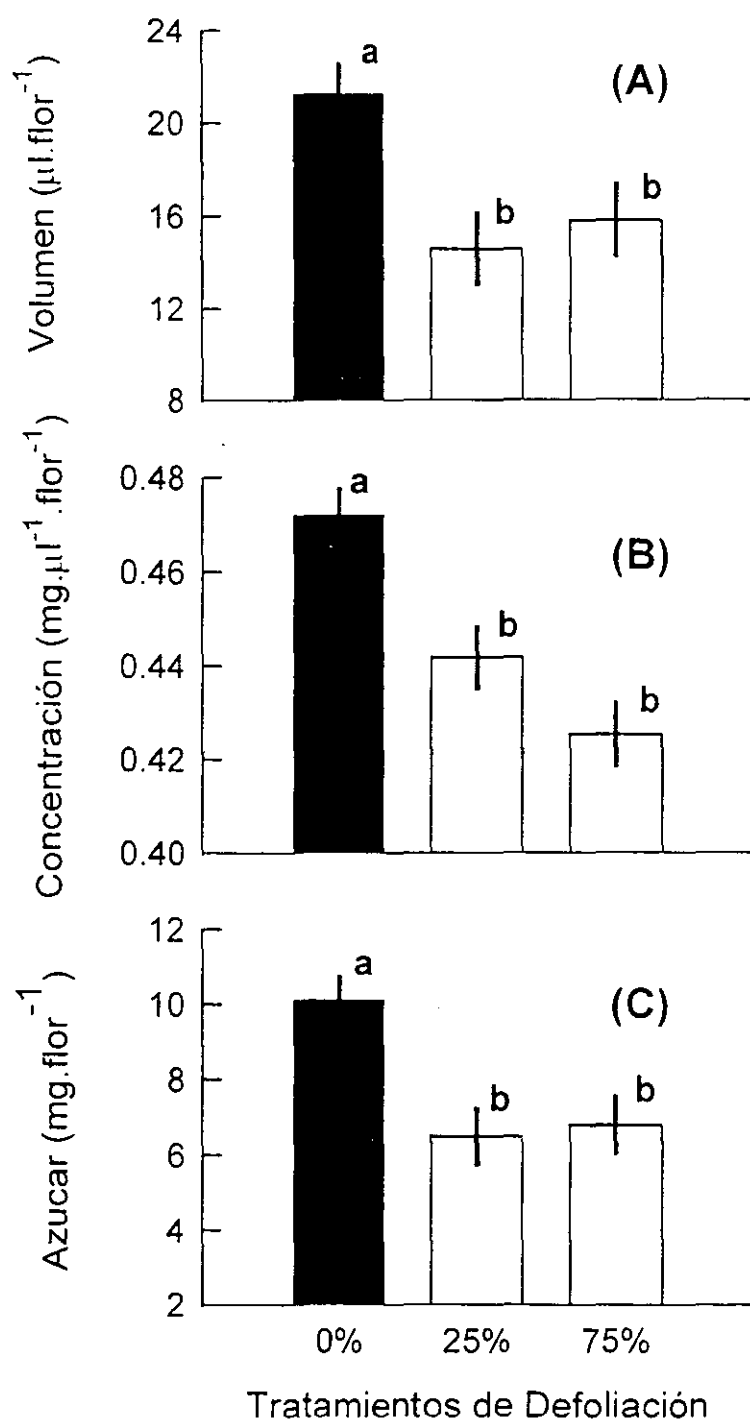


FIG. 7. Efecto del daño foliar experimental (0, 25 y 75% de defoliación) sobre (A) el volumen de néctar por flor (B) la concentración de néctar por flor y (C) la producción de azúcar total por flor. Las barras representan el promedio mínimo cuadrado (eliminando la variabilidad debida al número de nudo asociado a la flor muestreada) \pm 1 E.E. por planta en cada tratamiento. Letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0.05$)

comparación a las flores de las plantas sin daño. Por otra parte, no hubo diferencias en estas características entre los tratamientos del 25% y el 75% de daño (Tabla 3).

TABLA 3. Análisis de varianza de efectos mixtos (suma de cuadrados tipo III) y prueba de contrastes del volumen, concentración y cantidad de azúcar (volumen X concentración) del néctar de flores estaminadas de plantas de los tres tratamientos de defoliación. El tratamiento es un efecto fijo y la planta anidada dentro de tratamiento es un efecto aleatorio. La hora del día se usó como covariable. T = testigo, H₁ = daño al 25%, H₂ = daño al 75%.

Fuente de Variación	g.l.	Volumen		Concentración		Producción de azúcar	
		<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Día	5	2.491	0.0496	3.874	0.0067	3.266	0.0159
Tiempo	1	20.473	0.0001	3.970	0.0542	16.285	0.0003
Daño	2	0.356	0.7026	2.151	0.1295	0.652	0.5264
Planta [Daño]	22	10.861	< 0.0001	10.871	< 0.0001	11.625	< 0.0001
Tiempo X Daño	2	2.808	0.0740	8.273	0.0011	4.311	0.0212
Error	35						
Contrastes							
H ₁ vs T	1, 35	11.516	< 0.0047	12.896	< 0.0018	14.750	< 0.0014
H ₂ vs T	1, 35	8.088	< 0.0139	32.468	< 0.0001	13.025	< 0.0018
H ₁ vs H ₂	1, 35	0.322	0.5735	3.306	0.0765	0.0847	0.7725

El daño foliar también disminuyó significativamente el tamaño de la flor, definido por el área de la corola (ANDEVA, $F_{2,29} = 4.323$, $P = 0.0227$). Las pruebas de contrastes subsecuentes revelaron que las flores estaminadas de las plantas con daño fueron significativamente más pequeñas que las de las plantas testigo (Fig. 8). Estos contrastes fueron consistentes tanto en la comparación con el tratamiento de 25% de daño ($F_{1,29} = 7.008$, $P = 0.0385$) como con el de 75% ($F_{1,29} = 5.804$, $P = 0.0447$). Por el contrario, no hubo diferencias entre las plantas con herbivoría moderada e intensa ($F_{1,29} = 0.030$, $P = 0.8629$). En global, las corolas de las plantas defoliadas tuvieron una reducción en tamaño de casi el 12%.

Efecto de la herbivoría sobre la visita de los polinizadores

El número de visitas efectivas a las flores, de todas las especies de abejas observadas, fue afectado significativamente por la herbivoría (Tabla 4). Las comparaciones entre tratamientos

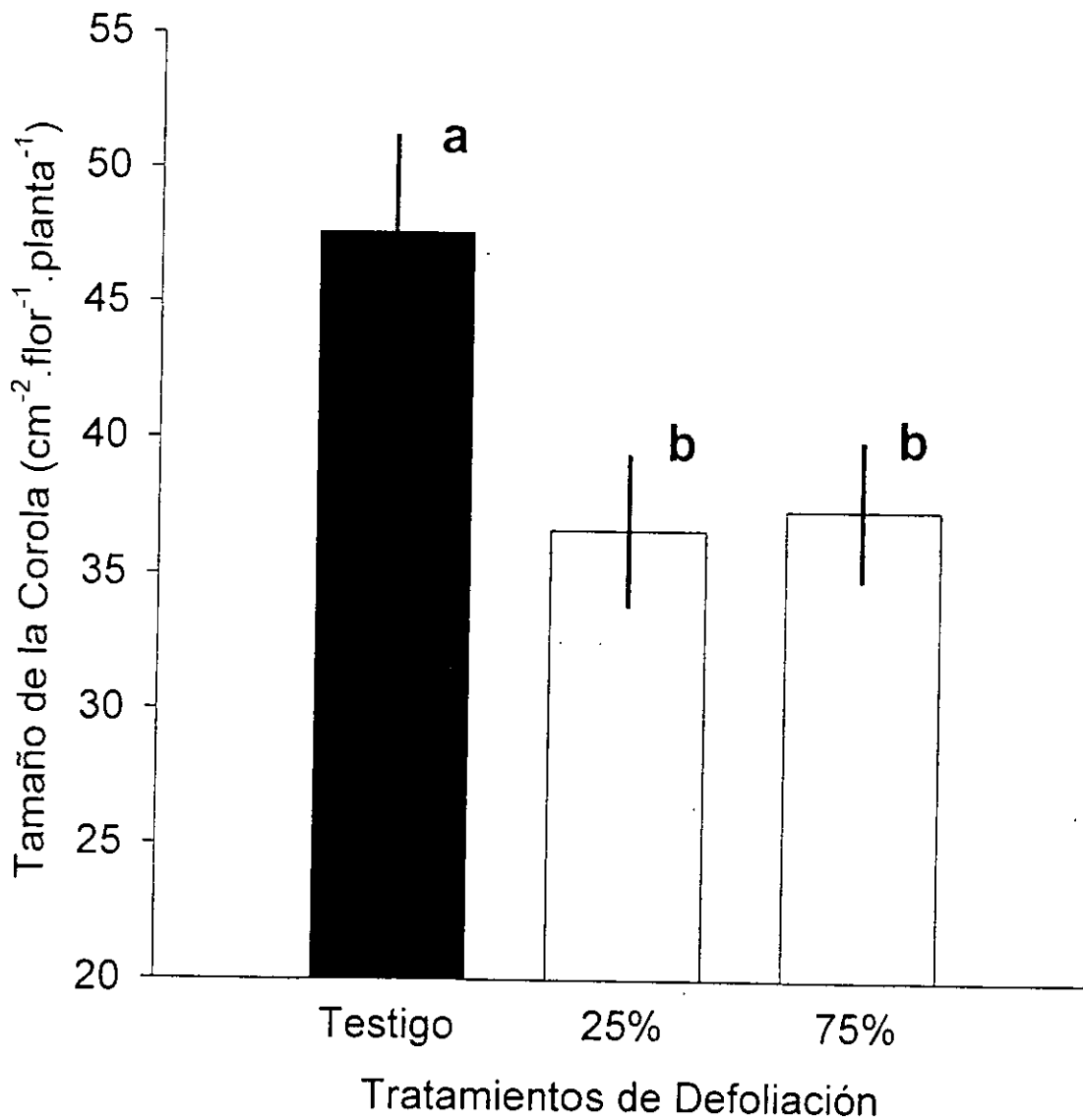


FIG. 8. Efecto de la herbivoría foliar experimental (0, 25 y 75% de defoliación) sobre el tamaño de las flores en plantas de *Cucurbita sororia*. Las barras representan el promedio por planta \pm 1 EE en cada tratamiento. Las medias con letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

(Fig. 9) indicaron que hubo una reducción significativa del 55% en el número de visitas de abejas a las plantas con 25% de herbivoría en relación a las plantas testigo ($F_{1,27} = 13.076$, $P < 0.0024$), mientras que esta disminución se amplió al 72% en las plantas con 75% de daño ($F_{1,27} = 26.318$, $P < 0.0001$). Por el contrario, no hubo diferencias significativas en el número de visitantes entre las plantas con 25% y 75% de daño ($F_{1,27} = 2.213$, $P = 0.1483$). El efecto del daño sobre el comportamiento de los polinizadores fue el mismo cuando el análisis se repitió considerando sólo las visitas de abejas del género *Peponapis* (i.e., excluyendo las otras especies) ($F_{2,27} = 13.598$, $P = 0.0001$). Este resultado revela la importancia de la actividad de forrajeo de *Peponapis* spp., las cuales realizaron el $89.8 \pm 0.02\%$ de las visitas efectivas recibidas por *C. sororia* en el periodo de estudio. Las diferencias de comportamiento de las abejas entre tratamientos de herbivoría mostradas por el análisis no fueron explicadas por el número de flores de las plantas visitadas, como lo muestra el efecto no significativo de esta covariable ($F_{1,45} = 0.6277$, $P = 0.4323$). Ya que este término fue no significativo se eliminó del modelo final.

TABLA 4. Análisis de varianza de un modelo mixto con suma de cuadrados de tipo III del número de visitas efectivas por abejas sobre flores de plantas con tres niveles de daño foliar: testigo, 25% y 75% de daño. La variable de respuesta fue transformada ($y = \sqrt{y + 0.5}$). El tratamiento es un efecto fijo y el efecto planta, anidada dentro de los tratamientos, es un efecto aleatorio.

Fuente de Variación	g.l.	CM	F	P
Día	4	7.635	22.298	< 0.0001
Daño	2	14.720	13.949	0.0001
Planta[Daño]	27	1.071	3.128	0.0003
Error	46	0.342		

$r^2 = 0.86$

La herbivoría no afectó las aproximaciones de *Peponapis* spp. a las flores (medias mínimas cuadradas retransformadas: testigo = 38.1 ± 9.9 , -7.8; 25% = 25.5 ± 6.6 , -5.2; 75% = 22.9 ± 6.2 , -4.9) como lo mostró el factor tratamiento en el análisis de varianza de efecto mixto ($F_{2,27} = 1.3814$, $P = 0.2677$). El número de flores de las plantas tampoco tuvo un efecto significativo ($F_{1,31} = 0.9411$, $P = 0.3395$) por lo que fue excluido como covariable. En este análisis solo el factor aleatorio planta anidado en el tratamiento explicó la variabilidad en este comportamiento ($F_{27,38} = 6.3161$, $P = <0.0001$). Este contraste entre el efecto del daño sobre las visitas efectivas

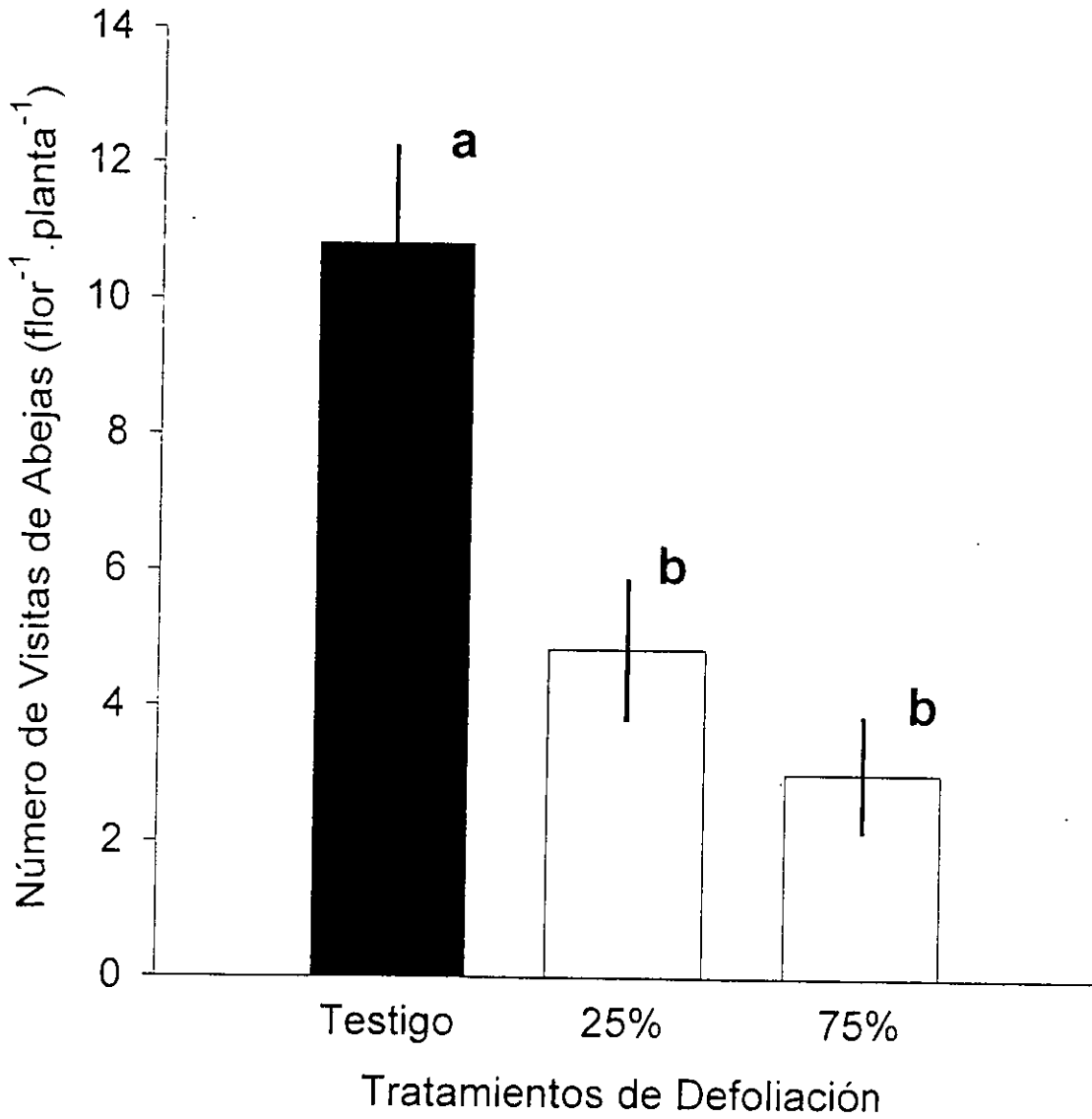


FIG. 9. Efecto de la herbivoría foliar experimental (0, 25 y 75% de defoliación) sobre el número de visitas de abejas recibidas por las flores de *Cucurbita sororia*. Los valores corresponden a las visitas por hora. Las barras representan el promedio por planta \pm 1 EE en cada tratamiento. Las medias con letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

y la falta de respuesta en la actividad de aproximación sugiere que las abejas modificaron su comportamiento de forrajeo después de haber sobrevolado las flores.

El tiempo de forrajeo de *Peponapis* spp. dentro de la flor fue significativamente diferente entre tratamientos de herbivoría (Tabla 5 A). El ANDEVA de efecto mixto reveló además que hubo efectos significativos del daño y marginalmente significativos de la interacción daño X tiempo ($P = 0.0619$). El análisis indicó una relación lineal negativa significativa entre el tiempo y la duración de la visita. Esto significa que las abejas *Peponapis* spp. de ambos sexos permanecieron más tiempo forrajeando al comienzo de la antesis que hacia el final (Fig. 10).

