



326167

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**POSGRADO EN CIENCIAS
BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS**

Efecto de la heterogeneidad ambiental sobre la ecología
y la evolución de las plantas carnívoras:
Un estudio con *Pinguicula moranensis* (Lentibulariaceae)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS (BIOLOGÍA)
P R E S E N T A :
RAÚL ERNESTO ALCALÁ MARTÍNEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. CÉSAR AUGUSTO DOMÍNGUEZ PÉREZ TEJADA

MÉXICO, D.F.

NOVIEMBRE, 2003

M. 326167



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.

Contenido

Agradecimientos

Resumen

Abstract

Introducción

Capítulo I

Biología de las plantas carnívoras: aspectos ecológicos y evolutivos

Capítulo II

Patrones de captura y disponibilidad de presas en diferentes poblaciones de la
planta carnívora *Pinguicula moranensis* (Lentibulariaceae) en un gradiente
ambiental

Capítulo III

Variación geográfica en la eficiencia de captura y el beneficio derivado de la
carnivoría en *Pinguicula moranensis* (Lentibulariaceae)

Capítulo IV

Variación y estructura genética entre poblaciones de la planta carnívora
Pinguicula moranensis (Lentibulariaceae) estimada mediante ADN polimórfico
amplificado al azar

Discusión

Perspectivas

A la memoria de JC

A mis padres, por su apoyo incondicional

Agradecimientos

A lo largo de la elaboración de este trabajo recibí la desinteresada colaboración de numerosas personas e instituciones, a todas ellas, mil gracias.

A la Facultad de Ciencias y al Instituto de Ecología de la UNAM.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por su apoyo mediante el otorgamiento de una beca para realizar estudios de doctorado.

Quiero agradecer a los Drs. Rodolfo Dirzo y César Domínguez todo el apoyo que me brindaron desde el principio de los tiempos, su amistad, y su valiosa guía en el arte de hacer ciencia.

A los Drs. César Domínguez, Rodolfo Dirzo, Juan Núñez, Jorge Meave, Carlos Montaña, Sergio Zamudio y Víctor Parra, que conformaron el jurado, y cuyos comentarios y sugerencias contribuyeron a mejorar substancialmente esta tesis.

A los Biólogos Raúl Iván Martínez y Rubén Pérez por su valiosa colaboración y disposición en la solución de diversos problemas surgidos durante el desarrollo del trabajo.

A las siguientes personas, (familiares, amigos y compañeros del lab.) que a largo de estos años (mejor no digo cuántos) me acompañaron y ayudaron en las diversas salidas al campo. Algunos de ellos se llevaron sendas picaduras de bichos, lluvias durante todo el día, largas caminatas debido a que siempre me perdía en mis sitios de trabajo, y algunos otros, hasta se jugaron la vida al trabajar en alturas insospechadas y sin red de protección en Tepoztlán. Yo por el contrario me llevo un fragmento de amistad de cada uno de ustedes. ¡Muchas gracias!

Ahí van:

De mi familia, Marco Antonio Argáez, Víctor M. Argáez, Christopher, Eduardo y René Alcalá por todas las idas al Tepozteco.

A mis amigos de Puebla: Arturo Galicia y familia, Laura Zenteno y familia y a Nieves Barranco por su hospitalidad y amistad.

A los compañeros que están actualmente o estuvieron en algún momento en el Laboratorio: César Domínguez, Germán Ávila, Arturo Galicia, Roger Guevara, Reyna Castillo, Georgina Jiménez, Rebeca Parra, Laura Zenteno, Nieves Barranco, César Abarca, Armando Aguirre, Mina Lorena y Wendy, José Luis Ibarra, Gabriel Gutiérrez, Martha Palomino, Gumersindo Sánchez, Paula Meli, Nashelly Meneses, Luis Ramírez, y hasta Sarita Borges do Brasil. Otros amigos del Instituto o la Facultad que también fueron conmigo al campo: Yolanda Fera, Liz Izquierdo, Beatriz Contreras y Juan Carlos (Tiburón). A mis amigos de la carrera, Marcos Jiménez, Víctor M. Rivera, Saúl Segura, Agustín Castro y Ricardo Vázquez. A todos ellos por su colaboración en las diferentes actividades realizadas durante las salidas al campo.

Durante la fase en que experimenté el rigor del trabajo de laboratorio...digo esto simplemente porque quedó confirmado que soy más de tenis y mochila que de bata y guantes. Primeramente quiero agradecer al Lab. de Evolución Molecular, particularmente a los Drs. Luis Eguiarte y Valeria Souza y al Biól. Aldo Varela, por las facilidades que me brindaron en el uso del laboratorio, su equipo, y por su asesoría.

A mis amigos Néstor Mariano y Gumersindo Sánchez por todo su conocimiento transmitido tanto en el montaje de las enzimas como de los RAPDs. A Gumersindo Sánchez, Armando Aguirre y Gabriel Gutiérrez por todos los aventurones que tuvimos durante mi aprendizaje de la técnica, de hecho, ya tengo el manual de todo lo que "no se debe hacer" al trabajar con los geles. A César Abarca y Fernando Rosas, por sus ATP's gastados durante la fase de molienda de la mejor planta con la que han trabajado. A Nayeli Murueta y a Ramón, porque ví que hacer la "master mix" puede ser algo muy divertido.

Ahora voy a realizar un esfuerzo sobrehumano y voy a remontarme generaciones y generaciones atrás para agradecer a mis amigos y compañeros todos los buenos momentos que pasamos juntos. Los momentos incluyen: salidas al campo, como diez millones de horas de amenas charlas, caminatas lipenses, sesiones de bohemia, cascaritas, tochitos, ping-pong, billar, patinaje y como 487 fiestas. De vez en cuando, también hacíamos nuestras tesis y papers.

Ahí voy, de la primera generación: Rodolfo Dirzo, César Domínguez, Álvaro Miranda, Germán Ávila, Coro Arizmendi, Roberto Cabrales, Laura Domínguez, Martín Quijano, Cecilia Sánchez, Ricardo Frías, Roger Guevara y Reyna Castillo.

Segunda generación: Sol Ortiz, Fernando Rosas, Eduardo Mendoza, Cristina Martínez, Carolina Chávez, Raúl Iván Martínez, Raúl Cueva del Castillo, Dina Bello, Néstor Mariano, Georgina Jiménez, Rebeca Parra, Juan Fornoni, Judith Zamudio, Armando Aguirre, Gumersindo Sánchez, Sergio López, Juan Carlos López, César Abarca, Karina Boege, Ek del Val, Nélida Barajas y Gabriel Gutiérrez.

Tercera generación: Mario Vallejo, Lucero Sevillano, Betsabé Ruiz, Laura Zenteno, Martha Palomino, Jessica Pérez, Nashelly Meneses, Luis Ramírez, Valentina Carrasco, Verónica Zepeda, Nayeli Murueta, Ramón Vázquez, Sara Bonilla, Paula Meli, Eli Whencke.

Cuarta generación: Octavio Sánchez, Adriana López, Rubén Pérez, Carmina Jasso, Hanna y Elvia Ramírez.

Resumen

Se determinó el efecto de la heterogeneidad ambiental sobre la magnitud de la selección fenotípica que opera sobre la planta carnívora *P. moranensis*. Asimismo, se determinó si las diferencias en selección podían producir diferenciación genética entre las poblaciones.

Se realizó la caracterización en el ambiente físico (luz fotosintéticamente activa, humedad y fertilidad del sustrato) y en la disponibilidad de presas potenciales en 5 poblaciones distintas. Se evaluó la hipótesis de que tanto eficiencia de captura de presas, como el beneficio derivado de la carnivoría, deberían incrementarse hacia los sitios más pobres en nutrientes. La eficiencia indicó el efecto de la variación fenotípica (glándulas de captura y área de la roseta) sobre la captura, y el beneficio mostró la habilidad de convertir las presas capturadas en botones florales.

Las poblaciones con menos presas y nitrógeno disponibles mostraron la mayor disponibilidad de luz. La intensidad de la selección se incrementó hacia los sitios más pobres en nitrógeno y presas, aumentando tanto la eficiencia de captura como el beneficio. Sin embargo, existe evidencia de conflictos entre diferentes funciones, ya que las plantas con la mayor captura promedio no mostraron la mayor producción de botones. En algunas poblaciones el éxito no estuvo limitado por la escasez de nutrientes, sino por la luz.

La divergencia genética entre las poblaciones se presentó en un patrón de aislamiento por distancia que se ajustó al encontrado sobre el efecto de la selección que operó de acuerdo a la disponibilidad de nitrógeno y de presas potenciales.

Abstract

In this study I determined the effect of the environmental heterogeneity on the magnitude of phenotypic selection that operates on the carnivorous plant *P. moranensis*. I also evaluated whether or not the pattern of phenotypic selection that operates on carnivory could produce genetic divergence among the populations.

I characterized the abiotic environment (light and soil fertility) and the prey availability in five populations of *P. moranensis*. I evaluated the hypothesis about that prey capture efficiency, as well as the benefit derived from carnivory, should increase toward the poorest sites in terms of mineral nutrients and prey availability. Prey capture efficiency indicated the effect of plant phenotype (capture glands density, rosette area) on the probability of prey capture. The benefit expressed the ability of plants to convert prey captured into floral buds.

Populations with the lowest availability of nitrogen and potential prey showed the highest availability of light. The intensity of selection was greater toward the poorest sites increasing both the prey capture efficiency and the benefit derived from carnivory. However, there was a trade-off between different functions of the plants. Because plants with the higher mean prey capture, did not show the higher mean bud production. In some conditions, the reproductive success was limited by light, instead of nitrogen and potential prey.

The genetic divergence among populations showed a pattern of isolation by distance. This pattern was in accordance with the effect of phenotypic selection that operated with respect to the among population variation in nitrogen and prey availability.

Introducción

Las angiospermas conforman uno de los grupos más diversos del planeta con cerca de 250 mil especies catalogadas en la actualidad. Además de su riqueza taxonómica, este grupo muestra una enorme variedad en sus formas de vida. En algunos casos las plantas han desarrollado hábitos o atributos muy peculiares que contrastan con la mayoría de las plantas, por lo que son consideradas como curiosidades botánicas. Algunos de los atributos que confieren a estas plantas su rareza representan adaptaciones, ya que pueden estar relacionados con la dispersión de sus gametos y semillas, la obtención de nutrientes y agua, la defensa contra herbívoros o competidores, y la resistencia al ambiente físico. Por ejemplo, la exageración en las descomunales flores de hasta 80 cm de diámetro de *Rafflesia spp.* (Rafflesiaceae), plantas parásitas de las selvas tropicales de Asia, puede estar relacionada con la atracción de polinizadores. En contraste, la reducción extrema de las “piedras vivientes” (Aizoaceae), que son plantas suculentas cuyo diámetro no rebasa los 2 cm, no sólo disminuye la pérdida de agua sino también la probabilidad de ser consumidas por herbívoros, atributos clave en la supervivencia en el desierto africano.

Dentro de ese mundo de extravagancia también se encuentran las plantas carnívoras, las cuales, por su biología tan particular han llamado la atención no sólo de naturalistas y biólogos, sino también de un gran número de aficionados a las plantas. La condición que permite a unas 600 especies de plantas carnívoras obtener nutrientes a partir de la asimilación de pequeñas presas ha surgido al menos seis veces de manera independiente (Juniper *et al.* 1989). La presencia de esos diferentes, taxa ocupando hábitats pobres en nutrientes, se ha interpretado como evidencia de convergencia adaptativa (Albert *et al.* 1992).

Sin embargo, en los últimos años se ha evidenciado una enorme diversidad en atributos morfológicos, fisiológicos y de historia de vida entre las diferentes especies de plantas carnívoras (Juniper *et al.* 1989, Molau 1993, Adamec 1997, Ellison y Gotelli 2001). Parte de estas diferencias

probablemente son el resultado de la historia filogenética de los diferentes grupos, pero muchas de ellas pudieron haber surgido como adaptaciones finas al microambiente. Por ejemplo, algunas especies pueden utilizar el sistema radicular y obtienen nutrimentos del sustrato y otras no (Chandler y Anderson 1976, Aldenius *et al.* 1983). En algunos casos, los nutrimentos derivados de la captura de presa se transforman en crecimiento o reproducción dentro de la misma temporada, mientras que algunas especies almacenan recursos y los utilizan a lo largo de varios ciclos de crecimiento (Thorén y Karlsson 1998).

Los primeros estudios sobre la ecología de las plantas carnívoras se enfocaron principalmente en la descripción de los patrones de captura en diferentes especies de plantas (Wolfe 1981, Zamora 1990). Posteriormente ha cobrado mayor importancia la evaluación del efecto de la carnivoría sobre los diferentes componentes de la adecuación de las plantas, como el crecimiento, la supervivencia o la reproducción, pero la mayor parte de los estudios sobre el efecto de la carnivoría se han realizado en condiciones controladas (Darwin 1878, Chandler y Anderson 1976, Aldenius *et al.* 1983, Gibson 1991, Karlsson *et al.* 1991, Chapin y Pastor 1995). Estos estudios son muy valiosos ya que permiten identificar la importancia relativa de la captura de presas y definir el papel de la escasez de nutrimentos como una de las principales fuerzas evolutivas que moldean el hábito carnívoro. Sin embargo, los estudios que consideran los niveles naturales de disponibilidad de nutrimentos en el sustrato así como la captura de presas son aún escasos. El hecho de relacionar la carnivoría con la adecuación permite explorar enfoques evolutivos, y uno de los más relevantes consiste en determinar cómo la selección natural podría estar manteniendo la presencia de los atributos asociados con el hábito carnívoro.

Se ha establecido que el beneficio derivado de la captura de presas puede variar entre diferentes poblaciones, si éstas difieren en la disponibilidad de nutrimentos o en el ambiente

lumínico. Givnish *et al.* (1984) propusieron un modelo que permite explicar porqué la distribución de las plantas carnívoras está restringida de manera general, a sitios pobres en nutrimentos, pero bien iluminados y húmedos. Este modelo supone que los atributos asociados con el hábito carnívoro son costosos y que el beneficio derivado de la carnivoría es de tipo fotosintético. Por lo tanto, en ambientes con una elevada disponibilidad de nutrimentos, o en sitios sombreados y secos que no favorecen una tasa fotosintética adecuada, el costo de producir y mantener los atributos relacionados con la atracción, captura, digestión y asimilación de las presas sería mayor que los beneficios obtenidos.

Este modelo permite hipotetizar que tanto la eficiencia de captura como el beneficio derivado de la carnivoría, pueden variar en ambientes heterogéneos, por ejemplo, como resultado de la variación entre poblaciones en la disponibilidad de luz, agua, nitrógeno en el substrato y en abundancia de presas potenciales. Particularmente se espera que tanto la eficiencia de captura como el beneficio obtenido de la captura de presas se incrementen hacia los sitios con menor disponibilidad de nutrimentos y presas potenciales.

Por otra parte, existe evidencia que muestra que las poblaciones que están sujetas a ambientes heterogéneos, pueden diferenciarse genéticamente como resultado de la selección que opera diferencialmente entre éstas (Antonovics 1971, Linhart y Grant 1996, Huff *et al.* 1998, Mengoni *et al.* 2000).

Por lo tanto, el objetivo general de este trabajo fue caracterizar cómo opera la selección fenotípica sobre el hábito carnívoro en poblaciones de una planta carnívora sujetas a condiciones ambientales contrastantes.

La exploración de este objetivo requirió a su vez, de tres objetivos particulares:

- 1) Caracterizar la variación entre poblaciones en el ambiente físico y biótico en términos de la disponibilidad de luz, la fertilidad del sustrato y de las presas potenciales.
- 2) Determinar si existen diferencias en la magnitud y la dirección de la selección fenotípica que opera sobre diferentes atributos asociados con el hábito carnívoro, de acuerdo a las características de cada población.
- 3) Evaluar la posibilidad de diferenciación genética entre las poblaciones producto de la selección fenotípica que opera sobre el hábito carnívoro en ambientes heterogéneos.

En este trabajo, los diferentes objetivos particulares se abordaron conformando capítulos independientes.

Literatura citada

- Adamec, L. 1997. Mineral nutrition of carnivorous plants: A review. *The Botanical Review* **63**: 273-299.
- Albert, V. A., Williams, S. E. y Chase, M. W. 1992. Carnivorous plants: phylogeny and structural evolution. *Science* **257**: 1491-1495.
- Aldenius, J., Carlsson, B. y Karlsson B. 1983. Effects of insect trapping on growth and nutrient content of *Pinguicula vulgaris* L. in relation of the substrate. *New Phytologist* **93**: 53-59.
- Antonovics, J. 1971. The effects of a heterogeneous environment on the genetics of natural populations. *American Scientist* **59**: 593-599.

- Chandler, G. E. y Anderson, J. W. 1976. Studies on the nutrition and growth of *Drosera* species with reference to the carnivorous habit. *New Phytologist* 76: 129-141.
- Chapin, C. T. y Pastor, J. 1995. Nutrient limitations in the northern pitcher plant *Sarracenia purpurea*. *Canadian Journal of Botany* 73: 728-734.
- Darwin, F. 1878. Experiments on the nutrition of *Drosera rotundifolia*. *Journal of the Linnean Society of Botany* 17: 17-32.
- Ellison, A. M. y Gotelli, N. J. 2001. Evolutionary ecology of carnivorous plants. *Trends in Ecology and Evolution* 11: 623-629.
- Gibson, T. C. 1991. Differential escape of insects from carnivorous plants traps. *American Midland Naturalist* 125: 55-62.
- Givnish, T. J., Burkhardt, E. L., Happel, R. E. y Weintraub, J. D. 1984. Carnivory in the bromeliad *Brocchinia reducta*, with a cost/benefit model for the general restriction of carnivorous to sunny, moist, nutrient-poor habitats. *American Naturalist* 124: 479-497.
- Hamrick, J. L. y Godt, M. J. W. 1989. Allozyme diversity in plant species. En Brown, A. H. D., Clegg, M. T., Kahler, A. L. y Weir, B. S. (eds). Plant population genetics, breeding and genetic resources. Pags 43-63. Sinauer Sunderland, MA.
- Huff D. R., Quinn, J. A. Higgins, B. y Palazzo, A. J. 1998. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) variation among native little bluestem [*Schizachyrium scoparium* (Michx.) Nash] populations from sites of high and low fertility in forest and grassland biomes. *Molecular Ecology* 7: 1591-1597.
- Juniper, B. E., Robins, R. J. y Joel, D. M. 1989. The carnivorous plants. Academic Press, London, U.K.
- Karlsson, P. S., Nordell, K. O., Carlsson, B. A. y Svensson, B. M. 1991. The effect of soil nutrient status on prey utilization in four carnivorous plants. *Oecologia* 86: 1-7.
- Karlsson, P. S., Thorén, L. M. y Hanslin, H. M. 1994. Prey capture by three *Pinguicula* species in a subarctic environment. *Oecologia* 99: 188-193.

- 14
- Linhart, Y. B. y Grant, M. C. 1996. Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **27**: 237-77.
- Loveless, M. D. y Hamrick, J. L. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics.* **15**: 65-95.
- Mengoni, A., Gonnelli, C., Galardi, F., Gabbrielli, R. y Bazzicalupo, M. 2000. Genetic diversity and heavy metal tolerance in populations of *Silene paradoxa* L. (Caryophyllaceae): a random amplified polymorphic DNA analysis. *Molecular Ecology* **9**: 1319-1324.
- Molau, U. 1993. Reproductive ecology of three Nordic *Pinguicula* species (Lentibulariaceae). *Nordic Journal of Botany* **13**: 149-157.
- Moran, J. A. 1996. Pitcher dimorphism, prey composition and the mechanisms of prey attraction in the pitcher plant *Nepenthes rafflesiana* in Borneo. *Journal of Ecology* **84**: 515-525.
- Thorén, L. M. y Karlsson, P. S. 1998. Effects of supplementary feeding on growth and reproduction of three carnivorous plant species in a subarctic environment. *Journal of Ecology* **86**: 501-510.
- Wolfe, L. M. 1981. Feeding behavior of a plant: Differential prey capture in old and new leaves of the pitcher plant (*Sarracenia purpurea*). *American Midland Naturalist* **106**: 352-359.
- Zamora, R. 1990. The feeding ecology of a carnivorous plant (*Pinguicula nevadense*): prey analysis and capture constraints. *Oecologia* **84**: 427-429.
- Zamora, R. 1995. The trapping success of a carnivorous plant, *Pinguicula vallisneriifolia*: the cumulative effects of availability, attraction, retention and robbery of prey. *Oikos* **73**: 309-322.

Capítulo I

Biología de las plantas carnívoras: aspectos ecológicos y evolutivos

Artículo publicado en *Boletín de la Sociedad Botánica de México*

BIOLOGÍA DE LAS PLANTAS CARNÍVORAS: ASPECTOS ECOLÓGICOS Y EVOLUTIVOS

RAÚL E. ALCALÁ Y CÉSAR A. DOMÍNGUEZ

Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, UNAM,
Apartado Postal 70-275, 04510 México D.F., México.
correo electrónico: ralcala@miranda.ecologia.unam.mx

Resumen. Las plantas carnívoras tienen la habilidad para atraer, atrapar, digerir y asimilar a sus presas mediante modificaciones morfológicas y fisiológicas de las hojas. En este trabajo haremos una revisión de algunos aspectos de la ecología del hábito carnívoro que han sido poco explorados, y discutiremos cuáles han sido las presiones de selección que moldearon los atributos característicos de este hábito. En particular enfatizaremos los aspectos relacionados con los mecanismos de atracción de presas, el valor selectivo de la captura, la existencia de conflictos entre la evolución de la captura y la de la polinización, y el papel de las restricciones sobre la evolución del hábito carnívoro.

Palabras clave: hábito carnívoro, carnivoría, plantas carnívoras, trampas, presas.

Abstract. Carnivorous plants have the ability for attracting, catching, digesting and assimilating preys, through morphological and physiological specializations of their leaves. In this work we review some poorly studied aspects regarding the ecology of carnivorous plants, as well as, the selective pressures that have shaped the characteristic attributes of these plants. In particular, we emphasize those aspects related with the mechanisms of prey attraction, the selective value of capture, the existence of a trade-off between capture and pollination evolution, and the role of selective constraints on the evolution of the carnivorous habit.

Key words: carnivorous habit, carnivory, carnivorous plants, traps, preys.

Las plantas carnívoras aparecen por primera vez en la literatura botánica en el año de 1554 en un tratado sobre vegetación escrito por Dodonaeus. Esta referencia se limita a la ilustración de una especie de *Drosera* que fue erróneamente clasificada como un musgo. Debieron pasar más de 300 años para que los naturalistas entendieran el significado ecológico de la carnivoría. Darwin (1875) demostró que la captura de presas incrementaba el crecimiento y la producción de semillas. Desde entonces, las plantas carnívoras han ejercido una gran fascinación en los estudiosos de las interacciones bióticas. Gran parte de ese interés proviene de que las plantas carnívoras han invertido los papeles tradicionales que juegan las plantas y los animales, es decir, las plantas se han convertido en los cazadores y los animales en las presas. En este proceso las plantas carnívoras han desarrollado la capacidad de capturar presas, en su mayoría insectos, y de aprovecharlas como fuente de elementos esenciales (Lloyd, 1942; Schnell, 1976; Slack, 1979; Lüttge,

1983; Givnish, 1989). La habilidad de estas plantas para consumir tejidos animales depende del éxito de cada uno de los procesos que ocurren desde la llegada de la presa hasta su asimilación. Es por esta razón que los atributos relacionados con la atracción de presas, como la modificación de las hojas en complejos sistemas de trampa, y la maquinaria enzimática necesaria para digerir y asimilar a las presas, se han interpretado como adaptaciones y por lo tanto, como el resultado de la selección natural. Esta serie de características han permitido que las plantas carnívoras utilicen una fuente alternativa de recursos minerales, y se ha sugerido que éstas les han conferido la habilidad para colonizar hábitats con suelos pobres, ácidos o tóxicos, que no son apropiados para otras especies de plantas (Benzing, 1987).

En esta revisión haremos una reseña de las características más sobresalientes de la biología de las plantas carnívoras. En particular, discutiremos las hipótesis sobre el origen del hábito carnívoro, la distribución

de los grupos que presentan este hábito, así como sus relaciones filogenéticas. Asimismo, haremos énfasis en aspectos de la ecología y la evolución del hábito carnívoro que han sido poco explorados, como la existencia de restricciones sobre la evolución del tamaño, la biología reproductiva y el valor selectivo de este hábito.

Origen y distribución de las plantas carnívoras

El hábito carnívoro en las plantas es polifilético y se ha originado de manera independiente en al menos 6 órdenes distintos (Sarraceniales, Saxifragales, Scrophulariales, Violales, Nepenthales y Bromeliales). Las cerca de 550 especies conocidas están distribuidas en 9 familias y 18 géneros (Thompson, 1981; Lüttge, 1983; Juniper *et al.*, 1989) (tabla 1). El origen polifilético de la carnivoría puede interpretarse como una evidencia de evolución convergente, y por lo tanto de adaptación a condiciones similares (ver Harvey y Pagel, 1991; Albert *et al.*, 1992).

Aunque no se sabe con certeza cómo se originó el hábito carnívoro en las plantas, en general se acepta que evolucionó a partir de características que en un principio tenían otra función, por lo que el hábito carnívoro es en realidad una exaptación (*sensu* Gould y Vrba, 1982). Esta visión supone que la evolución de los sistemas de trampa, es decir de las estructuras involucradas en la captura y asimilación de las presas, ocurrió inicialmente en respuesta a presiones de selección no relacionadas con la carnivoría. Por ejemplo, se ha sugerido que el mucílago y los tricomas glandulares de *Pinguicula* y *Drosera*, evolucionaron originalmente como un mecanismo de defensa en contra de los herbívoros (Juniper *et al.*, 1989). También se ha propuesto que las complejas trampas en forma de jarro como las de *Heliophora*, *Sarracenia*, o *Nepenthes*, evolucionaron a partir de especies con hojas peltadas capaces de contener el agua de lluvia (Simons, 1981). El hecho de que estos "estanques" funcionaran como trampas primitivas para una gran cantidad de insectos pudo haber favorecido la evolución de las trampas actuales (Givnish, 1989). Es notable que las especies pertenecientes a géneros primitivos como *Heliophora* utilizan únicamente el agua de lluvia para el funcionamiento de sus trampas, en contraste las plantas de *Nepenthes*, un género más moderno, producen secreciones que son añadidas al agua aumentando la eficiencia enzimática de estas trampas (Slack, 1979). Existe otra hipótesis que sugiere que las trampas de especies de *Nepenthes* y *Cephalotus* se originaron como resultado de una asociación antigua con hormigas (Simons, 1981). Esta hipótesis se basa en la idea de que el néctar que ac-

tualmente es utilizado en la atracción de presas evolucionó originalmente como una recompensa para atraer hormigas que defendían a las plantas del ataque de herbívoros (Simons, 1981). De hecho, *N. bicarata* una especie típicamente carnívora, mantiene actualmente una relación mutualista con hormigas que está mediada por néctar (Givnish, 1989).

Con excepción de las regiones Árticas, las plantas carnívoras han sido capaces de colonizar ambientes tropicales, templados, alpinos y semidesérticos, por lo que su distribución puede considerarse como cosmopolita (Lüttge, 1983). Algunos géneros como *Utricularia* y *Drosera* están presentes en todos los continentes (figura 1a y b), mientras que el género *Pinguicula* se distribuye principalmente en las zonas templadas del hemisferio norte (figura 1c). En contraste, existen géneros cuya distribución es muy restringida. Por ejemplo, *Dionaea* únicamente se localiza en la costa Atlántica de los Estados Unidos (figura 1d). La distribución de otros géneros corresponde con los centros de diversificación propuestos para las plantas carnívoras que son: i] El sudoeste de Australia con 5 géneros (*Polypompholyx*, *Byblis*, *Cephalotus*, *Drosera* y *Utricularia*); ii] sur de los Estados Unidos y México con 5 géneros (*Utricularia*, *Dionaea*, *Drosera*, *Pinguicula*, y *Sarracenia*); y iii] Las tierras altas de la Guayana y el norte de Sudamérica con 6 géneros simpátricos (*Brocchinia*, *Catopsis*, *Heliophora*, *Utricularia*, *Drosera* y *Genlisea*).

La distribución de algunos taxa que presentan el hábito carnívoro se encuentra restringida a un continente y podría estar relacionada con eventos de deriva continental (Speirs, 1981). Por ejemplo, el orden Sarraceniales es netamente americano, la familia Nepenthaceae está restringida principalmente al continente asiático (Borneo), mientras que las Violales carnívoras se distribuyen exclusivamente en África (Juniper *et al.*, 1989).

En México se pueden encontrar tres géneros de plantas carnívoras: *Pinguicula* y *Utricularia* en la familia Lentibulariaceae, e *Ibicella* en la familia Martyniaceae; ambas familias pertenecen al orden Scrophulariales. El género *Pinguicula* cuenta con más de 30 especies, las cuales se distribuyen en su mayoría en la parte central del país. Debido a su elevada diversidad y al alto número de endemismos (mayor del 90%), se piensa que México es el centro de diversificación actual de este género (Zamudio, 1993). En contraste con la diversidad de especies de *Pinguicula*, *Ibicella* es un género monotípico cuyo único representante es *I. lutea*, la cual habita únicamente en el norte de México y el sur de los Estados Unidos. Por otra parte, el género *Utricularia* se encuentra representado por 18 especies, tres de las cuales son endémicas a México

Tabla 1. Distribución taxonómica de las especies de plantas carnívoras y caracterización de sus sistemas de captura. Sistemas activos: trampas con cierre (C) y captura por succión (S); sistemas pasivos: trampas adhesivas (A) y jarrones (J). Fuentes: Heslop-Harrison (1978), Givnish (1989), Juniper *et al.* (1989).

Orden	Familia y Género	No. de especies	Sistema de Captura
Sarraceniales	Sarraceniaceae		
	<i>Heliamphora</i>	5	J
	<i>Sarracenia</i>	8	J
	<i>Darlingtonia</i>	1	J
Scrophulariales	Lentibulariaceae		
	<i>Pinguicula</i>	52	A
	<i>Utricularia</i>	280	S
	<i>Biovularia</i>	2	S
	<i>Polypompholyx</i>	2	S
	<i>Genlisea</i>	15	A
Martyniaceae	<i>Ibicella</i>	1	A
Bromeliales	Bromeliaceae		
	<i>Brocchinia</i>	1	J
	<i>Catopsis</i>	1	J
Nepenthales	Nepenthaceae		
<i>Nepenthes</i>	70	J	
Droseraceae	<i>Dionaea</i>	1	C
	<i>Aldrovanda</i>	1	C
	<i>Drosophyllum</i>	1	A
	<i>Drosera</i>	110	A
Violales	Dioncophyllaceae		
<i>Triphyophyllum</i>	1	A	
Saxifragales	Byblidaceae		
	<i>Byblis</i>	2	A
	Cephalotaceae		
<i>Cephalotus</i>	1	J	

(M. Olvera, com. pers.). Las especies de este género se distribuyen en todo el territorio nacional, pero la mayor parte se concentra en el centro y el sur del país (Olvera, 1996). El origen de estas especies es tanto neártico como neotropical (M. Olvera, com. pers.).

Ecología de las plantas carnívoras

Aunque el hábito carnívoro ha surgido independientemente en 6 órdenes distintos de plantas, su evolución ha estado asociada únicamente a los taxa

herbáceos perennes de estos órdenes. No obstante, a pesar de esta restricción, existe una gran variedad de formas entre las plantas carnívoras. Las más comunes son las formas arrosetadas (*i.e.*, *Pinguicula*, *Brocchinia*, *Catopsis*, *Cephalotus*), aunque también existen especies que crecen como trepadoras (*i.e.*, *Nepenthes*), y otras como hierbas erectas (*i.e.*, *Ibicella*). Entre las formas arrosetadas existe una gran variación, ya que podemos encontrar plantas terrestres (*Pinguicula*), epífitas (*Brocchinia*), y acuáticas. Las especies de géneros como *Utricularia*, *Biovularia* y *Polypompholyx*,

son en su mayoría acuáticas y algunas han adquirido el hábito fitotelmático, es decir, son plantas que viven en el agua que se acumula en otras plantas más grandes como las bromelias (Lloyd, 1942).

Otra de las características de las plantas carnívoras que está íntimamente relacionada con el hábito herbáceo es su tamaño reducido. Por ejemplo, algunas plantas como *Drosera pygmaea* miden únicamente 10 mm de diámetro, y géneros completos como *Pinguicula*, *Cephalotus* y *Triphyophyllum*, por mencionar sólo algunos, se caracterizan por el reducido tamaño de sus rosetas.

De acuerdo con lo anterior, las plantas carnívoras tienden a ser herbáceas, perennes y de talla pequeña. En nuestra opinión, estas características son el

resultado de las exigencias ecológicas y fisiológicas que ha impuesto la evolución del hábito carnívoro. Aunque la evolución de la carnivoría en las plantas les ha permitido una independencia relativa de los nutrientes del suelo (en particular nitrógeno), también ha generado demandas fotosintéticas muy altas (Givnish *et al.*, 1984). Estas demandas están asociadas con los altos costos de producción de las trampas, glándulas y enzimas necesarias para la captura y digestión de las presas, así como con la reducción en la eficiencia fotosintética debida a la especialización de las hojas (Chapin y Pastor, 1994). En consecuencia, los costos asociados con la obtención de nutrientes son mayores para las plantas carnívoras que para las plantas que obtienen todo sus requerimien-

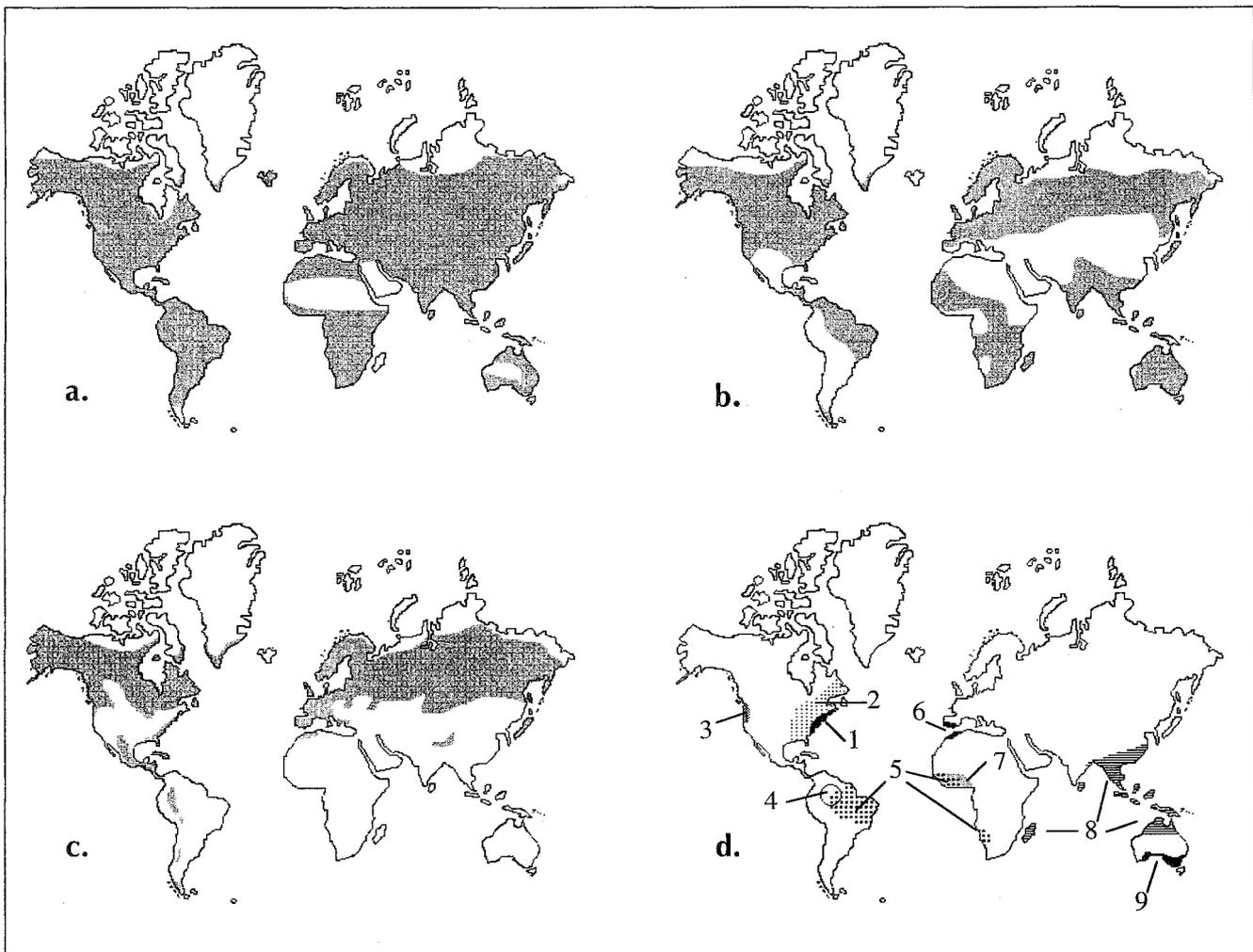


Figura 1. Patrones de distribución de algunos géneros y especies de plantas carnívoras. Los géneros *Utricularia* (a) y *Drosera* (b) presentan una distribución geográfica muy amplia, encontrándose bien representados en ambos hemisferios. La distribución del género *Pinguicula* (c) es principalmente septentrional. En contraste, algunos géneros de distribución más restringida son: *Dionaea* (1), *Sarracenia* (2), *Darlingtonia* (3), *Heliamphora* y *Brocchinia* (4), *Genlisea* (5), *Drosophyllum* (6), *Triphyophyllum* (7), *Nepenthes* (8) y *Polypompholyx* (9) (d). Modificado de Givnish (1989).

tos minerales a través de la raíz (Givnish *et al.*, 1984; Karlsson *et al.*, 1991). Esto genera que los beneficios derivados de la carnivoría sólo excedan a los costos en condiciones ecológicas muy particulares, es decir, en sitios donde la competencia con especies no carnívoras está muy relajada (sitios con suelos pobres en nutrientes, suelos ácidos, o tóxicos), y en los cuales la principal limitante al crecimiento de las plantas es el nitrógeno (*i.e.*, sitios con una buena disponibilidad de agua y luz). Es probable que la misma relación costo/beneficio que ha permitido la colonización de ambientes extremos, también haya restringido la evolución del hábito carnívoro más allá de especies herbáceas, perennes y pequeñas. Nosotros sugerimos que la baja eficiencia fotosintética asociada al hábito carnívoro no es suficiente para satisfacer los requerimientos de plantas de grandes dimensiones, leñosas, o con ciclos de vida cortos. Por ejemplo, es interesante notar que independientemente del nivel de la comparación, los órdenes (*i.e.*, Sarraceniales dentro del superorden Aristolochiales) las familias (*i.e.*, Lentibulariaceae dentro del orden Scrophulariales), y los géneros (*i.e.*, *Triphyophyllum*, dentro de la familia Dioncophyllaceae), en los que se presenta el hábito carnívoro tienden a tener las especies más pequeñas dentro del grupo. Obviamente, la validez de esta propuesta requiere de una exploración más profunda.

Mecanismos de atracción

Para que una planta pueda ser considerada como carnívora debe poseer una serie de atributos que le permitan atraer a sus presas, atraparlas, digerirlas y assimilarlas (Heslop-Harrison, 1978; Juniper *et al.*, 1989). En la naturaleza existen muchas especies de plantas que poseen alguno de estos rasgos. Por ejemplo, entre las angiospermas existe una amplia gama de atributos relacionados con la atracción de los polinizadores, tales como la presencia de recompensas (néctar y aceites), y la coloración de las flores (Stebbins, 1970; Faegri y Van der Pijl, 1971; Real, 1983; Stanton, 1987; Lovett Doust y Lovett Doust, 1988). Otras especies han desarrollado, durante su evolución, atributos que les permiten atrapar y matar insectos como parte de sus estrategias de defensa en contra de los herbívoros (Gilbert, 1971; Levin, 1973; Edwards y Wratten, 1980). Incluso, las hojas de algunas especies son capaces de realizar movimientos rápidos que reducen el riesgo de ser consumidas por herbívoros (Juniper *et al.*, 1989). Sin embargo, a pesar de que el origen de estos atributos no está asociado con la evolución del hábito carnívoro, es en este tipo de plantas en las únicas en las que la selección natural ha favorecido su ocurrencia simultánea.

El proceso de captura comienza con la atracción de las presas. Debido a la limitación de nutrientes propia de los sitios en los que crecen las plantas carnívoras, la selección natural favorecería a aquellos individuos que tuvieran la capacidad para atraer activamente a sus presas (Juniper *et al.*, 1989). Aunque se ha sugerido que varios atributos de las plantas carnívoras, como el color o el olor de las trampas, funcionan como atrayentes, aún no se ha demostrado que éstos influyen directamente sobre el comportamiento de los animales. Estos mecanismos de atracción son similares a los que se han desarrollado en las interacciones entre polinizadores y las flores. Sin embargo, en la polinización existe generalmente una correlación entre el mecanismo de atracción y la presencia de recompensas (Dobson, 1987; Galen, 1989; Real y Ratchke, 1991), mientras que en las plantas carnívoras sólo algunas especies (*i.e.*, *Sarracenia*, *Darlingtonia* y *Nepenthes*) utilizan recompensas (néctar) como mecanismo de atracción (Slack, 1979; Lüttge, 1983).

La gran mayoría de plantas carnívoras no ofrecen ninguna recompensa a sus presas, y estas son atraídas "aprovechando" las imágenes de búsqueda que se han desarrollado en los insectos a lo largo de su evolución con las flores. Por ejemplo, muchas especies de plantas con flores utilizan los patrones de reflexión de luz ultravioleta para guiar a los polinizadores hacia las recompensas florales (Waser y Price, 1985; Haslett, 1989). Algunas plantas carnívoras de géneros como *Drosera*, *Heliamphora*, *Brocchinia* y *Dionaea* presentan zonas de reflexión y de absorción de luz ultravioleta que utilizan para atraer a sus presas hacia las trampas (Glossner, 1992). En contraste, algunas plantas jarro (*i.e.*, *Sarracenia* y *Heliamphora*) presentan una venación rojiza en las trampas que conduce a los insectos hacia su interior (Fish y Hall, 1978; Schnell, 1976; Slack, 1979). Otras especies producen pequeñas gotas de agua con azúcar que al refractar la luz atraen a los polinizadores (Vogel, 1983). Este mecanismo también se presenta en plantas carnívoras, pero en este caso es utilizado para atraer a sus presas. Por ejemplo, las plantas del género *Pinguicula* poseen glándulas en la superficie foliar que producen gotas de mucílago pegajoso. La luz refractada por las gotas de mucílago podría atraer a las presas de manera similar a como lo hacen las gotas de azúcar con los polinizadores. Una vez que la presa es atraída hacia la trampa, las mismas gotas sirven para retenerla hasta que es digerida (Heslop-Harrison 1978, Lüttge, 1983). El mucílago entonces podría funcionar tanto como un mecanismo de atracción como de captura de presas.

Se ha sugerido que los estímulos olfativos también

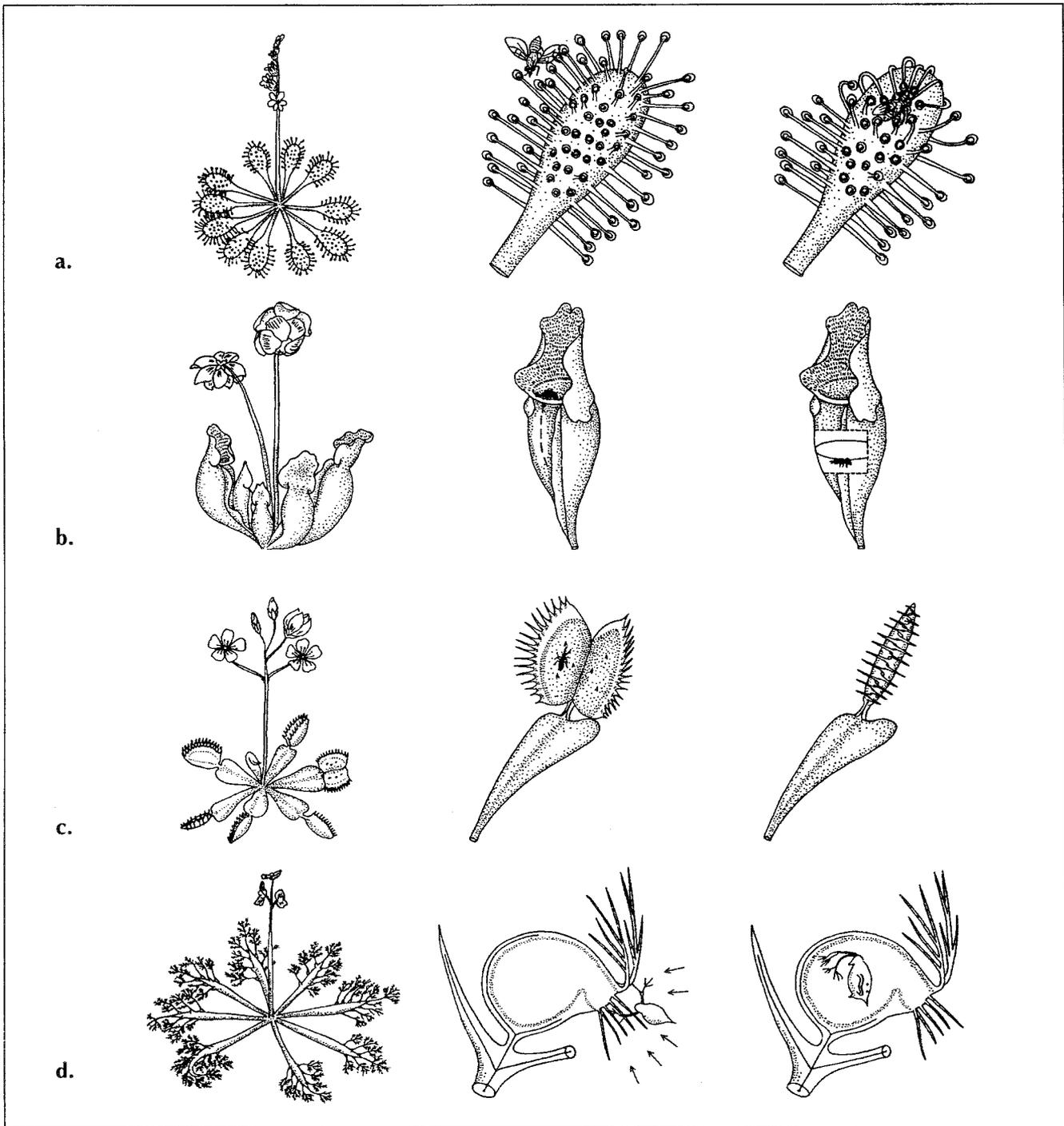


Figura 2. Existen dos sistemas pasivos de captura en las plantas carnívoras. En las trampas adhesivas, por ejemplo, las de las especies de *Drosera* (a), las presas son inmovilizadas por las gotas de mucílago presentes en las hojas. En las trampas con forma de jarro, como en *Sarracenia* sp. (b), la presa atraída mediante la presencia de néctar, cae al interior y es digerida por el líquido digestivo contenido en las trampas. Los sistemas de captura activos se caracterizan por la presencia de movimientos rápidos de las trampas inducidos por el contacto directo de la presa. Uno de los ejemplos más típicos de encierro activo se presenta en *Dionaea muscipula* (c). En este caso, cuando un insecto toca los tricomas sensitivos dispuestos en el interior de la trampa, ésta se cierra rápidamente evitando el escape de su presa. La captura por succión se presenta exclusivamente en plantas acuáticas como en *Utricularia* (d). Estas plantas presentan pequeñas trampas sumergidas (utrículos) que al ser estimuladas mediante el roce de pelos táctiles situados alrededor de la zona de apertura, abren rápidamente el opérculo succionando a sus presas. Modificado de Heslop-Harrison (1978).

podrían estar involucrados en el proceso de atracción de presas, sin embargo la evidencia es muy escasa (Miles *et al.*, 1975; Givnish 1989).

Sistemas de trampa

Los sistemas de trampa de las plantas carnívoras se han dividido en función de la presencia o ausencia de movimientos asociados con la captura de presas (figura 2). Los sistemas pasivos se caracterizan porque la captura no involucra ningún tipo de respuesta directa de la planta a la presencia de la presa. En esta categoría se encuentran las trampas adhesivas como las observadas en *Drosophyllum*, *Pinguicula* o *Drosera*, en las cuales los insectos quedan atrapados por el mucílago pegajoso que se produce en las hojas (figura 2a) (Heslop-Harrison, 1978; Lüttge, 1985). El otro tipo de trampas sin movimiento se conoce como de encierro pasivo y se presenta en especies como *Sarracenia* y *Nepenthes* (figura 2b). En estas especies las hojas se han modificado al grado que han formado verdaderos recipientes que pueden llegar a acumular hasta un litro de agua. Estas plantas, conocidas como jarrones, atraen a los insectos por medio de recompensas (néctar). Cuando la presa se posa en el borde de la trampa, resbala y cae al interior debido a que las paredes internas están lubricadas con ceras. Posteriormente, los compuestos nitrogenados provenientes de la digestión de las presas son incorporados a los tejidos de las plantas mediante procesos de transporte activo.

Por otra parte, los sistemas que presentan movimientos de las trampas se dividen en encierros activos y captura por succión. El encierro activo se presenta en plantas de los géneros *Dionaea* y *Aldrovanda*, las cuales han desarrollado mecanismos que les permiten cerrar sus trampas rápidamente al ser estimuladas por el contacto de las presas (Williams, 1980). Se ha observado que las trampas de *Dionaea muscipula* son activadas cuando se acciona alguno de los "gatillos" mecánicos que están situados sobre la superficie de las hojas (figura 2c) (Williams, 1980). En esta especie ha evolucionado un dispositivo que le permite discriminar entre los estímulos provocados por las presas y los que se deben a otros agentes. El cierre de la trampa es un fenómeno poco específico, ya que incluso las gotas de lluvia pueden activarla. En contraste, cuando se produce una estimulación química inducida por los compuestos proteicos de las presas capturadas, se observa un cierre definitivo de la trampa que se continúa con la producción de enzimas digestivas (Williams, 1980). Por lo tanto, cuando una trampa es disparada sin lograr una captura, este mecanismo minimiza el tiempo de

inactividad y evita los costos asociados con la producción de compuestos enzimáticos.

El otro tipo de trampas activas, las trampas por succión, se presentan únicamente en las especies de géneros como *Utricularia*, *Biovularia*, y *Polypompholyx* (figura 4d). Estas trampas están formadas por una pequeña cavidad, o utrículo, cerrada por un opérculo. Este sistema funciona manteniendo una diferencia de presiones entre el interior y el exterior de las trampas (Sydenham y Findlay, 1973). Cuando algún animal toca los pelos sensitivos ubicados cerca del opérculo, éste se abre rápidamente succionando a la presa. Este movimiento se realiza en un período no mayor a 30 milisegundos. El tipo de presas más frecuentemente capturadas por estas plantas son rotíferos y larvas de artrópodos (Lloyd, 1942).

Asimilación de las presas

Debido a que las trampas de las plantas carnívoras se encuentran generalmente expuestas al ambiente externo, y por lo tanto son susceptibles de ser colonizadas por microorganismos, originalmente se propuso que la digestión de las presas se realizaba por hongos y bacterias (Lüttge, 1985). Actualmente existe suficiente evidencia que demuestra que las plantas carnívoras tienen la capacidad de digerir y asimilar a sus presas por ellas mismas (Heslop-Harrison, 1978; Lüttge, 1985; Robins, 1976). Por ejemplo, se ha comprobado que las zonas de actividad enzimática digestiva coinciden siempre con la presencia de glándulas (Heslop-Harrison, 1978). En estudios con plantas del género *Nepenthes* se ha observado que la presencia de proteasas ocurre aún antes de la primera apertura del opérculo, es decir, antes de que las trampas pudieran haberse contaminado con microorganismos (Lüttge, 1985). En *Dionaea muscipula* se ha encontrado que las enzimas digestivas se producen únicamente después de la captura de una presa (Heslop-Harrison, 1978). Además, se ha observado que la aplicación experimental de compuestos nitrogenados, como el amoníaco y los ácidos úrico y glutámico, induce el cierre de las trampas, así como la producción de enzimas digestivas en esta especie. Este resultado sugiere que existe un alto grado de especificidad en los estímulos requeridos para "disparar" la actividad enzimática de las trampas (Robins, 1976; Williams, 1980).

El tiempo que tarda una planta en iniciar el proceso digestivo una vez que capturó a su presa varía entre las diferentes especies. Por ejemplo, en plantas de los géneros *Dionaea* y *Drosera* la máxima respuesta enzimática se alcanza hasta los 3 ó 4 días después de la captura (Scala *et al.*, 1969; Clancy y Coffey, 1977).

En contraste, las especies del género *Pinguicula* son capaces de iniciar la secreción de enzimas digestivas a los pocos minutos de haber capturado a una presa (Heslop-Harrison, 1978).

Valor de la captura de presas

Varios trabajos han mostrado que la captura de presas representa un beneficio real para las plantas carnívoras. Estos beneficios pueden expresarse en términos de incrementos en el crecimiento y el éxito reproductivo (Darwin, 1875; Aldenius *et al.*, 1983; Chandler y Anderson, 1976a; Karlsson *et al.*, 1991; Karlsson y Pate 1992). Los trabajos clásicos de Darwin (1875), así como los de Chandler y Anderson (1976a) y los de Aldenius *et al.* (1983), demostraron que la adición experimental de presas producía un incremento significativo en el peso seco de las plantas y en la producción de semillas. Por su parte, Dixon *et al.* (1980) encontraron que aproximadamente el 70% del nitrógeno contenido en los insectos puede ser asimilado por las plantas carnívoras. Gibson (1983) calculó que una sola trampa de *Sarracenia* puede capturar cerca del 16% del total de los recursos requeridos por una planta en una temporada de crecimiento. Asimismo, la escasez de asociaciones micorrízicas característica de las plantas carnívoras pero no exclusiva de éstas, ha sido otro argumento a favor del valor adaptativo de este hábito (Peyronel, 1932).

En contraste, existe evidencia experimental que ha mostrado que los individuos de especies como *Sarracenia*, *Nepenthes*, *Drosera*, *Dionaea* y *Utricularia*, son capaces de crecer y florecer normalmente sin necesidad de ningún aporte de nitrógeno de origen animal (Sorenson y Jackson, 1968; Daubenmire, 1974; Small *et al.*, 1977). Sin embargo, debido a que estos estudios se realizaron en condiciones de laboratorio, la heterogeneidad ambiental y las interacciones con otras especies fueron excluidas, por lo que los resultados de estos trabajos deberían ser interpretados con cautela (véase Juniper *et al.*, 1989).

En resumen, la evidencia disponible sugiere que la adición de presas tiene consecuencias sobre el crecimiento y el éxito reproductivo de las plantas (Darwin, 1875; Chandler y Anderson, 1976a; Aldenius *et al.*, 1983; Dixon *et al.*, 1980; Karlsson *et al.*, 1991; Karlsson y Pate, 1992). Sin embargo, no existen trabajos enfocados a explorar el valor adaptativo de la captura en condiciones naturales. Para ello sería necesario determinar si existen diferencias a nivel individual en el éxito en la captura de presas, si estas diferencias están asociadas con la variación fenotípica de las plantas, y si ambas se relacionan con la adecuación (ver Endler, 1986). Al respecto, hemos encontrado

que en *Pinguicula moranensis* la variación en el número de presas capturadas por individuo durante una temporada de crecimiento puede ir desde cero hasta 280 (R. E. Alcalá y C. A. Domínguez, datos no publicados) y que estas diferencias en la habilidad para capturar presas se traducen en diferencias en la producción individual de frutos. Además, el éxito en la captura de presas en estas plantas depende tanto de la variación en el área de la roseta, como de la variación en la densidad de las glándulas de captura presentes en la superficie de las hojas. Existen trabajos que han evaluado la variación en el éxito en la captura entre diferentes poblaciones, o en relación con los atributos de las plantas en condiciones naturales (Dixon *et al.*, 1980; Wolfe, 1981; Karlsson *et al.*, 1987; Jaffe *et al.*, 1992; Antor y García, 1994; Zamora, 1995), pero éstos han utilizado un enfoque puramente descriptivo y no han establecido su relación con la adecuación de las plantas.

Restricciones al hábito carnívoro

Considerando que la carnivoría se ha interpretado como una adaptación para sobrevivir en ambientes pobres, cabría preguntarse (*cf.* Benzing 1987) por qué solamente unas 500 de las 250 mil especies de angiospermas presentan el hábito carnívoro. Probablemente este hecho no se debe a la rareza de sitios con suelos pobres en nutrimentos, y tal vez podría ser el resultado de la relación entre los costos y los beneficios asociados con el hábito carnívoro. Debido a que los mecanismos de trampa y los procesos enzimáticos involucrados en la digestión de las presas son muy costosos, y a que estos costos son en su mayoría sufragados por los productos de la fotosíntesis, Givnish *et al.* (1984) predijeron que en ambientes pobres en luz o agua el hábito carnívoro estaría fuertemente limitado. En otras palabras, los ambientes favorables para las plantas carnívoras serían no sólo aquellos con suelos pobres en recursos minerales, sino además sitios bien iluminados y húmedos, al menos durante la temporada de crecimiento. Estas restricciones ambientales reducirían fuertemente la probabilidad de que las plantas carnívoras colonizaran con éxito otros sitios, ya que en ambientes desfavorables los costos asociados con el hábito carnívoro superarían a los beneficios (Givnish *et al.*, 1984). Por ejemplo, se ha mostrado experimentalmente que el crecimiento de plantas de *Drosera whittakeri* depende más de condiciones lumínicas adecuadas que del aporte de presas (Chandler y Anderson, 1976b). Las plantas que fueron alimentadas con presas pero sujetas a condiciones lumínicas deficientes, crecieron 77% menos que las plantas que se desarrollaron en buena situación lumínica y

no fueron suplementadas con insectos. Asimismo, cuando las condiciones lumínicas son desfavorables, algunas especies de *Nepenthes*, *Dionaea* y *Heliamphora* producen trampas más pequeñas (Slack, 1979; Jaffe, *et al.*, 1992).

A partir de trabajos en los que se han controlado los niveles de fertilización del suelo y el aporte de presas (Aldenius *et al.*, 1983; Chandler y Anderson, 1976a), se ha establecido que el mayor beneficio asociado al hábito carnívoro se presenta en sitios con escasez de nutrimentos en el suelo. Por tanto, el valor de la captura de presas debería disminuir en función del incremento en la cantidad de nutrimentos disponibles, particularmente nitrógeno (Givnish *et al.*, 1984). La evidencia reciente sugiere que la validez de esta hipótesis no es tan general, ya que el valor de la captura de presas depende de la característica usada para evaluar el desempeño de las plantas y de la especie de planta carnívora estudiada (Karlsson *et al.*, 1991; Chapin y Pastor, 1994).

Además de los costos fotosintéticos, existen otros factores que no han sido considerados y que pueden modificar la relación costo/beneficio de la carnivoría. Las interacciones con otras especies pueden incrementar el costo de la captura, ya que, por ejemplo, cerca del 50% de las capturas realizadas por algunas especies de *Pinguicula* pueden ser robadas por hormigas (Zamora, 1990b).

Por otra parte, la maquinaria enzimática asociada a la carnivoría podría tener otras funciones y proporcionar ventajas adicionales a las plantas. Entre estas ventajas se podría mencionar la reducción en los niveles de herbivorismo (Givnish, 1989), como en el caso de *Pinguicula moranensis*, una especie que produce mucílago para capturar presas, en la cual el daño por herbívoros o patógenos tiende a ser muy bajo (R. Alcalá, obs. personal). Otra ventaja asociada con la producción de enzimas digestivas es la capacidad para asimilar sustancias vegetales como el polen, o los restos de otras plantas, que accidentalmente caen en las trampas (Harder y Zemlin, 1968). Tales ventajas podrían reducir los costos de fabricación y mantenimiento de la maquinaria enzimática y producir un balance más favorable para las plantas.