TABLA 5. ANOVA de efectos mixtos con suma de cuadrados de tipo III del daño foliar sobre el (A) tiempo de forrajeo de machos y hembras de dos especies de *Peponapis*. La variable de respuesta fue transformada ($y = \ln y$). El tratamiento es un efecto fijo y el efecto planta, anidada dentro de los tratamientos, es un efecto aleatorio. (B) Contrastes ortogonales lineal y cuadrático de la interacción Daño X Sexo para el tiempo de forrajeo

(A)

Fuente de variación	g.l.	CM	F	P
Día	4	4.791	9.921	< 0.0001
Daño	2	1.768	3.256	0.0395
Planta[Daño]	27	1.214	2.514	< 0.0001
Sexo	1	0.113	0.234	0.6286
Tiempo	1	30.269	62.676	< 0.0001
Tiempo x Daño	2	1.350	2.796	0.0619
Daño x Sexo	2	2.938	6.083	0.0024
Error	571	0.483		

$r^2 = 0.27$; r^2 ajustado = 0.22, $N = 611$

(B)

Contrastes	g.l.	Hembras		Machos	
		F	P	F	P
Lineal	1, 571	0.749	0.3872	6.529	< 0.0109
Cuadrático	1, 571	1.077	0.2998	1.034	0.3097

Un resultado llamativo fue la interacción significativa del daño X el sexo de *Peponapis* spp.. Las implicaciones de esta interacción se exploraron mediante comparaciones lineales y cuadráticas ortogonales entre los niveles de daño (ver Material y Métodos) para cada sexo por

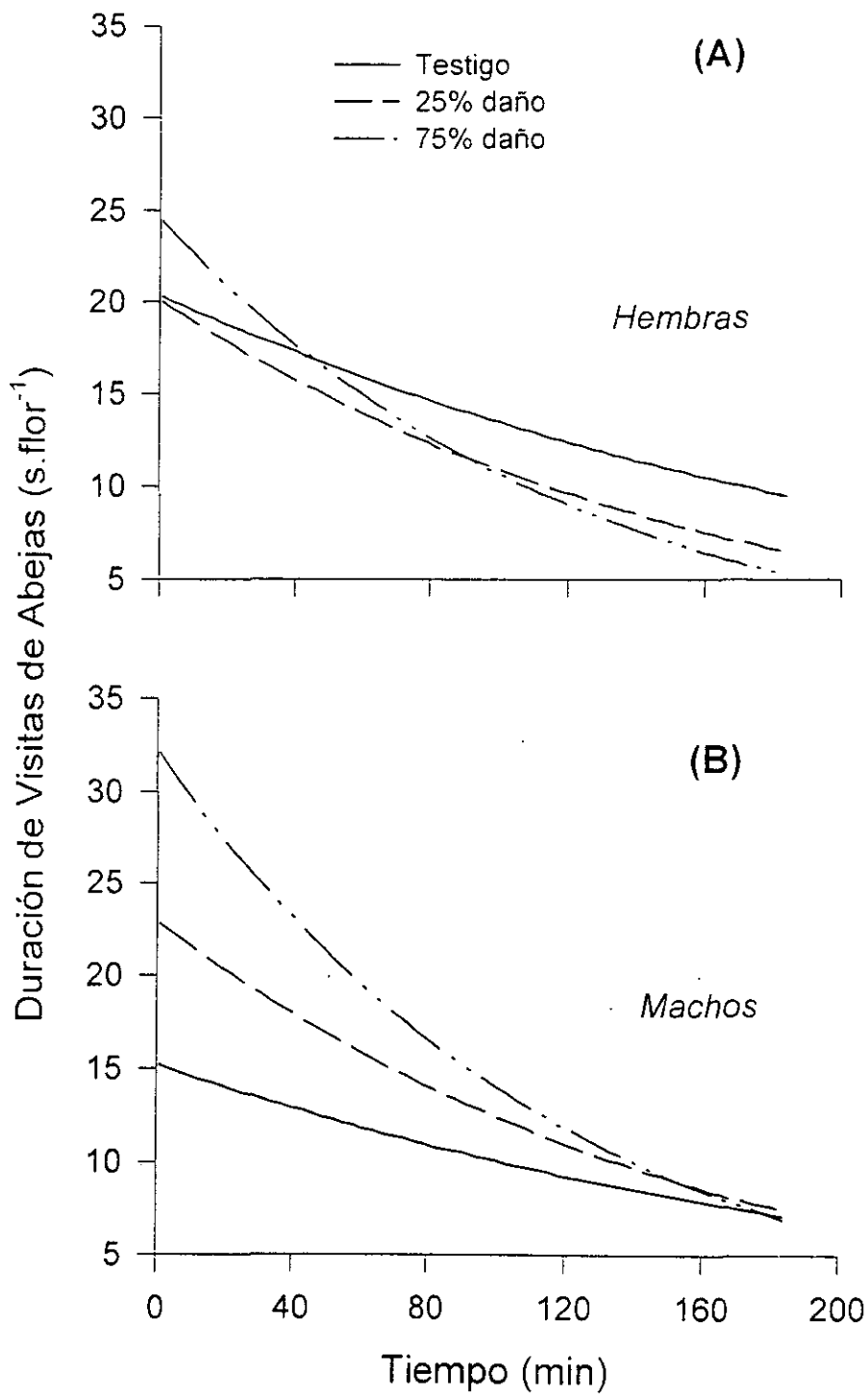


FIG. 10. Efecto de la herbivoría (0, 25 y 75% de defoliación) sobre el tiempo de permanencia de los polinizadores. Las líneas representan la duración de las visitas estimada por un modelo mixto de ANDEVA que incluyó el tiempo como covariable para (A) hembras y (B) machos. Solo el tiempo de permanencia de los machos mostró diferencias significativas ($P < 0.05$).

separado. Los análisis muestran que el tiempo de permanencia de las hembras de *Peponapis* spp. no fue afectado por la herbivoría, como lo indicó el efecto no significativo de la comparación lineal y cuadrática (Tabla 5 B, Fig. 11). Por el contrario, los machos de esta especie permanecieron significativamente más tiempo en las flores de plantas con niveles crecientes de herbivoría, mostrando una relación lineal positiva entre el tiempo de permanencia y el nivel de daño, como lo reveló el efecto significativo del contraste lineal y la falta de significancia de la comparación cuadrática (Tabla 5 B). Además de ilustrar estos resultados, la Figura 11 sugiere que las hembras permanecieron aparentemente más tiempo en las flores de plantas testigo que los machos, mientras que esta relación se invierte en las plantas defoliadas, particularmente bajo daño al 75%.

Aunado a estas posibles diferencias entre sexos en el tiempo de manipulación del recurso, se observó un desplazamiento entre sexos en la distribución temporal de las frecuencias de visitas (Fig. 12). El patrón emergente es que las hembras visitan con más frecuencia las flores al comienzo de la antesis, mientras que los machos lo hacen más tarde. Ambas evidencias, descriptivas del comportamiento de forrajeo, tanto de la duración como de la frecuencia de visitas, sugieren que la evaluación de los recursos florales que determina este comportamiento es distinta entre machos y hembras, y que debido a esto el daño foliar produce un impacto diferencial entre sexos ya que altera los recursos disponibles en las flores para los polinizadores.

El tiempo medio de visitas por hora por flor, calculado como el producto del tiempo medio/visita por el número de visitas/hora, fue significativamente diferente entre tratamientos (Tabla 6, Fig. 13). La comparación de las medias mínimas cuadradas indicó que la duración de las visitas fue significativamente menor en los tratamientos de defoliación con respecto al testigo. En el caso del 25% de defoliación la diferencia fue 2.1 veces mayor y en el caso del 75% la diferencia fue mayor por un factor de 3 ($F_{1, 27} = 9.108, P < 0.0108$ y $F_{1, 27} = 21.675, P < 0.0002$, respectivamente). Por el contrario, no hubo diferencias entre las plantas con 25% y 75% de daño ($F_{1, 27} = 2.395, P = 0.1330$).

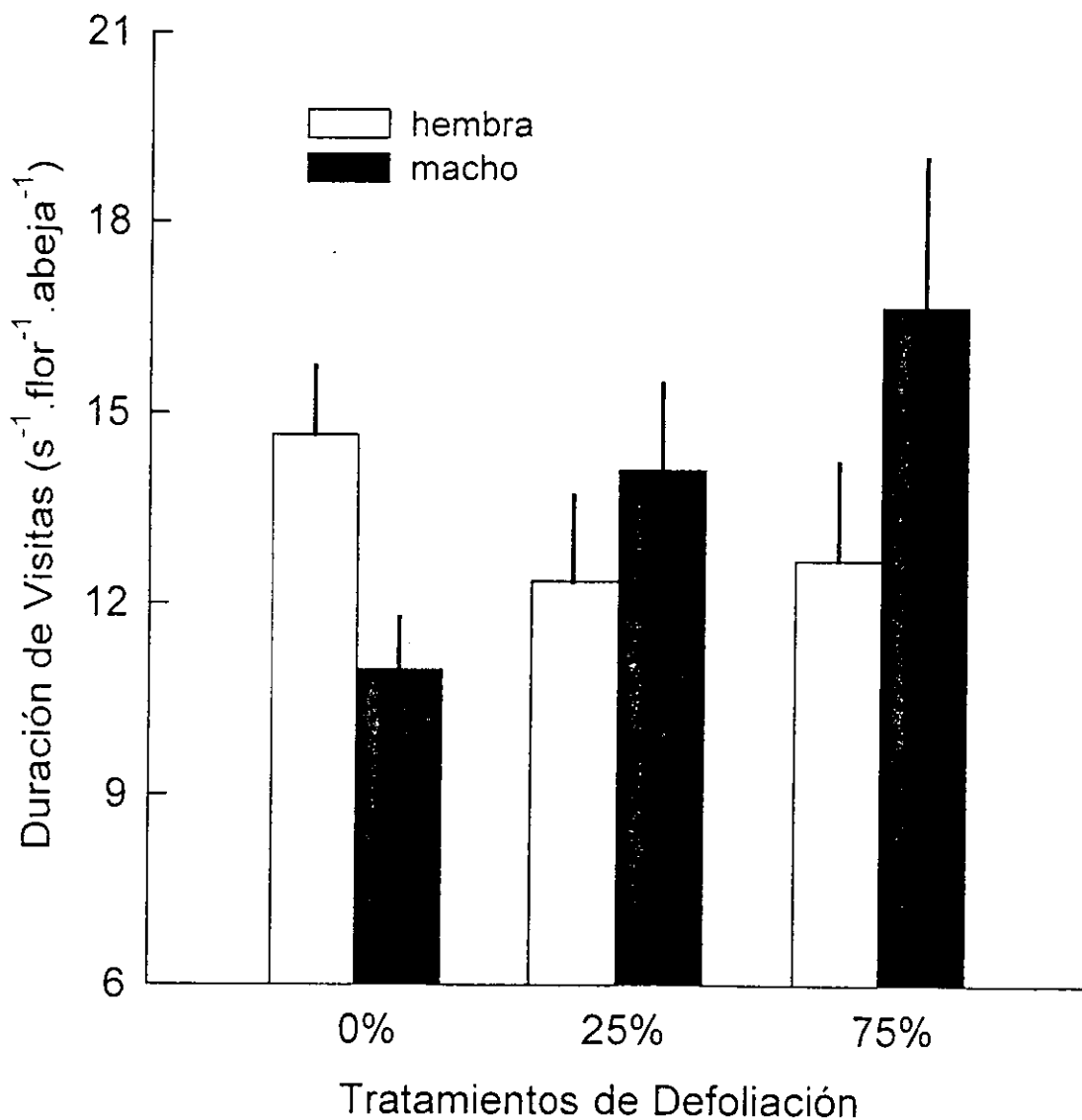


FIG. 11. Efecto del daño foliar experimental (0, 25 y 75% de defoliación) sobre los tiempos de permanencia de polinizadores macho y hembra sobre flores de *Cucurbita sororia*. Las barras representan el promedio mínimo cuadrado (eliminando la variabilidad debida al momento de observación) por flor y por planta en cada tratamiento. Las barras representan el promedio \pm 1 E.E. Las letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

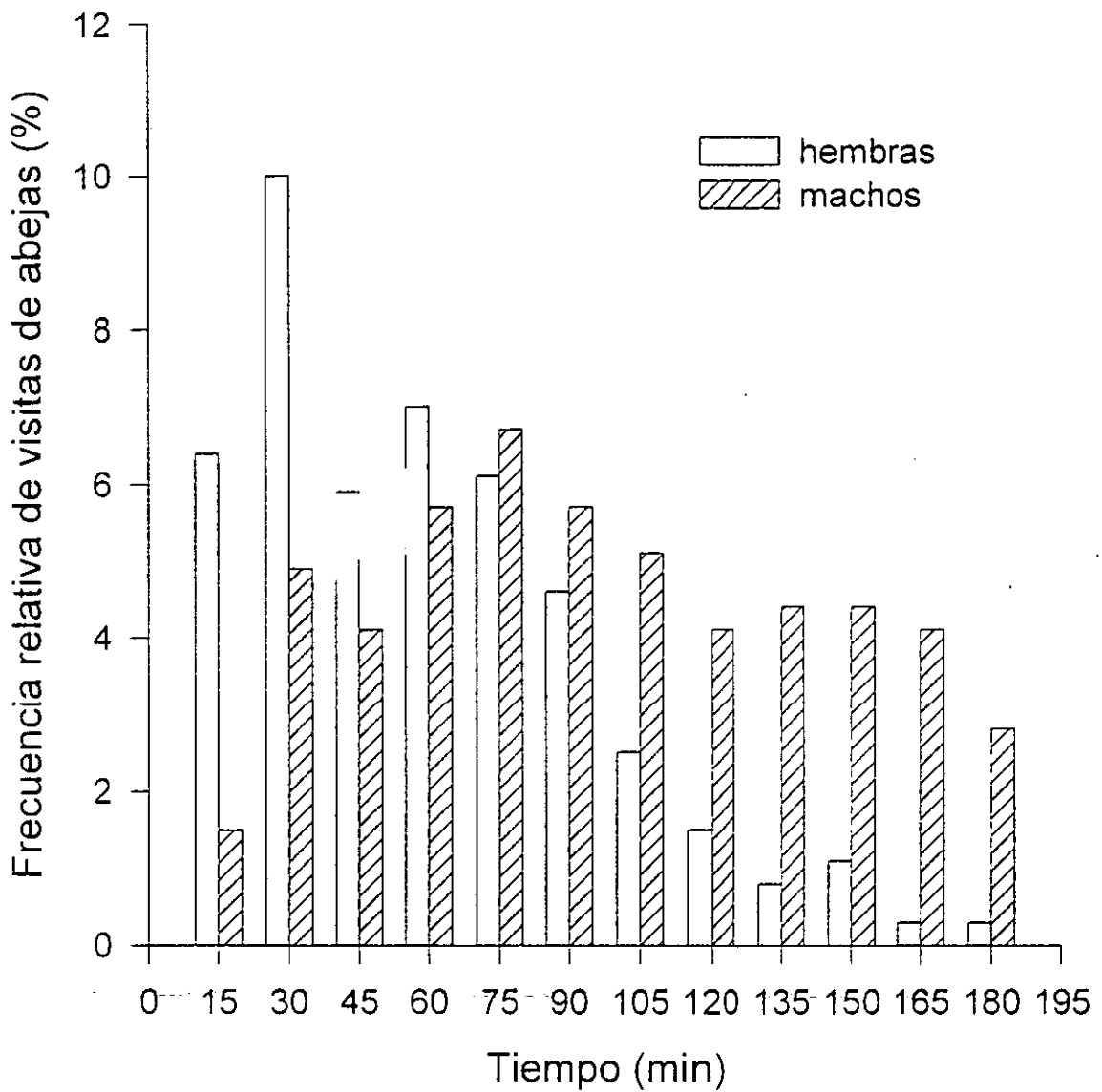


FIG. 12. Distribución de la frecuencia de visitas de abejas macho y hembra de *Peponapis* sp. a flores masculinas de *Cucurbita sororia*. Los valores representan la frecuencia relativa de visitas calculada a partir del número total de visitas por flor y por día, acumulado en periodos de 20 minutos durante la antesis de las flores. Estos valores fueron obtenidos sobre el total de visitas registradas en todas las plantas del experimento durante 5 días ($N = 600$).

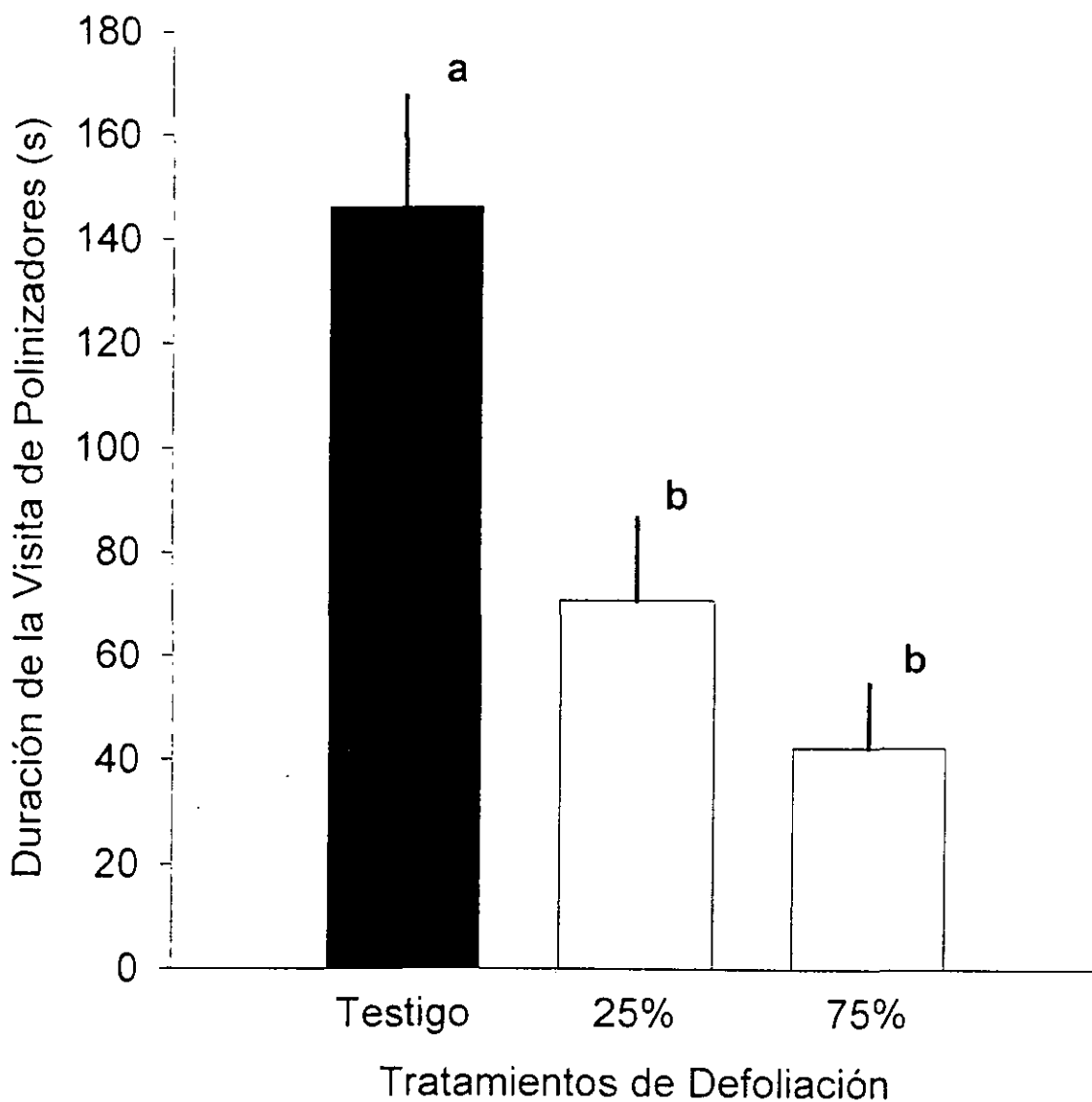


FIG. 13. Tiempos de visita acumulados por hora de los polinizadores sobre flores de *Cucurbita sororia* bajo tres tratamientos de herbivoría foliar experimental (0, 25 y 75% de defoliación). Las barras representan el promedio por planta en cada tratamiento + 1 E.E. Las medias con letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

TABLA 6. Análisis de varianza de efectos mixtos, del tiempo de visita por hora (n° de visitas/hora x duración de una visita) a flores de plantas de los tres tratamientos de herbivoría (testigo, 25% y 75% de daño). La variable de respuesta fue transformada ($y = \sqrt{y + 0.5}$).

Fuente de Variación	g.l.	CM	F	P
Día	4	71.312	8.990	< 0.0001
Daño	2	200.293	11.231	0.0003
Planta[Daño]	27	18.213	2.296	0.0066
Error	45	7.933		

$r^2 = 0.79$, r^2 ajustado = 0.63, $N = 79$

DISCUSION

Efecto de la herbivoría sobre la función femenina

Al igual que en otros sistemas la herbivoría foliar en *C. sororia* disminuyó de manera severa la adecuación femenina (e.g. Marquis 1992a, Meyer y Root 1993, Quesada *et al.* 1995, Juenger y Bergelson 1997). Este efecto se manifestó a través de la reducción en el número de frutos. El daño foliar también disminuyó el número de flores pistiladas pero no la proporción de flores que formaron frutos (llenado de frutos o "fruit set"). Esto sugiere que el número de frutos de las plantas fue limitado por la disponibilidad de flores pistiladas, más que por la aborción de flores después de la antesis. En *Ipomopsis aggregata* la herbivoría experimental temprana tampoco tiene efecto sobre el fruit set (Juenger y Bergelson 1997). Sin embargo, otros antecedentes muestran que el daño foliar puede disminuir el llenado de frutos al aumentar la aborción de flores post-antesis y frutos jóvenes (Niesenbaum 1996 y referencias). Esta diversidad de efectos de la folivoría, podría ser explicada por las diferencias en el grado de avance de la etapa reproductiva en que se encontraban las plantas en relación al momento en que se produjo el daño, así como por la variación en la frecuencia de daño. Por ejemplo, en las plantas perennifolias de crecimiento estacional, que inician la floración a partir de yemas florales formadas en la estación de crecimiento anterior, se produce una disminución en el fruit set cuando reciben el daño durante la formación de los frutos (Dominguez y Dirzo 1994, Niesenbaum 1996). En otras plantas, si la herbivoría ocurre durante la floración y hay superposición entre el período de formación de flores y frutos, es probable que se intensifique la competencia por los recursos limitantes ocasionando un aumento en la aborción de flores y frutos jóvenes (Marshall 1988, Zimmerman y Pyke 1988b, Marshall y Fuller 1994). Este efecto puede ser consecuencia del control hormonal o de la mayor

demanda de recursos generada por los frutos en formación más desarrollados (i.e., son sumideros más fuertes) (Stephenson 1981, Lee 1984).

En *C. sororia* aún cuando se superpone la floración y la fructificación, la ausencia de impacto sobre el fruit set pudo deberse a que la remoción temprana y periódica de área foliar permitió a las plantas detectar la falta de recursos durante la producción de yemas florales femeninas. De este modo las plantas pudieron haber “ajustado” el potencial reproductivo en función de las limitaciones de recursos impuestas por el daño desde los primeros momentos de la diferenciación reproductiva, pudiendo evitar los costos que pudiera generar la formación de flores hasta la antesis, y/o frutos jóvenes que luego serían abortados (Lloyd 1980). Sin embargo, el ajuste fue parcial, ya que no previno que las plantas con herbivoría produjeran un exceso de flores femeninas en relación con los frutos formados. Una de las ventajas de este exceso de flores para las plantas es que les permitiría abortar frutos selectivamente y asignar recursos sólo a aquellos frutos que contienen semillas de alta calidad genética (Janzen 1977, Charnov 1979, Stephenson 1981, Lee 1984, Sutherland 1987). Otra explicación posible es que el exceso de flores pistiladas, permitiría adaptar la reproducción a la disponibilidad futura de recursos (Stephenson 1981). Diversos estudios han mostrado que el fruit set aumenta con la disponibilidad de nutrientes en el suelo (Stephenson 1981, Whitham *et al.* 1991, Juenger y Bergelson 1997).

La herbivoría en *C. sororia*, además de disminuir la producción de frutos, redujo el número absoluto de flores en exceso (i.e., independientemente de que el fruit set sea similar en relación a las plantas sin daño) y con ello potencialmente limitó la capacidad de seleccionar la calidad genética de sus semillas a través de la aborción selectiva de frutos (ver Marshall 1988). En general, si se producen condiciones ambientales de estrés físico para la planta o si hay daño en los frutos, el efecto negativo de estas condiciones desfavorables se acumula al de la herbivoría foliar, pudiendo en el extremo suprimirse la reproducción femenina. Aún en el caso contrario, si las condiciones ambientales físicas mejoran permitiendo a las plantas disponer de más recursos para la reproducción, la reducción previa en el número de flores femeninas causada por la herbivoría foliar podría limitar el aumento en el número de frutos.

La discusión previa del efecto negativo sobre la reproducción femenina se basa en suponer que en este estudio la reproducción estuvo restringida por recursos, sin embargo una explicación alternativa (no excluyente) es que pudo haber limitaciones de polen para fecundar los óvulos. El

efecto indirecto de la herbivoría sobre la reproducción femenina ocurre cuando disminuye el aporte de polen, al reducirse las visitas de los polinizadores. Esto puede ocurrir si las plantas con herbivoría son menos atractivas para los polinizadores cuando el daño foliar modifica sus caracteres florales de atracción y de recompensa (Mothershead y Marquis 2000). En las plantas que no reciben suficiente polen para fertilizar sus óvulos, disminuye la proporción de frutos formados a partir de las flores.

En este estudio sin embargo, el llenado de frutos fue similar entre tratamientos, indicando que el éxito reproductivo no estuvo limitado por polen. Como evidencia indirecta adicional es de hacer notar que los valores de fruit set encontrados en los distintos tratamientos son los más altos conocidos en especies monoicos (Sutherland y Delph 1984). Otras características de *C. sororia* sugieren que esta especie en general no estaría limitada por polen incluyendo las siguientes: *i*) Las plantas presentan un exceso de flores masculinas (~10:1 flores estaminadas : flores pistiladas por planta); *ii*) Las flores son autocompatibles, lo que aumenta la disponibilidad de polen; *iii*) Las flores femeninas producen más néctar que las masculinas y los nectarios son abiertos (N. Mariano obs. pers.). Esta característica facilita el acceso a un gremio mayor de polinizadores potenciales; *iv*) La mayoría de las plantas son protándricas (Jones 1992), lo que podría indicar que la competencia por la donación de polen fue o es un fenómeno importante en esta especie (i.e., que el éxito reproductivo de las plantas estaría más limitado por la disponibilidad de hembras que la de machos). Finalmente, si bien el número de visitas fue menor en las plantas con daño, aún cuando no se registraron las visitas a la flores femeninas, es posible que este no haya sido un efecto importante sobre la adecuación femenina, ya que se requieren pocas visitas para completar la fertilización de los óvulos de una flor pistilada.

Diversos estudios han probado que para obtener un nivel de adecuación comparable entre las flores masculinas y las femeninas (i. e. donación de polen y fertilización de óvulos, respectivamente) se requiere un mayor número de visitas a las flores estaminadas (e.g. Aizen y Basilio 1998). Estos antecedentes y la similitud en el fruit set entre tratamientos me permiten concluir que el efecto negativo del daño fue directo y debido a la disminución de recursos para la reproducción y no indirecto por la disminución en la provisión de polen. Sin embargo, aún cuando hubiera suficiente polen para fertilizar las flores y formar frutos, es posible que las cargas de polen depositadas en los estigmas fuera menor que en las plantas testigo. Esto potencialmente

pudo limitar la capacidad de la planta materna para seleccionar la mejor calidad genética paterna de las semillas. Esto, a su vez, podría afectar negativamente el desempeño de la progenie, incluso por efectos de endogamia.

Efecto de la herbivoría sobre la función masculina

Efectos directos

Si bien la herbivoría no tuvo un efecto directo sobre la adecuación masculina en la producción de flores estaminadas ni en el tamaño de los granos de polen se produjo un aumento en el número de granos de polen por flor en las plantas con daño moderado y una tendencia a producir más polen en las plantas con daño severo. La asignación de recursos a la producción de polen por flor cambió durante el crecimiento de las plantas dependiendo de la intensidad del daño foliar. Las plantas testigo aumentaron la asignación de recursos a la función masculina (i.e., producción de polen) en relación directa con el tamaño de las plantas. Esta relación positiva entre tamaño y esfuerzo reproductivo es un patrón común en las plantas (de Jong y Klinkhamer 1989, Stöcklin y Favre 1994). Por el contrario, en las plantas con daño moderado, el aumento en la limitación de recursos generó inicialmente una respuesta de sobrecompensación en la producción de polen. Luego, las plantas disminuyeron la producción de polen durante el crecimiento, debido probablemente a la demanda creciente de recursos para la producción de flores femeninas y los primeros frutos. Es conocido que en diferentes especies silvestres y cultivadas de Cucurbitaceae los primeros frutos suelen ser los de mayor peso y número de semillas (Kohn 1989, Stephenson 1992 y referencias. Delesalle y Mooreside 1994, El-Keblawy y Lovett-Doust 1996). Esto indicaría que en esta etapa las plantas priorizan la inversión en la función femenina. La relación negativa entre la cantidad de polen por flor y el crecimiento sugiere que probablemente aumentó el conflicto entre la asignación de energía a la reproducción masculina y la femenina, originado por la competencia entre ambas funciones sexuales por los recursos limitados disponibles. En las plantas con herbivoría moderada es posible que este conflicto fuera mayor debido a que pudieron invertir en las dos funciones reproductivas para obtener adecuación, mientras que en las plantas con 75% de herbivoría, la magnitud del daño limitó severamente la asignación de recursos a la función femenina. Como consecuencia de ello, no hubo competencia entre ambas funciones y la producción de polen pudo haber aumentado en relación directa al crecimiento, al igual que en las plantas sin daño. Independientemente de la variación en la cantidad de polen por flor en el

período muestreado, probablemente la producción de polen aportada por la totalidad de las flores fue similar entre tratamientos. Este resultado sugiere que la oferta de polen en la población no estuvo limitada por el daño foliar.

La ausencia de un efecto sobre el tamaño de polen en *C. sororia* contrasta con la disminución en el tamaño del polen producida por la herbivoría en *Alstroemeria aurea* (Aizen y Raffaele 1998). Si el tamaño del polen está relacionado positivamente con la velocidad de desarrollo del tubo polínico en el estigma de las flores femeninas, podríamos predecir su capacidad competitiva en relación a otros granos de polen (Cruzan 1990, Young y Stanton 1990a, Young 1992). La similitud de tamaños de polen entre tratamientos observada en este estudio podría considerarse como una evidencia indirecta de que el desempeño del polen no fue afectado por la herbivoría. Sin embargo, en *C. texana* la herbivoría tampoco afectó el tamaño de los granos de polen pero disminuyó su capacidad para fertilizar óvulos (Quesada *et al.* 1995). El efecto negativo del daño foliar sobre el desempeño del polen ha sido reportado en antecedentes recientes (Delph *et al.* 1997 y referencias, Aizen y Raffaele 1998).

Una explicación posible de la ausencia de efecto sobre el tamaño en *C. sororia* es que la existencia de una asociación estrecha de *Cucurbita* con sus polinizadores especializados (*Peponapis* spp. y *Xenoglossa* spp.) ha restringido la variabilidad de este carácter por la importancia que tiene para la manipulación eficiente del polen por estas abejas durante la polinización. Diversos antecedentes han documentado la adaptación de las cerdas de las patas traseras colectoras de polen de *Peponapis* spp y *Xenoglossa* spp. a los granos de polen de diferentes especies de *Cucurbita* como un carácter distintivo de la evolución de este grupo de abejas (Hurd y Linsley 1970, Hurd *et al.* 1971). Esta asociación mutualista planta-polinizador pudo haber desacoplado la relación tamaño-acumulación de reservas-desempeño del polen. Considerando lo anterior parecería ser arriesgado hacer inferencias del efecto del daño foliar sobre el desempeño del polen en esta especie con base en el tamaño. Análisis de la paternidad de las semillas en el futuro permitirán conocer el desempeño del polen de las plantas con daño.

Efecto de la herbivoría sobre la expresión sexual y la asignación de energía entre la función masculina y femenina

Considerando la producción total de flores de ambos sexos, el efecto diferencial de la herbivoría sobre el número de flores masculinas y femeninas produjo un cambio significativo en la

expresión sexual de las plantas. El incremento en la intensidad de daño aumentó la expresión sexual masculina, similar a la respuesta observada en *Pinus ponderosa* (Snyder 1993), donde se encontró que aún cuando la herbivoría produjo una reducción en el número de conos femeninos y estróbilos masculinos, los árboles dañados produjeron más polen por cono femenino que los testigos. En *Cucurbita texana*, Quesada *et al.* (1995) mostraron que si bien el 15% de remoción foliar disminuyó la producción de flores de ambos sexos, hubo una reducción relativa mayor en el número de flores pistiladas.

La discrepancia de respuesta al daño entre *C. texana* y *C. sororia* en la producción de flores estaminadas podría explicarse por las diferencias, entre ambos estudios, en la distribución espacial de la herbivoría en la planta. Mientras que en *C. sororia* el daño fue generalizado en toda la planta, en *C. texana* estuvo localizado en una rama, de tal modo que una misma planta tenía una rama con herbivoría y otra rama sin daño. En este último arreglo experimental las plantas podrían haber compensado el daño aumentando la producción de las ramas testigo.

Alternativamente, es posible que el diseño experimental facilitó la detección de diferencias entre tratamientos en *C. texana*, ya que al usar dos ramas de la misma planta se removieron las variaciones explicadas por las diferencias entre genotipos. Comúnmente, en los experimentos de herbivoría de este tipo (Quesada *et al.* 1995, Strauss *et al.* 1996, Lehtilä y Strauss 1997) el énfasis es observar la respuesta de las plantas eliminando o reduciendo la variación debida a diferencias genéticas entre plantas. En *C. sororia* controlé sólo las variables ambientales diferentes a las generadas por el propio tratamiento, tratando de mantener la variabilidad genética entre individuos de manera similar a como ocurre en las poblaciones naturales. El contraste de resultados merece estudios subsecuentes.

La modificación de la expresión sexual producida por al aumento del daño foliar en *C. sororia*, puede ser el resultado de la competencia por recursos limitantes entre las funciones de reproducción y crecimiento. El conflicto puede ser intensificado debido a que en las especies de *Cucurbita* se produce la inducción de cucurbitacinas en respuesta al daño foliar (Carrol y Hoffman 1980). La producción de estos compuestos defensivos puede insumir fotosintatos y nutrientes (Schultz 1988) que la planta no puede destinar a reproducción debido al riesgo de ser defoliada con mayor intensidad. Además de lo anterior, es posible que los costos de producción

de los grandes frutos de esta planta no puedan ser amortizado por los fotosintatos generados por el tejido verde del propio fruto (Delesalle y Mooreside 1994).

El cambio hacia la masculinidad que produce la herbivoría es similar al patrón encontrado en otras especies de plantas que modifican su expresión sexual cuando crecen en condiciones de estrés por herbivoría o en condiciones ambientales desfavorables (Freeman *et al.* 1980), ya que este cambio puede ser importante para la supervivencia de los individuos que crecen en tales condiciones. Está implícito en la teoría que las plantas en situaciones de estrés, al cambiar hacia la función masculina, disminuirían el conflicto entre reproducción-crecimiento-supervivencia y de esta manera maximizarían su adecuación total (Freeman *et al.* 1980). Aunque tal explicación se refiere a plantas cuya alternativa es reproducirse solo por una de las dos vías, en cada estación reproductiva, su alcance parece extensible a un gradiente de respuesta en la expresión sexual como el mostrado por *C. sororia*. En el marco de esta explicación, para que fuera válida esta extensión debería mostrarse que en esta especie la reproducción femenina es más costosa que la masculina. El acentuado efecto negativo de la herbivoría sobre la función femenina en contraste al efecto sobre la función masculina, indicaría que la función femenina es más costosa en *C. sororia*, al igual que en *C. texana* (Quesada *et al.* 1995). Evidencias de otros estudios con Cucurbitaceas en los que se manipularon los recursos disponibles entre funciones por medio de la remoción de yemas florales, también indican que el costo de la reproducción femenina es mayor (Stephenson 1992. Delesalle y Mooreside 1994).

Por lo anterior es previsible que el ajuste observado de la proporción sexual hacia la masculinidad a través del aumento relativo del número de flores masculinas, sea el mecanismo por el cual las plantas con herbivoría disminuirían la competencia por los recursos limitados, impuestos por el daño, entre la reproducción y el crecimiento, maximizando la adecuación total. De esta forma las plantas podrían reproducirse sin comprometer el crecimiento. Esto puede ser una prioridad para una enredadera como *C. sororia* que sólo puede producir nuevos meristemos reproductivos si continua creciendo. Además, como las plantas son de crecimiento indeterminado podrían reponer el área foliar perdida con nuevas hojas, e invertir en la reproducción femenina después. Esto sería posible en ausencia de nuevo daño y sólo si se prolonga la precipitación en la estación de crecimiento. Ambos fenómenos suelen ocurrir con frecuencia en las selvas tropicales caducifolias. Si bien las precipitaciones son predecibles estacionalmente, su duración es muy

variable entre años (Bullock 1986). Por otra parte existen antecedentes que muestran que la mayor incidencia de la folivoria en estas selvas ocurre al inicio de la estación de crecimiento, decayendo marcadamente hacia el final (Dirzo y Dominguez 1995).

Schlichting y Delesalle (1997) argumentan que si bien no hay razones matemáticas para esperar una modificación de la asignación sexual diferente a 1:1, podría evolucionar un cambio en la proporción sexual ante determinados tipo de estrés, si las plantas pueden “predecir” sus consecuencias sobre las dos funciones de adecuación. Según esta interpretación, la folivoria cumpliría con este requisito, y el cambio hacia la masculinidad en algunas especies ocurriría debido a que generalmente la pérdida de tejido fotosintético disminuye la formación de semillas y frutos.

A diferencia de las respuestas encontradas en especies con flores unisexuales como en mi estudio, en algunas especies con flores hermafroditas las plantas responden al daño compensando vía la producción de flores y semillas, es decir el componente femenino de la adecuación, y reducen el componente masculino a través de la producción de polen (Frazee y Marquis 1994, Lehtilä y Strauss 1999). Lehtilä y Strauss (1999) encontraron este tipo de respuesta al daño en *Raphanus raphanistrum*. Los autores sugieren como explicación adaptativa que las plantas maximizaron su adecuación total al asignar energía a la reproducción femenina en respuesta a la disminución de recursos por la herbivoría. Bajo este comportamiento, argumentan, las plantas estarían conservando más los componentes de la adecuación femenina (producción de óvulos y semillas), que los componentes de la función masculina (producción de polen). Esto en razón de que hay una relación más directa por la vía femenina entre el número de descendientes obtenidos y los componentes de la adecuación. Por el contrario, esta conexión sería más variable por la vía masculina debido a que el número de descendientes obtenidos a través del polen es menos predecible por lo complejo de las interacciones planta-polinizador y los procesos de competencia de tubos polínicos previos a la fertilización (Willson *et al.* 1994). Esta interpretación sin embargo no explica porqué en la mayoría de las plantas hermafroditas con flores unisexuales en las que se ha estudiado la herbivoría el patrón es diferente (pero ver Allison 1990), aún cuando el proceso que siguen las plantas monoicas para obtener adecuación masculina y femenina es esencialmente el mismo que las hermafroditas perfectas. Independientemente de esta explicación es posible que en algunos de estos estudios la fotosíntesis de las partes verdes de las estructuras reproductivas

pudo haber generado gran parte de los recursos que requiere la producción de semillas, y de esta manera tolerar el daño foliar (Bazzaz *et al.* 1979).

Efectos indirectos de la herbivoría

Efectos sobre la fenología de la floración, los caracteres florales de atracción-recompensa y las visitas de los polinizadores

La herbivoría retrasó la floración y redujo el tamaño de las flores y la producción de néctar a través del tiempo. Este efecto contrasta con la respuesta compensatoria en la producción de polen que mostraron las plantas con daño. Como consecuencia de estos cambios en los caracteres florales las plantas dañadas fueron menos visitadas por los polinizadores.

El retraso en el inicio en la floración de las plantas con daño severo fue compensado por la producción de flores hacia el final del periodo reproductivo. Esta respuesta fenológica producida por la herbivoría ha sido documentada en otras especies de plantas herbáceas (Strauss *et al.* 1996, Juenger y Bergelson 1997). A pesar de que las plantas dañadas compensaron el número de flores estaminadas, es posible que la demora en la floración disminuyera el éxito reproductivo masculino por los siguientes efectos negativos sobre tres componentes de la adecuación correlacionados: *i*) disminución de las visitas de los polinizadores más efectivos, *ii*) disminución en la disponibilidad de estigmas receptivos, *iii*) falta de recursos para la formación de los frutos. El éxito en la polinización en las plantas depende de la correspondencia entre el momento de floración y la disponibilidad de polinizadores (Bierzychudek 1981, Widen 1991), así como de la sincronía con la oferta de flores receptivas en otras plantas (Marquis 1988).

Típicamente las plantas que inician la floración más temprano alcanzan la mayor adecuación (Ashman *et al.* 1993, , Andersson 1996, Pellmyr y Thompson 1996, O'Neil, 1999). debido principalmente a que los polinizadores suelen visitar más las plantas con mayor número de flores al inicio de la estación de floración (Pellmyr y Thompson 1996, O'Neil, 1999). Como consecuencia de este patrón las plantas con daño foliar que demoraron la floración podrían exportar menos polen a las plantas receptoras (Devlin *et al.* 1992). A su vez, en el momento en que alcanzaron la mayor intensidad de floración podrían haber recibido pocas visitas de los polinizadores probablemente más efectivos de *C. sororia*. Esto lo sugiere el hecho de que *Peponapis* sp. y *Xenoglossa* sp. presentan un período definido de intensa actividad que coincide

con la duración promedio de la floración de *Cucurbita* (R. Ayala, comunicación personal, N. Mariano obs. pers.).