Biología reproductiva de las plantas carnívoras

Se ha sugerido que las primeras presas de las plantas carnívoras pudieron ser sus propios polinizadores (Juniper *et al.*, 1989; Glossner, 1992). A pesar de la importancia evolutiva de esta hipótesis existe un vacío de conocimiento con respecto a la biología de la reproducción de este tipo de especies. Como mencionamos anteriormente, muchos de los mecanismos

que utilizan las plantas carnívoras para atraer a sus presas evolucionaron originalmente como resultado de la interacción entre las plantas y sus polinizadores. Probablemente la evolución del hábito carnívoro supuso la adquisición de la maquinaria necesaria para la captura y asimilación de las presas, y tomó ventaja de los atributos encargados de la atracción de los polinizadores. Este hecho debió haber generado un conflicto entre el beneficio obtenido por la captura, y el costo asociado con la pérdida en la recepción y donación de polen. De esta manera, la evolución de la carnivoría podría haber tenido una influencia directa en la evolución de los atributos relacionados con el sistema reproductivo de estas plantas. Es interesante notar que algunas de las características de los sistemas reproductivos de las plantas carnívoras son consistentes con esta hipótesis. Se ha demostrado que en muchas plantas carnívoras la composición del gremio de polinizadores es diferente del de las presas (Givnish, 1989). En la mayoría de los casos, la diferencia es una cuestión del tamaño relativo de los polinizadores y las presas. Por ejemplo, el tamaño promedio de las presas de *Pinguicula nevadense* es tan sólo de algunos milímetros. Debido a que las trampas no pueden retener animales que excedan cierto tamaño, los polinizadores tienen una probabilidad muy baja de ser atrapados (Zamora, 1990a). Otras especies han resuelto el problema separando los órganos reproductores de los atributos de captura. Es común, por ejemplo, que la producción de flores se realice sobre escapos alejados de las trampas (Juniper *et al.*, 1989), o que la época reproductiva esté desfasada de la temporada de captura (Shetler, 1974).

Sería interesante realizar estudios comparativos en los que se contrastaran los atributos reproductivos de las plantas carnívoras con los de otras especies emparentadas con ellas. Asimismo, estudios detallados en el campo ayudarían a entender la dinámica selectiva que opera sobre los atributos relacionados con la reproducción y la captura de presas.

Comentarios finales

Las fascinantes características que distinguen a las plantas carnívoras, como su extremada rareza expresada en términos de su bajo número de especies, y las elaboradas adaptaciones que les permiten consumir pequeñas presas, han despertado un enorme interés entre los estudiosos de la botánica. Este interés se refleja en la gran cantidad de estudios que han abordado diferentes aspectos de la biología de estas especies. No obstante, la mayoría de los trabajos se han enfocado a los aspectos descriptivos de los mecanismos de captura y asimilación de las presas. En

particular, la pregunta de cómo se originó el hábito carnívoro ha generado una gran cantidad de hipótesis, que en su mayoría no han sido evaluadas. Los géneros *Brocchinia* y *Catopsis* podrían ser de gran utilidad para entender el origen evolutivo del hábito carnívoro, ya que aunque la mayoría de las especies que los componen no son carnívoras, algunas han desarrollado esta habilidad. También existe un grupo de hipótesis acerca de cuáles son las presiones selectivas que mantienen el hábito carnívoro, sin embargo estas hipótesis necesitan ser validadas a la luz de estudios de campo y de estudios comparativos. Los estudios de campo deberían enfocarse a explorar el valor adaptativo del hábito carnívoro en condiciones naturales, así como a indagar cómo opera la selección natural sobre los atributos relacionados con este hábito. Por otra parte, el enfoque comparativo permitiría tomar en cuenta los aspectos históricos que han operado en la evolución de estas especies y sería, por lo tanto, un complemento para los estudios ecológicos.

Agradecimientos

Agradecemos los comentarios realizados por Rodolfo Dirzo, Ken Oyama, y un revisor anónimo, a una versión previa de este manuscrito. Este trabajo fue financiado parcialmente por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología a través de una beca de posgrado otorgada a R. E. Alcalá.

Literatura citada

- Albert V.A., Williams S.E., Chase M.W. 1992. Carnivorous plants: phylogeny and structural evolution. *Science* 257:1491-1495.
- Aldenius J., Carlsson B., Karlsson B. 1983. Effects of insect trapping on growth and nutrient content of *Pinguicula vulgaris* L. in relation of the substrate. *New Phytologist* 93:53-59.
- Antor R.J., Grace M.B. 1994. Prey capture by a carnivorous plant with hanging adhesive traps: *Pinguicula longifolia*. *The American Midland Naturalist* 131:128-135.
- Benzing D.H. 1987. The origin and rarity of botanical carnivory. *Tree* 2:364-369.
- Chandler G.E., Anderson J.W. 1976a. Uptake and metabolism of insect metabolites by leaves and tentacles of *Drosera* species. *New Phytologist* 77:625-634.
- Chandler G.E., Anderson J.W. 1976b. Studies on the nutrition and growth of *Drosera* species with reference to the carnivorous habit. *New Phytologist* 76:129-141.
- Chapin C.T., Pastor J. 1994. Nutrient limitations in the northern pitcher plant *Sarracenia purpurea*. *Canadian Journal of Botany* 73:728-734.
- Clancy F.G.A., Coffey M.D. 1977. Acid phosphatase and protease release by the insectivorous plant *Drosera rotundifolia*. *Canadian Journal of Botany* 56:480-488.
- Darwin C. 1875. *Insectivorous Plants*. John Murray, London.
- Daubenmire R.F. 1974. *Plants Environment*. A Text Book of Autoecology. John Wiley, New York.
- Dixon K.W., Pate J.S., Bailey W.J. 1980. Nitrogen nutrition of the tuberous sundew *Drosera erythrorhiza* Lindl. with special reference to the catch of arthropoda fauna by its glandular leaves. *Australian Journal of Botany* 28:283-297.
- Dobson H.E.M. 1987. Role of flower and pollen aromas in host-plant recognition by solitary bees. *Oecologia* 72:618-623.
- Dodonaeus R. 1554. *Cruydt-Boeck* (Ed. van Ravelingen, J.), Leyden.
- Edwards P.J., Wratten S.D. 1980. *Ecology of Insect-Plant Interactions*. Edward Arnold, London.
- Endler J.A. 1986. *Natural selection in the wild*. Princeton University Press.
- Faegri K., van der Pijl L. 1971. *The Principles of Pollination Biology*. Pergamon press, Oxford, 2nd. Ed.
- Fish D., Hall D.W. 1978. Succession and stratification of aquatic insects inhabiting the leaves of the insectivorous pitcher plant, *Sarracenia purpurea*. *The American Midland Naturalist* 99:172-183.
- Galen C. 1989. Measuring pollinator-mediated selection on morphometric floral traits: bumblebees and the alpine sky pilot, *Polemonium viscosum*. *Evolution* 43:882-890.
- Gibson T.C. 1983. Competition, disturbance and the carnivorous plant community in south eastern. U.S. Ph.D. Thesis. Dept. of Biology, University of Utah. Citado en Juniper B.E., Robins R.J., Joel D.M. *The Carnivorous Plants*. Academic Press. Great Britain.
- Gilbert L.E. 1971. Butterfly-plant coevolution: Has *Passiflora* won the selectional race with Heliconiine butterflies? *Science* 172:585-586.
- Givnish T.J., Burkhardt E.L., Happel R.E., Weintraub J.D. 1984. Carnivory in the bromeliad *Brocchinia reducta*, with a cost/benefit model for the general restriction of carnivorous to sunny, moist, nutrient-poor habitats. *The American Naturalist* 124:479-497.
- Givnish T.J. 1989. Ecology and evolution of carnivorous plants. En Abrahamson, W.G (Ed.). *Plant Animal Interactions*. McGraw-Hill Book Company, USA.
- Glossner F. 1992. Ultraviolet patterns in the traps and flowers of some carnivorous plants. *Bot. Jahrb. Syst.* 113:577-587.
- Gould S.J. y Vrba E.S. 1982. Exaptation - a missing term in the science of form. *Paleobiology* 8:4-15.
- Harder R., Zemlin I. 1968. Flowering of *Pinguicula lusitanica* in vitro cultures after feeding with pollen. *Planta* 78:72-78.
- Harvey P.H., Pagel M.D. 1991. *The Comparative Method in Evolutionary Biology*. Oxford Series in Ecology and Evolution. Oxford University Press.
- Haslett J.R. 1989. Interpreting patterns of resource utili-

- zation: randomness and selectivity in pollen feeding by adult hoverflies. *Oecologia* **78**:433-442.
- Heslop-Harrison Y. 1978. Carnivorous Plants. *Scientific American*, February, 104-115.
- Jaffe K., Michelangeli F., González J.M., Miras B., Ruiz M.C. 1992. Carnivory in pitcher plants of the genus *Heliamphora* (Sarraceniaceae). *New Phytologist* **122**:733-744.
- Juniper B.E., Robins R.J., Joel D.M. 1989. *The Carnivorous Plants*. Academic Press. Great Britain.
- Karlsson P.S., Nordell K.O., Eirefelt S., Svensson A. 1987. Trapping efficiency of three carnivorous *Pinguicula* species. *Oecologia* **73**:518-521.
- Karlsson P.S., Nordell K.O., Carlsson B.A., Svensson B.M. 1991. The effect of soil nutrient status on prey utilization in four carnivorous plants. *Oecologia* **86**:1-7.
- Karlsson P.S., Pate J.S. 1992. Contrasting effects of supplementary feeding on insects or mineral nutrients on the growth and nitrogen and phosphorous economy of pygmy species of *Drosera*. *Oecologia* **92**:8-13.
- Levin D.A. 1973. The role of trichomes in plant defense. *Quarterly Review of Biology* **48**:3-15.
- Lloyd F.E. 1942. *Carnivorous Plants*. Waltham, Mass. Chronica Botanica.
- Lovett Doust J., Lovett Doust L. 1988. *Plant Reproductive Ecology. Patterns and Strategies*. Oxford University Press.
- Lüttge U. 1983. Ecophysiology of carnivorous plants. En: Lange O.L., Nobel P.S., Osmond C.B., Zeigler H. (Eds.), *Encyclopaedia of Plant Physiology*, Vol. 12 C. (Physiological Plant Ecology III). Springer-Verlag, Berlin.
- Lüttge U. 1985. Les plants carnivores (The carnivorous plants). *La Recherche* **16**:1302-1313.
- Miles D.H., Kokpol U., Mody N.V. 1975. Volatiles in *Sarracenia flava*. *Phytochemistry* **14**:845-846.
- Olvera M. 1996. El género *Utricularia* (Lentibulariaceae) en México. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México* **67**(2):347-384.
- Peyronel B. 1932. The absence of mycorrhiza amongst carnivorous and hemiparasitic plants and its probable significance. *Bolletino Sezione Haliana Societa Internazionale di Microbiologia* **4**:483-486.
- Proctor J., Woodell S.R.J. 1975. The ecology of serpentine soils. *Advances in Ecological Research* **9**:256-385.
- Real L. 1983. *Pollination Biology*. Academic Press. London.
- Real L., Ratchke B.J. 1991. Individual variation in nectar production and its effect on fitness in *Kalmia latifolia*. *Ecology* **72**:149-155.
- Robins R.J. 1976. The nature of the stimuli causing digestive juice in *Dionaea muscipula* Ellis (Venus's flytrap). *Planta* **128**:263-265.
- Scala J., Lott D.W., Semersky F.E. 1969. Digestive secretion of *Dionaea muscipula* (Venus's Flytrap). *Plant Physiology* **44**:367-371.
- Schnell D.E. 1976. *Carnivorous Plants of the United States and Canada*. John F. Blair Publisher. Winston, Salem, N. Carolina.
- Shetler S.G. 1974. Sarraceniaceae. *Encyclopaedia Britannica* 15th Ed.
- Simons P. 1981. How exclusive are carnivorous plants? *Carnivorous Plants Newsletter* **10**:65-68.
- Slack A. 1979. *Carnivorous Plants*. MIT Press. Cambridge Mass.
- Small J.G.C., Onraet A., Grierson D.S., Reynolds G. 1977. Studies on insect-free growth, development and nitrate-assimilating enzymes of *Drosera aliciae* Hamet. *New Phytologist* **79**:127-134.
- Sorenson D.R., Jackson W.T. 1968. The utilization of *Paramecia* by the carnivorous plant *Utricularia gibba*. *Planta* **83**:166-170.
- Speirs D.C. 1981. The evolution of carnivorous plants. *Carnivorous Plants Newsletter* **10**:62-65.
- Stanton M.L. 1987. Reproductive biology of petal color variants in wild population of *Raphanus sativus*: I. Pollinator response to color morphs. *American Journal of Botany* **74**:178-187.
- Stebbins G.L. 1970. Adaptive radiation in angiosperms. I. Pollination mechanisms. *Ann. Rev. of Ecol. Syst.* **1**:307-376.
- Sydenham P.H., Findlay G.P. 1973. The rapid movement of the bladder of *Utricularia* sp. *Australian Journal of Biological Sciences* **26**:1115-1126.
- Thompson J.N. 1981. Reversed animal-plant interactions: the evolution of insectivorous and ant-fed plants. *Biological Journal of the Linnean Society* **16**:147-155.
- Vogel S. 1983. Ecophysiology of zoophilic pollination. En Lange O.L., Nobel P.S., Osmond C.B., Zeigler H. (Eds.), *Encyclopaedia of Plant Physiology*, Vol. 12 C. (Responses to the chemical and biological environment). Springer-Verlag, Berlin.
- Waser N.M., Price M.V. 1985. The effect of nectar guides on pollinator preference: Experimental studies with a montane herb. *Oecologia* **67**:121-126.
- Williams S.E. 1980. How Venus' flytraps catch spiders and ants. *Carnivorous Plant Newsletter* **9**:65-79
- Wolfe L.M. 1981. Feeding behavior of a plant: Differential prey capture in old and new leaves of the pitcher plant (*Sarracenia purpurea*). *The American Midland Naturalist* **106**:352-359.
- Zamora R. 1990a. The feeding ecology of a carnivorous plant (*Pinguicula nevadense*). Prey analysis and capture constraint. *Oecologia* **84**:376-379.
- Zamora R. 1990b. Observational and experimental study of a carnivorous plant-ant kleptobiotic interaction. *Oikos* **59**:368-372.
- Zamora R. 1995. The trapping success of a carnivorous plant, *Pinguicula vallisnerifolia*: the cumulative effects of availability, attraction, retention and robbery of prey. *Oikos* **73**:309-322.
- Zamudio S. 1993. *Conferencia Primera Reunión Académica Anual*, Instituto de Ecología A.C. (manuscrito).

Capítulo II

**Patrones de captura y disponibilidad de presas en poblaciones de la
planta carnívora *Pinguicula moranensis* (Lentibulariaceae) en un
gradiente ambiental**

Artículo publicado en *American Journal of Botany*

PATTERNS OF PREY CAPTURE AND PREY AVAILABILITY AMONG POPULATIONS OF THE CARNIVOROUS PLANT *PINGUICULA MORANENSIS* (LENTIBULARIACEAE) ALONG AN ENVIRONMENTAL GRADIENT¹

RAÚL E. ALCALÁ² AND CÉSAR A. DOMÍNGUEZ^{2,3,4}

²Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, UNAM, A.P. 70-275, CP 04510, México, DF, Mexico; and ³Department of Ecology and Evolutionary Biology, University of California-Irvine, Irvine, California 92697-2525 USA

In this study we explored the effect of the physical environment and the availability of prey (biomass and taxonomic composition) on the patterns of prey capture and reproduction on five populations of *Pinguicula moranensis* (Lentibulariaceae) in areas ranging from pine–oak forests to desert scrublands. Environmental variation was summarized using principal factor analysis. Prey availability and prey capture increased toward the shadiest, most humid, and fertile population. The probability of reproduction and average bud production per population did not follow the same tendency because both fitness components peaked at the middle of the environmental gradient. These results suggest that the benefits derived from carnivory are maximized at sites fulfilling a trade-off between light, moisture, and prey availability. We also found that the taxonomic composition of both the available prey and that of the prey captured by plants varied among populations. The results also indicated that the prey captured by plants are not a random sample of prey available within populations. Overall, the results from this study revealed a marked amount of heterogeneity in the physical and biotic environment among the populations of *P. moranensis*, which has the potential to affect the outcome of the interaction between this carnivorous species and its prey.

Key words: carnivorous habit; environmental heterogeneity; insectivorous plants; Lentibulariaceae; *Pinguicula*.

Carnivorous plants, a conspicuous group of species characterized by their ability to obtain nutrients through the capture of animal prey (Lloyd, 1942; Thompson, 1981; Benzing, 1987), have attracted the attention of biologists interested in the study of plant–animal interactions ever since Darwin (1875). The evolutionary changes associated with the origin of carnivory involve modifications in the morphology, anatomy, and physiology of leaves that allow them to digest animal tissues. These changes generally have been accompanied by a reduction in the ability of roots to take nutrients from the soil (Lüttge, 1983; Givnish et al., 1984; Juniper et al., 1989; Adamc, 1997). Several studies have shown that carnivory may provide plants with a substantial amount of the mineral nutrients they require (Dixon et al., 1980; Schulze et al., 1991; Karlsson and Pate, 1992; Karlsson et al., 1994; Schulze et al., 1997; Ellison and Gotelli, 2001). Acquisition of nitrogen derived from prey capture also translates into higher survival, growth, and reproduction of carnivorous plants (Thum, 1988; Gibson, 1991; Zamora et al., 1997, 1998; Thoren and Karlsson, 1998).

Because carnivorous plants usually occur in sites with nutrient scarcity, carnivory has been considered an adaptation to colonize nutrient-poor environments (Lüttge, 1983; Juniper et al., 1989; Ellison and Gotelli, 2001). The nitrogen obtained through prey capture must compensate not only for nutrient

scarcity, but pay for the maintenance of traps and the costs associated with the digestion of animal tissues (Givnish et al., 1984; Benzing, 1987). Givnish et al. (1984) proposed that the maximum benefit of carnivory could only be achieved in wet, sunny habitats, where nutrient availability is the only factor limiting photosynthesis. Such a hypothesis assumes that different populations of carnivorous plants may be exposed to contrasting environments and make no predictions about the variation in prey availability. It is well known, however, that local insect abundance (the major prey of carnivorous plants) may vary strikingly from place to place and from one season to another (Karlsson et al., 1994; Zamora, 1995; Zamora et al., 1998). Thus, in addition to the limitations of the physical environment, populations of carnivorous plants may be exposed to contrasting availabilities of prey and to different prey communities. The interaction between these two sources of environmental variation may produce a complex ecological scenario that has the potential to affect the selective pressures operating on the evolution of carnivory.

In accordance, in this study we characterized the physical (i.e., light, water, nitrogen availability) and the biotic (prey availability) environmental variation in five populations of the carnivorous plant *Pinguicula moranensis* var. *neovolcanica* (Lentibulariaceae). We then determined the relationship between environmental heterogeneity and the patterns of prey capture among populations and evaluated the effect of these variables on two fitness components: the probability of reproduction and bud production.

MATERIALS AND METHODS

Plant species—*Pinguicula moranensis* var. *neovolcanica* (Zamudio) (*P. moranensis*, hereafter) is a prostrate rosette-forming perennial herb that captures and consumes small animals as a source of mineral nutrients. During the dry season (October–April), plants of this species aestivate by producing a resistance rosette composed of minute glandless leaves. Once the first rains

¹ Manuscript received 21 January 2003; revision accepted 17 April 2003.

The authors thank Arturo Galicia, Raúl Iván Martínez, Rubén Pérez Ishi-wara for field assistance and logistic support. Aaron M. Ellison, Juan Fornoni, Rodolfo Dirzo, Juan Núñez-Farfán, Regino Zamora, and an anonymous reviewer made valuable comments on early drafts of the manuscript. This paper was written in partial fulfillment of the requirements for the PhD degree of R.E.A. at the Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). This study was supported by a PhD grant from CONACYT to R.E.A. and by a sabbatical fellowship to C.A.D. by CONACYT and UNAM.

⁴ Author for reprint requests (e-mail: tejada@servidor.unam.mx).



Fig. 1. Locations of the five studied populations of *Pinguicula moranensis* from central Mexico. T1 (Tepoztlán 1) and T2 (Tepoztlán 2) are located in the Sierra de Tepoztlán, in Morelos State, while LC (Lázaro Cárdenas), VAL (Valsequillo), and MOL (Molcajac) are in the state of Puebla.

begin (middle May), *P. moranensis* produces a capture rosette composed of 6–8 sticky leaves 35–95 mm in length (Zamudio, 1999). Like other species in this genus, the leaves of the capture rosette possess capture (stalked) and digestive (sessile) glands on their surface (Heslop-Harrison and Knox, 1971; Heslop-Harrison and Heslop-Harrison, 1980). The sticky mucilage secreted by capture glands retains prey that land on the surface of the leaf, and once the animals are trapped, the sessile glands digest them. The flowering season of this species occurs from June to August with a flowering peak in July. The hermaphroditic, purple flowers last for 8–10 d and are pollinated by small butterflies. Fertilized fruits ripen from July to September, producing hundreds of small wind-dispersed seeds. An embryological study of *P. moranensis* showed that the differentiation of floral buds and anthesis occur in the same reproductive season (S. Espinosa, Faculty of Sciences, UNAM, personal communication), suggesting that this species behaves as an income breeder in the sense of Thorén and Karlsson (1998).

Study sites—Five populations of *P. moranensis* from central Mexico were chosen for this study, two from the state of Morelos and three from the state of Puebla (Fig. 1). The climate, substrate, and type of vegetation differ among the selected populations and include all the range of habitats and environmental conditions this species is exposed to in its area of distribution (Zamudio, 1999). Populations from Morelos were located within a pine-oak forest in the mountain range of Sierra de Tepoztlán (hereafter T1 and T2). The distance separating T1 and T2, which are both established on vertical sandstone cliffs, is about 100 m in a straight line. Populations from Puebla are established in a variety of environmental settings. The Lázaro Cárdenas population (LC) is located within an oak forest preserve near the city of Puebla. Plants of this population grow on the ground of an almost bare clay substrate. The fourth population is established in basaltic walls within a disturbed tropical dry forest, which is located around the Valsequillo Dam (VAL). Finally, plants from the Molcajac population (MOL) grow on small walls of limestone produced by water erosion. The area is a tropical arid scrub dominated by xerophytic vegetation. A detailed description of the climate and vegetation types can be found in Rzedowski (1981).

Data collection—Environmental variation—To characterize quantitatively the physical variation among populations, we measured light availability, air temperature, soil water content, and soil fertility for 1 wk in the middle of the growing season (July). Photosynthetic active radiation (PAR) and air temperature were recorded using quantum (LI-190SA) and temperature (LI-COR 1400-101) sensors connected to a data logger (Licor L-1000, Li-Cor, Lincoln, Nebraska, USA). Measurements were taken by sensors placed above the rosette of each individual plant between 1000 and 1400 on clear sunny days. The sampling order for each plant in a given population was randomly assigned. Once all the plants within a population were measured, we repeated the entire procedure until we completed five measurements for each plant. The five measurements of each variable were averaged for each individual and used in the analyses. For each population, we collected between 10 and 30 25-g samples of the substrate on which *P. moranensis* was growing. Samples were maintained in sealed plastic bags and weighed to the nearest 0.01 g to obtain fresh mass. Dry mass was then obtained by oven-drying the samples. Soil humidity was estimated for each sample by comparing of wet and dry soil mass. Because fertility analyses require a minimum of 100 g of soil, we pooled 4–5 samples thus rendering four replicates per population. Soil fertility was estimated by quantifying total nitrogen, phosphorus, and potassium (as parts per million) using Kjeldahl's method.

Patterns of prey capture and prey availability—To characterize taxonomically the composition of the diet of *P. moranensis*, as well as the among-population differences in the average amount of prey captured, we made monthly censuses of the animals captured by almost all the plants from each population ($N = 21$ in T1, $N = 60$ in T2, $N = 80$ in LC, $N = 80$ in VAL, and $N = 70$ in MOL). Although monthly censuses may underestimate the amount of prey captured by plants if some prey are completely digested before the next sampling, this method allows us to compare the patterns of prey capture among populations. Censuses started at the beginning of the growing season (May) of 1994 and finished in August (1994) when most plants were producing the resistance rosette. In each census, the number and taxonomic identity (order or higher) of the prey captured by each plant were recorded. All trapped prey were left on the plants. Because prey of *P. moranensis* belong to many taxa of different sizes, the number of trapped individuals is not a good descriptor of the amount of resources gained by each plant. Thus, prey capture for each plant was expressed in terms of dry mass. The average mass of the different animals this species consumes was estimated by collecting between 20 and 50 individuals of each taxon from unmarked plants. In all cases, we took care when collecting recently trapped animals to avoid mistakes in estimates of mass from partially digested prey. All samples were oven dried for 7 d at 40°C and weighed individually to the nearest 0.005 mg (Cahn model 4700 Electrobalance, Cahn Instruments, Cerritos, California, USA). These values were then used to calculate the average mass of each taxon (k) individual (AM_k). The total amount of dry mass captured by each plant during the growing season was estimated as $\sum_{k=1}^n N_k \times AM_k$, where N_k is the total number of prey of the k taxon captured by a given individual, and n is the number of taxa captured for all plants. Given that plant size (rosette area) is highly variable among the different individuals and that this attribute is probably associated with capture success, dry mass was standardized by the area of the rosette for each individual (in milligrams per square centimeter). In the middle of the growing season, all plants were filmed with a portable camera (Canon LP1, Canon, Tokyo, Japan), and rosette areas were estimated from the images using the Morphosys program (Meacham and Duncan, 1989) following the procedures described in Domínguez et al. (1998).

The availability of prey in each population was estimated by means of artificial traps. Traps consisted of cardboard rectangles (8×10 cm) coated with an odorless glue (Tanglefoot, The Tanglefoot Company, Grand Rapids, Michigan, USA). Although Tanglefoot has a stronger adhesive power than plants, our method allowed us to estimate the availability of potential prey. Twenty traps were randomly placed in each population in the middle of the growing season (late July to early August) of 1994, when prey capture was previously observed to peak. All traps were placed directly on the substrate in a horizontal position and remained in the field for 1 wk, after which they were collected and the number and taxonomic identity of trapped animals

were recorded. Data on the amount of biomass caught by artificial traps were expressed as milligrams per square centimeter using the same procedure for calculating the total biomass capture by plants (described earlier).

Reproductive responses—The reproductive responses of *P. moranensis* to its different environments were evaluated by measuring the probability of reproduction (proportion of reproductive plants per population) and the number of floral buds produced by each plant in every population. We used flower buds as a measure of the reproductive response of plants to environmental heterogeneity, because in doing so we avoided the variability brought about by possible differences in pollinator activity and composition among populations. Given that *P. moranensis* produces only one flower per stalk, bud production on every plant could be tallied in detail. Because we made monthly censuses of all plants in every population (see earlier), the presence of developing floral buds was annotated, and stalks were tagged with small plastic bands.

Data analyses—Environmental variation—Because environmental variables may be correlated, environmental variation among populations was analyzed by means of multivariate methods. Overall differences among populations were evaluated by means of a multivariate analysis of variance (PROC GLM, SAS, 1989). To summarize environmental differences among populations, a principal factor analysis was performed (PROC FACTOR, SAS, 1989). Principal factors were extracted through the maximum-likelihood method, and the number of factors to be retained was determined with a chi-square test. To maximize the amount of variance explained by the retained factors, the factors were rotated following the varimax method (Reyment and Jöreskog, 1993). Finally, once principal factors were rotated, factor scores were calculated using the PROC SCORE in SAS (1989), and these scores were used as comprehensive descriptors of environmental variation among populations.

Patterns of prey capture and prey availability—The among-populations differences in the relative abundance of prey from different taxa were compared separately for plants and traps using chi-square tests. For these analyses, taxonomic groups of prey with low relative abundance were pooled into one category (Sokal and Rohlf, 1995). To compare the composition of the prey captured with the availability of prey from different taxa in each population, we performed a series of goodness-of-fit analyses (log-likelihood G test; Sokal and Rohlf, 1995). The expected number of prey from taxon i captured in population j was estimated as the product $Ne_{ij} = \phi_{ij} \times NP_j$, where ϕ_{ij} is the probability of capturing an individual of taxon i in population j ($\phi_{ij} = NC_{ij} / NT_j$, where NC_{ij} = number of individuals from taxon i caught by the adhesive traps in population j , and NT_j = total number of captures by adhesive traps in population j), and NP_j = total number of prey captured by plants in population j . Each population was independently analyzed.

Environmental variation, prey availability, prey capture, and reproductive responses—We explored whether prey availability, prey capture, and bud production differ among populations and if they were related to environmental variation. Because each population contains several nonindependent observations (plants within populations), a series of regression models with replicates were performed (regression with more than one value of y for each x , Sokal and Rohlf, 1995). This method avoids the overestimation of the degrees of freedom brought about by the several measures of individual plants in each population and allows for the estimation of both the categorical (populations) and the continuous (the environmental gradient) variables. Environmental variation was characterized using the mean value of the scores derived from the first and second principal factors for each population. These values were then used as independent variables in the regression analyses.