El desfase fenológico también puede cambiar la comunidad de polinizadores. Por ejemplo en Chamela, las plantas de *C. sororia* que emergen tardíamente o se retrasan en su floración reciben las visitas de otras especies de polinizadores como *Xilocopa* spp. (N. Mariano datos no publicados) que no están presentes en el periodo promedio. Si esto ocurre, el éxito reproductivo de las plantas podría ser afectado si sus flores son visitadas por una proporción mayor de abejas de otras especies con diferentes eficiencias de transferencia de polen (Thomson y Thomson 1989, Wilson y Thomson 1991, Johnson *et al.* 1995). Algunos antecedentes han mostrado que la floración tardía puede disminuir la producción de semillas como consecuencia de la reducción en el entrecruzamiento y el aumento en la competencia por polinizadores (Zimmerman 1980, 1987). Aun cuando las flores tardías logran exportar el polen, su éxito dependería de la probabilidad de encontrar estigmas receptivos, fertilizar los óvulos y completar la maduración de las semillas. En *C. sororia* las primeras flores femeninas fertilizadas son las que generalmente forman frutos que alcanzan la madurez. Es posible que para el momento en que las plantas con daño severo produjeron la mayor cantidad de flores estaminadas, hubiera en la población limitaciones de estigmas receptivos disponibles y/o limitaciones para completar el desarrollo de los frutos formados con este polen.

La herbivoría produjo una reducción significativa en el tamaño de las flores evaluado como el área de la corola. Este efecto del daño foliar sobre las plantas se ha visto en otros estudios recientes (Aizen y Raffaele 1996, Strauss *et al.* 1996, Mothershead y Marquis 2000). Es interesante destacar sin embargo que la reducción no fue proporcional a la intensidad del daño como lo indica el hecho de que el tamaño de las flores fue similar entre las dos intensidades crecientes de herbivoría. Se ha encontrado que en varias especies anuales y perennes la herbivoría disminuye el tamaño de las corolas (y en un caso no se ha observado ningún efecto) dentro de un margen estrecho entre el 5 al 10%, aún cuando las frecuencias con que se aplicó el daño fueron diferentes y las intensidades de daño variaron entre el 25 y 100% (Frazee y Marquis 1994, Aizen y Raffaele 1996, Strauss *et al.* 1996, Mothershead y Marquis 2000). Estos antecedentes sugieren que si bien la herbivoría foliar reduce el tamaño de las flores, solo lo hacen hasta un límite más allá del cual las plantas conservan el tamaño de la corola, como ocurrió en *C. sororia*.

Si como muestran diversos antecedentes el tamaño de la corola es un carácter que afecta la visita de los polinizadores, y como consecuencia de ello la probabilidad de que el polen sea exportado (e. g. Campbell 1989), es posible que la selección haya favorecido la conservación de este carácter limitando su plasticidad por su importancia para la adecuación de las plantas. Como consecuencia de ello las plantas invertirían proporcionalmente más en mantener su despliegue floral en relación directa al aumento de la herbivoría. La similitud de tamaños de las flores en el tratamiento de 75% en relación al tratamiento de 25% de daño sugiere que las plantas con daño severo compensaron el tamaño mediante la asignación de una proporción mayor de recursos por unidad de área foliar. Es probable que en *C. sororia* la disminución en el tamaño de la corola esté más relacionada a la pérdida de área foliar de la hoja asociada a la flor que al tamaño de la planta medido como el número de nudos. Esto surge de inferir que las plantas de los diferentes tratamientos fueron similares en tamaño. Si bien en este estudio no medí en forma directa el tamaño de la planta, esta inferencia es probablemente correcta si consideramos que existe una correlación positiva entre el número de flores estaminadas (aproximadamente en cada nudo se produce una flor masculina) y el número de nudos y que no hubo diferencias en el número de flores estaminadas. Esta inferencia es posiblemente conservadora ya que estudios anteriores mostraron que el número de flores masculinas es un buen estimador del tamaño en las plantas testigo (N. Mariano datos no publicados), mientras que en plantas dañadas pueden potencialmente subestimarlos. En *Oenothera macrocarpa* la reducción en el tamaño de la corola producido por la herbivoría tampoco estuvo relacionado al tamaño de la planta (Mothershead y Marquis 2000). Strauss *et al.* (1996) y Strauss (1997) sugieren que es posible que en las plantas con herbivoría se produzca un conflicto en la asignación de energía entre la cantidad y la calidad de las flores producidas. Según esta hipótesis las plantas con daño no podrían compensar la calidad de las flores (i.e., el tamaño) y simultáneamente la cantidad (i.e., el número). Como evidencias de esto Strauss menciona el efecto negativo de la herbivoría en *Chamaecrista fasciculata* (Frazee y Marquis 1994) sobre el número, pero no sobre el tamaño de las flores. En cambio, en *Raphanus raphanistrum* (Strauss *et al.* 1996) las plantas compensaron el número de flores pero redujeron su tamaño. Según esta interpretación las plantas de *C. sororia* compensaron la cantidad de flores pero a costa de disminuir la calidad por flor (i.e., el tamaño). A pesar de estos antecedentes todavía puede ser prematuro argumentar un conflicto potencial entre ambos

caracteres. Por ejemplo, en *Oenothera macrocarpa* (Mothershead y Marquis 2000) las plantas con herbivoría redujeron tanto la producción como el tamaño de la flores.

Aun cuando la herbívora foliar produjo una reducción en el tamaño floral de no más del 12%, esta magnitud pudo ser en parte responsable de la disminución en la frecuencia de visita de los polinizadores. En diferentes especies se ha probado que pequeñas modificaciones en el tamaño de las flores pueden afectar la visita de los polinizadores (Johnson *et al.* 1995, Conner y Rush 1996, Campbell *et al.* 1996) y el éxito masculino de la polinización (Campbell 1989). En *Raphanus raphanistrum* y en *Oenothera macrocarpa* las plantas con herbivoría foliar también mostraron flores de menor tamaño y los polinizadores las visitaron menos (Strauss *et al.* 1996, Lehtilä y Strauss 1997 y Mothershead y Marquis 2000 respectivamente).

Mi estudio es el primero en mostrar que la herbivoría foliar disminuyó significativamente la producción de néctar. Este resultado indica que la herbivoría limitó la cantidad de fotosintatos y nutrientes en reserva necesarios para la producción de néctar. Los estudios sobre la producción de néctar en *Cucurbita pepo* (Nepi *et al.* 1996) muestran que el néctar se produce a partir de la hidrólisis del almidón almacenado en amiloplastos, principalmente en el tejido parenquimático del nectario. Por lo anterior es posible que el daño en la hoja asociada a la flor masculina haya restringido el suministro de los fotosintatos requeridos para el proceso de síntesis y acumulación del almidón en los amiloplastos del nectario floral. Aún cuando el desarrollo de los amiloplastos se inicia en los primordios florales unos días antes de la antesis de las flores (Nepi *et al.* 1996), el efecto negativo de la herbivoría se manifestó debido a que las hojas fueron dañadas con anterioridad a esta etapa. Como consecuencia de estas restricciones de recursos las flores de las plantas dañadas ofrecieron menos azúcar total en el néctar para los polinizadores. A pesar de la reducción en la producción de néctar en las plantas dañadas, no hubo diferencias entre el daño moderado y el daño severo. Un aspecto importante para destacar es que las plantas con daño severo lograron compensar la producción de azúcar total en relación a las plantas con daño moderado.

El análisis más detallado de la producción de néctar entre estos dos tratamientos muestra que la herbivoría afectó en forma diferente los dos componentes que determinan la producción de azúcar: el volumen y la concentración de azúcar en el néctar. Mientras que las diferencias en el volumen de néctar entre las plantas con 25% y 75% de herbivoría no fueron significativas, la

concentración fue marginalmente significativa. Estos resultados indican que hubo una tendencia en las flores de las plantas con daño severo a producir mayor volumen relativo de néctar pero con menor concentración en relación a las flores de plantas con daño moderado. Estas diferencias podrían afectar el comportamiento de forrajeo de las abejas si éstas varían en su preferencia en la relación volumen:concentración (Rathcke 1992) aún cuando la cantidad de azúcar del néctar producida sea similar. Pleasants y Chaplin (1983) encontraron que el 50% y el 100% de remoción foliar en *Asclepias quadrifolia* disminuyó la producción de néctar el 30% y el 80% respectivamente.

Otros antecedentes del efecto de la herbivoría sobre la producción de néctar muestran resultados mixtos. En *Polemonium foliosissimum* el 50% de herbivoría foliar no afectó de manera consistente la producción de néctar (Zimmerman y Pyke 1988a). En estudios más recientes el 50% de herbivoría foliar en *Raphanus raphanistrum* no tuvo consecuencias significativas pero sí una tendencia a la reducción en la cantidad de néctar (Strauss *et al.* 1996), mientras que en plantas de *Alstroemeria aurea* con el 50% y el 100% de defoliación el efecto fue marginal y heterogéneo entre diferentes sitios (Aizen y Raffaele 1996). Estos antecedentes son inesperados a la luz de los estudios que mostraron que los factores ambientales pueden afectar la cantidad de néctar (Pleasants 1983, Zimmerman y Pyke 1988a, Wyatt *et al.* 1992, Herrera 1995). Esto sugería que la herbivoría potencialmente podía reducir la cantidad de néctar al limitar la cantidad de recursos necesarios para su producción (Mutikainen y Delph 1996) como ocurrió en *C. sororia*. Mis resultados indican que la producción de néctar implica un costo importante para *C. sororia* como ha sido sugerido para otras especies (Southwick 1984, Búrquez y Corbett 1991, Pyke 1991). Sin embargo es posible que éste no sea un patrón general para todas las especies. En las especies de plantas en las que no hubo efecto del daño, el costo de producción puede ser bajo (Harder y Barrett 1992) o podría ser solventado por las estructuras fotosintéticas de la flor (Bazzaz *et al.* 1979). La disparidad de resultados también puede ser explicada por las diferencias entre el momento en que las plantas reciben el daño en relación al momento en que asignan recursos para la producción de néctar. Esto último a su vez depende del sistema de producción de néctar que posean las diferentes especies.

A diferencia de lo que ocurre en especies como *Cucurbita* spp. en las que el azúcar del néctar se produce por la hidrólisis del almidón almacenado en los amiloplastos previo a la antesis,

en otras especies “los compuestos para los componentes del azúcar del néctar son fotosintetizados *ex novo* por el nectario mismo o por otras partes de la planta”(Nepi *et al.* 1996, pp 103). Con base en estas diferencias Aizen y Raffaele (1996) sugieren que en las plantas con flores que almacenan almidón previo a la antesis, el daño puede no tener consecuencia si ocurre después de que los botones florales completaron el almacenamiento del azúcar. Mis resultados no permiten probar esta especulación sobre el efecto del momento de la herbivoría en relación al momento en que la planta completa la reserva de azúcar de una flor, ya que el daño en las hojas de las flores analizadas fue realizado antes de la formación de los amiloplastos. Este proceso de síntesis en *C. sororia* es probable que se inicie aproximadamente una semana antes de la antesis como ocurre en *Cucurbita pepo* (Nepi *et al.* 1996). Sin embargo mis resultados muestran, a diferencia de lo encontrado en *Pontederia cordata* (Harder y Barrett 1992), que para *C. sororia* la producción de néctar en las flores estaminadas es costoso y este costo no puede ser cubierto por los fotosintatos generados por la propia flor. Es posible que las flores estaminadas generen fotosintatos durante el desarrollo de los primordios florales ya que estos son de color verde y poseen sépalos filiformes o ligeramente foliosos. Sin embargo debido al gran tamaño de las flores estaminadas, cada flor puede representar una inversión relativamente alta en biomasa (Kohn 1989). Esto, sumado a la gran cantidad de azúcar que producen en el néctar, sugiere que el alto costo de construcción de las flores masculinas es solventado principalmente por la hoja adyacente y/o las hojas próximas, y sólo una fracción menor de los fotosintatos es aportada por las propias estructuras florales.

La falta de proporcionalidad entre los niveles de pérdida de área foliar y la disminución en la producción de néctar implican que las flores de plantas con daño severo compensaron la producción (esta compensación se realizó produciendo relativamente más volumen de néctar aunque más diluido que las plantas con daño moderado). Esta respuesta al daño es semejante a la mostrada con el tamaño de la corola. Es posible que, como se sugirió en aquel caso, este tipo de respuesta sea el resultado de la presión de selección ejercida por los polinizadores. En contraste con el patrón observado en el tamaño, la producción de néctar muestra una gran variación de respuesta al daño en otras especies (Aizen y Raffaele 1996, Strauss *et al.* 1996). Sin embargo, es probable que la diferencia con mi sistema de estudio radique en la intensidad de la relación mutualista polinizador-planta. En *C. sororia* es posible que la asociación con abejas especialistas como *Peponapis* sp. y *Xenoglossa* sp., para las cuales la provisión de néctar y polen de *Cucurbita*

son básicos, haya impuesto un límite a la disminución de estos caracteres más allá del cual el costo de estas reducciones en términos de sus consecuencias negativas sobre la adecuación masculina sería muy alto.

Los polinizadores pueden determinar el éxito reproductivo de las plantas a través de las variaciones en su comportamiento de forrajeo en respuesta a los cambios en la producción de néctar (Rathcke 1992). En *Ipomopsis aggregata* el aumento en la tasa de producción de néctar produce un aumento en el éxito de la función masculina (Mitchell 1993). Aunque en este estudio no es posible discernir si las diferencias en el número de visitas de los polinizadores fueron consecuencia de la variación en el tamaño de la corola o la producción de néctar, es posible que ambos caracteres hayan afectado el comportamiento de las abejas. En *Polemonium viscosum* por ejemplo, el éxito en la polinización de las visitas de abejas depende principalmente del tamaño de la recompensa de néctar ofrecido y ligeramente del tamaño de la flor (Cresswell y Galen 1991). Sin embargo, en este sistema los autores sugieren que las abejas discriminan entre plantas individuales sobre la base del tamaño de las flores, debido a su correlación con el tamaño de la recompensa de néctar.

Las diferencias en las frecuencias de visitas entre tratamientos parecen explicadas por la disminución en la producción de néctar y la reducción en el tamaño de las flores, pero no por la producción de polen por flor ni por el número de flores presentes en las plantas. Se podría argumentar que el comportamiento observado pudo ser afectado por las diferencias en densidad de plantas (y por tanto de flores), sin embargo el arreglo espacial de las plantas, equidistantes entre sí, permite descartar este efecto. Este comportamiento se observó tanto en el conjunto de especies de polinizadores que visitaron las flores estaminadas como en *Peponapis* sp. considerada aisladamente, y que constituyó el principal polinizador en la población de *C. sororia* en estudio. Por el contrario, las abejas se aproximaron a las flores independientemente de la intensidad de la herbivoría de las plantas, y del número de flores que mostró cada planta. Esto implica que *Peponapis* sp. no utiliza el número de flores como primera señal para discriminar entre plantas en la búsqueda de alimento sino que la decisión la toma en respuesta a las variaciones en los caracteres florales individuales. Para ello debe sobrevolar exploratoriamente las flores a corta distancia. A partir de esta evaluación las abejas "deciden" si colectan polen y/o néctar. Las señales que usa *Peponapis* para evaluar el recurso y que explican la necesidad de una percepción

cercana pueden estar relacionadas con el olfato. En apoyo de esta interpretación está el supuesto de que este género usa el olfato para localizar las flores antes del amanecer. Mediante el olfato las abejas pueden evaluar la cantidad de néctar remanente o la presencia de químicos volátiles depositados por otras abejas coespecíficas como señal para evitar las flores que han sido visitadas poco tiempo antes (Williams 1998). Esto pone de manifiesto que el efecto de la herbivoría tiene consecuencias sobre la intensidad de exportación de polen (y por ende sobre el potencial de adecuación masculina) al modificar los caracteres florales de cada flor, más que el número de flores *per se*. El número de flores sin embargo afecta la adecuación indirectamente como factor multiplicativo del efecto que ejerce una flor promedio de esa planta sobre la conducta de los polinizadores. Este último efecto se pudo haber expresado negativamente en las plantas con daño severo al inicio de la floración debido a su retraso fenológico, como ya fue discutido.

El daño no afectó el tiempo de visita cuando se consideran en global los polinizadores específicos, pero sí hubo diferencias al considerar los sexos por separado. Mientras que las hembras no distinguieron entre las plantas con daño o sin daño, los machos sí lo hicieron forrajeando por más tiempo en cada visita en las flores de las plantas con daño severo (Fig. 11). Independientemente del sexo y los tratamientos, la duración de las visitas disminuyó a medida que transcurre la antesis posiblemente en respuesta a la disminución en la disponibilidad de néctar. Algunos antecedentes muestran una relación positiva entre la producción de néctar y/o la producción de polen con la duración de las visitas (Conner *et al.* 1995, Jones *et al.* 1998, Cresswell 1999). En primera instancia ésta no parece ser una explicación apropiada para comprender el comportamiento de los machos en las plantas con daño, ya que la disponibilidad de estos recursos en las flores fue inferior o similar al ofrecido por las flores de los otros tratamientos. Sin embargo, una explicación alternativa es que al recibir menor número de visitas estas flores presentaban mayor “cosecha en pie” de néctar debido a un compromiso entre el número de visitas y la duración de las visitas (Jones *et al.* 1998). De ser así la disponibilidad efectiva de néctar era mayor y las abejas invertían más tiempo para cosecharlo.

Los resultados también mostraron que la distribución de frecuencias de visitas durante el día cambia entre sexos. Estas diferencias en distribución de frecuencias de visitas durante la antesis y las de tiempos de permanencia entre tratamientos sugieren que la manipulación de las recompensas florales es diferente entre sexos. Las hembras de *Peponapis* forrajea por polen y

néctar desde el inicio de la antesis, mientras que más tarde los machos se alimentan de néctar principalmente (N. Mariano obs. pers.). Esto sugiere que la efectividad de la polinización podría ser mayor en las hembras. Como consecuencia de ello, aún cuando la duración de las visitas de los machos fue mayor en las plantas con daño severo, este aumento probablemente no estuvo correlacionado con una mayor adecuación masculina.

A pesar de las diferencias intersexuales en la duración de una visita promedio entre tratamientos, el tiempo acumulado de permanencia de las abejas en las flores de las plantas sin daño fue muy superior al tiempo total de visita de las flores de las plantas con herbivoría. Esto implica que la herbivoría, a través de la modificación del tamaño y la producción de néctar tuvo un efecto importante sobre la variación en el número de visitas y un efecto muy limitado sobre la duración por visita. Por lo anterior, si la tasa y la duración de las visitas acumuladas estuvieron correlacionadas positivamente con el éxito reproductivo de la función masculina, es probable que el daño foliar redujo la adecuación de las plantas por los efectos adversos sobre la donación de polen.

Se ha sugerido que en las especies de plantas con sistemas de apareamientos mixtos como *C. sororia* los efectos de la herbivoría sobre el comportamiento o composición de especies de polinizadores pueden afectar el grado de entrecruzamiento (Strauss *et al.* 1996). Esto a su vez determinaría cambios en la estructura genética de la población de plantas y la incidencia de la depresión por endogamia.

Este trabajo muestra que el estudio de los efectos de la herbivoría sobre la adecuación de las plantas debe considerar las consecuencias sobre ambas funciones reproductivas para obtener una aproximación realista de la intensidad de su efecto sobre la adecuación total. Los escasos antecedentes con que se cuenta, y que han documentado las consecuencias del daño foliar sobre ambas vías reproductivas hasta el momento, no permiten delinear un patrón general para las plantas cosexuales. En particular en los ambientes tropicales estacionales la existencia de relaciones concurrentes muy estrechas de las plantas con polinizadores y herbívoros especialistas muestran resultados singulares con respecto a los generados en zonas templadas (pero ver Roubick 1992). Para estas plantas tanto los herbívoros como los polinizadores implican una fuerte demanda de recursos que solo tiene valor de inversión en el caso de los polinizadores. La naturaleza y dirección de las relaciones planta-herbívoros y planta-polinizadores, así como su

interacción múltiple, podrían determinar las presiones de selección que moldean la evolución de las interacciones planta-animal. Esto pone de manifiesto la relevancia de fomentar estudios que superen el enfoque tradicional de considerar como áreas separadas e independientes las relaciones planta-herbívoro de las relaciones planta-polinizador.