RESULTS

Physical environment—A multivariate analysis of variance revealed significant differences among populations in the overall physical environment (Wilks' lambda = 0.0003, $F_{24,29} =$

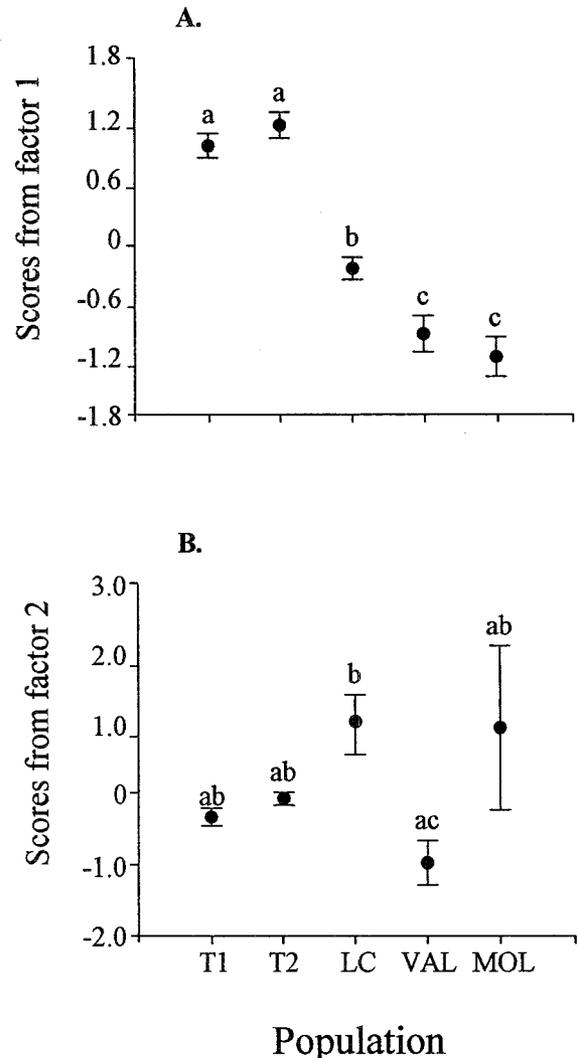


Fig. 2. Average values (± 1 SE) for the scores derived from principal factor analysis describing the among-population variation in the physical environment of five populations of *Pinguicula moranensis* in central Mexico. Results for the two principal factors are presented. Significant differences among populations are indicated by different letters (Tukey's honestly significant difference for unequal sample sizes). See Fig. 1 for explanation of population abbreviations.

11.53, $P = 0.0001$). As shown by principal factor analysis, all physical variables were highly correlated. Two principal factors accounted for almost 70% of the variation in the physical environment (51 and 18%, factor 1 and 2, respectively). Soil humidity and total nitrogen had high positive loadings on factor 1, while the loading for air temperature and PAR was also high but negative. High positive scores of factor 1 are associated with sites with low temperatures and PAR, and higher levels of total nitrogen and soil humidity (T1 and T2, see Fig. 2A). In contrast, sites such as VAL and MOL had negative scores that described well-lit, warm, dry sites with nitrogen-poor soils (Fig. 2A). An analysis of variance performed on the scores derived from principal factor 1 revealed significant differences among sites ($F_{4,13} = 46.69$, $P = 0.0001$, $R^2 = 0.93$). Accordingly, the environmental variation accounted for by factor 1 can be described as a gradient of temperature, soil fertility (N), humidity, and PAR (TNHL gradient hereafter, Fig. 2A). The higher factor loading on factor 2 was that of K,

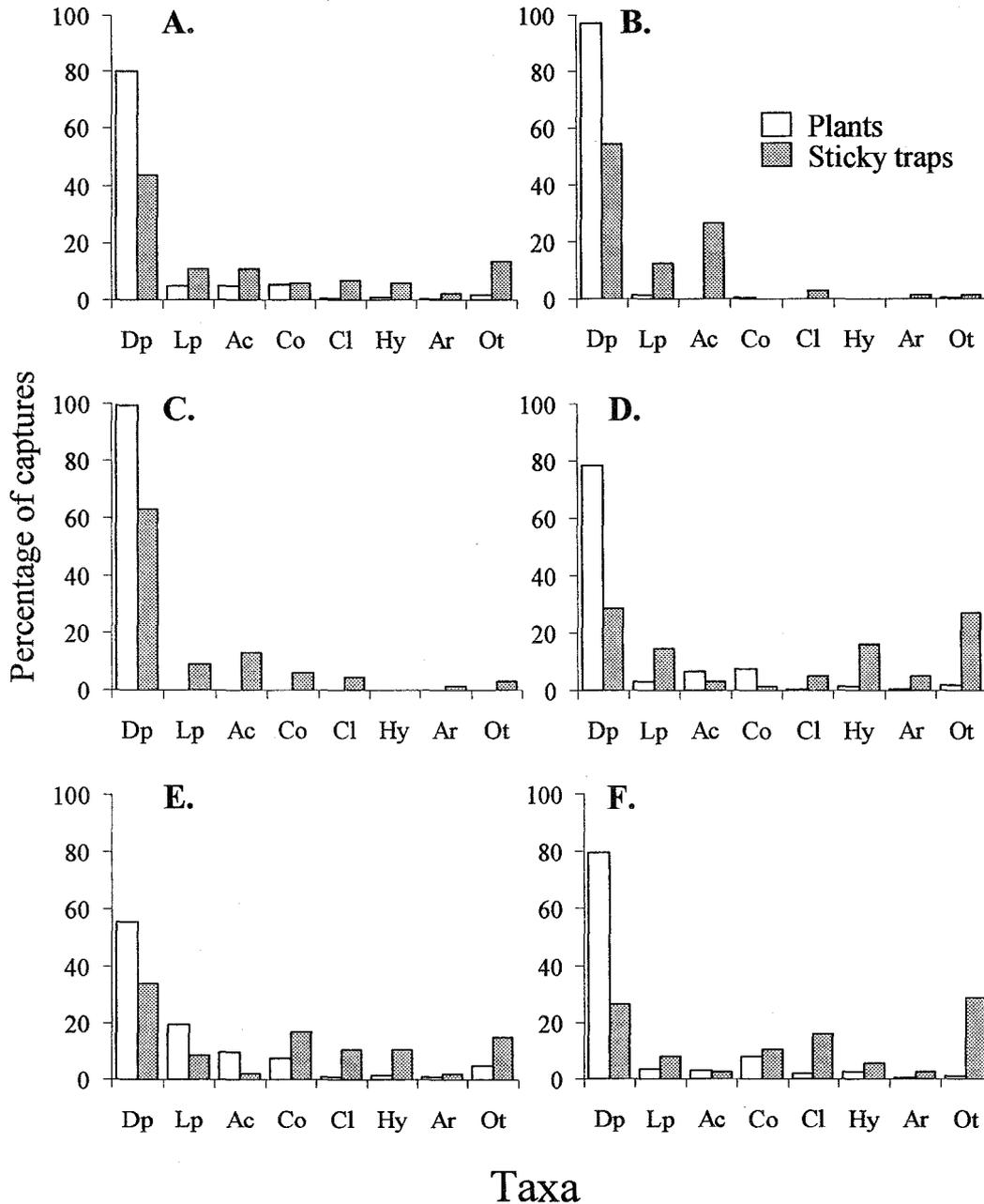


Fig. 3. Percentage of prey from different taxa captured by plants and sticky traps in five populations of *Pinguicula moranensis* from central Mexico. Pooled data from all five populations (A) and separated tallies for each population are shown (B, T1; C, T2; D, LC; E, VAL; F, MOL see Fig. 1 for explanation of population abbreviations). Dp, Diptera; Lp, Lepidoptera; Ac, Acarina; Co, Collembola; Cl, Coleoptera; Hy, Hymenoptera; Ar, Araneae; Ot, Others.

indicating that positive scores are associated with relatively high levels of this nutrient (Fig. 2B). There were significant differences among sites in the average score from factor two ($F_{4,13} = 5.16$, $P = 0.01$, $R^2 = 0.61$). Significance, however, was only due to differences between LC and VAL (Fig. 2B). All the other comparisons between pairs of populations were not significant.

Patterns of prey capture and prey availability—*Pinguicula moranensis* consumes a diverse array of animal species including insects, spiders, and gastropods. Diptera accounted for 80% of all captures, and its importance varied from 55 to 99% among the populations (Fig. 3). The second group in impor-

tance was Coleoptera, which accounted for 5.6% of the total prey captured, followed by Lepidoptera and Acarina. All the other groups contributed less than 2% of the total captures (Fig. 3A). Although Diptera was the most important source of prey in all populations, populations differed in the relative frequency of prey captured from each taxa ($\chi^2_{(28)} = 1258.01$, $P < 0.0001$). Such differences are mainly due to the contrasting contributions of Lepidoptera, Acarina, and Coleoptera among the populations (see Fig. 3). Once the number of captured prey was corrected by the average amount of biomass contributed by an individual of a given taxon, Diptera continued to be the most important prey of *P. moranensis* (80.5%), Lepidoptera almost doubled its contribution (9.9%), and despite the rela-

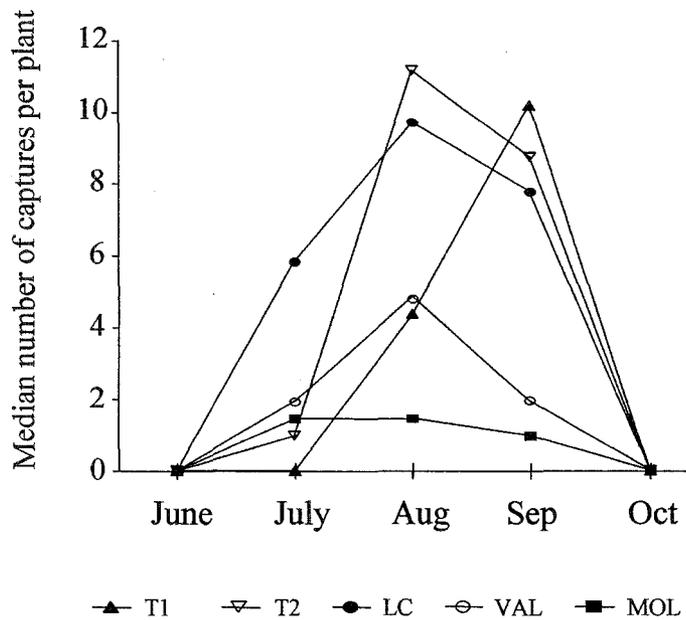


Fig. 4. Temporal variation in median number of prey captured per plant in five populations of *Pinguicula moranensis* from central Mexico. Populations significantly differed in the median number of prey captured per plant in the entire season (Kruskal-Wallis test, $\chi^2_4 = 51.14$, $P < 0.00001$). See Fig. 1 for explanation of population abbreviations.

tively high number of Acarina individuals caught by plants, their contribution fell from 4.7 to 0.45%.

The taxonomic composition of the animals caught by the adhesive traps was similar to that of those captured by plants. Diptera was the most frequent group trapped in the adhesive traps, but their relative contribution (43.6) was only half of that observed in plants (Fig. 3A). In contrast, the relative abundance of other groups such as Acarina, Collembola, and Hymenoptera (and others) was higher. Again, populations differed significantly in the relative frequency of prey caught in adhesive traps from each taxa ($\chi^2_{(28)} = 233.24$; $P = 0.00001$; see Fig. 3B–F).

The observed and expected number of prey from each taxon also differed markedly within each population (G test, $P < 0.00001$ for all populations). In all cases, plants trapped more Diptera than expected, while all the other groups of prey were underrepresented in most populations. Plants from the LC and VAL populations also trapped more Acarina and Coleoptera (LC) and Acarina and Lepidoptera (VAL) than expected by their relative abundances. These results indicate that the taxonomic composition of prey found in *P. moranensis* is not a random sample of the prey available within populations.

Prey capture was restricted from early June to mid-September (Fig. 4). For most populations, the median number of captures per plant increased until it reached a peak between August and September, followed by an abrupt decrease as capture leaves senesced.

Environmental variation, prey availability, prey capture, and reproductive responses—Populations showed marked differences in the probability of reproduction. The highest probability of reproduction was at LC (95% of the individuals reproduced), a population located in the middle of the TNHL gradient and with intermediate values of prey capture. Despite the fact that T2 was the population with the highest average

value of prey capture (Fig. 5A), plants in this population failed to reproduce, suggesting that prey capture is not the main factor limiting reproduction in this species. In VAL, MOL, and T1, the percentage of reproducing individuals ranged from 40 to 60% (40, 42, and 62% for MOL, T1, and VAL, respectively).

Regression analyses with replicates (see Materials and Methods) showed that prey capture, prey availability, and the number of buds produced per plant significantly differed among populations (Table 1; Fig. 5). Prey capture and prey availability were also linearly related to the TNHL gradient (Table 1, Fig. 5A and B), indicating that these two variables increased with soil humidity and total nitrogen and decreased in warmer, well-lit sites. These analyses also showed that the amount of biomass captured by *P. moranensis* increased from the prey-poor toward the prey-rich sites. Bud production was also related to the TNHL gradient, but in contrast to prey capture and prey availability, this relationship was quadratic (Fig. 5C). This result indicates that the reproductive response of *P. moranensis* is maximized in the mid-range of the environmental expanse this species inhabits and in intermediate values of prey availability and prey capture.

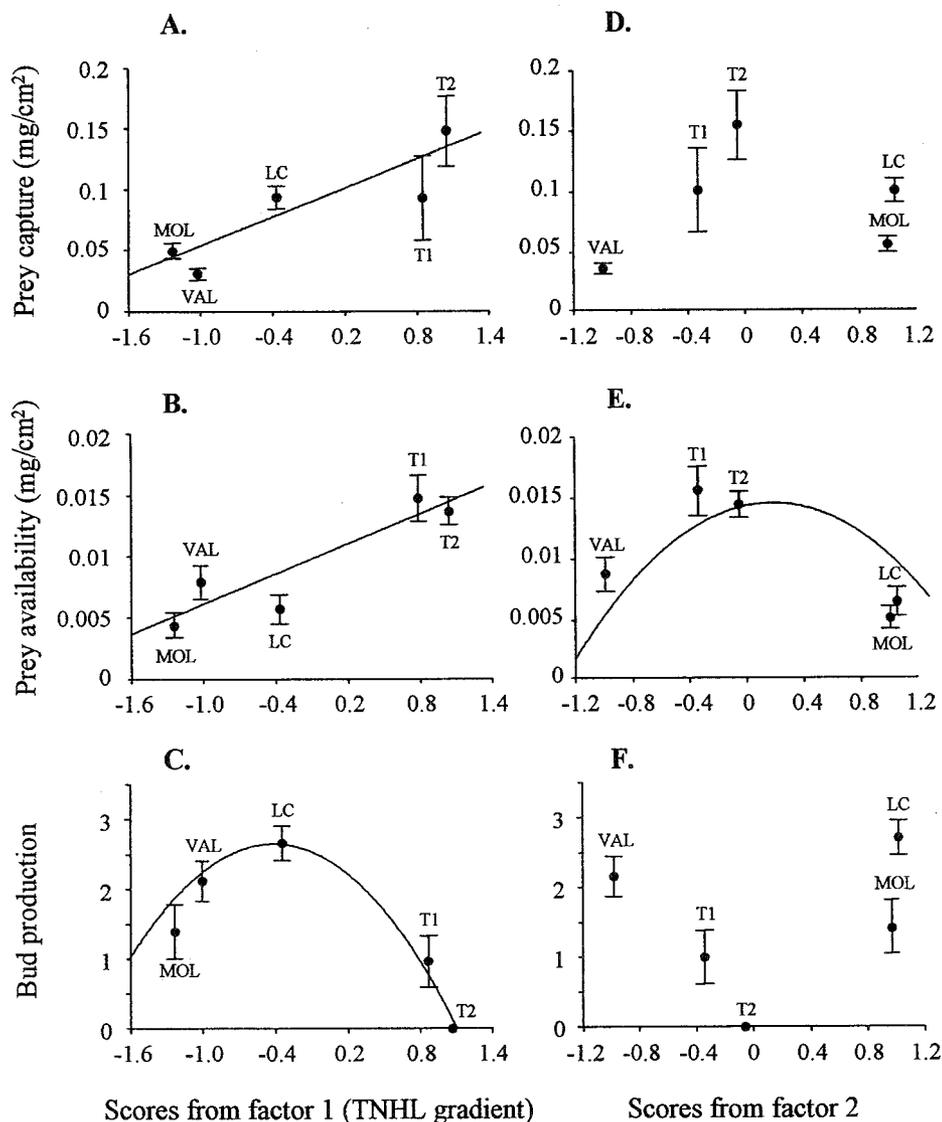
There was a significant quadratic relationship between the scores from factor 2 and prey availability, an unexpected result, indicating that prey abundance peaked at populations with intermediate values of K (Fig. 5E). Neither prey capture nor bud production were related to the scores from factor 2 (Table 1, Fig. 5D and F).

In almost all cases, the effect of the deviations from the regression line was significant (Table 1), suggesting the existence of a large amount of random variation around the regression lines (see Sokal and Rohlf, 1995).

DISCUSSION

Our results showed the presence of marked differences in the physical environment occupied by populations of *P. moranensis*. Most of this variation (51%) can be described in terms of one environmental gradient related to temperature, total nitrogen, soil humidity, and PAR (TNHL, scores from factor one). An additional 18% of the environmental variance was associated with variation in K (scores from factor two). The availability of prey also had striking differences among populations of *P. moranensis*, increasing toward the most shaded and humid populations. There was a significant linear relationship between prey availability and the TNHL gradient and a quadratic one with the scores from factor 2, indicating that prey abundance is strongly influenced by environmental heterogeneity (Karlsson et al., 1994; Zamora et al., 1998).

Differences in prey availability among populations were not restricted to the amount of prey (number of prey or dry mass), but also included the relative abundance of prey from different taxa. Although Diptera was the most common group caught in adhesive traps in all populations, there were marked differences in the relative abundance of almost all groups. For example, coleopterans were more abundant at the driest and sunny populations (VAL and MOL), whereas Diptera and Acarina had the opposite pattern. Thus, besides the physical heterogeneity associated with the different populations of *P. moranensis*, quantitative (prey availability) and qualitative (the relative abundance of prey from different taxa) differences in the biotic environment increased the amount of variation to which this species is exposed. Overall, our results revealed a marked



Environmental variation

Fig. 5. Results from regression analyses with replicates on the effect of populations and environmental variation (scores derived from the two principal factors) on prey capture, prey availability, and bud production in five populations of *Pinguicula moranensis* from central Mexico. Scores from factor 1 describe a gradient of temperature, soil fertility (N), humidity, and photosynthetically active radiation (PAR) (TNHL gradient), while scores from factor 2 are associated with the variation in K. See Fig. 1 for explanation of population abbreviations.

amount of physical and biotic environmental heterogeneity among the populations of *P. moranensis*.

Given this heterogeneous scenario, it was not surprising that all our measurements of prey capture (the relative contribution of each group of prey, the median number of prey captured per plant, and the biomass of prey captured per individual) significantly differed among populations. In all cases, there was a marked difference between the taxonomic composition of the prey available within a population and that of prey actually caught by plants. Three other studies using different species of *Pinguicula* found evidence of an over-representation of certain taxa trapped by plants in comparison to artificial traps (Karlsson et al., 1987; Antor and García, 1994; Zamora, 1995). Although the over-representation of some groups of prey has been interpreted as a consequence of the color and smell of leaves, no mechanism of prey attraction has defini-

tively been established for *Pinguicula*. According to Zamora (1990, 1995), the taxonomic composition of the diet of *Pinguicula nevadensis* and *P. vallisneriifolia* was determined by the interaction between prey size and the retention capacity of the mucilage produced by plants. Because the retention capacity of mucilage depends on environmental conditions (Zamora, 1995) and because composition of prey caught among populations differed markedly, our results are better explained by the association between environmental variation and mucilage retention.

Environmental heterogeneity, expressed as the TNHL gradient, also affected the amount of biomass of prey captured per individual. Prey capture (dry mass) increased from the sunniest and relatively dry habitats (MOL and VAL) to the most humid, shady, and N- and prey-rich populations. Although prey capture had a positive relationship with the TNHL

TABLE 1. Regression analyses with replicates (ANOVAs) of prey capture, prey availability, and bud production on environmental variation (scores from principal factor analysis) associated with *Pinguicula moranensis* populations. Separate analyses for the scores derived from the first and second principal factors are presented.

Source of variation	df	Sums of squares	Mean squares	F	P
A) Factor 1					
Prey capture					
Population	4	0.3090	0.0773	10.89	0.000 01
Environmental gradient (TNHL)	1	0.2476	0.2476	12.10	0.040 10
Deviation from regression	3	0.0614	0.0205	2.89	0.036 20
Error	236	1.6737	0.0071		
Total	240	1.9827			
Prey availability					
Population	4	0.001 345	0.000 336	12.63	0.000 01
Environmental gradient (TNHL)	1	0.001 124	0.001 124	15.26	0.0298
Deviation from regression	3	0.000 221	0.000 074	2.77	0.0462
Error	89	0.002 369	0.000 027		
Total	93	0.003 714			
Bud production					
Population	4	209.6360	52.4090	17.85	0.000 01
Environmental gradient (TNHL)	2	207.1324	103.5662	82.73	0.0119
Deviation from regression	2	2.5036	1.2518	0.42	0.6510
Error	230	675.1469	2.9354		
Total	234	884.7829			
B) Factor 2					
Prey capture					
Population	4	0.3090	0.0773	10.89	0.000 01
Environmental gradient (K)	2	0.2213	0.1107	2.52	0.2841
Deviation from regression	2	0.0877	0.0439	6.18	0.0024
Error	236	1.6737	0.0071		
Total	240	1.9827			
Prey availability					
Population	4	0.001 345	0.000 336	12.63	0.000 01
Environmental gradient (K)	2	0.001 288	0.000 644	22.60	0.0424
Deviation from regression	2	0.000 057	0.000 028	1.07	0.3474
Error	89	0.002 369	0.000 027		
Total	93	0.003 714			
Bud production					
Population	4	209.6360	52.4090	17.85	0.000 01
Environmental gradient (K)	2	174.50	87.25	4.96	0.1675
Deviation from regression	2	35.13	17.57	5.98	0.0029
Error	230	675.1469	2.94		
Total	234	884.7829			

gradient, both the probability of reproduction and bud production were maximized at LC, a population characterized by intermediate values of PAR, prey abundance, and water availability. This result indicates that plants in prey-rich habitats (T1 and T2) failed to take advantage of the relatively high amount of prey they captured and suggests that carnivory cannot compensate for the diminished photosynthesis associated with the lower availability of PAR in the shadiest populations. These results agree with the experimental evidence provided by Zamora et al. (1998) that showed that plants of *P. vallisneriifolia* growing in deep shade were unable to benefit from experimental prey addition. Furthermore, although both prey availability and prey capture (in milligrams per square centimeter) peaked at T2, no sexual reproduction was observed in this population, suggesting that light, more than prey or water availability, is one of the main factors determining successful reproduction in *P. moranensis*.

Givnish et al. (1984) proposed that carnivory is adaptive only in nutrient-poor environments that are well lit and moist. It is assumed that the photosynthetic costs of carnivory exceed

the benefits in either shady or dry habitats. Our results showed that carnivorous plants might colonize a broad range of environmental conditions ranging from pine-oak forests to tropical desert scrublands. Nonetheless, none of these habitats seems to attain the optimum combination of resources (well-lit, moist, high abundance of prey). The site with the poorest soil and relatively high levels of PAR was associated with the lowest availability of prey, high temperatures, and the driest soil. On the other extreme, populations with relatively nitrogen-rich and humid soils also had the highest availability of prey, low temperatures, and low levels of PAR. Thus, although water and prey availability were relatively high at the shade extreme of the environmental gradient, plants inhabiting these populations were probably limited by irradiance. The opposite extreme of the gradient had plenty of light, but both prey and water were scarce. In fact, the maximum reproductive output was attained in LC, a population with intermediate values of the relevant variables. In this respect, our results are more in accordance with the model proposed by Benzing (2000) that allows for explicit trade-offs between light, moisture, and nu-

trient (prey) availability. His model predicts that carnivory may occur in a variety of light regimes because of trade-offs associated with these two other niche axes.

We have shown in this study that different populations of *P. moranensis* face contrasting ecological scenarios, which may influence the interaction between carnivorous plants and their prey. Provided that such differences have fitness consequences, they could establish an ecological scenario favoring adaptive differentiation among populations of this carnivorous species (Bradshaw, 1972; Sork et al., 1993; Linhart and Grant, 1996).

LITERATURE CITED

- ADAMEC, L. 1997. Mineral nutrition of carnivorous plants: a review. *Botanical Review* 63: 273–299.
- ANTOR, R. J., AND M. B. GARCÍA. 1994. Prey capture by a carnivorous plant with hanging adhesive traps: *Pinguicula longifolia*. *American Midland Naturalist* 131: 128–135.
- BENZING, D. H. 1987. The origin and rarity of botanical carnivory. *Trends in Ecology and Evolution* 2: 364–369.
- BENZING, D. H. 2000. Bromeliaceae: profile of and adaptive radiation. Cambridge University Press, New York, New York, USA.
- BRADSHAW, A. D. 1972. Some evolutionary consequences of being a plant. *Evolutionary Biology* 5: 25–47.
- DARWIN, C. 1875. Insectivorous plants. John Murray, London, UK.
- DIXON, K. W., J. S. PATE, AND W. J. BAILEY. 1980. Nitrogen nutrition of the tuberous sundew *Drosera erythrorhiza* Lindl. with special reference to catch of arthropoda fauna by its glandular leaves. *Australian Journal of Botany* 28: 283–297.
- DOMÍNGUEZ, C. A., L. E. EGUIARTE, J. NÚÑEZ-FARFÁN, AND R. DIRZO. 1998. Flower morphometry of *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae): geographical variation in Mexican populations. *American Journal of Botany* 85: 637–643.
- ELLISON, A. M., AND N. J. GOTELLI. 2001. Evolutionary ecology of carnivorous plants. *Trends in Ecology and Evolution* 11: 623–629.
- GIBSON, T. C. 1991. Competition among threadleaf sundews for limited insect resources. *American Naturalist* 138: 785–789.
- GIVNISH, T. J., E. L. BURKHARDT, R. E. HAPPEL, AND J. D. WEINTRAUB. 1984. Carnivory in the bromeliad *Brocchinia reducta*, with a cost/benefit model for the general restriction of carnivorous plants to sunny, moist, nutrient-poor habitats. *American Naturalist* 124: 479–497.
- HESLOP-HARRISON, Y., AND J. HESLOP-HARRISON. 1980. Chloride ion movement and enzyme secretion from the digestive glands of *Pinguicula*. *Annals of Botany* 45: 729–731.
- HESLOP-HARRISON, Y., AND R. B. KNOX. 1971. A cytochemical study of the leaf gland enzymes of insectivorous plants of the genus *Pinguicula*. *Planta* 96: 183–211.
- JUNIPER, B. E., R. J. ROBINS, AND D. M. JOEL. 1989. The carnivorous plants. Academic Press, London, UK.
- KARLSSON, P. S., K. O. NORDELL, S. EIREFELT, AND A. SVENSSON. 1987. Trapping efficiency of three carnivorous *Pinguicula* species. *Oecologia* 73: 518–521.
- KARLSSON, P. S., AND J. S. PATE. 1992. Contrasting effects of supplementary feeding of insects or mineral nutrients on the growth and nitrogen and phosphorous economy of pygmy species of *Drosera*. *Oecologia* 92: 8–13.
- KARLSSON, P. S., L. M. THORÉN, AND H. M. HANSLIN. 1994. Prey capture by three *Pinguicula* species in a subarctic environment. *Oecologia* 99: 188–193.
- LINHART, Y. B., AND M. C. GRANT. 1996. Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27: 237–277.
- LLOYD, F. E. 1942. The carnivorous plants. Chronica Botanica Ronald Press, New York, New York, USA.
- LÜTTGE, U. 1983. Ecophysiology of carnivorous plants. In O. L. Lange, P. S. Nobel, C. B. Osmond, and H. Zeigler [eds.], *Encyclopaedia of plant physiology*, vol. 12C. Physiological Plant Ecology III, 489–517. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- MEACHAM, C. A., AND T. D. DUNCAN. 1989. MorphoSys ver. 1.26. University Herbarium, University of California, Berkeley, California, USA.
- REYMENT, R. A., AND K. G. JÖRESKÖRG. 1993. Applied factor analysis in the natural sciences. Cambridge University Press, Cambridge, New York.
- RZEDOWSKI, J. 1981. Vegetación de México. Limusa, México D.F., México.
- SAS. 1989. SAS/STAT user's guide, release 6.08. SAS Institute, Cary, North Carolina, USA.
- SCHULZE, E. D., G. GERBAUER, W. SCHULZE, AND J. S. PATE. 1991. The utilization of nitrogen from insect capture by different growth forms of *Drosera* from southwest Australia. *Oecologia* 87: 240–246.
- SCHULZE, W., E. D. SCHULZE, J. S. PATE, AND A. N. GILLISON. 1997. The nitrogen supply from soils and insects during growth of the pitcher plants *Nepenthes mirabilis*, *Cephalotus follicularis* and *Darlingtonia californica*. *Oecologia* 112: 464–471.
- SOKAL, R. R., AND F. J. ROHLF. 1995. Biometry, 3rd ed. W. H. Freeman, New York, New York, USA.
- SORK, V. L., K. A. STOWE, AND C. HOCHWENDER. 1993. Evidence from local adaptation in closely adjacent subpopulations of northern red oak (*Quercus rubra* L.) expressed as resistance to leaf herbivores. *American Naturalist* 142: 929–936.
- THOMPSON, J. N. 1981. Reversed animal-plant interactions: the evolution of insectivorous and ant-fed plants. *Biological Journal of the Linnean Society* 16: 147–155.
- THORÉN, L. M., AND P. S. KARLSSON. 1998. Effects of supplementary feeding on growth and reproduction of three carnivorous plant species in a subarctic environment. *Journal of Ecology* 86: 501–510.
- THUM, M. 1988. The significance of carnivory for the fitness of *Drosera* in its natural habitat. 1. The reactions of *Drosera intermedia* and *D. rotundifolia* to supplementary feeding. *Oecologia* 75: 472–480.
- ZAMORA, R. 1990. The feeding ecology of a carnivorous plant (*Pinguicula nevadense*): prey analysis and capture constraint. *Oecologia* 84: 376–379.
- ZAMORA, R. 1995. The trapping success of a carnivorous plant (*Pinguicula vallisnerifolia*): the cumulative effects of availability, attraction, retention and robbery of prey. *Oikos* 73: 309–322.
- ZAMORA, R., J. M. GÓMEZ, AND J. A. HÓDAR. 1997. Responses of a carnivorous plant to prey and inorganic nutrients in a Mediterranean environment. *Oecologia* 111: 443–451.
- ZAMORA, R., J. M. GÓMEZ, AND J. A. HÓDAR. 1998. Fitness responses of a carnivorous plant in contrasting ecological scenarios. *Ecology* 79: 1630–1644.
- ZAMUDIO, S. 1999. Notas sobre la identidad de *Pinguicula moranensis* H. B. K., con la descripción de una variedad nueva. *Acta Botanica Mexicana* 49: 23–34.

Capítulo III

Variación geográfica en la eficiencia de captura y el beneficio

derivado de la carnivoría en *Pinguicula moranensis*

(Lentibulariaceae)

Introducción

La habilidad de algunas especies de plantas para obtener nitrógeno y otros nutrientes a partir de la captura de pequeñas presas se ha interpretado como una adaptación que les ha permitido colonizar con éxito hábitats pobres en nutrientes (Heslop-Harrison 1978, Benzing 1987, Juniper *et al.* 1989, Adamec 1997). De hecho, se ha propuesto que la escasez de nutrientes ha sido la principal fuerza selectiva en la evolución del hábito carnívoro de las plantas (Darwin 1875, Lüttge 1983, Albert *et al.* 1992).

Givnish *et al.* (1984) propusieron un modelo que explica la restricción de las casi 600 especies de plantas carnívoras descritas actualmente, a ambientes pobres en nutrientes pero bien iluminados y húmedos. Este modelo establece que el máximo beneficio de la carnivoría se obtendría en condiciones en las que el desempeño de las plantas está limitado por la disponibilidad de nutrientes, por lo que en condiciones de alta fertilidad, el hábito carnívoro no sería adaptativo. Esto puede traducirse en una reducción del efecto positivo de la captura de presas sobre el desempeño de las plantas (Chandler y Anderson 1976, Zamora *et al.* 1997, pero ver Karlsson *et al.* 1991) o en una menor asignación de recursos hacia la producción de atributos relacionados con el hábito carnívoro (Ellison y Gotelli 2002). El modelo establece además que el beneficio derivado de la carnivoría es de tipo fotosintético. Por lo tanto, el costo del hábito carnívoro sobrepasaría el beneficio cuando éste último no estuviera limitado por la disponibilidad de nutrientes sino por otros recursos como la luz o el agua. La variación en el ambiente lumínico afecta también tanto a los diferentes componentes del desempeño de las plantas como a la expresión fenotípica de los atributos asociados con la carnivoría, mostrando que la disponibilidad de luz puede ser un componente determinante en la evolución del hábito carnívoro (Zamora *et al.* 1998).

Las predicciones de este modelo sugieren que los beneficios derivados del hábito carnívoro deberán variar dependiendo de las condiciones del ambiente. Las plantas carnívoras pueden estar expuestas a una enorme heterogeneidad ambiental en términos de la luz fotosintéticamente activa (Zamora *et al.* 1998), del nitrógeno en el sustrato (Hanslin y Karlsson 1996) y de la disponibilidad de presas (Zamora 1995). Pero el escenario ecológico puede ser aún más complejo ya que los diferentes recursos limitantes para las plantas carnívoras pueden mostrar correlaciones negativas generando conflictos que afectan su desempeño (Alcalá y Domínguez 2003). Por tanto la heterogeneidad ambiental ofrece la oportunidad de evaluar el funcionamiento de la carnivoría en poblaciones sujetas a condiciones contrastantes.

La predicción de una mayor presión selectiva en ambientes con una menor fertilidad en el sustrato ha sido evaluada principalmente en condiciones controladas sin considerar la variación natural en la disponibilidad de nutrientes y de presas. Asimismo, estos trabajos han considerado independientemente diferentes componentes del hábito carnívoro suponiendo que en condiciones más limitantes, la eficiencia de captura de presas (Karlsson *et al.* 1987), el desempeño de las plantas (Aldenius *et al.* 1983, Karlsson *et al.* 1991), y la asignación de recursos hacia la producción de trampas (Ellison y Gotelli 2002) deberían ser mayores, pero no existen trabajos en donde se hayan evaluado simultáneamente estos componentes.

El objetivo de este trabajo fue examinar cómo opera la selección natural sobre el hábito carnívoro en poblaciones con condiciones ambientales contrastantes, considerando principalmente la variación en la fertilidad del sustrato y la disponibilidad de presas. Específicamente se evaluó:

- 1) si la inversión hacia atributos relacionados con el hábito carnívoro disminuye hacia sitios más ricos.
- ii) si la eficiencia de captura y el beneficio derivado de la carnivoría se incrementan hacia los sitios más pobres y
- iii) cuáles son los blancos de la selección que opera sobre el hábito carnívoro.

Materiales y métodos

Especie y sitios de estudio

Pinguicula moranensis var. *neovolcanica* Zamudio (Lentibulariaceae) (*P. moranensis* de aquí en adelante) es una planta herbácea y perenne que se distribuye ampliamente en las montañas del centro de México. Las plantas capturan pequeñas presas, principalmente insectos, durante los meses del verano (mayo a octubre), período en el que se presenta la roseta de captura. Esta roseta tiene un diámetro de entre 6 y 20 cm y está compuesta por 4-8 hojas de entre 5 y 10 cm de largo (Zamudio 1999). El sistema de captura de esta planta es de tipo adhesivo (ver Juniper *et al.* 1989). La superficie de las hojas se encuentra cubierta por glándulas de captura, que son glándulas estipitadas que producen el mucílago con el que retienen a sus presas. Los productos de la digestión de las presas son incorporados a las plantas a través de glándulas sésiles. A partir de octubre las hojas de captura se secan y las plantas desarrollan una pequeña roseta de resistencia (20-30 mm de diámetro) conformada por hojas carnosas de entre 10 a 30 mm de largo (Zamudio 1999). Esta roseta se presenta de noviembre a abril. La floración ocurre principalmente cuando las plantas presentan la roseta de verano (junio-noviembre). Las flores son zigomórficas de color violáceo y se producen individualmente en escapos de unos 10 cm de longitud.

Las poblaciones de *P. moranensis* seleccionadas se localizan en el centro de México, una en el estado de Morelos y tres en el estado de Puebla. La población ubicada en Morelos se localiza en la Sierra de Tepoztlán (T de aquí en adelante). Esta sierra se conforma por afloramientos de origen sedimentario de unos 300 m sobre el nivel del suelo. La vegetación corresponde a un bosque de pino - encino. Las plantas en este sitio crecen directamente sobre paredes rocosas cubiertas con musgos y algunos helechos. Las poblaciones ubicadas en Puebla son: Reserva

Lázaro Cárdenas (LC), Valsequillo (VAL) y Molcaxac (MOL). Las plantas en LC se localizan en la parte más alta de un lomerío cuya vegetación es un bosque de encinos. Las plantas crecen en pequeñas paredes de unos 50 cm de alto formadas por la erosión del substrato. En VAL las plantas crecen sobre una pared de roca volcánica de unos 3 m de alto por unos 20 m de largo. La vegetación corresponde a una selva baja perturbada. En MOL, las plantas crecen en lomas pertenecientes a la cordillera del Tenzo en un ambiente semiárido cuya vegetación dominante es el matorral xerófito. Las plantas crecen a nivel del suelo en pequeñas paredes de unos 50 cm de alto protegidas de la radiación directa por otras plantas.

Al inicio de la temporada de lluvias (mayo de 1994) se marcaron 81, 80, 80 y 70 rosetas de resistencia en las poblaciones T, LC, VAL y MOL, respectivamente.

Variables medidas

Las variables medidas directamente en las plantas de cada población fueron los atributos asociados con el hábito carnívoro, la captura de presas y una medida del desempeño de las plantas. Estas variables se utilizaron para evaluar la asignación a la carnivoría, la eficiencia de captura de presas y el beneficio derivado del hábito carnívoro. La asignación a la carnivoría se evaluó mediante la densidad de glándulas de captura, de glándulas digestivas y el área de la roseta de las plantas. La eficiencia de captura se evaluó mediante la biomasa de presas capturada por las plantas de acuerdo a la inversión en glándulas de captura y el área de la roseta. El beneficio se evaluó mediante el número de botones florales producidos de acuerdo a la biomasa de presas obtenida por las plantas (ver Análisis estadístico).

En cada población se midió la cantidad de nitrógeno total en el sustrato y se realizó una estimación de la disponibilidad de presas. Estas dos variables reflejan la variación en la disponibilidad de recursos entre las diferentes poblaciones de *P. moranensis*.

i) Atributos asociados con el hábito carnívoro

En todas las plantas de las cuatro poblaciones se midió la densidad de glándulas de captura, la densidad de glándulas digestivas y el área de la roseta. A la mitad de la época lluviosa (julio) se colectó una hoja por planta usando el criterio de ser la más joven y estar completamente expandida. Las hojas se conservaron en alcohol al 70%. La densidad se estimó contando el número de glándulas en cinco cuadros de 1 mm² al microscopio (Olympus BH-2). La variación en el área de la roseta se estimó mediante el análisis de imágenes del área proyectada de cada planta. Las plantas fueron filmadas mensualmente de mayo a septiembre con una cámara de vídeo portátil (Canon LP1, Canon Inc., Tokyo, Japan). Las imágenes fueron amplificadas en un monitor y los contornos a partir de los cuales se estimó el área, fueron digitizados mediante el programa Morphosys ver. 1 (Meacham y Duncan 1989). Los posibles errores de paralaje se controlaron colocando la lente de la cámara de manera perpendicular con respecto al plano de cada planta. La repetibilidad de este método de medición fue determinada previamente (Domínguez *et al.* 1998).

ii) Captura de presas

Se realizaron censos mensuales (mayo - septiembre) en los que se contaron las presas capturadas por cada planta. Asimismo, se determinó la composición taxonómica de todas las presas a nivel de

orden o grupo superior. Debido a que las presas de diferentes grupos pueden variar significativamente en tamaño, el número de presas no es buen estimador de la captura. Por lo tanto, fue necesario estimar la biomasa de presas obtenida por cada planta durante la temporada. Con este fin se determinó el peso seco promedio por individuo de las presas correspondientes a los diferentes grupos taxonómicos. Se realizó una colecta de presas en plantas no marcadas considerando cada grupo taxonómico e incluyendo solamente a las presas que no mostraban signos de haber sido digeridas por las plantas. Las presas colectadas se secaron en un horno hasta obtener peso constante. Las presas fueron pesadas individualmente con una precisión de 0.001 mg (Cahn Model Electrobalance, Cahn Instruments, Cerritos, California, U. S. A.). Finalmente, la cantidad total de biomasa (miligramos de presas) obtenida por cada planta durante la temporada se estimó como:

$$\text{Biomasa total} = \sum_{k=1}^n N_k * AM_k$$

Donde N_k es el número total de presas del taxón k capturadas por cada planta, AM_k es el promedio de peso seco del taxón k , y n es el número de taxa representados en la dieta de esta planta.

iii) Desempeño de las plantas

El desempeño de las plantas se evaluó mediante la producción de botones florales, flores y frutos por planta por temporada. La producción de botones fue la variable que se incluyó en todos los análisis debido a que refleja la magnitud de la inversión de recursos que cada planta hizo a la reproducción y porque esta variable no es afectada por la variación en los niveles de polinización entre plantas y entre poblaciones.

iv) Cantidad de nitrógeno total y disponibilidad de presas

En cada población se colectaron de 10 a 30 muestras de sustrato de aproximadamente 25 g en donde estaba creciendo *P. moranensis*. Las muestras se mantuvieron en bolsas plásticas selladas antes de ser secadas hasta obtener peso constante. Debido a que la caracterización del nitrógeno total requiere una cantidad mínima de 100 g, cuatro o cinco muestras fueron mezcladas para obtener al final cuatro réplicas por población. La cantidad de nitrógeno se evaluó mediante la técnica de Kjeldahl de digestión ácida y se expresó como miligramos de nitrógeno por gramo de suelo.

La disponibilidad de presas se evaluó mediante el uso de trampas artificiales consistentes en tarjetas de cartón (8 × 10 cm) cubiertas con Tanglefoot®. A la mitad de la época de crecimiento (julio) se colocaron 20 tarjetas en cada población ubicadas directamente sobre el sustrato entre las plantas de *P. moranensis*. Después de un período de ocho días las tarjetas se recogieron para contar el número de presas retenidas de los diferentes grupos taxonómicos. Este muestreo no tuvo por objetivo caracterizar la disponibilidad por temporada sino obtener una referencia que fuera comparable entre las poblaciones. La biomasa retenida se estimó de manera similar a la biomasa obtenida por las plantas (ver captura de presas).

Análisis estadístico

i) Disponibilidad de recursos y asignación hacia la carnivoría

Las diferencias entre poblaciones, tanto en la disponibilidad de recursos como en la asignación hacia los atributos asociados con el hábito carnívoro, se evaluaron mediante análisis de varianza

(ANDEVA). En el primer caso, se incluyeron como variables de respuesta la cantidad total de nitrógeno y la disponibilidad de presas. La densidad de glándulas de captura, la densidad de glándulas digestivas y el área de la roseta se incluyeron como variables dependientes para evaluar las diferencias en la asignación a la carnivoría. Posteriormente, se realizó un análisis de correlación de Spearman entre los promedios por población de las cinco variables (los tres atributos asociados con el hábito carnívoro y la disponibilidad de nitrógeno y de presas potenciales). Específicamente, las correlaciones entre cada uno de los atributos con la disponibilidad de nitrógeno y de presas, se utilizaron para la evaluar la predicción de una mayor asignación hacia atributos relacionados con la carnivoría en los sitios más pobres en recursos.

Tanto los ANDEVA como el análisis de correlación se realizaron utilizando el paquete JMP ver 3.1.6.2 (SAS, 1996).

ii) Eficiencia de captura de presas y beneficio derivado de la carnivoría

La eficiencia se evaluó a través del efecto de la densidad de glándulas de captura y el área de la roseta sobre la captura de presas. El beneficio se evaluó como el efecto de la captura de presas sobre la producción de botones. Las diferencias entre poblaciones en la eficiencia de captura y en el beneficio se evaluaron separadamente a través de análisis de covarianza con pendientes independientes (Sokal y Rohlf 1995). Este análisis permite comparar las pendientes obtenidas entre los diferentes niveles de la variable categórica (Sokal y Rohlf 1995). En el análisis de la eficiencia de captura de presas se utilizó el logaritmo natural de la biomasa de presas obtenida por las plantas como la variable dependiente. Esta transformación corrigió la heteroscedasticidad del error (Zar 1996). Como variables explicativas se incluyeron el efecto categórico de la población, la

densidad de glándulas de captura y el área de la roseta como variables continuas y todas las interacciones. La significancia de la variable categórica determina diferencias en la ordenada al origen, es decir, diferencias entre poblaciones en la biomasa de presas obtenida por las plantas no asociadas con el fenotipo. En contraste, los términos de interacción entre el efecto de población con la densidad de glándulas de captura y con el área de la roseta específicamente indican diferencias en la eficiencia de captura.

En el análisis del beneficio derivado de la carnivoría se incluyeron como variables explicativas el efecto de la población, la biomasa de presas obtenida por las plantas, el área de la roseta como una covariable, y todas las interacciones. La transformación logarítmica de la variable dependiente ($\ln(\text{botones producidos} + 1)$) corrigió la heteroscedasticidad del error. La significancia del efecto de la población indica diferencias entre poblaciones en la producción de botones no asociadas con la captura de presas. En contraste, el término de interacción entre el efecto de población por la biomasa de presas obtenida por las plantas específicamente indicaría diferencias entre poblaciones en el beneficio derivado de la carnivoría.

Ambos análisis de covarianza se corrieron originalmente con modelos saturados. Las interacciones no significativas se eliminaron y se corrieron los análisis nuevamente. Debido a la diferencia en el número de plantas por población, en ambos análisis se consideró la suma de cuadrados tipo III (PROC GLM, SAS 1989).

iii) Análisis de selección fenotípica

La magnitud de la selección que opera sobre el hábito carnívoro en *P. moranensis* se evaluó mediante análisis de rutas independientes para cada población. Este análisis permite detectar los

blancos de la selección (i.e., directos e indirectos) y es muy útil en sistemas con variables intermedias que operan secuencialmente (Schemske y Horvitz 1988, Crespi y Bookstain 1989, Kingsolver y Schemske 1991, Scheiner *et al.* 2000).

El modelo de rutas evaluado considera que el área de la roseta y la densidad de glándulas afectan directamente la captura de presas (biomasa obtenida de presas). La captura de presas a su vez debería tener un efecto directo en la producción de botones. La densidad de glándulas digestivas debería influir directamente en el número de botones producidos. El área de la roseta debería afectar directamente el desempeño de las plantas.

Si se considera que la última variable en el diagrama es la producción de botones, entonces, la captura de presas, la densidad de glándulas digestivas y el área de la roseta tienen efectos directos. Por otra parte, la densidad de glándulas de captura y el área de la roseta tienen también efectos indirectos sobre la producción de botones, ya que primero afectan la captura de presas. El efecto directo de una variable sobre otra se determina mediante los coeficientes de ruta, que son los coeficientes de regresión parcial estandarizados (Pedhazur 1982). Los efectos indirectos se calculan mediante el producto de los diferentes coeficientes de ruta involucrados en una ruta particular. Los coeficientes de ruta se obtuvieron mediante el programa EzPath Ver. 1 (Stelger 1989). La suma de los efectos directos más los indirectos constituye el coeficiente de efecto. Su magnitud indica el efecto total de cada una de las variables sobre la producción de botones florales.

Resultados

Disponibilidad de recursos y asignación hacia la carnivoría

El nitrógeno total varió significativamente entre las poblaciones ($F_{(3, 14)} = 4.68, P = 0.02, R^2 = 0.50$), la concentración de nitrógeno en T fue 2.4, 2.8 y 2.8 veces mayor que en LC, VAL y MOL, respectivamente (Fig. 1a). La disponibilidad de presas también varió entre poblaciones ($F_{(3, 90)} = 16.9, P < 0.0001, R^2 = 0.36$), mostrando un patrón similar al del nitrógeno total. La disponibilidad de presas fue 2.3, 1.6 y 2.6 veces mayor en T que en LC, VAL y MOL, respectivamente (Fig. 1b).

Debido a la mayor disponibilidad de nitrógeno y presas en T, este sitio es considerado como el más rico. Por el contrario, el sitio más pobre fue MOL.

El promedio de la densidad de glándulas de captura varió entre las poblaciones ($F_{(3,213)} = 20.71, P < 0.0001, R^2 = 0.22$). Como se esperaba de acuerdo a la menor presión selectiva en T, se encontró que las plantas de esta población mostraron la densidad de glándulas de captura más baja, siendo en general cerca de 74% menor que en las otras tres poblaciones (Fig. 1c). De hecho la correlación negativa entre la disponibilidad de nitrógeno con la densidad de glándulas de captura ($r_s = -1, P = 0.001$) apoya este resultado indicando una mayor asignación hacia estas glándulas en los sitios con menor disponibilidad de nitrógeno. La densidad de glándulas digestivas varió entre poblaciones ($F_{(3,216)} = 3.87, P = 0.01, R^2 = 0.05$), pudiéndose distinguir dos grupos, T y LC con una densidad promedio 8% mayor que la registrada en VAL y MOL (Fig. 1d). La densidad de glándulas digestivas se relacionó positivamente con la cantidad de nitrógeno total ($r_s = 1, P = 0.001$) y no hubo relación con la disponibilidad de presas. En contraste con el patrón observado en las glándulas de captura, este resultado indica una mayor densidad de glándulas digestivas hacia los sitios más ricos en nitrógeno. De hecho, la correlación entre ambos tipos de glándulas fue

negativa ($r_s = -1$, $P = 0.001$). El área de la roseta también varió entre las poblaciones ($F_{(3,246)} = 3.08$, $P = 0.03$, $R^2 = 0.04$), mostrando que las plantas de MOL presentaron rosetas más pequeñas en comparación con las plantas de LC y VAL (Fig. 1e). No obstante, no se encontraron diferencias entre las rosetas de las plantas de T, LC y VAL. El área de la roseta no se relacionó ni con la densidad de ambos tipos de glándulas ni con la disponibilidad de recursos

Eficiencia de captura de presas y beneficio derivado de la carnivoría

El análisis de covarianza de la biomasa de presas obtenida por las plantas fue altamente significativo ($F_{(9,171)} = 13.82$, $P < 0.0001$, $R^2 = 0.42$). De acuerdo con este modelo, la biomasa de presas capturada por las plantas se puede explicar por los efectos de la población, el área de la roseta, la densidad de glándulas de captura, la interacción entre estos dos atributos y por último, por la interacción entre el efecto de población con la densidad de glándulas de captura, que determina diferencias en la eficiencia de captura entre las poblaciones (Tabla 1).

Los parámetros estimados por el análisis de covarianza mostraron el efecto directo de la variación en el área de la roseta y la densidad de glándulas de captura sobre la captura de presas (Tabla 2). El efecto de la densidad de glándulas de captura varió entre las poblaciones indicando diferencias en la eficiencia de captura asociadas con este atributo (Tabla 2). El efecto general de la densidad de glándulas sobre la captura de presas fue de 1.089 (mg de presa \times mm²/glándula de captura). En la población de T, el efecto de la densidad de glándulas fue significativamente menor que el efecto general. Esto indica que en este sitio, la dependencia de la captura de presas sobre la densidad de glándulas es menor. En las poblaciones de VAL y MOL, las pendientes no difirieron significativamente del efecto general, mientras que en MOL, el efecto de la densidad de glándulas

de captura fue 1.18 veces mayor (Tabla 2). Estos resultados muestran que el efecto de la variación en la densidad de glándulas de captura en MOL, el sitio con menor disponibilidad de nutrientes fue 1.26 veces mayor que en T, la población con mayor disponibilidad de presas y de nitrógeno en el sustrato. Las poblaciones difirieron además en la ordenada al origen (intercepto). Este resultado indica un efecto de sitio en el que las diferencias en la captura de presas no están asociadas con el fenotipo de las plantas. La interacción entre la densidad de glándulas de captura y el área de la roseta fue positiva, e indica que las plantas con rosetas más grandes y con más glándulas de captura obtuvieron la mayor biomasa de presas.

La producción de botones florales varió significativamente por el efecto de la población, de la biomasa de presas obtenida, del área de la roseta y por la interacción entre la población con la biomasa de presas ($F_{(8,195)} = 33.79, P < 0.0001, R^2 = 0.58$; Tabla 3).

Los parámetros estimados muestran que las plantas más grandes y las que capturaron más presas produjeron más botones (Tabla 4). El beneficio derivado de la carnivoría varió entre poblaciones. El efecto general de la captura de presas sobre la producción de botones se estimó en 0.03 (botones/mg de presa). La contribución de la captura de presas en las poblaciones de T y LC fue significativamente menor que el efecto general. En contraste, el efecto de la captura de presa en las poblaciones VAL y MOL fue significativamente mayor (Tabla 4). Estos resultados sugieren que en los sitios considerados como más pobres, la habilidad de las plantas de convertir las presas capturadas en unidades de adecuación es más alta que en ambientes con mayor fertilidad y abundancia de presas potenciales (Tabla 4).

Análisis de selección fenotípica

El modelo probado en las diferentes poblaciones fue en general muy robusto, ya que mostró valores ajustados del índice Gama desde 0.46 en T hasta más de 0.97 en LC, VAL y MOL. Este índice puede ser interpretado como un coeficiente de determinación ajustado por la complejidad estructural del modelo (Stelger 1989).

El área de la roseta tuvo un efecto mayor que la densidad de glándulas de captura sobre la biomasa capturada. Su intensidad se incrementó desde T hacia MOL por un factor de 2.8 (Fig. 2). El efecto de la densidad de glándulas de captura también aumentó hacia MOL. En las poblaciones de T, LC y MOL, un incremento en una desviación estándar en la densidad de glándulas produjo un incremento máximo de tan solo 7% en la cantidad de biomasa obtenida a partir de la captura. En contraste, en MOL, la población con menos presas disponibles y menos nitrógeno, el incremento sería de 24% (Fig. 2).

El efecto de la captura de presas sobre la producción de botones florales se incrementó también hacia los sitios con menor disponibilidad de recursos, aunque el efecto es más evidente en VAL y MOL, en donde un aumento de una desviación estándar en la biomasa capturada produjo un incremento del 28% y del 50%, respectivamente, en la producción de botones florales (Tabla 5, Fig. 2). Este resultado muestra que la captura de presas es particularmente importante en los sitios más limitantes (baja disponibilidad de nitrógeno en el substrato y de presas). El área de la roseta tuvo un efecto directo sobre la producción de botones en todas las poblaciones (Tabla 5, Fig. 2). El efecto del área sobre la producción de botones varió entre 29 y 48%. La variación en la densidad de glándulas digestivas afectó levemente la producción de botones en todas las poblaciones (Tabla 5, Fig. 2).

La magnitud del efecto indirecto del área de la roseta sobre la producción de botones se incrementó hacia MOL (Tabla 5). De hecho, en MOL, el efecto indirecto fue casi de la misma magnitud (0.34) que el efecto directo (0.4). El efecto indirecto de la densidad de glándulas de captura fue muy bajo en T, LC y VAL, mientras que en MOL, un incremento de una desviación estándar en la densidad de glándulas produjo de manera indirecta, un incremento de 12% en el número de botones (Tabla 5).

Analizando los coeficientes de efecto (la suma de los efectos directos e indirectos) se puede observar que en la población de MOL, la contribución del área de la roseta, la densidad de glándulas de captura y la captura de presas sobre la producción de botones fue más homogénea, de modo que el área de la roseta tuvo un efecto de 1.48 y 6.6 veces mayor que el efecto de la captura y de la densidad de glándulas de captura, respectivamente. En contraste, en las otras tres poblaciones, el efecto del área fue un orden de magnitud mayor que los efectos de la densidad de glándulas y la captura de presas.

El efecto total de la densidad de glándulas digestivas fue entre 1.25 y 6.7 veces mayor al efecto de la densidad de glándulas de captura en las poblaciones de T, LC y MOL. En contraste, en MOL, el efecto de las glándulas de captura fue 2.4 veces mayor que el de las glándulas digestivas. Este resultado muestra que en MOL, el sitio con menor disponibilidad de presas y de nitrógeno en el substrato, la selección favorece una mayor inversión de recursos hacia la captura que a la digestión de las presas.

Discusión

Este es el primer trabajo en el que se estima la intensidad de la selección fenotípica operando sobre atributos asociados con el hábito carnívoro, considerando la variación natural en la disponibilidad de nitrógeno y de presas. Los resultados más relevantes son los siguientes: 1) El fenotipo de las plantas varió diferencialmente en términos de la densidad de glándulas de captura y de glándulas digestivas de acuerdo a la disponibilidad de nitrógeno. 2) Aunque el promedio de captura de presas fue mayor en los sitios más ricos en nitrógeno, la eficiencia de captura fue mayor en el sitio más pobre. 3) El beneficio derivado de la carnivoría se incrementó hacia los sitios pobres, sin embargo, la mayor producción promedio de botones florales se observó en LC. 4) La magnitud de la selección natural se incrementó hacia las condiciones más limitantes, mostrando que los atributos analizados pueden contribuir directamente e indirectamente al desempeño de las plantas.

Se ha propuesto que el mayor beneficio de la carnivoría se obtendría en sitios con baja disponibilidad de nitrógeno en el substrato (Givnish *et al.* 1984, Benzing 1987), sin embargo la evidencia que sustenta esta predicción se ha obtenido mayormente a través de experimentos de adición de nitrógeno. En este trabajo se mostró que diferentes poblaciones de plantas carnívoras pueden estar naturalmente expuestas a una variación en la disponibilidad de nitrógeno, generándose así condiciones para que la selección opere diferencialmente entre éstas. Por ejemplo, hay casi tres veces más nitrógeno en T que en MOL, por lo que en algunas poblaciones las plantas podrían beneficiarse del nitrógeno proveniente del substrato (Aldenius *et al.* 1983, Karlsson *et al.* 1991, Adamec 1997, Hanslin y Karlsson 1996). Además, los sitios más pobres en nitrógeno presentaron también la menor disponibilidad de presas. Debido a que las plantas carnívoras pueden adquirir cantidades significativas de nitrógeno a partir de la captura de presas (Dixon *et al.* 1980, Schulze *et al.* 1991, 1997, Ellison y Gotelli 2001), la variación en la disponibilidad de presas

también puede ser un factor limitante para el desempeño de las plantas. Por lo tanto, la mayor presión selectiva ocurriría en poblaciones como MOL. En estos sitios, la captura sería más valiosa para las plantas y se podría esperar una mayor inversión hacia los atributos asociados con el hábito carnívoro (Givnish *et al.* 1984).

Karlsson *et al.* (1987) reportaron una mayor eficiencia de captura (estimada como mg de presa/unidad de área) en *Pinguicula vulgaris* en un hábitat relativamente rico, en comparación con otra especie simpátrida asociada a sitios pobres. Estos resultados contrastan con lo esperado de acuerdo al modelo de Givnish *et al.* (1984), que predice una mayor eficiencia hacia los sitios más pobres. En este trabajo se encontró que la biomasa promedio de presas obtenida por las plantas por unidad de área, fue también mayor hacia las poblaciones más ricas en nitrógeno. Sin embargo, es factible que la mayor captura en estos sitios esté determinada, al menos parcialmente, por la mayor disponibilidad de presas en éstos. En contraste, la eficiencia de captura estimada en este trabajo mostró acuerdo con la predicción planteada, ya que el efecto de la densidad de glándulas de captura sobre la biomasa de presas capturada, se incrementó substancialmente hacia los sitios más pobres en nitrógeno y de presas (Fig. 2). Este resultado indica que la sola estimación de la cantidad de biomasa de presas obtenida por unidad de área, no es un buen indicador de la presión selectiva que enfrentan las plantas, y que una estimación adecuada de la eficiencia de captura debería considerar la captura de presas como una función del fenotipo de las plantas.