LITERATURA CITADA

- Aizen, M. A. y E. Raffaele. 1996. Nectar production and pollination in *Alstroemeria aurea*: Responses to level and pattern of flowering shoot defoliation. *Oikos* 76:312-322.
- Aizen, M. A. y E. Raffaele. 1998. Flowering-shoot defoliation affects pollen grain size and postpollination pollen performance in *Alstroemeria aurea*. *Ecology* 79:2133-2142.
- Aizen, M. A. y A. Basilio 1998. Sex differential nectar secretion in protandrous *Alstroemeria aurea* (Alstroemeriaceae): Is production altered by pollen removal and receipt? *American Journal of Botany* 85:245-252.
- Allison, T. D. 1990. The influence of deer browsing on the reproductive biology of Canada Yew (*Taxus canadensis* Marsh) I. *Oecologia* 83:523-529.
- Andersson, S. 1996. Floral variation in *Saxifraga granulata*: Phenotypic selection, quantitative genetics and predicted response to selection. *Heredity* 77: 217-223.
- Ashman, T-L, L. F. Galloy y M. L. Stanton. 1993. Apparent vs. effective mating in an experimental population of *Raphanus sativus*. *Oecologia* 96:102-107.
- Bazzaz, F. A., R. W. Carlson y J. L. Harper. 1979. Contribution to reproductive effort by photosynthesis of flowers and fruits. *Nature* 279:554-555.
- Bertin, R. Y. 1982. Paternity and fruit production in trumpet creeper (*Campsis radicans*). *American Naturalist* 119:694-709.
- Bierzychudek, P. 1981. Pollinator limitation of plant reproductive effort. *American Naturalist* 117:838-840.
- Broyles, S. B. y R. Wyatt. 1990. Paternity analysis in a natural population of *Asclepias exaltata*: multiple paternity, functional gender, and the "pollen donation hypothesis". *Evolution* 44:1454-1468.
- Bullock, S. H. 1986. Climate of Chamela, Jalisco, and trends in the south coastal region of Mexico. *Arch. Met. Geophys. Bioclimatol. B* 36:297-316.

- Búrquez, A. y S. A. Corbett. 1991. Do flowers reabsorb nectar? *Functional Ecology* 5:369-379.
- Campbell, D. R. 1989. Measurement of selection in a hermaphroditic plant: variation in male and female reproductive success. *Evolution* 43:318-334.
- Campbell, D. R., N. M. Waser, y M. V. Price. 1996. Mechanisms of hummingbird-mediated selection for flower width in *Ipomopsis aggregata*. *Ecology* 77:1463-1472.
- Carrol, C. R., y C. A. Hoffman. 1980. Chemical feeding deterrent mobilized in response to insect herbivory and counteradaptation by *Epilachna trepidomnata*. *Science* 209:414-416.
- Chambliss, O. L., y C. M. Jones. 1966. Cucurbitacins: specific insect attractants in Cucurbitaceae. *Science* 153:1392-1393.
- Charnov, E. L. 1979. Simultaneous hermaphroditism and sexual selection. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 76:2480-2484.
- Conner, J. K., R. Davis y S. Rush. 1995. The effect of wild radish floral morphology on pollination efficiency by four taxa of pollinators. *Oecologia* 104:234-245.
- Conner, J. K., y S. Rush. 1996. Effects of flower size and number on pollinator visitation to wild radish, *Raphanus raphanistrum*. *Oecologia* 105:509-516.
- Conner, J. K., S. Rush, S. Kercher y P. Jennetten. 1996a. Measurements of natural selection on floral traits in wild radish (*Raphanus rahanistrum*). I. Selection through lifetime female fitness. *Evolution* 50:1127-1136.
- Conner, J. K., S. Rush, S. Kercher y P. Jennetten. 1996b. Measurements of natural selection on floral traits in wild radish (*Raphanus rahanistrum*). II. Selection through lifetime male and total fitness. *Evolution* 50:1137-1146.
- Cresswell, J. L. 1999. The influence of nectar and pollen availability on pollen transfer by individual flowers of oil-seed rape (*Brassica napus*) when pollinated by bumblebees (*Bombus lapidarius*). *Journal of Ecology* 87:670-677.
- Cresswell, J. E. y C. Galen. 1991. Frequency-dependent selection and adaptive surfaces for floral character combinations: The pollination of *Polemonium viscosum*. *American Naturalist* 138:1342-1353.
- Cresswell, J. E. y A. W. Robertson. 1994. Discrimination by pollen-collecting bumblebees among differentially rewarding flowers of an alpine wildflower, *Campanula rotundifolia* (Campanulaceae). *Oikos* 69:304-308.

- Cruzan, M. B. 1990. Variation in pollen size, fertilization ability, and postfertilization siring success in *Erythronium grandiflorum*. *Evolution* 44:843-856.
- de Jong, T. J. y P. G. L. Klinkhamer. 1989. Size-dependency of sex allocation in hermaphroditic, monocarpic plants. *Functional Ecology* 3:201-206.
- Delesalle, V. A. y P. D. Mooreside. 1994. Estimating the costs of allocation to male and female functions in a monoecious cucurbit, *Lagenaria siceraria*. *Oecologia* 102:9-16.
- Delph, L. F., M. H. Johannsson y A. G. Stephenson. 1997. How environmental factors affect pollen performance: ecological and evolutionary perspective. *Ecology* 78: 1632-1639.
- Devlin, B. y N.C. Ellstrand. 1990. Male and female fertility variation in wild radish, a hermaphrodite. *American Naturalist* 136: 87-107.
- Devlin, B., J. Clegg y N.C. Ellstrand. 1992. The effect of flower production on male reproductive success in wild radish populations. *Evolution* 46:1030-1042.
- Dirzo, R. 1984. Herbivory: A phytocentric overview. *En: R. Dirzo y J. Sarukhán, eds. Perspectives in plant population biology. Pp:141-165. Sinauer, Sunderland, MA.*
- Dirzo, R. y C. A. Dominguez. 1995. Plant-herbivore interactions in mesoamerican tropical dry forests. *En: S. H. Bullock, H. A. Mooney y E. Medina, eds. Seasonally dry tropical forests. Pp:304-325. Cambridge University Press, New York.*
- Dominguez, C. D. y R. D. Dirzo. 1994. Effects of defoliation on *Erythroxylum havanense* a tropical proleptic species. *Ecology* 75:1896-1902.
- Dudash, M. R. 1991. Plant size effects on female and male function in hermaphroditic *Sabatia angularis* (Gnetianaceae). *Ecology* 72:1004-1012.
- El-Keblawy, A. y J. Lovett-Doust. 1996. Resource re-allocation following fruit removal in cucurbits: patterns in two varieties of squash. *New Phytologist* 133:583-593.
- Frazee, J. E. y R. J. Marquis. 1994. Environmental contribution to floral trait variation in *Chamaecrista fasciculata* (Fabaceae: Caesalpinoideae). *American Journal of Botany* 81:206-215.
- Freeman, D.C., K.T. Harper y E.L. Charnov. 1980. Sex change in plants: old and new observations, and new hypotheses. *Oecologia* 47:222-232.
- Galen, C. 1989. Measuring pollinator-mediated selection on morphometric floral traits: bumblebees and the alpine sky pilot. *Polemonium viscosum*. *Evolution* 43:882-890.

- Galen, C. 1992. Pollen dispersal dynamics in an alpine wild-flower. *Polemonium viscosum*. *Evolution* 46:1043-1051.
- Galen, C. 1996. Rates of floral evolution: adaptation to bumblebee pollination in an alpine wildflower. *Polemonium viscosum*. *Evolution* 50:120-125.
- Galen, C. y R. C. Plowright. 1984. The effects of nectar level and flower development of pollen carry-over in inflorescences of fireweed (*Epilobium angustifolium*) (Onagraceae). *Canadian Journal of Botany* 63:488-491.
- Gange, A. C., V. K. Brown, I. M. Evans y A. L. Storr. 1989. Variation in the impact of insect herbivory on *Trifolium pratense* through early plant succession. *Journal of Ecology* 77:537-551
- Genstat 5, ver. 4.1. 1995. Lowes Agricultural Trust (Rothamsted Experimental Station).
- Harder, L. D. y S. C. H. Thomson. 1989. Evolutionary options for maximizing pollen dispersal of animal-pollinated plants. *American Naturalist* 133:323-344.
- Harder, L. D. y S. C. H. Barrett. 1992. The energy cost of bee pollination for *Pontederia cordata* (Pontederiaceae). *Functional Ecology* 6:226-233.
- Harper, J. L. y H. L. Wallace. 1987. Abortion and the costs of fecundity in *Epilobium montanum* L. *Oecologia* 74:31-38.
- Heinrich, B. y P. Raven. 1972. Energetics and pollination ecology: the energetics of pollinators may have wide implications in floral biology and community ecology. *Science* 176:597-602.
- Hendrix, S. D. y E. J. Trapp. 1981. Plant-herbivore interactions: insect-induced changes in host plant sex expression and fecundity. *Oecologia* 49:119-122.
- Hendrix, S. D. y E. J. Trapp. 1989. Floral herbivory in *Pastinaca sativa*: Do compensatory responses offset reduction in fitness? *Evolution* 43:891-895.
- Herrera, C. M. 1993a. Selection on floral morphology and environmental determinants of fecundity in a hawk moth-pollinated violet. *Ecological Monographs* 63:251-275.
- Herrera, C. M. 1993b. Selection on complexity of corolla outline in a hawkmoth-pollinated violet. *Evolutionary Trends in Plants* 7:9-13.
- Herrera, C. M. 1995. Microclimate and individual variation in pollinators: flowering plants are more than their flowers. *Ecology* 76:1516-1524.

- Horton, M. y E. P. Lacey. 1994. Carbon integration in *Plantago aristata*: the reproductive effects of defoliation. *American Journal of Botany* 81:278-286.
- Hurd, P. D., E. G. Linsley y T. W. Whitaker. 1971. Squash and gourd bees (*Peponapis*, *Xenoglossa*) and the origin of the cultivated *Cucurbita*. *Evolution* 25:218-234.
- Hurd, P.D. y E. G. Linsley. 1970. A classification of the squash and gourd bees *Peponapis* and *Xenoglossa*. *Univ. Calif. Publ. in Entomol.* 62:1-39
- Janzen, D. H. 1977. A note on optimal mate selection by plants. *American Naturalist* 111:365-371.
- Johnson, S. D. y K. E. Steiner. 1997. Long-tongued fly pollination and evolution of floral spur length in the *Disa draconis* complex (Orchidaceae). *Evolution* 51:45-53.
- Johnson, S. G., L. F. Delph, y C. L. Elderkin. 1995. The effect of petal-size manipulation on pollen removal, seed set, and insect-visitor behavior in *Campanula americana*. *Oecologia* 102:174-179.
- Johnston, M. O. 1991. Natural selection on floral traits in two species of *Lobelia* with different pollinators. *Evolution* 45:1468-1479.
- Jones, C. S. 1992. Comparative ontogeny of a wild cucurbit and its derived cultivar. *Evolution* 46:1827-1847.
- Jones, K. N., J. S. Reithel y R. E. Irwin. 1998. A trade-off between the frequency and duration of bumblebee visits to flowers. *Oecologia* 161-168.
- Juenger, T. y J. Bergelson. 1997. Pollen and resource limitation of compensation to herbivory in scarlet gilia, *Ipomopsis aggregata*. *Ecology* 78:1684-1695.
- Karban, R. y S. Y. Strauss. 1993. Effects of herbivores on growth and reproduction of their perennial host. *Erigeron glaucus*. *Ecology* 74:39-46.
- Kearns, C. A. y D. W. Inouye. 1993. *Techniques for pollination biologists*. University Press of Colorado, Niwot, CO, USA.
- Kinsman, S. y W. J. Platt. 1984. The impact of an herbivore upon *Mirabilis hirsuta* a fugitive prairie plant. *Oecologia* 65:2-6.
- Klinkhamer, P. G. L. T. J. de Jong y G. J. de Bruyn. 1989. Plant size and pollinator visitation in *Cynoglossum officinale*. *Oikos* 54:201-204

- Kohn, J. R. 1989. Sex ratio, seed production, biomass allocation, and the cost of male function in *Cucurbita foetidissima* HBK (Cucurbitaceae). *Evolution* 43:1424-1434.
- Lau, T. C. y A. G. Stephenson. 1993. Effects of soil nitrogen on pollen production, pollen grain size, and pollen performance in *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae). *American Journal of Botany* 80:763-768.
- Lau, T. C., y A. G. Stephenson. 1994. Effects of soil phosphorus on pollen production, pollen size, pollen phosphorus content, and the ability to sire seeds in *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae). *Sexual Plant Reproduction* 7:215-220.
- Lau, T. C., X. Lu, R. T. Koide y A. G. Stephenson. 1995. Effects of soil fertility and mycorrhizal infection on pollen production and pollen grain size of *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae). *Plant Cell and Environment* 18:169-177.
- Lee, T. D. 1984. Patterns of fruit maturation: a gametophyte competition hypothesis. *American Naturalist* 123:427-432.
- Lee, T. D. 1988. Patterns of fruit and seed production. *En: J. Lovett Doust y L. Lovett Doust, eds. Plant reproductive ecology: patterns and strategies. Pp:179-202 Oxford University Press, New York.*
- Lee, T. D. y F. A. Bazzaz. 1982. Regulation of fruit maturation in an annual legume *Cassia fasciculata*. *Ecology* 63:1374-1388.
- Lehtilä K. y S. Y. Strauss. 1997. Leaf damage by herbivores affects attractiveness to pollinators in wild radish, *Raphanus raphanistrum*. *Oecologia* 111:396-403
- Lehtilä K. y S. Y. Strauss. 1999. Effects of foliar herbivory on male and female reproductive traits of wild radish, *Raphanus raphanistrum*. *Ecology* 80:116-124.
- Liang, K. -Y. y S. L. Zeger. 1986. Longitudinal data analysis using generalized linear models. *Biometrika* 73:13-22.
- Lira, R., T.C. Andres y M. Nee. 1995. Cucurbita. *En: R. Lira, ed. Estudios taxonómicos y ecogeográficos de las Cucurbitaceas latinoamericanas de importancia económica: Cucurbita, Sechium, Sicana y Cyclanthera. Int. Plant Gen. Res. Inst. Roma.*
- Lloyd, D. G. 1980. Sexual strategies in plants. I. A hypothesis of serial adjustment of maternal investment during one reproductive season. *New Phytologist* 86:69-79.

- Lloyd, D. G. y M. A. Yates. 1982. Intrasexual selection and the segregation of pollen and stigmas in hermaphrodite plants, exemplified by *Whalenbergia albomarginata* (Campanulaceae). *Evolution* 36:903-913.
- Lovett-Doust J. y G. W. Eaton. 1982. Demographic aspects of flower and fruit production in bean plants. *Phaseolus vulgaris* L. *American Journal of Botany* 69:1156-1164.
- Marquis, R. J. 1988. Phenological variation in the neotropical understory shrub *Piper arieianum*: causes and consequences. *Ecology* 69:1552-1565
- Marquis, R. J. 1996. Plant architecture, sectoriality and plant tolerance to herbivores. *Vegetatio* 127:85-97.
- Marquis, R.J. 1984. Leaf herbivores decrease fitness of a tropical plant. *Science* 226: 537-539.
- Marquis, R.J. 1992a. The selective impact of herbivores. *En*: Fritz y E.L. Simms, eds. *Plant resistance to herbivores and pathogens: ecology, evolution and genetics*. Pp:301-325. Chicago University Press.
- Marquis, R.J. 1992b. A bite is a bite is a bite? Constraints on response to folivory in *Piper arieianum* (Piperaceae). *Ecology* 73: 143-152.
- Marshall, D. L. 1988. Post-pollination effects on seed paternity: mechanisms in addition to microgametophytic competition operate in wild radish. *Evolution* 42:1256-1266.
- Marshall, D. L. y N. C. Ellstrand. 1986. Sexual selection in *Raphanus sativus*: experimental data on nonrandom fertilization, maternal choice, and consequences of multiple paternity. *American Naturalist* 127:446-461.
- Marshall, D. L. y O. S. Fuller. 1994. Does nonrandom mating among wild radish plants occur in the field as well as in the greenhouse? *American Journal of Botany* 81:439-445.
- Matthies, D. 1990. Plasticity or reproductive components at different stages of development in the annual plant *Thlaspi arvense* L. *Oecologia* 83:105-116.
- Mauricio R., M. D. Bowers y F. A. Bazzaz. 1993. Pattern of leaf damage effects fitness of the annual plant *Raphanus sativus* (Brassicaceae) *Ecology* 74:2066-2071.
- McCloud, E. S., D. W. Tallamy y F. T. Halaweish. 1995. Squash beetle trenching behavior: Avoidance of cucurbitacin induction or mucilaginous plant sap?. *Ecological Entomology* 20:51-59.
- Meachan, C. A. y T. Duncan. 1990. MorphoSys. Versión 1.26. California University.

- Merrick, L. C. 1990. Systematics and evolution of a domesticated squash, *Cucurbita argyrosperma*, and its wild and weedy relatives. *En: D. M. Bates, R. W. Robinson y C. Jeffrey, eds. Biology and Utilization of the Cucurbitaceae. Pp:77-95. Comstock Publishing Associates, Ithaca, New York.*
- Merrick, L. C. y D. M. Bates. 1989. Classification and nomenclature of *Cucurbita argyrosperma*. *Baileya* 23:94-102.
- Metcalf, R.L. y A.M. Rhodes. 1990. Coevolution of the Cucurbitaceae and Luperini (Coleoptera: Chrysomelidae): basic and applied aspects. *En: D.M. Bates, R.W. Robinson y C. Jeffrey, eds. Biology and utilization of the Cucurbitaceae. Pp:167-182. Cornell University Press, Ithaca, New York.*
- Meyer, G. A. y R. B. Root. 1993. Effects of herbivorous insects and soil fertility on reproduction of goldenrod. *Ecology* 74:1117-1128.
- Michaud, J. P. 1991. Biomass allocation in fireweed *Epilobium angustiolium*. L. (Onagraceae) in response to simulated defoliation. *Botanical Gazette* 152:208-213.
- Milliken, G. A. y D. E. Johnson. 1984. Analysis of messy data. Vol. I. Van Nostrand Reinhold, New York. USA.
- Mitchell, R. J. 1993. Adaptive significance of *Ipomopsis aggregata* nectar production: observation and experiment in the field. *Evolution* 47:25-35.
- Mothershead, K. y R. J. Marquis. 2000. Fitness impacts of herbivory through indirect effects on plant-pollinator interactions in *Oenothera macrocarpa*. *Ecology* 81:30-40.
- Mulcahy, D. L. 1979. The rise of the angiosperms: a geneecological factor. *Science* 206: 20-23.
- Mutikainen P. y L. F. Delph. 1996. Effects of herbivory on male reproductive success in plants. *Oikos* 75:353-358.
- Nepi, M., F. Ciampolini y E. Pacini. 1996. Development and ultrastructure of *Cucurbita pepo* nectaries of male flowers. *Annals of Botany* 78:95-104.
- Niesenbaum, R. A. 1996. Linking herbivory and pollination: Defoliation and selective fruit abortion in *Lindera benzoin*. *Ecology* 77:2324-2331.
- O'Neil, P. 1999. Selection on flowering time: An adaptive fitness surface for nonexistent character combinations. *Ecology*:806-820.

- Pellmyr, O. y J. N. Thompson. 1996. Sources of variation in pollinator contribution within a guild: The effects of plant and pollinator factors. *Oecologia* 107:595-604.
- Pleasants, J. M. 1983. Nectar production patterns in *Ipomopsis aggregata* (Polemoniaceae). *American Journal of Botany* 70:1468-1475.
- Pleasants, J. M. y S. J. Chaplin. 1983. Nectar production rates of *Asclepias quadrifolia*: causes and consequences of individual variation. *Oecologia* 59:232-238.
- Pyke, D. A. 1989. Limited resources and reproductive constraints in annuals. *Functional Ecology* 3 221-228.
- Pyke, G. H. 1991. What does it cost a plant to produce floral nectar. *Nature* 350:58-59.
- Quesada, M., K. Bollman y A. G. Stephenson. 1995. Leaf damage decreases pollen production and hinders pollen performance in *Cucurbita texana*. *Ecology* 76:437-443.
- Rathcke, B. J. 1992. Nectar distributions, pollinator behavior, and plant reproductive success. *En: M. D. Hunter, T. Ohgushi y P. W. Price, eds. Effects of resource distribution on animal-plant interactions. Pp:113-138. Academic Press, New York.*
- Real, L. y B. J. Rathcke. 1991. Individual variation in nectar production and its effects on fitness in *Kalmia latifolia*. *Ecology* 72:149-155.
- Rosenthal, J. P. y P. M. Kotanen. 1994. Terrestrial plant tolerance to herbivory. *Trends in Ecology and Evolution* 9:145-148.
- Roubick, D. W. 1992. Loose niches in tropical communities: why are there so few bees and so many trees?. *En: M. D. Hunter, T. Ohgushi y P. W. Price. Pp:327-354. Academic Press, Inc. San Diego.*
- SAS Institute Inc. 1995. JMP. Version 3.1.2.
- Schlichting, C. D. 1986. Environmental stress reduces pollen quantity in *Phlox*: compounding the fitness deficit. *En: D. L. Mulcahy, G. B. Mulcahy y E. M. Ottaviano, eds. Biotechnology and ecology of pollen. Pp:483-488 Springer-Verlag, New York.*
- Schlichting, C. D. y B. Devlin. 1989. Male and female reproductive success in the hermaphroditic plant *Phlox drummondii*. *American Naturalist* 133:212-227.
- Schoen D. J. y S. C. Stewart 1986. Variation in male reproductive investment and male reproductive success in white spruce. *Evolution* 40:1109-1120.

- Schultz, J. C. 1988. Plant responses induced by herbivores. *Trends in Ecology and Evolution* 3:45-49.
- Shapiro, S. S. y M. B. Wilk. 1965. An analysis of variance test of normality (complete samples). *Biometrika* 52:591-611.
- Sutherland, S. y L. F. Delph. 1984. On the importance of male fitness in plants: patterns of fruit-set. *Ecology* 65:1093-1104.
- Schlichting, C.D. y V. A. Delesalle. 1997. Stressing the differences between male and female functions in hermaphroditic plants. *Trends in Ecology and Evolution* 12:51-52.
- Snyder, M. A. 1993. Interactions between Abert's squirrel and ponderosa pine: the relationship between selective herbivory and host plant fitness. *American Naturalist* 141:866-879
- Sokal, R. R. y F. J. Rohlf. 1995. *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. State University of New York at Stony Brook, Stony Brook, New York.
- Southwick, E. E. 1984. Photosynthate allocation to floral nectar: a neglected energy investment. *Ecology* 65:1775-1779.
- Sprugel, D. G., T. M. Hinckley y W. Schaap. 1991. The theory and practice of branch autonomy. *Annual Review of Ecology and Systematics* 22:309-334.
- Stephenson, A. G. 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 12:253-279.
- Stephenson, A. G. 1992. The regulation of maternal investment in plants. Pp 151-172. *En: C. Marshall y J. Grace, eds. Fruits and seed production: aspects of development, environmental physiology and ecology*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Stephenson, A. G., T-C. Lau, M. Quesada, y J. A. Winsor. 1992. Factors that affect pollen performance. *En: R. Wyatt, editor. Ecology and evolution of plant reproduction*. Pp:119-136. Chapman & Hall, New York.
- Stöcklin, J. y P. Favre. 1994. Effects of plant size and morphological constraints on variation in reproductive components in two related species of *Epilobium*. *Journal of Ecology* 82:735-746.
- Strauss, S. Y. 1991. Direct, indirect and cumulative effects of three native herbivores on a shared host plant. *Ecology* 72:543-558.

- Strauss, S. Y. 1997. Floral characters link herbivores, pollinators, and plant fitness. *Ecology* 78:1640-1645.
- Strauss, S. Y., J. K. Conner y S. L. Rush. 1996. Foliar herbivory affects floral characters and plant attractiveness to pollinators: implications for male and female plant fitness. *American Naturalist* 147:1098-1107.
- Sutherland, S. 1987. Why hermaphroditic plants produce many more flowers than fruits: experimental tests with *Agave mckelveyana*. *Evolution* 4:750-759.
- Tallamy, D. W. 1985. Squash beetle feeding behavior: An adaptation against induced cucurbit defenses. *Ecology* 66:1574-1579.
- Tallamy, D. W. y E. S. McCloud. 1991. Squash beetles, cucumber beetles, and inducible cucurbit responses. *En: Phytochemical induction by herbivores*. D. W. Tallamy y M. J. Raupp, eds. Pp:155-181. John Wiley, New York.
- Watson, M. A. 1986. Integrated physiological units in plants. *Trends in Ecology and Evolution* 1:119-123
- Watson, M. A. 1995. Sexual differences in plant development phenology affect plant-herbivore interactions. *Trends in Ecology and Evolution* 10:180-182.
- Watson, M. A. y B. B. Casper. 1984. Morphogenetic constraints on patterns of carbon distribution in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 15:233-258.
- Watt, J. M. y M. G. Breyer-Brandwyk. 1962. The medicinal and poisonous plants of Southern and Eastern Afric. Segunda edición. Livingston. Edinburgh.
- Whitaker, T.W. y G.N. Davis. 1962. The cucurbits. Leonard Hill Ltd. London and Interscience Publishers Inc. New York.
- Whitham, T. G. y S. Mopper. 1985. Chronic herbivory: Impacts on architecture and sex expression of pinyon pine. *Science* 228:1089-1091.
- Whitham, T. G., J. Maschinski, K. C. Larson y K. N. Paige. 1991. Plant responses to herbivory: The continuum from negative to positive and underlying physiological mechanisms. *En: P. W. Price, T. M. Lewinsohn, G. Wilson Fernandes y W. W. Benson, eds. Plant-animal interactions: Evolutionary Ecology in Tropical and Temperate Regions*. Pp:227-256. John Wiley. New York.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

- Widen, B. 1991. Phenotypic selection on flowering phenology in *Senecio integrifolius*, a perennial herb. *Oikos* 61:205-215.
- Willson, M. 1994. Sexual selection in plants: perspective and overview. *American Naturalist* 144:S13-S19.
- Willson, M. F. y P. W. Price. 1977. The evolution of inflorescence size in *Asclepias* (Asclepiadaceae). *Evolution* 31:495-511.
- Wilson, P., J. D. Thomson, M. L. Stanton y L. P. Rigney. 1994. Beyond floral batemania: gender biases in selection for pollination success. *American Naturalist* 143:283-296.
- Winsor, J. A., S. Peretz y A. G. Stephenson. 2000. Pollen competition in a natural population of *Cucurbita foetidissima* (Cucurbitaceae). *American Journal of Botany* 87:527-532.
- Williams, C. S. 1998. The identity of the previous visitor influences flower rejection by nectar-collecting bees. *Animal Behaviour* 56:673-681.
- Wise, M. J. y C. F. Sacchi. 1996. Impact of two specialist insect herbivores on reproduction of horse nettle, *Solanum carolinense*. *Oecologia* 108:328-337.
- Wyatt, R., S. B. Broyles y G. S. Derda. 1992. Environmental influences on nectar production in milkweeds (*Asclepias syriaca* and *A. exaltata*). *American Journal of Botany* 79:639-642.
- Yampolsky, E. y H. Yampolsky. 1922. Distribution of sex forms in the phanerogamic flora. *Bibliogr. Genet.* 3:1-62.
- Young, H. J. y M. L. Stanton. 1990a. Influence of floral variation on pollen removal and seed production in wild radish. *Ecology* 71:536-547.
- Young, H. J. y M. L. Stanton. 1990b. Influence of environmental quality on pollen competitive ability in wild radish. *Science* 248:1631-1633.
- Young, H.J. 1992. Environmental effects on pollen characters and paternity. *En:* E. Ottaviano, D.L., Mulcahy, M. Sari Gorla y G.B. Mulchay, eds. *Angiosperm pollen and ovules*. Pp:445-450. Springer-Verlag, New York.
- Young, H. J. y M. L. Stanton. 1990b. Influence of environmental quality on pollen competitive ability. *Science* 248:1631-1633.
- Zar, J. H. 1996. *Biostatistical analysis*. Prentice-Hall, Inc. New Jersey.

- Zimmerman, M. y G. H. Pyke. 1988a. Experimental manipulations of *Polemonium foliosissimum*: effects on subsequent nectar production, seed production, and growth. *Journal of Ecology* 76:777-789.
- Zimmerman, M. 1980. Reproduction in *Polemonium*: competition for pollinators. *Ecology* 61:497-501.
- Zimmerman, M. 1987. Reproduction in *Polemonium*: factors influencing outbreeding potential. *Oecologia* 72:624-632.
- Zimmerman, M. y G. H. Pyke. 1988b. Reproduction in *Polemonium*: competition for pollinators. *Ecology* 61:497-501.

Discusión General

En los primeros dos capítulos de esta tesis presento una descripción de la historia natural de la interacción planta-herbívoro y planta-polinizador. Los aspectos más sobresalientes de estas descripciones se discuten en cada uno de ellos. En esta discusión elaboro los aspectos más notables que emergieron de los estudios experimentales que abordan el impacto de los herbívoros sobre el desempeño vegetativo y reproductivo de *C. sororia* en condiciones controladas de invernadero y de campo, incluyendo los efectos directos e indirectos de la interacción planta-herbívoro. Además, intento identificar algunas de las líneas más promisorias de estudio subsecuente en el campo de la interacción planta-animal, derivadas de los hallazgos de esta tesis.

Efecto de la herbivoría sobre la asignación crecimiento-reproducción

Los resultados del experimento de invernadero indicaron que bajo estrés severo por herbivoría las plantas muestran un conflicto entre crecimiento y reproducción. A medida que el daño aumenta, y con ello la limitación de recursos, el compromiso entre reproducción y crecimiento es mayor. Como resultado de ello las plantas destinaron proporcionalmente más recursos a natalidad de hojas y menos recursos a la reproducción. Este efecto se manifestó diferencialmente entre las dos vías reproductivas. El daño disminuyó la producción de flores femeninas de manera más severa que la de las flores masculinas.

El mantenimiento del crecimiento de las plantas a través de la natalidad de las hojas (que en *C. sororia* también implica mantener la producción de nudos), puede ser una respuesta adaptativa para 1) evitar la limitación de meristemas vegetativos y reproductivos, así como 2) ajustarse a la duración de la estación favorable para el crecimiento, ya que las plantas son de crecimiento indeterminado. Es posible que en esta especie, por su forma de crecimiento y reproducción, exista limitación en la disponibilidad de meristemas reproductivos al presentar una flor por nudo. El modo de producción de flores solitarias asociadas a las axilas de las hojas en una relación 1:1 matemáticamente puede definirse como una función logística con una fase inicial exponencial. Esto determina que la reproducción esté relacionada linealmente con el crecimiento, (i.e., el número de nudos). Por lo anterior, en la medida que las plantas puedan continuar el crecimiento evitarán la limitación de meristemas mientras duren las condiciones ambientales favorables, obteniendo así la máxima adecuación posible. Aunado a lo anterior las plantas mantienen el potencial de destinar algunos meristemas a la producción de ramas, lo cual podría

operar como mecanismo compensatorio del daño (Whitham *et al.* 1991, Rosenthal y Kotanen 1994).

Ligado a lo anterior, *C. sororia* mostró crecimiento compensatorio ante niveles de daño moderado y severo. Además encontré que bajo niveles intermedios de daño las plantas compensaron el efecto de la herbivoría a través de la reproducción masculina (producción de polen por flor y número de flores masculinas). Lo anterior puede ser un indicio de que estas plantas despliegan una estrategia de tolerancia (*sensu* Rosenthal y Kotanen 1994) por la vía masculina. Este tipo de respuesta podría sumarse a la capacidad de producir defensas inducidas característica de estas plantas (Carrol y Hoffman 1980).

Ante el aumento en la intensidad de daño las plantas disminuyeron los conflictos entre reproducción y crecimiento asignando proporcionalmente más recursos a la reproducción masculina que a la femenina. La asignación de recursos a la función masculina implicaría menos restricciones al crecimiento por ser menos costosa, y de este modo las plantas mantienen la asignación a esta función mientras reducen la función femenina para no comprometer la sobrevivencia.

El daño foliar en las plantas puede ser equivalente a una reducción de su tamaño al presentar menor área foliar total y menor cantidad de recursos (nutrientes y fotosintatos). Por otra parte algunas plantas inician su reproducción con flores masculinas como es el caso de *C. sororia*, lo cual, según la teoría de asignación sexual (Charnov 1982), se debe a que las plantas de tamaño reducido no pueden afrontar la reproducción femenina. Como consecuencia de la ocurrencia de estos dos fenómenos el aumento en la proporción de flores masculinas observada en las plantas con daño puede interpretarse tanto como una respuesta directa al daño, como una respuesta indirecta debido a la reducción del tamaño de las plantas.

Contraste de respuesta de las plantas en experimentos de invernadero y campo

La reproducción femenina disminuyó en relación directa con la pérdida de área foliar tanto en el invernadero en condiciones controladas (ambientales y genéticas), como en el campo en condiciones similares al ambiente natural. Sin embargo la reproducción masculina presentó mayor variación en respuesta al daño. Si bien en condiciones de campo las plantas (incluso bajo daño severo), compensaron la reproducción masculina, en el invernadero fueron afectadas considerablemente en su desempeño reproductivo masculino. Una interpretación posible de este

contraste es que el invernadero (donde las plantas fueron crecidas en macetas de un volumen restringido) impone una mayor limitación en la disponibilidad de suelo para las plantas, comparado con el campo. Esto implica que el tratamiento de 75% de daño en el invernadero representa el extremo de limitación de recursos para las plantas debido a la severidad del daño y a las limitaciones en la disponibilidad de nutrientes y capacidad en la expansión de raíces (Fig. 1). Estos resultados indican que en respuesta a un incremento de la herbivoría las plantas obtienen proporcionalmente más éxito reproductivo por la vía masculina que por la femenina.

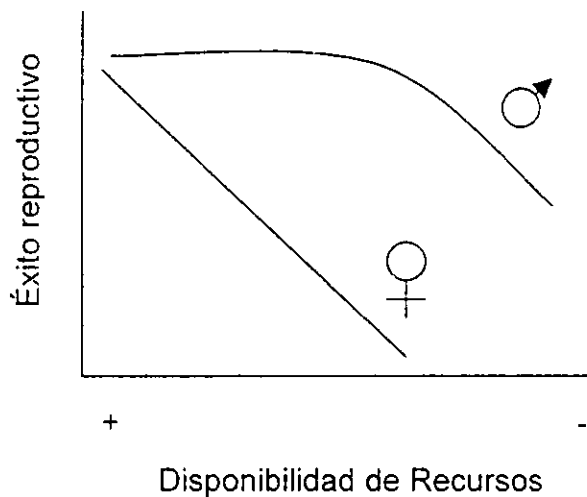


Fig. 1. Representación esquemática de la relación entre el éxito reproductivo masculino y femenino y la disponibilidad de recursos en las plantas del estudio. La respuesta de las plantas testigo en el experimento de campo se ubicaría en el extremo izquierdo (+) del eje x, y las plantas con daño severo en el invernadero en el extremo derecho (-).

Esta respuesta puede reflejar el comportamiento de la adecuación masculina si existe correlación entre el número de flores masculinas y el número de semillas logradas por las plantas como padres. En los escasos estudios en que se ha medido la correlación entre el número de hijos y la cantidad de polen (número de flores X la cantidad de polen/ flor) las correlaciones fueron bajas (Wilson *et al.* 1994). Sin embargo no es descartable que la magnitud de esta correlación dependa de la eficiencia de los polinizadores, la cual suele ser alta en las abejas solitarias oligolécticas (Canto-Aguilar y Parra-Tabla 2000).

Aún en condiciones de limitaciones en el número de hijos logrados por la vía masculina, esta fue la alternativa única o más importante para obtener adecuación en el caso de las plantas con daño severo.

Impacto de la herbivoría y sistema sexual de las plantas

El patrón de respuesta al daño puede depender del sistema sexual de las plantas. Por ejemplo, la respuesta al daño observada en este estudio con una planta monoica contrasta con lo encontrado en las plantas de *Raphanus raphanistrum* con flores perfectas, que compensaron la función femenina (a través de la producción de semillas) y redujeron la función masculina (al disminuir el número de granos de polen por flor) (Lehtilä y Strauss 1999). Las plantas monoicas podrían regular la asignación entre las dos vías sexuales sin pagar los costos que implica, para las plantas con flores perfectas, el compensar una función sin poder desacoplar la inversión en la otra.

Una explicación alternativa es que las diferencias de respuesta entre ambos sistemas se deben a las diferencias en eficiencia de sus polinizadores respectivos. En un sistema como el de *C. sororia* una alta eficiencia de los polinizadores permitiría que las plantas dañadas obtuvieran mayor número de hijos vía masculina que en las plantas con polinizadores menos eficientes. En este último caso la selección natural favorecería una mayor asignación a la adecuación femenina.

Herbivoría y género funcional de las plantas

En *C. sororia* la expresión sexual masculina aumentó en respuesta al incremento del estrés por herbivoría. En otras plantas cosexuales también se ha encontrado un aumento de la función masculina en relación a la función femenina en condiciones de estrés (Solomon 1985, Devlin 1988, Costich 1995). Una explicación posible para este patrón puede provenir de los estudios que muestran que en las especies dioicas las plantas masculinas parecen requerir menos recursos para la reproducción que las plantas femeninas (Meagher y Antonovics 1982, Quinn 1991). Además la evidencia indica que en algunos sistemas dioicos las plantas masculinas se defienden de la herbivoría a través de la tolerancia (i.e., crecimiento compensatorio) (Herms y Mattson 1992). En conjunto estos antecedentes apoyan el argumento discutido anteriormente de que el aumento en la expresión sexual masculina observado en *C. sororia* tendría un valor adaptativo como mecanismo que permitiría a las plantas más dañadas asignar proporcionalmente más recursos al crecimiento. De esta manera las plantas con estrés por herbivoría obtendrían proporcionalmente más adecuación por la vía masculina.

Efectos directos e indirectos de la herbivoría sobre el éxito reproductivo masculino y femenino

En *C. sororia* el daño no produjo un efecto directo sobre la adecuación masculina medida como la cantidad de granos de polen por flor y número de flores, excepto en el invernadero y bajo condiciones de daño severo, pero sí se observó un marcado efecto indirecto. Por el contrario, en el caso de la adecuación femenina el efecto fue directo al disminuir el número de frutos, y probablemente no se manifestó un efecto indirecto ya que no hubo diferencias en la proporción de flores que forman frutos. Las consecuencias finales del éxito reproductivo masculino sólo pueden ser evaluadas mediante un análisis de paternidad.

Las consecuencias indirectas del daño foliar sobre la reproducción masculina se manifestaron en términos de una reducción en la producción de néctar y en el tamaño de la corola a partir del 25% de pérdida de área foliar. El otro carácter de recompensa, la producción de polen, no fue afectado, excepto en condiciones de invernadero y con daño severo. Esta diferencia de respuesta entre la producción de néctar y el tamaño de la flor por un lado, y la producción de polen por flor por el otro, indican que estos caracteres varían en forma independiente en la flor (*cf.* Lehtila y Strauss 1999). Esta respuesta puede ser consecuencia de que si bien ambas características constituyen atributos de atracción de los polinizadores, difieren en que el polen es además un carácter directamente relacionado con el esfuerzo reproductivo. Esto implica que el polen probablemente es un atributo más conservado por la planta por su importancia para la adecuación.

Si bien la producción de polen no fue afectada y para los polinizadores éste es un recurso importante, la frecuencia de sus visitas se redujo como respuesta a los cambios en tamaño y producción de néctar de las flores. Este efecto indirecto del daño podría afectar más a la función masculina que a la femenina, debido a que se requieren más visitas de los polinizadores para saturar la curva de adecuación de las flores masculinas que las femeninas (Aizen y Basilio 1998). El cambio en el comportamiento de los polinizadores ocurrió en respuesta a los cambios en los atributos florales individuales y no al número de flores. Esta respuesta de las abejas oligolécticas de *C. sororia* difiere de la observada en otras especies de abejas generalistas como *Apis mellifera*. También es característico de estas abejas específicas el que pudieran responder con cambios de conducta a las variaciones en los atributos florales. A partir de esta evidencia es posible prever

que la magnitud del efecto indirecto de la herbivoría podría ser función de la especificidad de los polinizadores y su capacidad de detección de cambios florales.

Los cambios en conducta observados en los polinizadores oligolécticos, en respuesta a las variaciones en el tamaño y la producción de néctar, indican que podrían operar como agentes potenciales de selección de atributos florales y de los tiempos diarios de apertura de las flores. La herbivoría puede interferir con esta presión de selección imponiendo a las plantas susceptibles una presión mayor para conservar los atributos florales relevantes para los polinizadores. Esta puede ser la explicación de por qué a pesar de que el daño de 75% es considerablemente mayor que el de 25%, no hubo diferencias entre estos dos niveles de daño en cuanto al tamaño de la corola y la producción de néctar, dos atributos reconocidos como importantes para los polinizadores. El hecho de que tampoco hubo diferencias entre estos dos niveles del tratamiento en las visitas de los polinizadores sugiere que las plantas con daño severo compensaron este componente crítico de la adecuación masculina.