A partir de la variación en el régimen de selección sobre la captura de presas se podría esperar diferenciación entre las poblaciones. El incremento de la densidad promedio de glándulas de captura hacia las poblaciones con menor disponibilidad de nitrógeno apoya esta propuesta. No obstante, la densidad promedio de las glándulas digestivas se incrementó hacia los sitios ricos. Este resultado es relevante porque muestra que la variación en la disponibilidad de nutrimentos

puede afectar diferencialmente la asignación hacia las glándulas de ambos tipos, y sugiere que en los sitios más pobres y con menor disponibilidad de presas, sería más rentable invertir en glándulas de captura. De hecho, el efecto de las glándulas captura sobre la producción de botones en MOL, es 2.4 veces mayor que el efecto de las glándulas digestivas (Fig. 2). La asignación diferencial entre ambos tipos de glándulas de acuerdo a la variación en la disponibilidad de presas evidencia optimización en el forrajeo de recursos en las plantas carnívoras (*sensu* Agrawal 2002).

La relación entre el desempeño de las plantas con la captura de presas generó tres escenarios distintos determinados por la interacción de varios recursos. En uno de los escenarios se encuentran las plantas de T, que mostraron una elevada captura de presas; sin embargo, el bajo desempeño de las plantas sugiere que éste podría estar limitado mayormente por la luz (Zamora *et al.* 1998). En este sitio las plantas crecen sobre paredes cuya orientación y altura determinan una baja disponibilidad de luz fotosintéticamente activa (Alcalá y Domínguez, 2003), por lo que la mayor captura no puede ser traducida en unidades de adecuación de manera eficiente. Thorén y Karlsson (1998) mostraron también que el ambiente físico puede disminuir la respuesta de las plantas a la captura de presas. En un escenario intermedio se encuentran las plantas de LC. En este sitio, las plantas se benefician por la elevada disponibilidad de ambos recursos, luz y presas (Alcalá y Domínguez 2003), por lo que no están sujetas a una presión selectiva intensa. Por ejemplo, la magnitud de la dependencia de la captura de presas sobre la densidad de glándulas de captura, y de la producción de botones florales sobre la captura fue baja, alrededor de 7% en ambos casos. En el tercer escenario representado por las poblaciones de VAL y MOL, el éxito reproductivo de las plantas se encuentra limitado por la disponibilidad de nutrientes y no por la luz (Alcalá y Domínguez 2003). En este caso se encontró el mayor beneficio de la carnivoría de acuerdo a lo esperado por el modelo de Givnish *et al.* (1984). Particularmente en MOL, existe una mayor

presión selectiva sobre el hábito carnívoro, ya que la captura otorga los mayores beneficios, y es en donde las plantas asignan más recursos hacia la producción de glándulas de captura.

En otros estudios se ha mostrado que la variación fenotípica de las plantas afecta la probabilidad de captura o el tipo y el tamaño de las presas capturadas (Wolfe 1981, Gibson 1991, Karlsson *et al.* 1994, Zamora 1995, Moran 1996) y otros más han mostrado que el ambiente físico puede tener un efecto significativo sobre el fenotipo de las plantas (Jaffé *et al.* 1996, Zamora *et al.* 1998, Ellison y Gotelli 2002). Sin embargo, no existen trabajos en donde se haya evaluado el efecto de la variación fenotípica sobre la adecuación de las plantas carnívoras. En este estudio se encontró selección direccional sobre la densidad de glándulas de captura y el área de la roseta. Por lo tanto, ambos atributos podrían mantenerse en las poblaciones como resultado de la presión ejercida sobre el hábito carnívoro. Sin embargo, es probable que estos atributos pudieran también estar asociados con otras funciones contribuyendo también a su mantenimiento. Las glándulas de captura podrían conferir protección en contra de herbívoros, una ventaja para una planta de lento crecimiento (Alcalá y Domínguez 1997), y el área de la roseta podría estar asociada con la probabilidad de supervivencia o de reproducción en de las plantas, ya que se ha mostrado que las plantas más grandes tienen una mayor probabilidad de florecer (Svensson *et al.* 1993). La producción de botones florales en *P. moranensis* var. *neovolcanica* estuvo mayormente influenciada por la variación en el área de la roseta en comparación con otros atributos, sobre todo en los sitios más pobres en nutrimentos y presas. Este resultado evidencia que el tamaño de las plantas es un componente importante de la adecuación.

En otras especies de *Pinguicula* se ha mostrado la existencia de compromisos entre la reproducción y la supervivencia. Por ejemplo, las plantas que florecen tienen una mayor mortalidad a la siguiente temporada de crecimiento (Worley y Harder 1996). La existencia de este

compromiso determinaría que, a pesar del incremento en el éxito reproductivo derivado de la carnivoría, la permanencia sería uno de los componentes más determinantes de la demografía de estas plantas.

Otros trabajos han identificado sin ambigüedad a la escasez de nutrimentos y la captura de presas como factores limitantes del desempeño de las plantas carnívoras (Darwin 1875, Thum 1988, Karlsson y Pate 1992, Zamora *et al.* 1997). En este trabajo se muestra que el escenario ecológico que enfrentan las plantas carnívoras puede ser muy complejo en términos de la variación en diferentes recursos que pueden limitar el éxito reproductivo de las plantas. En este escenario de heterogeneidad ambiental, la selección natural opera diferencialmente en términos de su magnitud y de su dirección, determinando que el beneficio derivado del hábito carnívoro varíe entre las diferentes poblaciones.

Literatura citada

- Adamec, L. 1997. Mineral nutrition of carnivorous plants: a review. *The Botanical Review* **63**: 273-299.
- Agrawal, A. A. 2002. Optimal foraging and phenotypic plasticity in plants. *Trends in Ecology and Evolution* **17**: 305.
- Albert, V. A., Williams, S. E. y Chase, M. W. 1992. Carnivorous plants: phylogeny and structural evolution. *Science* **257**: 1491-1495.
- Alcalá, R. E. y Domínguez, C. A. 1997. Biología de las plantas carnívoras: aspectos ecológicos y evolutivos. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* **60**: 59-69.
- Alcalá, R. E. y Domínguez, C. A. 2003. Patterns of prey capture and prey availability among populations of the carnivorous plant *Pinguicula moranensis* (Lentibulariaceae) in an environmental gradient. *American Journal of Botany* **90**: 1341-1348.

- 57
- Aldenius, J., Carlsson, B. y Karlsson B. 1983. Effects of insect trapping on growth and nutrient content of *Pinguicula vulgaris* L. in relation of the substrate. *New Phytologist* **93**: 53-59.
- Benzing, D. H. 1987. The origin and rarity of botanical carnivory. *Trends in Ecology and Evolution* **2**: 364-369.
- Chandler, G. E. y Anderson, J. W. 1976. Studies on the nutrition and growth of *Drosera* species with reference to the carnivorous habit. *New Phytologist* **76**: 129-141.
- Crespi, B. y Bookstein, F. 1989. A path-analytic model for the measurement of selection on morphology. *Evolution* **43**: 18-28.
- Darwin, C. 1875. *Insectivorous Plants*. John Murray, London.
- Dixon, K. W., Pate, J. S. y Bailey, W. J. 1980. Nitrogen nutrition of the tuberous sundew *Drosera erythrorhiza* Lindl. with special reference to the catch of arthropod fauna by its glandular leaves. *Australian Journal of Botany* **28**: 283-297.
- Domínguez, C. A., Eguiarte, L. E., Núñez-Farfán, J. y Dirzo, R. 1998. Flower morphometry of *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae): geographical variation in Mexican populations. *American Journal of Botany* **85**: 637-643.
- Ellison, A. M. y Gotelli, N. J. 2001. Evolutionary ecology of carnivorous plants. *Trends in Ecology and Evolution* **11**: 623-629.
- Ellison, A. M. y Gotelli, N. J. 2002. Nitrogen availability alters the expression of carnivory in the northern pitcher plant *Sarracenia purpurea*. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.* **99**: 4409-4412.
- Gibson, T. C. 1991. Differential escape of insects from carnivorous plants traps. *American Midland Naturalist* **125**: 55-62.
- Givnish, T. J., Burkhardt, E. L., Happel, R. E. y Weintraub, J. D. 1984. Carnivory in the bromeliad *Brocchinia reducta*, with a cost/benefit model for the general restriction of carnivorous to sunny, moist, nutrient-poor habitats. *American Naturalist* **124**: 479-497.
- Heslop-Harrison, Y. 1978. Carnivorous plants. *Scientific American* **238**: 104-115.

- 58
- Hanslin, H. M. y Karlsson, P. S. 1996. Nitrogen uptake from prey and substrate as affected by prey capture level and plant reproductive status in four carnivorous plant species. *Oecologia* **106**: 370-375.
- Jaffé, K., Michelangeli, F., González, J. M., Miras, B. y Ruiz, M. C. 1992. Carnivory in pitcher plants of the genus *Heliamphora* (Sarraceniaceae). *New Phytologist* **122**: 733-744.
- Juniper, B. E., Robins, R. J. y Joel, D. M. 1989. The carnivorous plants. Academic Press, London, U.K.
- Karlsson, P. S., Nordell, K. O., Carlsson, B. A. y Svensson, B. M. 1991. The effect of soil nutrient status on prey utilization in four carnivorous plants. *Oecologia* **86**: 1-7.
- Karlsson, P. S., Nordell, K. O., Eirefelt, S. y Svensson, A. 1987. Trapping efficiency of three carnivorous *Pinguicula* species. *Oecologia* **73**: 518-521.
- Karlsson, P. S. y Pate, J. S. 1992. Contrasting effects of supplementary feeding on insects or mineral nutrients on the growth and nitrogen and phosphorous economy of pygmy species of *Drosera*. *Oecologia* **92**: 8-13.
- Karlsson, P. S., Thorén, L. M. y Hanslin, H. M. 1994. Prey capture by three *Pinguicula* species in a subarctic environment. *Oecologia* **99**: 188-193.
- Kingsolver, J. G. y Schemske, D. W. 1991. Path analyses of selection. *Trends in Ecology and Evolution* **6**: 276-280.
- Lüttge, U. 1983. Ecophysiology of carnivorous plants. En: Lange, O. L., Nobel, P. S., Osmond, C. B. y Zeigler, H. (eds.), *Encyclopaedia of Plant Physiology*, Vol. 12 C. (Physiological Plant Ecology III). Springer-Verlag, Berlín.
- Meacham, C. A. y Duncan, T. D. 1989. MorphoSys ver. 1.26 University Herbarium, University of California, Berkeley.
- Moran, J. A. 1996. Pitcher dimorphism, prey composition and the mechanisms of prey attraction in the pitcher plant *Nepenthes rafflesiana* in Borneo. *Journal of Ecology* **84**: 515-525.
- Pedhazur, E. J. 1982. *Multiple regression in behavioral research*. Holt, Rinehart and Winston.

SAS Institute 1989. *SAS/STAT User's Guide*, release 6.03. SAS Campus Drive, Cary, N.C., U. S. A.

SAS Insititute 1996. JMP, Introductory Guide. SAS Campus Drive, Cary, N. C., U. S. A.

Scheiner, S. M., Mitchell, R. J. y Calahhan, H. S. 2000. Using path analysis to measure natural selection. *Journal of Evolutionary Ecology* 13: 423-433.

Schulze, E. D., Gebauer, G., Schulze, W. y Pate, J. S. 1991. The utilization of nitrogen from insect capture by different growth forms of *Drosera* from Southwest Australia. *Oecologia* 87: 240-246.

Schulze, W., Schulze, E. D., Pate, J. S. y Gillison, A. N. 1997. The nitrogen supply from soils and insects during growth of the pitcher plants *Nepenthes mirabilis*, *Cephalotus follicularis* and *Darlingtonia californica*. *Oecologia* 112: 464-471.

Schemske, D. W. y Horvitz, C. C. 1988. Plant-animal interactions and fruit production in a neotropical herb: a path analysis. *Ecology* 69: 1128-1137.

Sokal, R. R. y Rohlf, F. J. 1995. *Biometry* Third Edition. W. H. Freeman and Co. New York, N.Y.

Stelger, J. H. 1989. EzPATH. Causal modelling. A supplementary module for systat and sygraph ver. 1. Systat Inc. Evanston, IL.

Svensson, B. M., Carlsson, B., Karlsson, P. S. y Nordell, K. O. 1993. Comparative long-term demography of three species of *Pinguicula*. *Journal of Ecology* 81: 635-645.

Thorén, L. M. y Karlsson, P. S. 1998. Effects of supplementary feeding on growth and reproduction of three carnivorous plant species in a subarctic environment. *Journal of Ecology* 86: 501-510.

Thum, M. 1988. The significance of carnivory for the fitness of *Drosera intermedia* and *D. rotundifolia* to supplementary feeding. *Oecologia* 75: 472-480.

Wolfe, L. M. 1981. Feeding behavior of a plant: differential prey capture in old and new leaves of the pitcher plant (*Sarracenia purpurea*). *American Midland Naturalist* 106: 352-359.

- Worley, A. C. y Hader, L. D. 1996. Size-dependent resource allocation and costs of reproduction in *Pinguicula vulgaris* (Lentibulariaceae). *Journal of Ecology* **84**: 195-206.
- Zamora, R. 1995. The trapping success of a carnivorous plant, *Pinguicula vallisneriifolia*: the cumulative effects of availability, attraction, retention and robbery of prey. *Oikos* **73**: 309-322.
- Zamora, R., Gómez, J.M. y Hódar, J.A. 1997. Responses of a carnivorous plant to prey and inorganic nutrients in a Mediterranean environment. *Oecologia* **111**: 443-451.
- Zamora, R., Gómez, J.M. y Hódar, J.A. 1998. Fitness responses of a carnivorous plant in contrasting ecological scenarios. *Ecology* **79**: 1630-1644.
- Zamudio, S. 1999. Notas sobre la identidad de *Pinguicula moranensis* H. B. K. con la descripción de una variedad nueva. *Acta Botanica Mexicana* **49**: 23-34.
- Zar, J. 1996. Biostatistical analysis. Prentice Hall, Englewood Cliffs, N. J., USA.

Tabla 1. Análisis de covarianza sobre la biomasa de presas obtenida por las plantas a partir del efecto de población, del área de la roseta (AR), la densidad de glándulas de captura (GC), su interacción (GC × AR) y la interacción (población × GC). La significancia de (población × GC) muestra diferencias entre poblaciones en la eficiencia de captura.

Fuente de variación	Parámetros	GL	Suma de Cuadrados	F	P
Población	3	3	14.37	5.4	0.0014
AR	1	1	15.28	17.25	<0.0001
GC	1	1	3.88	4.38	0.0377
GC × AR	1	1	5.09	5.75	0.0175
Población × GC	3	3	8.30	3.12	0.0273

Tabla 2. Parámetros estimados a partir del ANCOVA sobre la biomasa de presas obtenida por las plantas. Los parámetros fueron retransformados a la variable original (mg de presa). Los parámetros marcados con * indican que el efecto de las glándulas de captura sobre la captura de presas para esa población en particular, difiere del efecto general de las glándulas *($P < 0.0001$).

Población	Intercepto	Glándulas de captura (GC)	Área de la roseta (AR)	GC × AR
T	3.97	0.95*	1.01	0.99
LC	0.90	1.01	1.01	0.99
VAL	0.33	1.01	1.01	0.99
MOL	0.16	1.2*	1.01	0.99

Tabla 3. Análisis de covarianza sobre el número de botones florales producidos por planta a partir del efecto de la población, la biomasa de presas obtenida por las plantas (captura), el área de la roseta y la interacción (población × captura). La significancia del término (población × captura) muestra diferencias entre poblaciones en el beneficio derivado de la carnivoría.

Fuente de variación	Parámetros	GL	Suma de Cuadrados	F	P
Población	3	3	14.64	22.42	<0.0001
Captura	1	1	4.26	19.57	<0.0001
Area de la roseta	1	1	6.66	30.59	<0.0001
Población × captura	3	3	6.58	10.08	<0.0001

Tabla 4. Parámetros estimados a partir del análisis de covarianza sobre la producción de botones florales producidos por las plantas en las cuatro poblaciones. Los parámetros fueron retransformados a la variable original (botones por planta). Los parámetros marcados con (*) indican que el efecto de la captura de presas sobre la producción de botones florales para esa población en particular, difiere del efecto general de la captura *($P < 0.001$), **($P < 0.0001$).

Población	Intercepto	Captura de presas	Área de la roseta
T	-0.013	-0.005**	0.0025
LC	1.44	-0.003**	0.0025
VAL	0.23	0.08*	0.0025
MOL	-0.04	0.06*	0.0025

Tabla 5. Coeficientes de efecto (efecto indirecto + efecto directo) de la densidad de glándulas de captura, el área de la roseta, glándulas digestivas y la biomasa de presas obtenida (captura de presas) sobre la producción de botones florales en las plantas de T, LC, VAL y MOL. Los efectos indirectos se calculan mediante el producto de los coeficientes involucrados en una ruta particular. Los coeficientes de ruta entre la captura de presas y la densidad de glándulas digestivas con la producción de botones representan los efectos directos.

Población	Atributo	Efecto indirecto	Efecto directo	Coefficiente de efecto
T	Área de la roseta	-0.04	0.48	0.44
	Glándulas de captura	0.029	-	0.029
	Captura de presas	-	-0.17	-0.17
	Glándulas digestivas	-	0.11	0.11
LC	Área de la roseta	0.03	0.29	0.32
	Glándulas de captura	0.006	-	0.006
	Captura de presas	-	0.08	0.08
	Glándulas digestivas	-	0.04	0.04
VAL	Área de la roseta	0.14	0.47	0.61
	Glándulas de captura	0.008	-	0.008
	Captura de presas	-	0.28	0.28
	Glándulas digestivas	-	0.01	0.01
MOL	Área de la roseta	0.34	0.4	0.74
	Glándulas de captura	0.12	-	0.12
	Captura de presas	-	0.5	0.5
	Glándulas digestivas	-	0.05	0.05

64

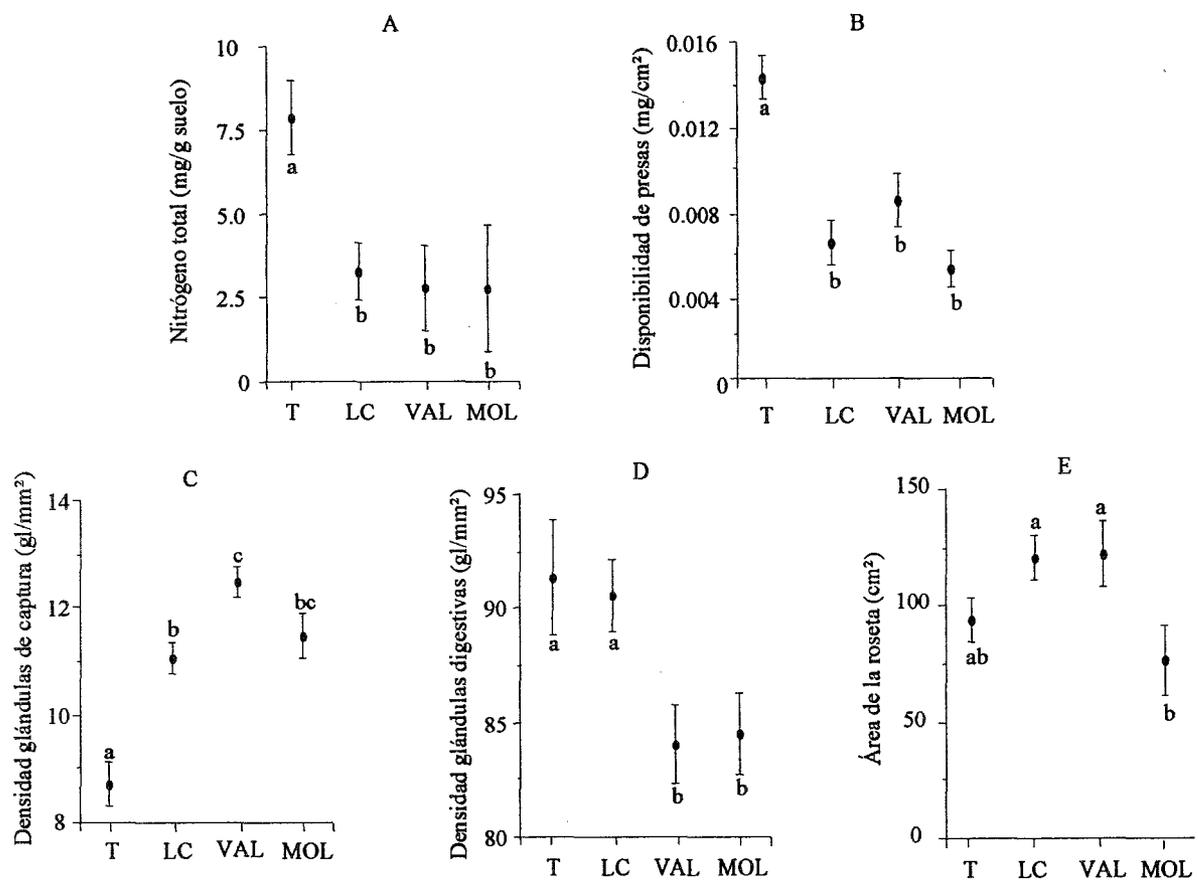
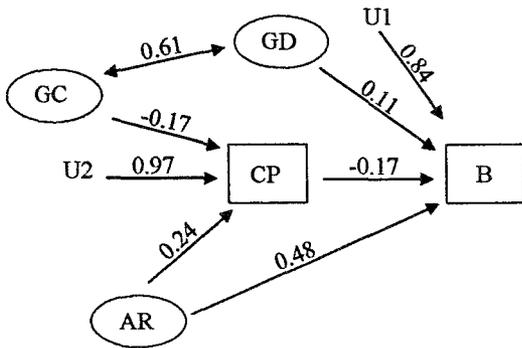
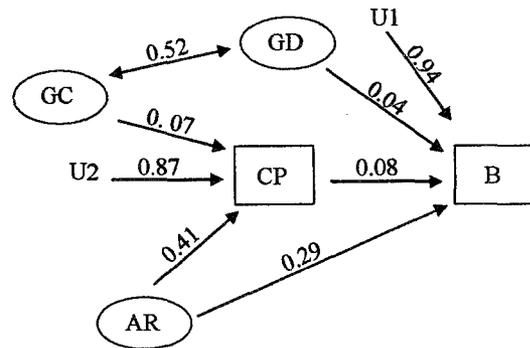


Figura 1. Variación entre poblaciones (promedio \pm 1 E. E.) en la cantidad de nitrógeno total (A), disponibilidad de presas (B), densidad de glándulas de captura (C), densidad de glándulas digestivas (D) y área de la roseta (E). Las poblaciones con la misma letra no difieren significativamente.

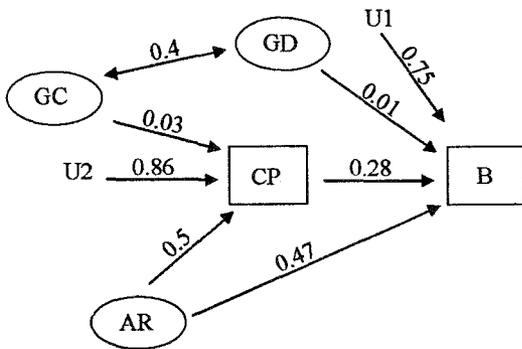
T



LC



VAL



MOL

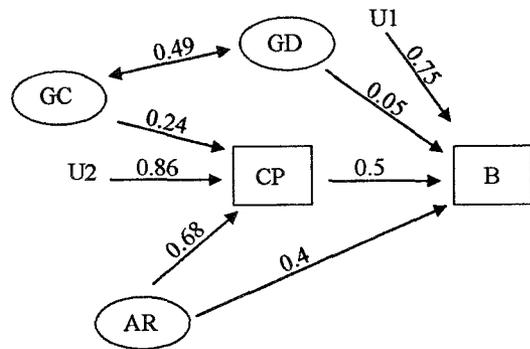


Figura 2. Diagramas de rutas sobre el hábito carnívoro en cuatro poblaciones de *P. moranensis*.

Densidad de glándulas de captura (GC), área de la roseta (AR), captura de presas (CP), densidad de glándulas digestivas (GD), botones florales producidos (B), residuos (U). Los coeficientes de rutas se estimaron a partir de la matriz de correlación de Pearson entre todas las variables, y por lo tanto, son coeficientes estandarizados.

Capítulo IV

**Estructura genética y variación entre poblaciones de la planta
carnívora *Pinguicula moranensis* (Lentibulariaceae)
estimada mediante ADN polimórfico amplificado al azar**

Introducción

Desde el establecimiento de la técnica de izoenzimas en los años sesenta, los estudios sobre variación genética en las poblaciones naturales se han incrementado substancialmente. La extensa evidencia empírica generada desde entonces ha permitido evaluar el efecto de diversos factores ecológicos e históricos sobre la magnitud de variación genética contenida dentro y entre las diferentes especies de plantas (Loveless y Hamrick 1984, Hamrick y Godt 1989).

La variación contenida dentro y entre las diferentes poblaciones puede ser el resultado de la selección natural. La diferenciación genética se produce cuando los parches de individuos o las poblaciones tienen un flujo genético restringido y están sujetos a diferentes presiones selectivas (Linhart y Grant 1996, Huff *et al.* 1998, Mengoni *et al.* 2000). Las plantas carnívoras pueden estar expuestas a una elevada heterogeneidad ambiental, ya sea entre especies simpátridas (Karlsson *et al.* 1987, Hanslin y Karlsson 1996, Thorén y Karlsson 1998), entre poblaciones (Alcalá y Domínguez 2003) e incluso entre parches dentro de una población (Zamora *et al.* 1998). Consecuentemente pueden surgir diferentes presiones selectivas como resultado de la variación en la duración de la época de crecimiento (Molau 1983), el ambiente lumínico (Givnish *et al.* 1984, Zamora *et al.* 1998), la disponibilidad de presas y de nitrógeno en el substrato (Alcalá y Domínguez 2003), o la intensidad del robo de presas (Zamora 1995, Anderson y Midgley 2002). De hecho, se ha determinado que la intensidad de la selección que opera sobre el hábito carnívoro varía entre poblaciones incrementándose hacia las condiciones de menor disponibilidad de nutrimentos en el substrato y de presas potenciales (ver Capítulo III). Asimismo, se ha mostrado que las poblaciones de plantas carnívoras pueden diferir en los valores promedio de atributos asociados con la captura y digestión de las presas, y que esta variación está relacionada parcialmente con la variación en el ambiente físico (ver Capítulo III).

Debido a que la selección natural favorece combinaciones particulares de atributos que están relacionados con la adecuación, se podría esperar que estas diferencias condujeran a una diferenciación genética entre las poblaciones de plantas carnívoras. Particularmente, bajo el efecto de la selección natural, se espera que las poblaciones con ambientes más semejantes deberían ser más parecidas genéticamente.

Sin embargo, tanto la diversidad genética como la diferenciación entre las poblaciones puede estar relacionada con otros eventos como los cuellos de botella (Shwaegerle y Schaal 1979, Hamrick y Godt 1989, Godt y Hamrick 1998), el grado de rareza y la distribución geográfica (Rabinowitz 1981, Loveless y Hamrick 1984, Maki y Horie 1999) y con algunos factores ecológicos como el sistema de apareamiento (Layton y Ganders 1984, Holtsford y Ellstrand 1990, Eguiarte *et al.* 1992, Sun 1999) o la fragmentación del hábitat (Cardoso *et al.* 1998, Morden y Loeffler 1999). Estos eventos también pueden producir divergencia entre las poblaciones, sin embargo, esta diferenciación sería el resultado de efectos estocásticos.

Diferentes estudios han mostrado que en algunos casos los niveles de variación no se ajustan totalmente a los esperados teóricamente (Bartish *et al.* 1999, Gugerli *et al.* 1999, Mengoni *et al.* 2000, Auge *et al.* 2001). Por esta razón, es necesario realizar estudios empíricos que ayuden a comprender cómo los patrones esperados por la teoría pueden modificarse debido a los atributos particulares de las diferentes especies.

En este trabajo se determinó la magnitud de la diversidad genética y el grado de diferenciación entre poblaciones de la planta carnívora *Pinguicula moranensis* var. *neovolcanica*. Específicamente se evalúa si el patrón de diferenciación genética se ajusta al patrón de diferenciación fenotípica determinado por las diferencias entre poblaciones en las presiones selectivas que operan sobre el hábito carnívoro. Además, debido a que tanto la diferenciación

entre poblaciones, como la diversidad genética, dependen del flujo genético, también se caracteriza el sistema de apareamiento de las plantas, y se exploran sus implicaciones sobre los patrones de variación encontrados.

Materiales y métodos

Especie y sitios de estudio

P. moranensis var. *neovolcanica* Zamudio es una planta herbácea, perenne y con hojas dimórficas. La roseta de captura está compuesta por 6-8 hojas glandulares que están presentes de mayo a octubre. Las hojas de captura se secan y aparece una pequeña roseta de resistencia (1-2 cm de diámetro) compuesta por hojas de 1-3 cm. Las hojas de la roseta de resistencia no presentan glándulas y están presentes durante los meses de otoño e invierno (Zamudio 1999). La floración ocurre principalmente durante los meses del verano. Las plantas producen flores insertadas individualmente en escapos de entre 6 y 15 cm de longitud. Las flores son bilabiadas y miden entre 25 y 60 mm de largo incluyendo el espolón. Su color varía de rosa claro a púrpura, y muestran gran variación en la forma de los lóbulos (Zamudio 2001). El lóbulo inferior suele presentar una mancha blanca que va desde su base hasta la garganta, la cual está rodeada por manchas más oscuras que probablemente funcionen como guías de néctar. Los polinizadores probablemente son abejas y pequeñas mariposas. Las flores presentan dos anteras relativamente grandes ubicadas por debajo del labio anterior del estigma. El estigma presenta dos lóbulos asimétricos con el lóbulo anterior más desarrollado que el posterior. El lóbulo anterior cubre a las anteras y es el que se encuentra próximo a la entrada de la corola, de modo que el movimiento del polen hacia el estigma es realizado necesariamente por la interacción con animales. Debido a la disposición de los órganos sexuales, la probabilidad de autopolinización es baja.