Aún cuando generalmente se ha considerado a la forma y el tamaño de la flor como atributos de poca variación por su impacto sobre la polinización (Harper 1977), Strauss *et al.* (1996) argumentaron que tales atributos son susceptibles de variación en respuesta al daño. Sin embargo, mis resultados demuestran que si bien la forma y el tamaño de la flor pueden cambiar en respuesta al daño foliar, tal variación está acotada; es decir tales atributos son conservados en casos en que el daño sobrepasa un nivel dado.

Una avenida promisorio de trabajo subsecuente es la investigación de la naturaleza y magnitud de los efectos indirectos de la herbivoría en relación con el grado de especificidad de la interacción polinizador-planta.

La herbivoría como posible presión de selección en *C. sororia*

Al igual que lo encontrado en otros estudios con *Cucurbita* spp., en *C. sororia* los principales herbívoros son insectos estenófagos. La existencia de herbívoros tan especializados como los de la planta de estudio permite suponer que aún cuando éstas puedan encontrarse aisladas o en baja densidad en su ambiente natural y, en términos generales no ser muy conspicuas (no aparentes, *sensu* Feeny 1976), ésto no impediría que las plantas sean localizadas a través de las señales químicas que utilizan sus herbívoros (ver Capítulo 1). Lo anterior permite suponer que las plantas podrían recibir recurrentemente una presión de herbivoría. Además, dado que los insectos

fitófagos de esta planta (debido a su alto grado de especialización) responden a diferencias en atributos individuales [e.g., densidad de tricomas (Elsey y Wann 1982, Peterson *et al.* 1994), y variaciones en la concentración de cucurbitacinas (Metcalf y Rhodes 1990)], pueden ser agentes potenciales de evolución en los caracteres defensivos al ser capaces de distinguir la variación intraespecífica en una población dada.

Consideraciones sobre la manipulación experimental

El daño mecánico como la defoliación artificial puede generar una respuesta diferente de la planta en comparación al daño de un herbívoro (Hendrix 1988, Schultz 1988). La saliva de los herbívoros puede iniciar procesos metabólicos de respuesta de la planta al daño, entre otros, por ejemplo, la inducción de defensas. Además lo anterior predice que diferentes tipos de herbívoros pueden producir diferentes respuestas (Rausher *et al.* 1993). El tomar en consideración este nivel de detalle de la historia natural de la herbivoría hubiera complicado la manipulación experimental y comprometer la factibilidad del estudio. Esto hubiera requerido manipular, entre otras cosas, diferentes especies de herbívoros para que los experimentos ganaran en realismo, a expensas de ganar en precisión en cuanto a evaluar, específicamente, las consecuencias de la pérdida de área foliar. Por lo tanto, el presente estudio se concentra en el análisis del impacto de la herbivoría enfatizando específicamente las consecuencias de la pérdida de área foliar (y con ello capacidad fotosintética, fotosintatos y nutrientes acumulados) sobre el desempeño de las plantas.

Otro aspecto a considerar en este estudio tiene que ver con las intensidades de daño utilizadas. El enfoque del estudio no pretendió ser realista en el sentido de simular los niveles de daño promedio encontrados en el campo. La elección de las intensidades de daño pretendió observar la gama de respuesta de las plantas en condiciones de daño moderado y alto. Lo anterior es válido en la medida de que no es imposible encontrar plantas con más del 80% de daño (obs. pers.) y que en tales episodios de esta magnitud de herbivoría suelen ocurrir los eventos de selección más intensos (Dominguez y Dirzo 1994). Este argumento es reforzado por el hecho de que las plantas suelen encontrarse formando grupos densos en los sitios perturbados de la selva o invadiendo campos de cultivo (Lira 1995, Merrick 1990). Estos aumentos en la densidad local pueden incrementar la concentración de herbívoros especializados como *Epilachna* spp. y *Diabrotica* spp., conducentes a la ocurrencia esporádica de altos niveles de daño (Bach 1988).

Impacto de la herbivoría: Corolario

La gran mayoría de los modelos sobre la evolución de las defensas de las plantas asumen que los herbívoros reducen el éxito reproductivo de las plantas (Coley *et al.* 1985, Simms y Rausher 1987, Fineblum y Rausher 1995). La evidencia disponible indica que existe una correlación negativa entre la adecuación femenina y la herbivoría (Marquis 1992). Sin embargo, los resultados de este estudio sugieren que el efecto negativo de la herbivoría sobre el éxito reproductivo "total" de las plantas podría ser menos severo si se considera que el impacto sobre la función masculina es menor que sobre la función femenina. Una implicación de este resultado es que los alelos que confieren defensas contra la herbivoría en una población serían seleccionados con menor intensidad que lo esperado según la respuesta observada del efecto del daño sobre la vía femenina. En las poblaciones naturales este proceso podría contribuir a explicar el mantenimiento de la variación genética en los rasgos defensivos.

LITERATURA CITADA

- Aizen, M. A. y A. Basilio 1998. Sex differential nectar secretion in protandrous *Alstroemeria aurea* (Alstroemeriaceae): is production altered by pollen removal and receipt?. *American Journal of Botany* 85:245-252.
- Bach, C. E. 1988. Effects of host plant patch size on herbivore density: patterns. *Ecology* 69:1090-1102.
- Canto-Aguilar, M. A. y V. Parra-Tabla. 2000. Importance of conserving alternative pollinators: assessing the pollination efficiency of the squash bee, *Peponapis limitaris* in *Cucurbita moschata* (Cucurbitaceae). *Journal of Insect Conservation* 4:203-210.
- Carrol, C. R., y C. A. Hoffman. 1980. Chemical feeding deterrent mobilized in response to insect herbivory and counteradaptation by *Epilachna trepidomnata*. *Science* 209:414-416.
- Coley, P. D., J. P. Bryant y F. S. III Chapin. 1985. Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science* 230:895-899.
- Costich, D. E. 1995. Gender specialization across a climatic gradient: experimental comparison of monoecious and dioecious *Ecballium*. *Ecology* 76:1036-1050.
- Charnov, E. L. 1982. *The theory of sex allocation*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.

- Devlin, B. I. 1988. The effects of stress on reproductive characters of *Lobelia cardinalis*. *Ecology* 69:1716-1720.
- Dominguez, C. A. y R. Dirzo. 1994. Effects of defoliation on *Erythroxylum havanense*, a tropical proleptic species. *Ecology* 75:1896-1902.
- Elsey, K. D. y E. V. Wann. 1982. Differences in infestation of pubescent and glabrous forms of cucumber by pickleworms and melonworms. *Hortscience* 17:253-254.
- Feeny, P. 1976. Plant apparency and chemical defense. *Recent Adv. Phytochem.* 10:1-40.
- Fineblum, W. L. y M. D. Rausher. 1995. Trade-off between resistance and tolerance to herbivore damage in a morning glory. *Nature* 377:517-620
- Harper, J. L. 1977. *Population biology of plants*. Academic Press. London.
- Hendrix, S. D. 1988. Herbivory and its impact on plant reproduction. *En: J. Lovett-Doust y L. Lovett-Doust, eds. Plant reproductive ecology: patterns and strategies*. Pp:246-266. Oxford University Press.
- Herms, D. A. y W. J. Mattson. 1992. The dilemma of plants - to grow or defend? *Quarterly Review of Biology* 67:283-335
- Lehtilä, K. y S. Y. Strauss. 1999. Effects of foliar herbivory on male and female reproductive traits of wild radish, *Raphanus raphanistrum*. *Ecology* 80:116-124
- Marquis, R. J. 1992. The selective impact of herbivores. *En: R. S. Fritz y E.L. Simms, eds. Plant resistance to herbivores and pathogens: ecology, evolution and genetics*. Pp:301-325. Chicago University Press. Chicago.
- Meagher, T. R. y J. Antonovics. 1982. The population biology of *Chamaelirium luteum*, a dioecious member of the lily family: life history studies. *Ecology* 63:1690-1700.
- Merrick, L. C. 1990. Systematics and evolution of a domesticated squash, *Cucurbita argyrosperma*, and its wild and weedy relatives. *En: D. M. Bates, R. W. Robinson, y C. Jeffrey, eds. Biology and Utilization of the Cucurbitaceae*. Pp:77-95. Cornell University Press, Ithaca, New York.
- Metcalf, R. L. y A. M. Rhodes. 1990. Coevolution of the Cucurbitaceae and Luperini (Coleoptera:Chrysomelidae): basic and applied aspects.. *En: D.M. Bates, R.W. Robinson y C. Jeffrey, eds. Biology and utilization of the Cucurbitaceae*. Pp:167-182. Cornell University Press. Ithaca, New York.

- Peterson, J. K., R. J. Horvat y K. D. Elsey. 1994. Squash leaf glandular trichome volatiles: identification and influence on behavior of female pickleworm moth [*Diaphania nitidalis* (Stoll.)] (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Chemical Ecology*. 20:2099-2109.
- Quinn, J. A. 1991. Evolution of dioecy in *Buchloe dactyloides* (Gramineae): tests for sex-specific vegetative characters, ecological differences, and sexual niche partitioning. *American Journal of Botany* 78:481-488.
- Rausher, M. D., K. Iwao, E. L. Simms, N. Ohsaki y D. Hall. 1993. Induced resistance in *Ipomoea purpurea*. *Ecology* 74:20-29.
- Rosenthal, J. P. y P. M. Kotanen 1994. Terrestrial plant tolerance to herbivory. *Trends Ecology and Evolution* 9:145-148.
- Schultz, J. C. 1988. Plant responses induced by herbivores. *Trends in Ecology and Evolution* 3:45-49.
- Simms E. L. y M. D. Rausher. 1987. Costs and benefits of plant resistance to herbivory. *American Naturalist* 130:570-580.
- Solomon, B. P. 1985. Environmentally influenced changes in sex expression in an andromonoecious plant. *Ecology* 66:1321-1332.
- Wilson, P., J. D. Thomson, M. L. Stanton, y L. P. Rigney. 1994. Beyond floral batemania: gender biases in selection for pollination success. *American Naturalist* 143:283-296.
- Whitham, T. G., J. Maschinski, K. C. Larson y K. N. Paige. 1991. Plant responses to herbivory: The continuum from negative to positive and underlying physiological mechanisms. *En*: P. W. Price, T. M. Lewinsohn, G. Wilson Fernandes y W. W. Benson, eds. *Plant-animal interactions: Evolutionary Ecology in Tropical and Temperate Regions*. Pp:227-256. John Wiley, New York.

Apéndice 1.

**Estudio de la germinación
en *Cucurbita sororia***

INTRODUCCION

Entre las diferentes historias de vida de las plantas adaptadas para sobrevivir en ambientes marcadamente estacionales, como es el caso de las selvas tropicales secas, se encuentran las plantas anuales semélparas.

Aunque se reconoce que las semillas son las estructuras de mayor resistencia a las condiciones abióticas adversas (e.g., el estrés hídrico), en las especies anuales que viven en ambientes estacionales no está claro cuál es el significado adaptativo de los diferentes mecanismos que determinan el inicio de la germinación. Harper (1977) realizó una revisión importante de los tipos de latencia que se han encontrado en diferentes especies anuales. Citando a Levins (1969) propone que la latencia es una adaptación que permite a las semillas sobrevivir en ambientes con heterogeneidad de condiciones ambientales favorables para la germinación. Esta heterogeneidad puede ser espacial y/o temporal, y su magnitud y consecuencias sobre la evolución de la historia de vida de las plantas depende del tamaño del "grano" con que "percibe" la planta esta heterogeneidad. Esta "percepción" está en relación directa a la longitud del ciclo de vida y la capacidad de dispersión que el individuo tenga para una determinada escala de la matriz o mosaico de heterogeneidad de recursos temporal y espacial, respectivamente.

En el extremo de mayor variación ambiental, como el que experimentan las plantas que viven en el desierto, la escasa predecibilidad de las precipitaciones propicia el surgimiento del polimorfismo en las semillas que determinan una variedad amplia de comportamientos para germinar (Silvertown 1984, Venable 1985, Venable y Brown 1988). Otro ejemplo lo constituyen las semillas de malezas que viven en ambientes estacionales predecibles y no tienen limitaciones de recursos, pero que están expuestas a daño mecánico y profundidades de enterramiento relativamente azarosos. Estas condiciones podrían explicar los complicados mecanismos de latencia que poseen las semillas (Rees y Long 1992). En el otro extremo, en los ambientes homogéneos (i.e. predecibles) como en los manglares de México, las semillas de plantas perennes como el mangle carecen de latencia (Harper 1977). Otro ejemplo no tan extremo lo constituyen las semillas de muchas especies de la selva húmeda que permanecen durante un corto periodo en el suelo luego de caer del árbol y germinan sin formar bancos de semillas permanentes (Garwood 1989. Vázquez-Yanez y Orozco-Segovia 1996).

Los patrones descritos hacen referencia a la heterogeneidad de condiciones físicas que inciden en la germinación. Sin embargo, pueden existir otras presiones de selección, de tipo biótico.

En las selvas tropicales secas la germinación sincrónica puede aumentar la probabilidad de escapar a los herbívoros a través del efecto de saciación (sensu Janzen y los árboles "semilleros"), aún cuando esto podría aumentar la competencia entre plantas.

La selva tropical seca se caracteriza porque a una escala pequeña de tiempo (un año) las estaciones de lluvias son muy predecibles. Sin embargo a una escala más fina (un mes) las primeras precipitaciones y su frecuencia inicial son menos predecibles. Con base en estos antecedentes, ¿qué patrones de germinación esperamos encontrar en las selvas tropicales secas en las especies anuales? Lamentablemente los antecedentes sobre estudios de germinación que permitan establecer algún patrón son muy escasos a pesar de la importancia que tienen estos sistemas en la Tierra. Aún más limitados son los estudios de germinación de enredaderas anuales herbáceas en la selva seca.

Cucurbita sororia es una enredadera herbácea que junto a otras especies de plantas trepadoras constituyen un gremio de formas de vida (sensu Grubb 1977) que caracterizan este tipo de selva. Esta especie en particular también es reconocida como maleza en diferentes ambientes agrícolas de México, y es probable que se halla extendido hacia estos hábitats a partir de la selva tropical seca. La mayoría de las especies de malezas anuales poseen algún tipo de latencia (ver Harper 1977). Esto se ha interpretado como el mecanismo por el cual estas especies pueden permanecer formando bancos de semillas que aseguren su perpetuación a través del amortiguamiento de la mortalidad ocasional que reciben por las prácticas culturales. Sin embargo, puede ser aventurado predecir, a partir del hábito invasor, el comportamiento en la germinación de una especie, ya que la latencia en los ambientes naturales estacionales si bien podría ser ventajoso para superar la estación desfavorable también incrementa el riesgo de mortalidad por depredación o por enfermedades. Por lo anterior, para ayudar a entender cuáles son los procesos de germinación que poseen las plantas en la selva tropical seca, en el presente estudio pretendo describir los patrones de germinación de la enredadera herbácea *Cucurbita sororia* en condiciones ambientales controladas.

MATERIAL Y METODOS

Los estudios de germinación de *Cucurbita sororia* comprendieron dos etapas: i) un estudio con censos frecuentes (mayo, 1994) para evaluar la forma de la curva de germinación de semillas estandarizadas por pertenecer a una familia genética; ii) un estudio del efecto materno sobre las curvas de germinación (febrero, 1996). Los estudios los realicé en el Instituto de Ecología, UNAM, en la Ciudad de México.

Determinación de la curva de germinación de una familia genética.

Para el primer ensayo usé semillas de la misma familia genética ("maternal sibships"). Para este efecto, pesé todas las semillas de un fruto ($N = 224$) cosechado el año anterior y complementé seco. Posteriormente, para disminuir el efecto potencial que pudiera ejercer el peso sobre el experimento de defoliación, analicé la distribución de pesos y seleccioné al azar 125 semillas de entre aquellas cuyos pesos estuvieran comprendidos en la categoría modal de la distribución (0.058 - 0.064 g). Luego de desinfectarlas con hipoclorito de sodio al 4% durante 6 min, coloqué las semillas elegidas en "celdas" individuales de papel de filtro saturado de agua. Después de 10 horas las distribuí al azar en cinco recipientes refractarios de vidrio con agar al 1.5% ($N = 25$ semillas por recipiente) manteniendo la identidad de cada una. La germinación de las semillas se realizó en cámaras de germinación (Conviron) a 25°C, humedad de 85% y 12 horas de luz por día. Para registrar la germinación realicé censos cada 115 min en promedio, hasta que germinaron todas las semillas. Únicamente consideré como germinadas las semillas cuya radícula tuviera una longitud superior a 1 mm.

Determinación del efecto del efecto materno sobre la germinación.

Para este ensayo las semillas fueron obtenidas en la Estación de Biología de Chamela en diciembre de 1995. Al final de la estación de crecimiento en la población natural de estudio colecté de cuatro a seis frutos maduros por planta. En el mes de enero extraje las semillas de los frutos, y luego de lavarlas y secarlas al aire, las mantuve en estufa a 25-30°C por tres días con forzada circulación de aire. Posteriormente las guardé en bolsas de papel manteniendo la identidad del fruto y de la planta. Para el ensayo de germinación seleccioné al azar diez semillas por fruto de tres a cinco frutos por planta de una muestra aleatoria de doce plantas (i.e., 30-50 semillas por planta; $N = 480$). Las semillas permanecieron por tres días a 25°C en estufa. Posteriormente pesé los grupos de diez semillas y obtuve el promedio de peso por semilla. Para

promover la germinación, las semillas de cada fruto fueron remojadas durante 15-18 h y sembradas posteriormente en agar dentro de cajas de petri estériles siguiendo el mismo procedimiento de desinfección e incubación descrito en el ensayo anterior. Los censos de germinación los realicé diariamente durante los primeros 10 días y luego continué los conteos cada 3 días en promedio hasta completar 28 días de mediciones. Las semillas que no habían germinado hasta ese momento las incluí en el análisis como “censored” (semillas que son viables y que pueden germinar en un tiempo posterior a la duración del experimento). Adopté este criterio en lugar de considerarlas no viables y excluirlas del análisis porque observé germinación de semillas varias semanas posteriores a esta fecha.

Análisis estadístico

El efecto del peso de las semillas sobre el momento de germinación se analizó con un modelo de regresión de tiempos de sobrevivencia (SAS, JMP 1995). En el modelo también probé el efecto de la identidad de la repetición como un factor para explorar posibles diferencias en las condiciones de germinación entre repeticiones.

Este procedimiento estadístico fue la opción adecuada para procesar los datos de tiempos de sobrevivencia, debido a que esta variable de respuesta no cumplió con el supuesto de normalidad de los errores, requeridos por el análisis de regresión tradicional. El método de análisis de sobrevivencia que usé corresponde a los modelos paramétricos denominados “*tiempos de falla acelerados*” (tiempo de falla se refiere al momento en que ocurre un evento) (Fox 1992). Seleccioné este método en lugar de la alternativa semiparamétrica de “*riesgo proporcional*” (proportional-hazard) porque supuse que el peso de la semilla puede afectar el momento de la germinación (i.e. acelerándola o retrasándola), más que la probabilidad de que germine o no (ver Fox 1992 pag. 266). Los tiempos de sobrevivencia de las semillas (i. e., tiempos hasta la germinación) de *C. sororia* se ajustaron a una distribución Weibull por lo que usé esta distribución como modelo teórico para el análisis de regresión. La bondad del ajuste se determinó previamente mediante la inspección visual de la tendencia lineal de la gráfica del $\log \{-\log[S(t)]\}$ contra $\log(t)$ (SAS, JMP 1995), donde $S(t)$ correspondió a la función de sobrevivencia estimada por el método del producto-limite (Kaplan-Meier), y t el tiempo.

En el segundo ensayo, el modelo de regresión incluyó el efecto del peso y de la identidad de la planta materna (i. e., efecto materno) sobre los tiempos de germinación de las semillas. En el ajuste del modelo seguí el principio de parsimonia que implica encontrar el modelo mínimo

que ajuste significativamente los datos observados. Por lo anterior, cuando encontré diferencias debidas al efecto materno agrupé las plantas con el mismo patrón de germinación. Para ello, a través de una inspección visual, reuní las plantas que presentaron curvas de sobrevivencia parecidas, y que el análisis de regresión probó que no diferían estadísticamente entre sí. Con base en este análisis preliminar recodifiqué los datos para reducir los niveles del “tratamiento” planta y verifiqué por pares si había diferencias significativas entre ellos. El nivel de significancia para rechazar la hipótesis nula de no diferencia lo ajusté con el método de Bonferroni para pruebas múltiples a posteriori.

RESULTADOS

Determinación de la curva de germinación de una familia genética

El análisis de sobrevivencia mostró que la germinación fue heterogénea entre repeticiones ($\chi^2_4 = 23.651$; $P = 0.0001$; Fig. 1). Además, indicó que a pesar de estas diferencias, el peso de las semillas (como se podría esperar por haber usado sólo aquellas del intervalo 0.058-0.064 g) no determinó el momento del inicio de la germinación en *Cucurbita sororia*. ($\chi^2_1 = 0.320$; $P = 0.5714$). La inspección de la significancia de los parámetros estimados de cada repetición mostró que cuatro de las cinco repeticiones no eran significativamente diferente entre sí. Como consecuencia de este resultado simplifiqué el modelo original agrupando estas repeticiones en un mismo nivel, de tal manera que este factor quedó reducido a dos niveles y además excluí el peso como covariable. De este modo obtuve el modelo mínimo adecuado para realizar el análisis final, ya que no mostró diferencias significativas en poder explicativo con respecto al modelo original ($\chi^2_4 = 2.74$; $P = 0.6015$). El ajuste de este modelo reducido confirmó que la germinación de una réplica fue significativamente diferente de la observada en la mayoría de las semillas ($\chi^2_1 = 21.390$; $P < 0.0001$). Estas diferencias se reflejaron en los parámetros estimados de la distribución de Weibull que indican que el 80% de las semillas germinaron (promedio e intervalo de confianza al 95%) a las 26.10 h (25.53-26.70 h) ($N = 100$), mientras que el 20% restante lo hizo a las 27.00 h (25.61-28.60) ($N = 25$) (Fig. 1). Es posible que el retraso fuera ocasionado por diferencias en el tiempo de siembra de las semillas en el agar luego del remojo. Si esta hubiera sido la causa principal, esperaríamos que las curvas fueran de forma similar aunque desfasadas en el tiempo, y por lo tanto que el parámetro δ que controla la forma de la distribución Weibull fuera similar. La estimación de este parámetro obtenida mediante el ajuste de la función de

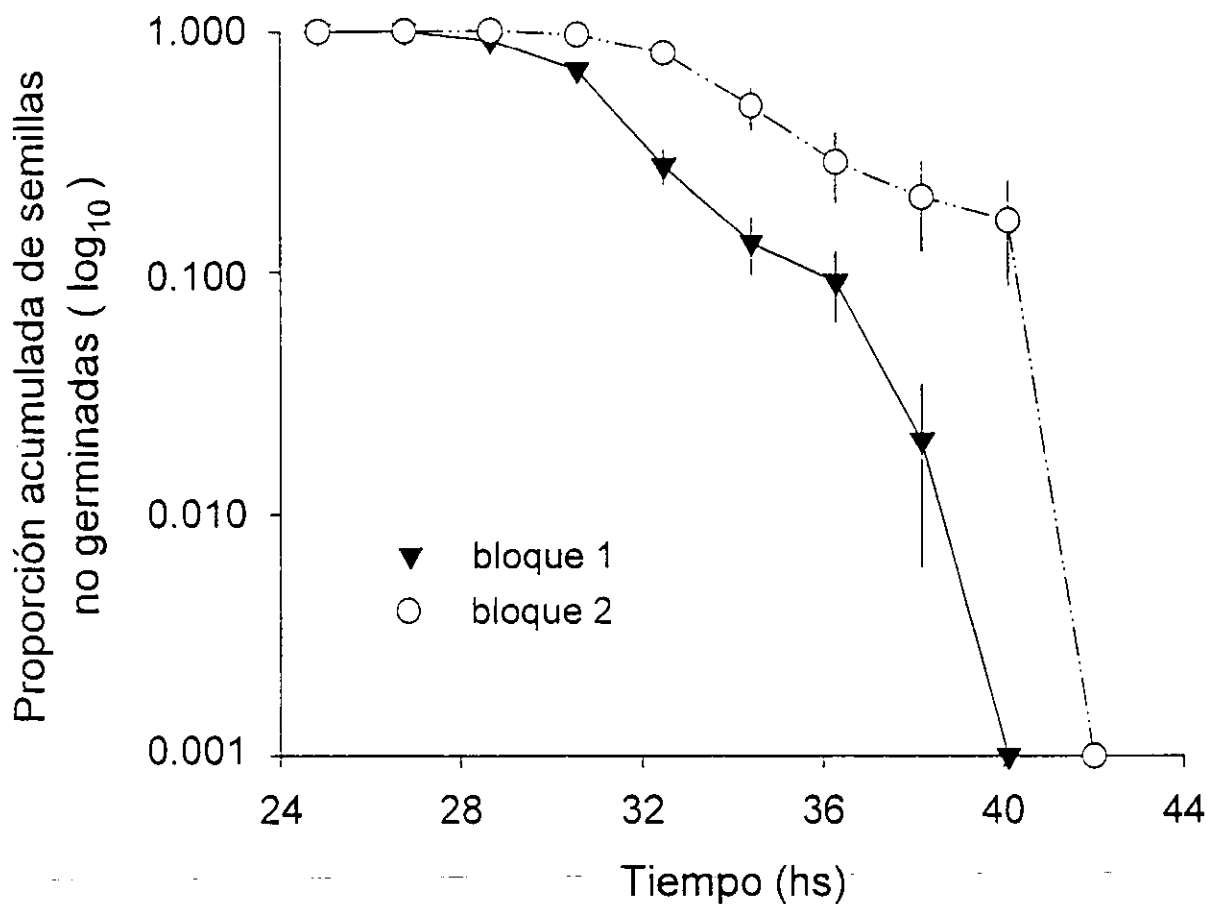


FIG. 1. Curvas de sobrevivencia de la germinación de dos grupos (bloques) de semillas de *Cucurbita sororia*, estimada por el método del "producto-límite" (Kaplan-Meier). La proporción acumulada del eje *y* representa la probabilidad de que una semilla aún no haya germinado; el eje de las *x* indica el tiempo transcurrido desde el inicio de la incubación de la semilla hasta que germinó. Los puntos corresponden al promedio \pm 1 EE.

sobrevivencia a los dos grupos de semillas con el procedimiento del producto-limite (Kaplan-Meier) apoyó esta explicación, ya que no son significativamente diferentes entre sí como lo muestra la comparación de los límites de confianza de ambos (grupo 1: 0.406 - 0.540 vs. grupo 2: 0.291 - 0.529). Este resultado, sin embargo, no permite descartar terminantemente que las semillas se retrasaron por diferencias intrínsecas independientes de las condiciones ambientales particulares que propiciaron la germinación.

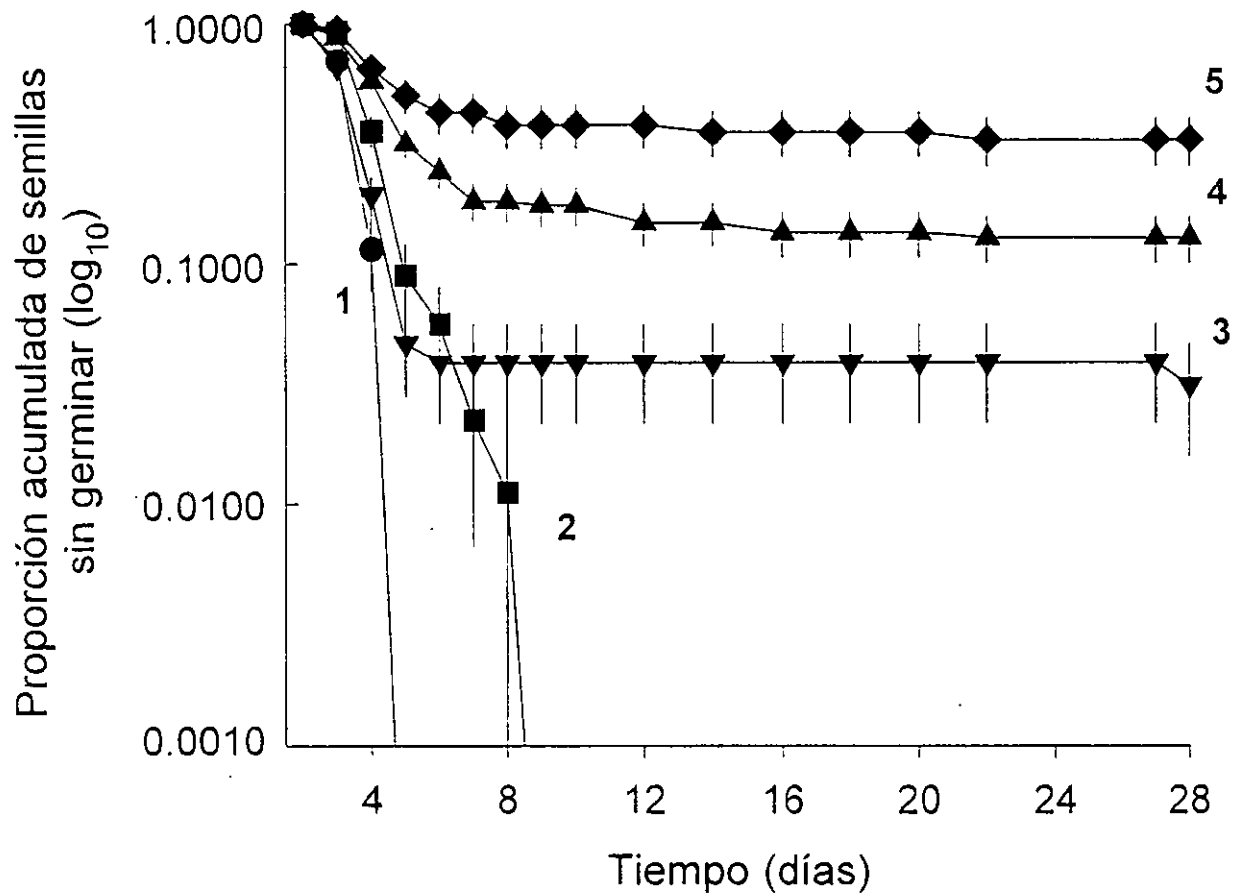
Efecto materno sobre la germinación.

En el segundo experimento la regresión basada en la distribución de Weibull mostró un efecto muy significativo de la planta materna y del peso de las semillas sobre la distribución de los tiempos de germinación. El modelo mínimo significativo indicó que las semillas mostraron patrones diferentes de germinación. Las semillas demoraron en germinar entre 3.81 y 11 días y el porcentaje de germinación varió desde el 100% hasta el 68% de las semillas (Tabla 1; Fig. 2).

Tabla 1. Tabla comparativa de los patrones de germinación encontrados en semillas de *Cucurbita sororia* bajo condiciones controladas de temperatura, fotoperiodo y humedad relativa.

Tipo de curva de germinación	% de semillas germinadas	# de días promedio (± 1 EE) hasta la germinación	Número de semillas	# de plantas en cada tipo de curva
1	100 %	3.81 \pm 0.074	70	2
2	100 %	4.46 \pm 0.107	90	2
3	97 %	4.75 \pm 0.414	130	3
4	87 %	7.27 \pm 0.502	150	4
5	68 %	11 \pm 1.331	40	1

Los tiempos de germinación variaron en función inversa con el peso de la semilla. Mientras que las semillas de mayor peso germinaron antes, las de menor peso retrasaron su germinación o no germinaron durante el tiempo que duró el ensayo. Este resultado contrasta con lo encontrado en el primer ensayo. Es posible que las diferencias se deban a la mayor amplitud de la variación en pesos de semillas encontradas entre y dentro de plantas. El peso promedio de las semillas por frutos fue marginalmente diferente entre plantas (ANDEVA, $F_{11,36} = 2.056$; $P = 0.0512$).



IG. 2. Curvas de supervivencia (de la germinación) de semillas de *Cucurbita sororia* de diferente procedencia materna, estimada por el método del “producto-límite” (Kaplan-Meier). Cada curva agrupa semillas producidas por diferentes plantas, pero con patrones de germinación estadísticamente semejantes. La proporción acumulada del eje y representa la probabilidad de que una semilla aún no haya germinado; el eje de las x indica el tiempo transcurrido desde el inicio de la incubación de la semilla hasta que germinó. (Promedio \pm 1 EE).

DISCUSIÓN

Las semillas de *Cucurbita sororia* mostraron un porcentaje de germinación de 100 al 86%, que fue alcanzado entre 2 a 6 días desde el inicio de la hidratación. Este alto porcentaje de germinación observado en tan corto tiempo sugiere que en condiciones naturales la germinación de las poblaciones es sincrónica y se inicia con las primeras lluvias importantes que pueden mantener húmedo el perfil del suelo durante más de un día. Al igual que en los climas templados donde el incremento en la temperatura rompe la latencia invernal en algunas especies de plantas, en las zonas tropicales secas (en las que la temperatura no es el factor limitante), la precipitación es el factor que podría determinar el inicio de la germinación en las plantas perennes (Huante y Rincón 1998) y en las anuales. La latencia controlada por la falta de humedad puede ser un mecanismo apropiado en la medida que el inicio y la continuidad de las precipitaciones sean predecibles. Solo en estas condiciones sería posible que sea adaptativo (o exaptativo) la dormancia oportunista (*sensu* Harper 1977), ya que si las semillas germinan con las primeras lluvias y luego estas cesan las plántulas recién formadas pueden morir por estrés hídrico. Es posible que en las zonas tropicales secas el inicio en las precipitaciones sea una señal suficientemente segura para sobrevivir como plántula e iniciar lo antes posible el crecimiento para completar su ciclo de vida en la estación húmeda. En *C. sororia* esta última condición es crítica debido al tiempo relativamente corto (4 meses) en el que las plantas deben crecer y completar la maduración de sus grandes frutos. Las semillas que se demoran en germinar podrían estar expuestas a ser consumidas por granívoros o morir por infecciones con hongos patógenos del suelo, debido a su tamaño relativamente grande y la ausencia de compuestos secundarios (la semilla es comestible ver Lira *et al.* 1995).

Otra característica importante que muestran los resultados en las curvas de crecimiento es la concentración de la germinación de la mayoría de las semillas en poco tiempo. La sincronización entre plantas en el crecimiento, lograda a partir de la germinación, también puede facilitar la coordinación entre la fenología de la floración y el período de mayor actividad de forrajeo con especies de polinizadores específicos. Ambas características: sincronización y germinación bajo condiciones de humedad suficiente, permitirían que la población de plantas reciba menos ataque de los herbívoros si en el momento del crecimiento de las plántulas coincide con el de la vegetación en general. Sin embargo este mecanismo de "defensa" sería apropiado únicamente para insectos generalistas, que por otra parte en *Cucurbita sororia* estarían

controlados a través de defensas inducidas. El crecimiento sincrónico con la vegetación podría aumentar la probabilidad de competencia por luz, sin embargo es probable que debido al hábito trepador de estas plantas la competencia a ras del suelo sea poco importante. Los mecanismos, no explorados en este estudio, que retardarían la germinación en condiciones naturales podrían ser la presencia de una membrana traslúcida que rodea a las semillas que potencialmente limitaría la hidratación (N. Mariano obs. pers) y/o la dificultad para que las semillas sean liberadas del fruto. En otras especies la presencia de una capa impermeable o semipermeable que recubre a las semillas puede demorar la germinación (Harper 1977) hasta que por abrasión física o química, o deterioro por agentes bióticos se remueva esta capa. La remoción de esta membrana se produce mecánicamente con mucha facilidad cuando las semillas están totalmente secas dentro del fruto (N. Mariano obs. pers.). No es difícil suponer que si este mecanismo físico de "latencia" existe en *C. sororia* el roce de las semillas contra la grava, cuando se rompen los frutos que son arrastrados por la corriente, bastaría para remover la membrana. De igual modo la dispersión de las semillas a partir de frutos totalmente secos luego de su ruptura facilitaría el desprendimiento. En *Cucurbita foetidissima*, especie perenne de zonas áridas, la escarificación no aumentó la germinación (Horak y Sweat 1994). Un factor adicional de inhibición de la germinación puede ser la temperatura. En *Cucurbita texana* las semillas con condiciones apropiadas de humedad para germinar, pero con temperaturas inferiores a 10° C o enterradas a más de 12 cm no germinaron (Oliver *et al.* 1983). Si este mecanismo existe en *C. sororia* podría prevenir la germinación en condiciones de baja temperatura durante la ocurrencia de lluvias ocasionales invernales.

--- La ausencia de un mecanismo de latencia diferente del propuesto (i. e., la falta de agua y quizás la presencia de una frágil membrana relativamente impermeable) parece estar apoyado por el reporte sobre la germinación de *Cucurbita palmata* en el desierto de Mojave (Went 1957, citado en Harper 1977). Esta *Cucurbita* es clasificada en el grupo de tipos de germinación que corresponde a plantas que no tienen temporadas fijas de germinación y cuyas plántulas pueden ser encontradas en cualquier época del año, aún cuando sufren una alta mortalidad por las heladas. Esta observación indicaría que en esta especie la germinación es disparada simplemente por las precipitaciones azarosas que ocurren durante el año.

LITERATURA CITADA

- Fox, G. A. 1992. Failure time analysis: Emergence, flowering, survivorship, and other waiting times. *En*: S. M. Scheiner y J. Gurevitch. Design and analysis of ecological experiments eds. Pp: 253-289. Chapman y Hall, New York.
- Garwood, N. C. 1989. Tropical soil seed banks: a review. *En*: M. A. Leck, V. T. Parker y R. L. Simpson, eds. Ecology of soil seed banks. Pp:149-209. Academic Press, London.
- Grubb, P. J. 1977. The maintenance of species-richness in plant communities: the maintenance of species-richness in plant communities: the importance of the regeneration niche. *Biological Reviews* 52:107-145
- Harper, J. L. 1977. Population biology of plants. Academic Press, London.
- Horak, M. J. y J. K. Sweat. 1994. Germination, emergence, and seedling establishment of buffalo gourd (*Cucurbita foetidissima*). *Weed Science* 42:358-363, 1994
- Huante, P. y E. Rincón. 1998. Responses to light changes in tropical deciduous woody seedling with contrasting growth rates. *Oecologia* 113:53-66.
- Levins, R. 1969. Dormancy as an adaptive strategy. *En*: H. W. Woolhouse, ed. Dormancy and survival. *Symp. Soc. exp. Biol.* 23:1-10.
- Lira, R., T.C. Andres y M. Nee. 1995. Cucurbita. *En*: R. Lira, ed. Estudios taxonómicos y ecogeográficos de las *Cucurbitaceae* latinoamericanas de importancia económica: *Cucurbita*, *Sechium*, *Sicana* y *Cyclanthera*. *Int. Plant Gen. Res. Inst. Roma*.
- Oliver, L. R., S. A. Harrison y M. McClelland 1983. Germination of Texas gourd (*Cucurbita texana*) and its control in soybean (*Glycine max*). *Weed Science* 31:700-706
- Rees, M. y M. J. Long 1992. Germination biology and the ecology of annual plants. *American Naturalist* 139:484-508.
- SAS Institute Inc. 1995. JMP. Version 3.1.2.
- Silvertown, J. W. 1984. Phenotypic variety in seed germination behavior: the ontogeny and evolution of somatic polymorphism in seeds. *American Naturalist* 124:1-16.
- Vázquez-Yanez, C. y A. Orozco-Segovia. 1996. Physiological ecology of seed dormancy and longevity. *En*: S. S. Mulkey, R. L. Chazdon, y A. P. Smith, eds. Tropical forest plant ecophysiology. Pp:535-558. Chapman Hall, New York.

- Venable, D. L. 1985. Ecology of achene dimorphism in *Heterotheca latifolia*: III. Consequences of varied water availability. *Journal of Ecology* 73:757-763.
- Venable, D. L. y J. S. Brown. 1988. The selective interactions of dispersal, dormancy and seed size as adaptations for reducing risk in variable environments. *American Naturalist* 131:360-384.
- Went, F. W. 1957. The experimental control of plant growth. *Chronica Botanica*, Waltham, Mass.