P. moranensis var. *neovolcanica* se distribuye ampliamente en las zonas montañosas del centro de México. Sus poblaciones se ubican a altitudes que van desde 1500 a 3200 m s.n.m.. Habitan en bosques de pino, de encino y de pino-encino, aunque algunas poblaciones se localizan en matorrales xerófilos. Las plantas usualmente colonizan laderas orientadas hacia el norte o noroeste las cuales permanecen sombreadas la mayor parte del día (Zamudio 2001).

Se seleccionaron cuatro poblaciones de *P. moranensis*, una ubicada en el estado de Morelos y tres en el estado de Puebla. La población ubicada en Morelos se localiza en la Sierra de Tepoztlán (T de aquí en adelante), una formación de origen sedimentario de unos 200 metros de altura sobre su base (18° 44' N, 99° 07' O, 2034 m s.n.m.). Las plantas crecen en taludes muy inclinados con condiciones sombreadas. La vegetación original corresponde a un bosque de pino encino. La segunda población se localiza en la Reserva Lázaro Cárdenas, ubicada muy cerca de la ciudad de Puebla (19° 01' N, 98° 06' O, 2430 m s.n.m.). Las plantas crecen al nivel del suelo bajo un bosque de encinos. La tercera población se localiza a 10 km al sur de la ciudad de Puebla cerca de la presa Valsequillo (VAL). Las plantas colonizan una pared de roca volcánica de unos 15 metros de largo por 3 m de alto localizada en una selva baja caducifolia con cierto grado de perturbación (18° 55' N, 97° 09' O, 2130 m s.n.m.). La cuarta población Molcaxac (MOL) se sitúa a 50 km al suroeste de la Ciudad de Puebla (18° 44' N, 97° 55' O, 1860 m s.n.m.). El substrato es de origen calcáreo y está cubierto por matorral xerófito. En este sitio las plantas crecen a nivel del suelo protegidas de la insolación por la sombra de otras plantas.

Aun cuando la variación latitudinal está restringida entre los 18° y 19° N, las condiciones ambientales entre las poblaciones son muy contrastantes y representan el ámbito de variación en el que pueden encontrarse estas plantas. La variación ambiental está principalmente determinada por la temperatura del aire, la humedad del substrato, la fertilidad del suelo y la luz fotosintéticamente

activa (Alcalá y Domínguez 2003). T presenta condiciones más sombreadas, húmedas y con la mayor cantidad de nitrógeno total. Asimismo, este sitio muestra la mayor disponibilidad de presas. Las plantas de MOL se localizan hacia el otro extremo del gradiente con las condiciones más soleadas, el substrato más seco, la temperatura más elevada y la menor disponibilidad de presas. Las poblaciones LC y VAL muestran condiciones intermedias siendo VAL más parecida a MOL.

Sistema de apareamiento

La determinación del sistema de apareamiento se realizó en plantas de la población LC debido a la escasez de individuos reproductivos en las otras poblaciones. En esta población se marcaron 45 plantas que tuvieran botones iniciados. Los botones se cubrieron cuidadosamente con una malla fina de tul para evitar la polinización. Al momento de la antesis las flores se asignaron aleatoriamente a uno de tres grupos, el tratamiento de autopolinización, de polinización cruzada o al grupo control. En cada grupo se utilizaron 15 plantas. El mecanismo de polinización artificial utilizado en los tratamientos simuló la polinización natural. Se utilizó un segmento de hilo nylon humedecido que se introducía con dirección hacia el espolón. El polen adherido era depositado posteriormente en el estigma de la misma flor. El polen para el tratamiento de entrecruza se obtuvo de la mezcla del polen de dos o tres individuos diferentes. En este caso el polen era removido cuidadosamente con un pincel y mezclado en un portaobjetos. Después de la polinización las flores fueron cubiertas nuevamente con el tul. En visitas subsecuentes se cuantificó el número de frutos producidos con respecto a los tratamientos. Como grupo control se utilizaron plantas cuyos botones fueron embolsados y sus flores expuestas una vez alcanzada la antesis.

ADN polimórfico amplificado al azar

Recientemente el ADN polimórfico amplificado al azar (RAPD en inglés)(Williams *et al.* 1990) se ha utilizado en una amplia gama de estudios sobre conservación, ecología y genética de poblaciones, tanto en especies silvestres como en cultivares (e.g. Yu y Pauls 1993, Weising *et al.* 1995, Bonnin *et al.* 1996, Zamora *et al.* 1996, Cardoso *et al.* 1998, Hormaza *et al.* 1998, Heaton *et al.* 1999, Maki y Hori 1999, Martín *et al.* 1999, Morden y Loeffler 1999, Stevens *et al.* 1999, Bonnin *et al.* 2000, Kwon y Morden 2002). A diferencia de las enzimas, estos marcadores moleculares se heredan de manera dominante, por lo que la caracterización genotípica puede resultar imprecisa (pero ver Lynch y Milligan 1994, Excoffier *et al.* 1992), sin embargo, permiten hacer un muestreo de todo el genoma mediante diferentes sondas o “primers”, y además están menos sujetos al efecto de la selección (Aagaard *et al.* 1998). Por esta razón, estos marcadores permiten generalmente revelan una mayor variación que la registrada mediante el uso de enzimas (Liu y Furnier 1993, Lánner-Herrera *et al.* 1996, Sun 1999, pero ver Le Corre *et al.* 1997, Sydes y Peakall 1998). Por otra parte, se ha mostrado que el patrón de diferenciación entre poblaciones es consistente y en algunos casos muy similar al observado con las enzimas (Isabel *et al.* 1995, Peakall *et al.* 1995, Yeh *et al.* 1995, Szmids *et al.* 1996, Le Corre *et al.* 1997, Aagaard *et al.* 1998, Buso *et al.* 1998, Sun 1999, pero ver Latta y Mitton 1997).

i) Material vegetal

A mediados de la temporada de crecimiento (julio 1998), se colectaron dos hojas maduras de 30 plantas elegidas al azar en cada población. En todos los casos se eligieron hojas que no tenían daño por patógenos, herbívoros, o daño físico. Cada hoja fue cuidadosamente lavada con agua destilada para eliminar las presas pegadas, así como restos de tejido vegetal y partículas de suelo.

Posteriormente las hojas fueron secadas, empaquetadas, marcadas y conservadas en nitrógeno líquido. En el laboratorio se almacenaron en un ultracongelador (REVCO) a -70°C .

ii) Extracción y amplificación del ADN

Para la extracción del ADN se pulverizaron 200 mg de tejido (peso fresco) de cada planta usando nitrógeno líquido y 1 ml 2X CTAB (Tris-HCl 100 mM pH 8, NaCl 1.4 M, EDTA 20 mM, CTAB 2% buffer, 0.3% β -mercaptoethanol) como búfer de extracción. Las muestras se colocaron individualmente en tubos de 1.5 ml y fueron centrifugadas a 10000 g por 8 min. a 4°C . El sobrenadante fue eliminado y el precipitado se resuspendió en 600 μl 2X CTAB. Posteriormente los tubos se incubaron a 60°C durante 30 min. Se agregó después una solución de cloroformo-alcohol isoamílico 24:1 y los tubos se agitaron vigorosamente. Las muestras se centrifugaron a 7000 g durante 15 min. El sobrenadante fue recuperado y el ADN se precipitó con 500 μl de isopropanol frío (-20°C). El ADN fue lavado con una solución de etanol al 70% y centrifugando a 7000 g por 5 min, el precipitado se secó al aire y se resuspendió en 100 μl de solución T (Tris HCl 10 mM pH 8, EDTA 1 mM).

La concentración de ADN se estimó usando un fluorómetro (Dynaquant, Hoefer Biopharmacia). La concentración de las muestras se estandarizó entonces a 25 ng de ADN.

La mezcla de reacción incluyó 1 μl ADN como templado, 17.7 μl H_2O , 2.6 μl 10X PCR Buffer (Gibco), 1.5 μl MgCl (Gibco), 0.2 TAQ (Gibco), 2 μl Primer. Se probaron 25 diferentes primers (Operon Technologies) de los cuales 5 (8A, 10A, 11A, 18A y 5B) fueron seleccionados en función de su repetibilidad en el patrón de bandeo. La mezcla de reacción fue amplificada mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR en inglés) (Williams *et al.* 1990), utilizando 45 ciclos de amplificación en un termociclador (Ericomp delta cycler II system). Cada

ciclo consistió en tres pasos, desnaturalización, alineamiento y polimerización (94 °C por 1 min, 36 °C por 1 min, y 72 °C por 2 min, respectivamente). El ADN amplificado fue separado en geles de agarosa al 2% durante 30 min usando una solución de TBE 0.5X pH 8 como búfer de electrodo. Los geles fueron teñidos con bromuro de etidio y fotografiados usando una cámara digital (DC40 Kodak Digital Camera). La lectura de bandas se realizó considerando los picos de absorbancia de cada banda mediante un analizador de imágenes digital (Biomax 1D software).

Análisis de datos

Los análisis genéticos se realizaron mediante el programa Tools for Population Genetics Analysis (Miller 1997). Las frecuencias alélicas fueron estimadas por medio de la expansión de Taylor. De acuerdo a Lynch y Milligan (1994), las bandas cuyas frecuencias eran mayores que $1-(3/n)$ (donde n = número de individuos muestreados por población) fueron eliminados del análisis. La variación genética dentro de las poblaciones se estimó por medio del porcentaje de loci polimórficos (criterio del 95%), y a través de la diversidad genética, equivalente a la heterocigosis esperada promedio.

La estimación de F_{st} que indica la magnitud de la diferenciación entre las poblaciones, se estimó mediante el índice θ de Weir y Cockerham (1984). La determinación del límite de confianza (95%) para el valor promedio de θ se realizó con una técnica no paramétrica “bootstrap” con 1000 iteraciones. Adicionalmente se calculó el índice de fijación para cada locus.

El análisis detallado de la diferenciación genética entre pares de poblaciones considerando cada locus individualmente se estimó mediante una serie de pruebas de Fisher ($R \times C$), similar a una tabla de contingencia (ver detalles en Sokal y Rohlf 1995). La magnitud de la significancia general considerando todos los loci entre cada par de poblaciones se determinó mediante una

prueba exacta de Fisher. La magnitud de la diferenciación se muestra como el porcentaje de loci diferenciados entre pares de poblaciones. El flujo genético Nm se calculó indirectamente a partir de su relación con F_{st} (Wright 1951), donde $Nm = 1/4 ((1/F_{st})-1)$.

La distancia genética entre las poblaciones se estimó por medio del método de Nei (1972). Estas distancias se utilizaron para construir un fenograma con el algoritmo UPGMA (Unweighted pair – group method using arithmetic averages). La consistencia de cada nodo del fenograma se estimó mediante un remuestreo con 1000 permutaciones (Felsenstein 1985).

Adicionalmente se caracterizó la relación entre la distancia genética con la distancia geográfica entre las poblaciones (Mantel 1967).

Por último, la diferencia en el número de frutos producidos en las plantas de acuerdo a los tratamientos se evaluó mediante una tabla de contingencia.

Resultados

Todos los análisis se realizaron considerando solamente 39 loci polimórficos, ya que seis fueron eliminados de acuerdo al criterio de Lynch y Milligan (1994). La diversidad genética total contenida en las cuatro poblaciones de *P. moranensis* var. *neovolcanica* fue de 0.4041, con el 100% de los loci presentando polimorfismo. Dentro de cada población se encontraron elevados niveles de variación genética. El porcentaje de loci polimórficos fue siempre mayor a 89%, mientras que la diversidad genética fue superior en todos los casos a 0.36 (Tabla 1).

Cerca del 15% de la variación total se relacionó con las diferencias entre las distintas poblaciones de *P. moranensis* ($\theta = 0.1458$; I. C. 95% 0.0832 - 0.2147; Tabla 2), por lo que la mayor parte de la variación (85%) se explica por las diferencias entre los individuos dentro de las poblaciones. De acuerdo con este valor de F_{st} el flujo genético Nm fue de 1.41. El grado de

diferenciación para cada locus en particular varió entre 0.0001 y 0.7563 (Fig. 1). La distribución de los valores de θ para los 39 loci examinados no fue normal ($W = 0.7287$, $P = 0.0001$). Los valores que coinciden con los cuartiles del 25, 50 y 75% fueron 0.0108, 0.048 y 0.01899 respectivamente. Este resultado indica que la mayoría de los loci mostraron niveles bajos de diferenciación mientras que sólo algunos estuvieron muy diferenciados (Fig. 1).

Todos los pares de poblaciones mostraron diferenciación genética significativa (Tabla 2). El nivel más bajo de diferenciación ocurrió entre las poblaciones LC y MOL con sólo 4 de 39 loci diferenciados (10.25 %). Las poblaciones T y LC mostraron el mayor grado de diferenciación con 19 de 39 loci diferenciados (51.28 %, Tabla 2).

La identidad genética entre las poblaciones de Puebla fue mayor a 93% (Tabla 2). La identidad genética de las poblaciones de Puebla con T varió entre 83.9 y 86.59 %. Las plantas de T fueron más parecidas genéticamente a las plantas de VAL (Tabla 2). El fenograma mostró tres nodos, uno que incluyó las poblaciones de LC y MOL, el segundo incluyendo a éstas y VAL, y el tercero mostrando la separación entre las poblaciones de Puebla y T (Fig. 2). La distancia genética entre cualquiera de las poblaciones de Puebla y T fue alrededor del doble de la distancia entre las poblaciones de Puebla (Fig. 2).

La prueba de Mantel ($r = 0.77$, $Z = 41.45$) indica la existencia de aislamiento por distancia ya que el grado de diferenciación genética entre las poblaciones se incrementó con la distancia geográfica (Fig. 3).

Sistema de apareamiento

El porcentaje de frutos producidos por las plantas del grupo control fue idéntico al de tratamiento de entrecruza (Fig. 4). Por tal motivo el análisis estadístico se realizó considerando solamente los

grupos de los tratamientos experimentales. Los resultados mostraron que *P. moranensis* presenta un sistema de apareamiento mixto comportándose principalmente como una especie de entrecruza. Todas las flores del tratamiento de polinización cruzada produjeron fruto, mientras que sólo 5 de las 15 flores (33%) autopolinizadas fructificaron ($\chi^2 = 12.15$; $P = 0.005$). La elevada proporción de frutos observada en el grupo control mostró que el éxito reproductivo de *P. moranensis* no estuvo limitado por polinizadores.

Discusión

Pinguicula moranensis var. *neovolcanica* mostró elevados niveles de variación genética. Todos los loci evaluados fueron polimórficos, mientras que la diversidad genética fue mayor a 0.4. Estos resultados son similares a los encontrados en especies longevas de amplia distribución, de entrecruza y polinizadas por el viento (Loveless y Hamrick 1984, Hamrick y Godt 1989, Liu y Furnier 1993, Yeh *et al.* 1995, Bartish *et al.* 1999). Consecuentemente, una elevada fracción de la variación genética total de esta planta (85%) se encuentra contenida dentro de las poblaciones.

Sin embargo, *P. moranensis* presenta atributos característicos que no corresponden a los de las especies mencionadas anteriormente. Esta planta es endémica y de evolución reciente (Zamudio 2001) y además puede ser considerada como rara (*sensu* Rabinowitz 1981) por sus requerimientos ecológicos tan particulares. La sección *Orcheosantus*, a la que pertenece el género *Pinguicula*, evolucionó en la zona caribeña durante el Mioceno llegando a estar ampliamente distribuida en México y Centroamérica (Zamudio 2001). Posteriormente, durante el Plioceno, apareció la zona montañosa del Eje Neovolcánico Transversal que cruza México desde el estado de Veracruz hasta Guerrero y Michoacán. Después de la retirada de los hielos al final del Pleistoceno, algunas poblaciones de *Pinguicula* quedaron asociadas a las zonas montañosas del

centro de México (Zamudio 2001). Es a partir de estas poblaciones que se originó *P. moranensis* var. *neovolcanica*. De hecho, aunque existen atributos fenotípicos que claramente separan a esta variedad de la variedad típica *P. moranensis* var. *moranensis*, muchos de los atributos son indistinguibles entre ambas, evidencia de su evolución reciente (Zamudio 2001). La elevada diversidad genética encontrada en *P. moranensis* contrasta con lo esperado para las especies consideradas como nuevas, raras o endémicas cuyas poblaciones resultan de contracciones poblacionales (Hamrick y Godt 1989, Maki y Horie 1998, Morden y Loeffler 1999, Martín *et al.* 1999).

La elevada variación genética contenida dentro de las poblaciones indica que a pesar de ser un grupo de reciente aparición, los cuellos de botella no han formado parte de la historia evolutiva de *P. moranensis* var. *neovolcanica* en contraste con otras especies de plantas carnívoras (Schwaegerle y Schaal 1979, Godt y Hamrick 1996, 1998). Es factible que *P. moranensis* var. *neovolcanica* haya conservado una fracción elevada de la variación genética del taxón original de manera similar a lo propuesto para *Rhizophora mangle* (Núñez-Farfán *et al.* 2002).

Asimismo, el sistema de apareamiento puede tener un papel determinante en la diversidad genética (Layton y Ganders 1984, Hamrick y Godt 1989, Holtsford y Ellstrand 1990, Eguiarte *et al.*, 1992, Maki y Horie 1998). Algunos atributos del sistema de apareamiento de *P. moranensis* podrían estar relacionados con los elevados niveles de heterocigosis. Sus flores son protándricas y hercógamas (S. Espinosa, datos no publicados). Tanto la separación temporal como la espacial de las funciones macho y hembra favorecen la polinización cruzada, la cual está asociada con niveles elevados de diversidad genética (Hamrick y Godt 1989). Por ejemplo, Agres y Ryan (1997) reportaron que *Wyethia reticulata*, una especie considerada rara, endémica y de entrecruza tiene una diversidad genética de 0.31, valor muy similar al observado en *P. moranensis*.

La relación significativa entre la distancia geográfica y la distancia genética indica un patrón de diferenciación de aislamiento por distancia. La diferenciación entre poblaciones puede ser el resultado de adaptación local (Antonovics 1971, Linhart y Grant 1996, Huff *et al.* 1998). El éxito reproductivo de *P. moranensis* varía fuertemente entre poblaciones (Alcalá y Domínguez 2003) y además, se ha mostrado que parte de esta variación está relacionada con diferencias en el régimen de selección que opera sobre el hábito carnívoro (Capítulo III). La intensidad de la selección direccional se incrementa hacia los sitios con menor disponibilidad de presas y pobres en nitrógeno (Capítulo III). Este régimen de selección podría explicar el patrón de aislamiento por distancia, ya que las poblaciones más lejanas geográficamente son las que más contrastan en términos de la disponibilidad de presas y de nitrógeno. El nivel de diferenciación observado en *P. moranensis* es relativamente bajo (15%), indicando tal vez el efecto de flujo genético entre las poblaciones. De hecho, el flujo genético estimado a partir del valor de F_{st} fue de 1.4. Otros estudios han mostrado que entre el 4 y el 11% de la varianza molecular total está asociada con diferencias en el régimen de selección (Huff *et al.* 1998, Mengoni *et al.* 2000).

Alternativamente, el aislamiento por distancia podría surgir también como consecuencia de la interacción entre el flujo genético y la deriva genética (Slatkin 1987). Aunque es probable que exista cierto grado de diferenciación como resultado de la deriva genética durante el aislamiento en las cumbres después del Pleistoceno, los elevados niveles de diversidad genética muestran un efecto muy limitado de esta fuerza evolutiva. Además el flujo genético estimado en 1.4 sería teóricamente suficiente para contrarrestar la diferenciación por efecto de la deriva genética. Por tal razón, la diferenciación genética encontrada entre las poblaciones de *P. moranensis* pueden ser el resultado del efecto de la selección que opera sobre el hábito carnívoro. Para discriminar objetivamente si la diferenciación está relacionada con la adaptación local o es producto de

eventos estocásticos es necesario realizar estudios más detallados que estimen tanto la variación en atributos cuantitativos como la variación genética (Jaramillo-Correa *et al.* 2001, Steinger *et al.* 2002, Storz 2002).

Implicaciones en la conservación

Los tamaños poblacionales bajos como los de algunas especies endémicas y raras son más susceptibles al efecto de eventos estocásticos y corren un mayor riesgo de extinción (Gilpin y Soulé 1986). A pesar de la condición endémica y de su rareza, *P. moranensis* no se considera como una especie amenazada (Zamudio 2001). El hecho de que el 85% de la variación genética en esta planta se encuentre contenida dentro de las poblaciones y de la elevada diversidad genética (mayor a 0.3) muestra que una parte significativa del total de la poza genética se retendría conservando algunas de sus poblaciones. Varias especies de plantas carnívoras se encuentran actualmente amenazadas en parte como resultado de sobrecolecta (Godt y Hamrick 1996, 1998). Las plantas de *Pinguicula* son menos carismáticas que otras especies de plantas carnívoras por lo que no han sido colectadas intensamente. Sin embargo, son plantas de lento crecimiento que asignan una parte significativa de sus recursos hacia el mantenimiento y la supervivencia. Por lo tanto el mayor riesgo para la conservación de *P. moranensis* sería la pérdida de hábitats debido a su baja capacidad de colonizar y competir exitosamente en otros ambientes.

Literatura citada

Aagaard, J. E., Krutovskii, K. V. y Strauss, SH. 1998. RAPDs and allozymes exhibit similar levels of diversity and differentiation among populations and races of Douglas-fir. *Heredity* **81**: 69-78.

- Agres, D. R. y Ryan, J. F. 1997. The clonal and population structure of a rare endemic plant, *Wyethia reticulata* (Asteraceae): allozyme and RAPD analysis. *Molecular Ecology* **6**: 761-772.
- Alcalá, R. E. y Domínguez, C. A. 2003. Patterns of prey capture among populations of the carnivorous plant *Pinguicula moranensis* (Lentibulariaceae) in an environmental gradient. *American Journal of Botany* **90**: 1341-1348.
- Anderson, B. y Midgley, J. J. 2002. It takes two to tango but three is a tangle: mutualist and cheaters on the carnivorous plant *Roridula*. *Oecologia* **132**: 369-373.
- Antonovics, J. 1971. The effects of a heterogeneous environment on the genetics of natural populations. *American Scientist* **59**: 593-599.
- Auge, H., Neuffer, B., Erlinghagen, F., Grupe, R. y Brandl, R. 2001. Demographic and random amplified polymorphic DNA analyses reveal high levels of genetic diversity in a clonal violet. *Molecular Ecology* **10**: 1811-1819.
- Bartish, I. V., Jeppson, N. y Nybom, H. 1999. Population genetic structure in the dioecious pionner plant species *Hippophae rhamnoides* investigated by random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Molecular Ecology* **8**: 791-802.
- Bonnin, I., Colas, B., Bacles, C., Holl, A-C., Hendoux, F., Destiné, B. y Viards, F. 2002. Population structure of an endangered species living in contrasted habitats: *Parnassia palustris* (Saxifragaceae). *Molecular Ecology* **11**: 979-990.
- Bonnin, I., Huget, T. H., Gherardi, M., Prosperi, M. y Oliveri, I. 1996. High level of polymorphism and spatial structure in a selfing plant species *Medicago truncatula* (Leguminosae), shown using RAPD markers. *American Journal of Botany* **83**: 843-855.

- Buso, G. S. C. Rangel, P. H. y Ferreira, M. E. 1998. Analysis of genetic variability in South American wild rice populations (*Oryza glumaepatula*) with isozymes and RAPD markers. *Molecular Ecology* 7: 107-117.
- Cardoso, M. A., Provan, J., Powell, W., Ferreiras, P. C. G. y Oliveira, D. E. 1998. High genetic differentiation among remnant populations of the endangered *Caesalpinia echinata* Lam. (Leguminosae-Caesalpinioideae). *Molecular Ecology* 7: 601-608.
- Eguiarte, L. E., Pérez-Nasser, N. y Piñero, D. 1992. Genetic structure, outcrossing rate and heterosis in *Astrocaryum mexicanum* (tropical palm): implications for evolution and conservation. *Heredity* 69: 217-228.
- Excoffier, L., Smouse, P. E. y Quattro, J. M. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479-491.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Gilpin, M. E. y Soulé, M. E. 1986. Minimum viable populations: processes of species extinctions. En Soulé, M. E. (ed), *Conservation biology: the science of scarcity and diversity* 19-34. Sinauer, Sunderland, MA.
- Givnish, T. J., Burkhardt, E. L., Happel, R. E. y Weintraub, J. D. 1984. Carnivory in the bromeliad *Brocchinia reducta*, with a cost/benefit model for the general restriction of carnivorous to sunny, moist, nutrient-poor habitats. *The American Naturalist* 124: 479-497.

- Godt, M. J. W. y Hamrick, J. L. 1996. Genetic structure of two endangered pitcher plants, *Sarracenia jonesii* and *Sarracenia oreophila* (Sarraceniaceae). *American Journal of Botany* **83**: 1016-1023.
- Godt, M. J. W. y Hamrick, J. L. 1998. Allozyme diversity in the endangered pitcher plant *Sarracenia rubra* ssp. *alabamensis* (Sarraceniaceae) and its close relative *S. rubra* ssp. *rubra*. *American Journal of Botany* **85**: 802-810.
- Gugerli, F., Eichenberger, K. y Schneller, J. J. 1999. Promiscuity in populations of the cushion plant *Saxifraga oppositifolia* in the Swiss Alps as inferred from random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Molecular Ecology* **8**: 453-461.
- Hamrick, J. L. y Godt, M. J. W. 1989. Allozyme diversity in plant species. Pag 43-63 en Brown, A. H. D., Clegg, M. T., Kahler, A. L. y Weir, B. S. (eds). *Plant population genetics, breeding and genetic resources*. Sinauer, Sunderland, MA.
- Hanslin, H. M. y Karlsson, P. S. 1996. Nitrogen uptake from prey and substrate as affected by prey capture level and plant reproductive status in four carnivorous plant species. *Oecologia* **106**: 370-375.
- Heaton, H. J., Whitkus, R. y Gómez.Pompa, A. 1999. Extreme ecological and phenotypic differences in the tropical tree chicozapote (*Manilkara zapota* (L.) P. Royen) are not matched by genetic divergence: a random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Molecular Ecology* **8**: 627-632.
- Holtsford, T. P. y Ellstrand, N. C. 1990. Inbreeding effects in *Clarkia temblorensis* (Onagraceae) populations with different natural outcrossing rates. *Evolution* **44**: 2031-2046.

- Hormaza, J. I., Pinney, K. y Polito, V. S. 1998. Genetic diversity of pistachio (*Pistacia vera*, Anacardiaceae) germplasm based on randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Economic Botany* 52: 78-87.
- Huff D. R., Quinn, J. A. Higgins, B. y Palazzo, A. J. 1998. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) variation among native little bluestem [*Schizachyrium scoparium* (Michx.) Nash] populations from sites of high and low fertility in forest and grassland biomes. *Molecular Ecology* 7: 1591-1597.
- Isabel, N., Beaulieu, J. y Bousquet, J. 1995. Complete congruence between gene diversity estimates derived from genotypic data at enzyme and random amplified polymorphic DNA loci in black spruce. *Proceedings of the National Academy of Sciences U. S. A.* 92: 6369-6373.
- Jaramillo-Correa, J. P., Beaulieu, J. y Bousquet, J. 2001. Contrasting evolutionary forces driving population structure at expressed sequence tag polymorphisms, allozymes and quantitative traits in white spruce. *Molecular Ecology* 10: 2729-2740.
- Karlsson, P. S., Nordell, K. O., Eirefelt, S. y Svensson, A. 1987. Trapping efficiency of three carnivorous *Pinguicula* species. *Oecologia* 73: 518-521.
- Kwon, J. A. y Morden, W. 2002. Population genetic structure of two rare tree species (*Colubrina oppositifolia* and *Alphitonia ponderosa*, Rhamnaceae) from Hawaiian dry and mesic forests using random amplified polymorphic DNA markers. *Molecular Ecology* 11: 991-1001.
- Lannér-Herrera, C. Gustafsson, M. Fält, A. S. y Bryngelsson, T. 1996. Diversity of wild *Brassica oleracea* as estimated by isozyme and RAPD analysis. *Genetic Resources and Crop Evolution* 43: 13-23.

- Latta, R. G. y Mitton, J. B. 1997. A comparison of population differentiation across four classes of gene marker in limber pine *Pinus flexilis* James. *Genetics* **146**: 1153-1163.
- Layton, C. R. y Ganders, F. R. 1984. The genetic consequences of contrasting breeding systems in *Plectritis* (Valerianaceae). *Evolution* **84**: 1308-1325.
- Le Corre, V., Dumolin-Lapègue, S., y Kremer, A. 1997. Genetic variation at allozyme and RAPD loci in sessile oak *Quercus petraea* (Matt.) Liebl.: the role of history and geography. *Molecular Ecology* **6**: 519-529.
- Linhart, Y. B. y Grant, M. C. 1996. Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*. **27**: 237-77.
- Liu, Z. y G. R. Furnier 1993. Comparison of allozyme, RFLP, and RAPD markers for revealing variation within and between trembling aspen and bigtooth aspen. *Theoretical and Applied Genetics* **87**: 97-105.
- Loveless, M. D. y Hamrick, J. L. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **15**: 65-95.
- Lynch, M. y Milligan, B. G. 1994. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology* **3**: 91-99.
- Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research* **27**: 209-220.
- Maki, M y Horie, S. 1999. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers reveal less genetic variation in the endangered plant *Cerastium fischerianum* var. *molle* than in the widespread *Cerastium fischerianum* var. *fischerianum* (Caryophyllaceae). *Molecular Ecology* **8**: 145-150.

- Martín, C., González-Benito, M. E. e Iriondo, J. M. 1999. The use of genetic markers in the identification and characterization of three recently discovered populations of a threatened plant species. *Molecular Ecology* **8**: S31-S40.
- Mengoni, A., Gonnelli, C., Galardi, F., Gabbrielli, R. y Bazzicalupo, M. 2000. Genetic diversity and heavy metal tolerance in populations of *Silene paradoxa* L. (Caryophyllaceae): a random amplified polymorphic DNA analysis. *Molecular Ecology* **9**: 1319-1324.
- Miller, M. A. 1997. Tools for population genetics analysis. Department of Biological Science. Northern Arizona University, Flagstaff, Arizona, USA.
- Molau, U. 1993. Reproductive ecology of the three Nordic *Pinguicula* species (Lentibulariaceae). *Nordic Journal of Botany* **13**: 149-157.
- Morden, C. W. y Loeffler, W. 1999. Fragmentation and genetic differentiation among subpopulations of the endangered Hawaiian mint *Haplostachys haplostachya* (Lamiaceae). *Molecular Ecology* **8**: 617-625.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist* **106**: 283-292.
- Núñez-Farfán, J., Domínguez, C. A., Eguiarte, L. E., Cornejo, A., Quijano, M., Vargas, J. y Dirzo, R. 2002. Genetic divergence among Mexican populations of red mangrove (*Rhizophora mangle*): geographic and historic effects. *Evolutionary Ecology Research* **4**: 1049-1064.
- Peakall, R., Smouze, P. E. y Huff, D. R. 1995. Evolutionary implications of allozyme and RAPD variation in diploid populations of dioecious buffalograss *Buchloë dactyloides*. *Molecular Ecology* **4**: 135-147.
- Rabinowitz, D. 1981. Seven forms of rarity. Pages (205-217) en Synge, H. (ed). *The biological aspects of rare plant conservation*. Wiley, Chichester.

- Schwaegerle, K. E. y Schaal, B. A. 1979. Genetic variability and founder effect in the pitcher plant *Sarracenia purpurea*. *Evolution* **33**: 1210-1218.
- Slatkin, M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* **236**: 787-792.
- Sokal, R. R. y Rohlf, F. J. 1995. *Biometry* Third Edition. Freeman, W. H. and Co. New York, USA.
- Steinger, T., Haldimann, P., Leiss, K. A. y Müller-Schärer, H. 2002. Does natural selection promote population divergence? A comparative analysis of population structure using amplified fragment length polymorphism markers and quantitative traits. *Molecular Ecology* **11**: 2583-2590.
- Stevens, M. T., Turner, M. G. Tuskan, G. A., William, H. Romme, L. G. Gunter, Waller, D. M. 1999. Genetic variation in postfire aspen seedlings in Yellowstone National Park. *Molecular Ecology* **8**: 1769-1780.
- Storz, J. F. 2002. Contrasting patterns of divergence in quantitative traits and neutral DNA markers: analysis of clinal variation. *Molecular Ecology* **11**: 2537-2551.
- Sun, M. 1999. Cleistogamy in *Scutellaria indica* (Labiatae): effective mating system and population genetic structure. *Molecular Ecology* **8**: 1285-1295.
- Sydes, M. A. y Peakall, R. 1998. Extensive clonality in the endangered shrub *Haloragodendron lucasii* (Haloragaceae) revealed by allozymes and RAPDs. *Molecular Ecology* **7**: 87-93.
- Szmidt, A. E., Wang, X. R. y Lu, M. 1996. Empirical assessment of allozyme and RAPD variation in *Pinus silvestres* (L.) using haploid tissue analysis. *Heredity* **76**: 412-420.

- Thorén, L. M. y Karlsson. P. S. 1998. Effects of supplementary feeding on growth and reproduction of three carnivorous plant species in a subarctic environment. *Journal of Ecology* **86**: 501-510.
- Weir, B. S. y Cockerham C. C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* **38**: 1358-1370.
- Weising, K., Nybom, H., Wolff, K. y Meyer, W. 1995. DNA fingerprinting in plants and fungi. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Williams, J. G. C., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A. y Tingey, S. V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* **18**: 6531-6535.
- Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* **15**: 323-354.
- Yeh, F. C., Chong, D. K. X. y Yang, R. C. 1995. RAPD variation within and among natural populations of trembling Aspen (*Populus tremuloides* Michx.) from Alberta. *Journal of Heredity* **86**: 454-460.
- Yu, K. y Pauls, K. P. 1993. Rapid estimation of genetic relatedness among heterogeneous populations of alfalfa by random amplification of bulked genomic DNA samples. *Theoretical and Applied Genetics* **86**: 788-794.
- Zamora, R. 1995. The trapping success of a carnivorous plant, *Pinguicula vallisneriifolia*: the cumulative effects of availability, attraction, retention and robbery of prey. *Oikos* **73**: 309-322.
- Zamora, R., Jamilena, M., Ruiz-Rejón, M. y Blanca, G. 1996. Two new species of the carnivorous genus *Pinguicula*, (Lentibulariaceae) from Mediterranean habitats. *Plant Systematics and Evolution* **200**: 41-60.

- Zamora, R., Gómez, J.M., Hódar, J.A. 1998. Fitness responses of a carnivorous plant in contrasting ecological scenarios. *Ecology* **79**: 1630-1644.
- Zamudio, S. 1999. Notas sobre la identidad de *Pinguicula moranensis* H. B. K., con la descripción de una variedad nueva. *Acta Botanica Mexicana* **49**: 23-34.
- Zamudio, S. 2001. Revisión de la sección *Orcheosantus*, del género *Pinguicula* (Lentibulariaceae). Tesis doctoral. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.

Tabla 1. Variación genética intrapoblacional y total contenida en *Pinguicula moranensis* var.

neovolcanica. P es el porcentaje de loci polimórficos (95%) y H_e es la diversidad genética.

Población	P	H_e
T	89.74	0.3570
LC	94.87	0.3671
VAL	89.74	0.3569
MOL	94.87	0.3760
<i>P. moranensis</i> var. <i>neovolcanica</i>	100	0.4041

Tabla 2. Debajo de la diagonal se muestra la diferenciación genética entre las poblaciones

expresada como el número de loci diferenciados, y entre paréntesis, su correspondiente porcentaje de los 39 loci analizados en total. Todas las comparaciones de la prueba exacta de Fisher fueron significativas ($P < 0.0001$). Arriba de la diagonal se muestra la identidad genética entre los pares de poblaciones (Nei 1972).

Población	T	LC	VAL	MOL
T	----	0.8399	0.8659	0.8596
LC	20 (51.3)	----	0.9234	0.9658
VAL	14 (35.9)	8 (20.5)	----	0.9373
MOL	19 (48.7)	4 (10.2)	7 (17.9)	----

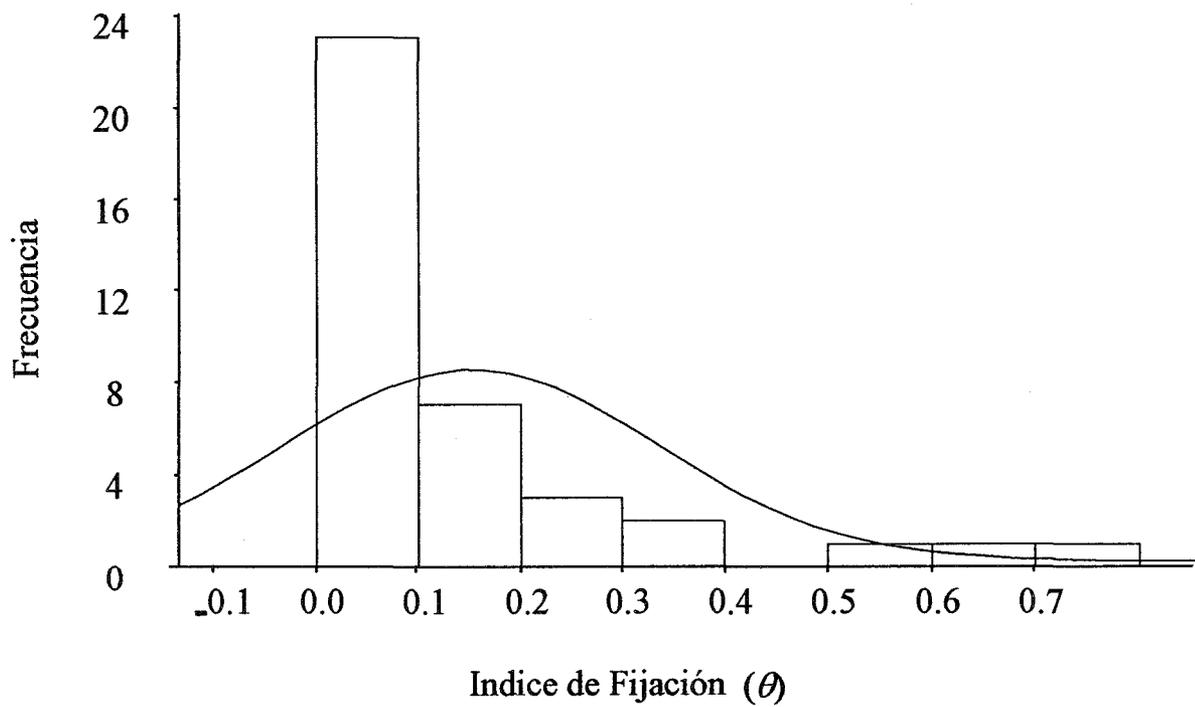


Figura 1. Distribución de frecuencias de los valores del índice de fijación (θ). La línea continua indica la distribución normal esperada.

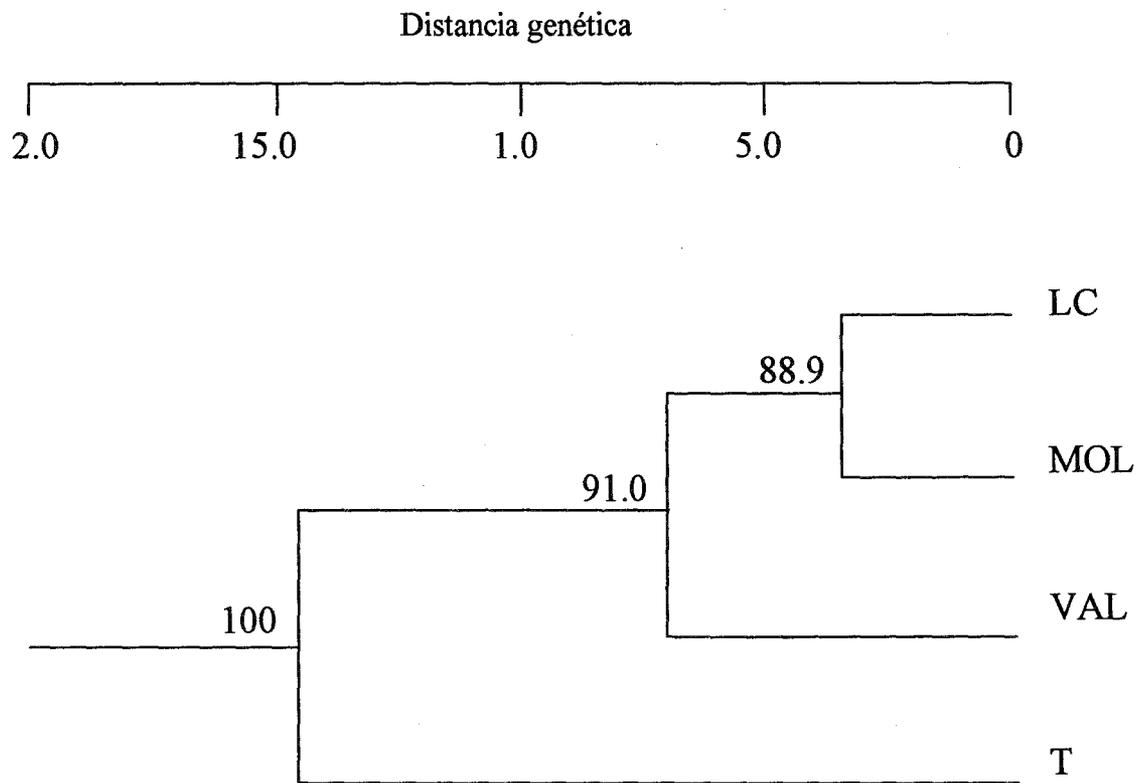


Figura 2. Fenograma (UPGMA) de las distancias genéticas (Nei 1972) entre las poblaciones de *Pinguicula moranensis*. T, Tepoztlán; LC, Lázaro Cárdenas; VAL, Valsequillo y MOL, Molcaxac.

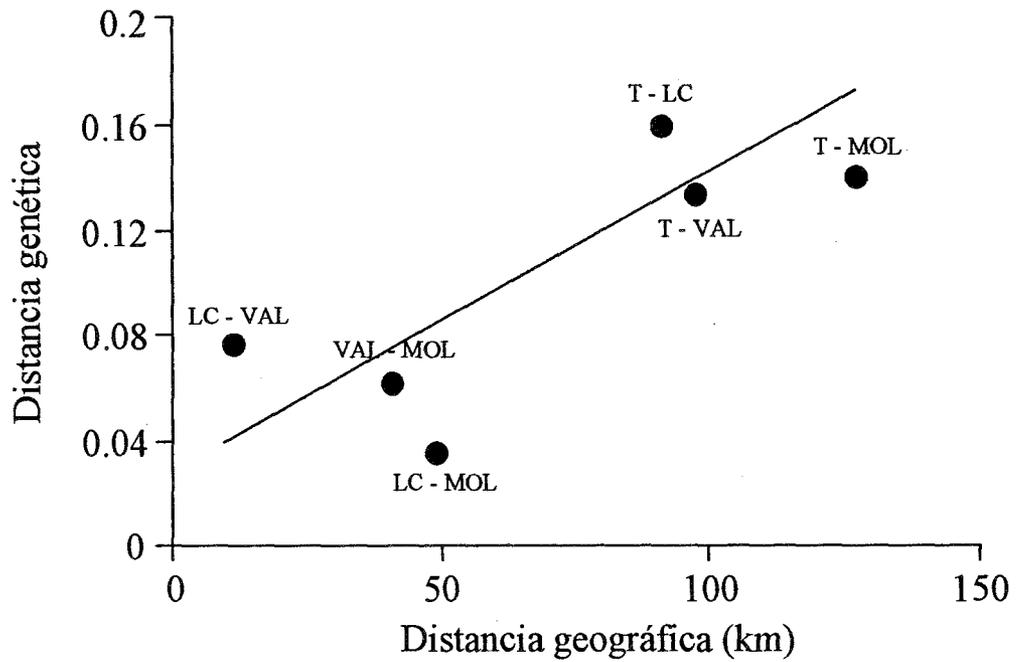


Figura 3. Relación entre la distancia genética y la distancia geográfica de 4 poblaciones de *Pinguicula moranensis*. T, Tepoztlán; LC, Lázaro Cárdenas; VAL, Valsequillo y MOL, Molcaxac.

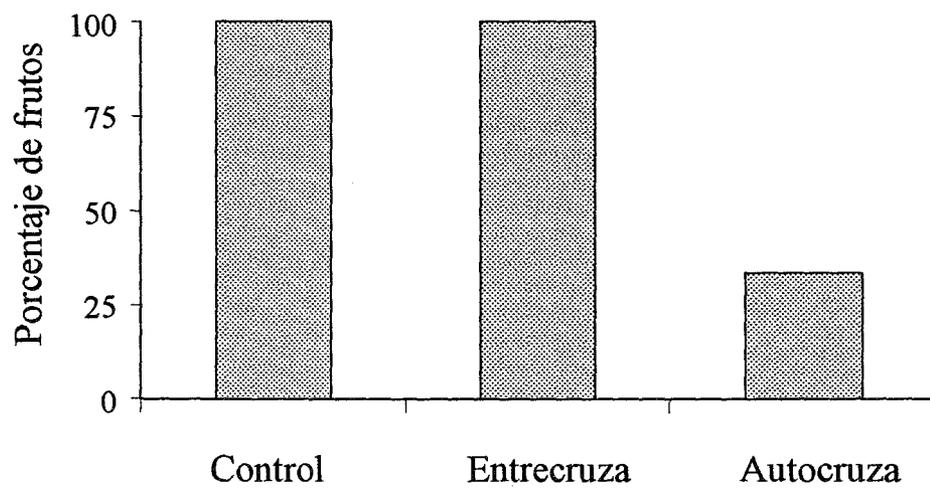


Figura 4. Porcentaje de frutos producidos en las plantas del grupo control, del tratamiento de entrecruza y del de autopolinización.

Discusión

En este trabajo se abordaron aspectos que no habían sido considerados anteriormente en el estudio de las plantas carnívoras y que permiten incrementar el entendimiento de los procesos que afectan su ecología y evolución en el escenario natural.

La mayor parte de los estudios sobre el efecto de la carnivoría han incluido tanto la adición experimental de nitrógeno, de presas o de ambos (Chandler y Anderson 1976, Aldenius *et al.* 1983, Karlsson *et al.* 1991, Zamora *et al.* 1997, Thorén y Karlsson 1998), por lo que el primer resultado relevante de este trabajo fue encontrar heterogeneidad espacial en la disponibilidad de nitrógeno y de presas asociada con el desempeño de *P. moranensis* (Capítulo III). Los sitios más pobres en nitrógeno mostraron también la menor abundancia de presas, lo que se traduce en diferencias entre poblaciones en la presión selectiva sobre la captura. Estas diferencias generaron un escenario adecuado para evaluar algunas predicciones particulares que describen las condiciones favorables para la evolución de la carnivoría (Givnish *et al.* 1984). Algunas de estas predicciones se han evaluado parcialmente (Karlsson *et al.* 1987, Karlsson *et al.* 1991, Méndez y Karlsson 1999, Richards 2001, Ellison y Gotelli 2002); sin embargo, éste es el primer trabajo en donde se evalúa conjuntamente la captura de presas, el éxito reproductivo de las plantas y la asignación de recursos hacia la carnivoría en condiciones naturales.

Este trabajo mostró la necesidad de discriminar entre los efectos extrínsecos (efectos de sitio) de los intrínsecos a las plantas (fenotipo) al evaluar la carnivoría en diferentes ambientes. Por ejemplo, en contra de las predicciones teóricas (Givnish *et al.* 1984), la captura promedio se incrementó hacia los sitios con más nitrógeno, mientras que la producción de botones no aumentó hacia las condiciones más limitantes. Sin embargo, al considerar el fenotipo de las plantas los resultados se ajustaron a los esperados teóricamente. Tanto el efecto de las glándulas de captura sobre la captura de presas (eficiencia de captura) como los botones producidos resultado de la

biomasa de presas obtenida por las plantas (beneficio), se incrementaron hacia los sitios más pobres. Estos resultados muestran que la captura y el éxito reproductivo promedio no son buenos descriptores del desempeño del hábito carnívoro.

Otro resultado relevante fue el mostrar la existencia de conflictos entre el hábito carnívoro con la fotosíntesis. Los conflictos surgen porque las hojas son los principales órganos encargados de la obtención de nutrimentos, pero también de la fijación de carbono. Las plantas carnívoras requisen realizar la fotosíntesis (Lüttge 1983), por lo tanto, su desempeño puede estar limitado también por el ambiente lumínico (Zamora *et al.* 1998). El sitio donde las plantas capturaron más presas mostró la menor disponibilidad de luz fotosintéticamente activa, determinando que las plantas no pudieran beneficiarse de la elevada captura de presas (Capítulo II). En contraste, en el sitio más pobre pero más iluminado, la captura de presas produjo el beneficio más alto.

Se ha documentado abundante evidencia del efecto positivo de la captura de presas sobre el desempeño de las plantas carnívoras (Darwin 1878, Aldenius *et al.* 1983, Thum 1988, Karlsson y Pate 1992, Karlsson *et al.* 1994, Hanslin y Karlsson 1996, Zamora *et al.* 1997, Thorén y Karlsson 1998) y se ha establecido que la carnivoría en plantas representa uno de los ejemplos más sorprendentes de adaptación biológica. Sin embargo, actualmente no existe evidencia que muestre que los atributos asociados con la carnivoría son mantenidos por la selección natural. En este trabajo se encontró que el régimen de selección que opera sobre el hábito carnívoro varió entre las poblaciones. Tanto la variación en la densidad de glándulas como en el área de la roseta se relacionó con la adecuación de las plantas, incrementando su efecto hacia las condiciones más limitantes.

El incremento notorio en el número de botones como resultado de la captura y el efecto del tamaño de la roseta sobre la producción de botones (Capítulo III) podría reflejar el efecto de

las condiciones ambientales de la temporada anterior (ver Svensson *et al.* 1983, Worley y Harder 1996). Sin embargo, debido a que *P. moranensis* no muestra preformación de yemas florales (S. Espinosa, Facultad de Ciencias, UNAM) al parecer es capaz de utilizar los recursos obtenidos de la captura durante la misma temporada y beneficiarse en términos de la reproducción (ver Thorén y Karlsson 1998).

Las poblaciones de *P. moranensis* se diferenciaron genéticamente ajustándose a un modelo de aislamiento por distancia (Capítulo IV). Las poblaciones más alejadas geográficamente (T y MOL) mostraron la mayor diferencia en la presión selectiva sobre la captura (Capítulo III). Además, algunos de los coeficientes de ruta, que estiman la magnitud de la selección (Kingsolver y Shemske 1991), reportados en este trabajo variaron entre 0.3 y 0.5. Estos coeficientes indican una magnitud considerable de la selección si se comparan con la mediana (0.16) obtenida a partir de un total de 993 gradientes de selección direccional $|\beta|$ estimados (ver Kingsolver *et al.* 2001). Por lo tanto, es probable que la diferenciación genética encontrada sea el resultado parcial de la selección fenotípica que opera sobre el hábito carnívoro. Además, el patrón de diferenciación en el que la mayoría de los loci estando poco diferenciados, la elevada diversidad genética y el flujo genético estimado, de más de un migrante por generación (Capítulo IV), sugieren que la diferenciación observada no es producto de la deriva genética (Hedrick 2000).

En el capítulo IV se muestra que *Pinguicula moranensis* var. *neovolcanica* mantiene una diversidad genética muy elevada, sobre todo si se considera su grado de endemismo, su rareza y su reciente aparición, atributos asociados con bajos niveles de variación genética dentro de las poblaciones (Hamrick y Godt 1989). La ausencia de cuellos de botella y de un efecto fundador sugiere que *Pinguicula moranensis* var. *neovolcanica* pudo haber retenido una buena parte de la variación genética contenida en la especie ancestral, como se ha propuesto para otras especies

(Núñez-Farfán *et al.* 2002). La presencia de flores protándricas y hercógamas que favorecen la entrecruza puede también haber contribuido al mantenimiento de elevados niveles de heterocigosis dentro de las poblaciones (Loveless y Hamrick 1984, Hamrick y Godt 1989).

Perspectivas

Givnish *et al.* (1984) propusieron que la evolución del hábito carnívoro está limitado a ambientes pobres en nutrientes, bien iluminados y húmedos, debido a que en otras condiciones, los costos de la carnivoría excederían los beneficios. Es probable que la diferencia entre las curvas del beneficio pudiera modificarse si se consideran dos aspectos hasta ahora ignorados: la plasticidad fenotípica y la adecuación obtenida mediante la función masculina.

La evolución de la plasticidad fenotípica permite a las plantas resolver los retos que el ambiente les plantea (Sultan y Bazzaz 1993, Schlichting y Pigliucci 1998, Agrawal 2001). Algunos trabajos han mostrado que las plantas carnívoras han desarrollado diversos atributos que se consideran adaptaciones, sin embargo la habilidad de cambiar fenotípicamente (i.e., la cantidad de glándulas, la producción de enzimas, el tamaño y forma de las trampas) como resultado de la variación en la disponibilidad de distintos recursos como nutrientes o luz (Jaffe *et al.* 1992, Zamora *et al.* 1998, Richards 2001, Ellison y Gotelli 2002), también podría considerarse como otro componente altamente adaptativo para estas plantas. La respuesta plástica de las plantas podría reducir el costo de la carnivoría, por lo que la caracterización de la normas de reacción podría incorporarse a los modelos propuestos sobre la evolución de la carnivoría en plantas.

La mayor parte de los estudios han evaluado los efectos de la carnivoría estimando el desempeño de las plantas a través de la producción de frutos y semillas. Sin embargo, no se conoce el efecto que tiene la captura de presas sobre la adecuación obtenida por la vía masculina a

través de la producción y exportación de polen. La inversión de recursos hacia la función masculina es a menudo menor que la asignación hacia el llenado de frutos y semillas, por lo que la curva de beneficio, y por tanto, la diferencia con el costo de la carnivoría, podría ser distinta modificando las predicciones de los modelos sobre la evolución del hábito carnívoro.

Literatura citada

- Agrawal, A. A: 2001. Phenotypic plasticity in the interactions and evolution of species. *Science* **294**: 321-325.
- Aldenius, J., Carlsson, B. y Karlsson B. 1983. Effects of insect trapping on growth and nutrient content of *Pinguicula vulgaris* L. in relation of the substrate. *New Phytologist* **93**: 53-59.
- Chandler, G. E. y Anderson, J. W. 1976. Studies on the nutrition and growth of *Drosera* species with reference to the carnivorous habit. *New Phytologist* **76**: 129-141.
- Darwin, F. 1878. Experiments on the nutrition of *Drosera rotundifolia*. *Journal of the Linnean Society of Botany* **17**: 17-32.
- Ellison, A. M. y Gotelli, N. J. 2002. Nitrogen availability alters the expression of carnivory in the northern pitcher plant *Sarracenia purpurea*. *Proceedings of the National Academy of Sciences U. S. A.* **99**: 4409-4412.
- Givnish, T. J., Burkhardt, E. L., Happel, R. E. y Weintraub, J. D. 1984. Carnivory in the bromeliad *Brocchinia reducta*, with a cost/benefit model for the general restriction of carnivorous to sunny, moist, nutrient-poor habitats. *American Naturalist* **124**: 479-497.

- Hamrick, J. L. y Godt, M. J. W. 1989. Allozyme diversity in plant species. Pag 43-63 *en* Brown, A. H. D., Clegg, M. T., Kahler, A. L. y Weir, B. S. (eds). *Plant population genetics, breeding and genetic resources*. Sinauer, Sunderland, MA.
- Hanslin, H. M. y Karlsson, P. S. 1996. Nitrogen uptake from prey and substrate as affected by prey capture level and plant reproductive status in four carnivorous plant species. *Oecologia* **106**: 370-375.
- Hedrick, P. W. 2002. *Genetics of populations*. 2nd. ed. Jones and Barlett Publishers, Sundbury, MA.
- Jaffe, K., Michelangeli, F., González, J. M., Miras, B. y Ruiz, M. C. 1992. Carnivory in pitcher plants of the genus *Heliamphora* (Sarraceniaceae). *New Phytologist* **122**: 733-744.
- Karlsson, P. S., Nordell, K. O., Carlsson, B. A. y Svensson, B. M. 1991. The effect of soil nutrient status on prey utilization in four carnivorous plants. *Oecologia* **86**: 1-7.
- Karlsson, P. S., Nordell, K. O. Eirefelt, S. y Svensson, A. 1987. Trapping efficiency of three carnivorous *Pinguicula* species. *Oecologia* **73**: 518-521.
- Karlsson, P. S. y Pate, J. S. 1992. Contrasting effects of supplementary feeding on insects or mineral nutrients on the growth and nitrogen and phosphorous economy of pygmy species of *Drosera*. *Oecologia* **92**: 8-13.
- Karlsson, P. S., Thorén, L. M. y Hanslin, H. M. 1994. Prey capture by three *Pinguicula* species in a subarctic environment. *Oecologia* **99**: 188-193.
- Kingsolver, J. G. y Schemske, D. W. 1991. Path analyses of selection. *Trends in Ecology and Evolution* **6**: 276-280.

- Kingsolver, J. G., Hoekstra, H. E., Hoekstra, J.M., Berrigan, D., Vignieri, S. N. Hill, C. E. y Hoang, A. 2001. The strength of phenotypic selection in natural populations. *American Naturalist* **157**: 245-261.
- Loveless, M. D. y Hamrick, J. L. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* **15**: 65-95.
- Lüttge, U. 1983. Ecophysiology of carnivorous plants. In: Lange, O. L., Nobel, P. S., Osmond, C. B., y Zeigler, H. (eds.), *Encyclopaedia of Plant Physiology*, Vol. 12 C. (Physiological Plant Ecology III). Springer-Verlag, Berlin.
- Méndez, M. y Karlsson, P. S. 1999. Costs and benefits of carnivory in plants: insights from the photosynthetic performance of four carnivorous plants in a subarctic environment. *Oikos* **86**: 105-112.
- Núñez-Farfán, J., Domínguez, C. A., Eguiarte, L. E., Cornejo, A., Quijano, M., Vargas, J. y Dirzo, R. 2002. Genetic divergence among Mexican populations of red mangrove (*Rhizophora mangle*): geographic and historic effects. *Evolutionary Ecology Research* **4**: 1049-1064.
- Richards, J. H. 2001. Bladder function in *Utricularia purpurea* (Lentibulariaceae): is carnivory important? *American Journal of Botany* **88**: 170-176.
- Schlichting, C. D. y Pigliucci, M. 1998. *Phenotypic evolution. A reaction norms perspective*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA.
- Sultan, S. E. y Bazzaz, F. A. 1993. Phenotypic plasticity in *Polygonum persicaria*. III. The evolution of ecological breadth for nutrient environment. *Evolution* **47**: 1050-1071.

- Svensson, B. M., Carlsson, B., Karlsson, P. S. y Nordell, K. O. 1993. Comparative long-term demography of three species of *Pinguicula*. *Journal of Ecology* **81**: 635-645.
- Thorén, L. M. y Karlsson, P. S. 1998. Effects of supplementary feeding on growth and reproduction of three carnivorous plant species in a subarctic environment. *Journal of Ecology* **86**: 501-510.
- Thum, M. 1988. The significance of carnivory for the fitness of *Drosera intermedia* and *D. rotundifolia* to supplementary feeding. *Oecologia* **75**: 472-480.
- Worley, A. C. y Hader, L. D. 1996. Size-dependent resource allocation and costs of reproduction in *Pinguicula vulgaris* (Lentibulariaceae). *Journal of Ecology* **84**: 195-206.
- Zamora, R., Gómez, J.M. y Hódar, J.A. 1997. Responses of a carnivorous plant to prey and inorganic nutrients in a Mediterranean environment. *Oecologia* **111**: 443-451.
- Zamora, R., Gómez, J.M. y Hódar, J.A. 1998. Fitness responses of a carnivorous plant in contrasting ecological scenarios. *Ecology* **79**: 1630-1644.

