

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**POSGRADO EN CIENCIAS  
BIOLÓGICAS**

**INSTITUTO DE ECOLOGÍA**

**EVOLUCIÓN FENOTÍPICA DE LA RESISTENCIA DE *Datura*  
*stramonium* CONTRA SU HERBÍVORO FOLÍVORO *Epitrix* sp.**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
(BIOLOGÍA AMBIENTAL)**

PRESENTA

**DIEGO CARMONA MORENO BELLO**

DIRECTOR DE TESIS: DR. JUAN E. FORNONI AGNELLI

MEXICO, D.F.

NOVIEMBRE 2006



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez  
Director General de Administración Escolar, UNAM  
Presente

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 25 de septiembre del 2006, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el examen de grado de Maestría en Ciencias Biológicas (Biología Ambiental) del alumno **Carmona Moreno Bello Diego** con número de cuenta **95187228** con la tesis titulada: **"Evolución fenotípica de la resistencia de *Datura stramonium* contra su herbívoro folívoro *Epirix sp.*"** bajo la dirección del Dr. Juan Enrique Fornoni Agnelli.

Presidente:	Dr. César A. Domínguez Pérez-Tejada
Vocal:	Dr. Mauricio Quesada Avendaño
Secretario:	Dr. Juan E. Fornoni Agnelli
Suplente:	Dra. María Graciela García-Guzmán
Suplente:	Dr. Zenón Cano Santana

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Cd. Universitaria, D.F. a, 27 de octubre del 2006

Dr. Juan Núñez Farfán  
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente del interesado

## AGRADECIMIENTOS

Este proyecto fue financiado por el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) IN 226305 y por las becas que me otorgo tanto CONACYT como DEGP.

En primer lugar quiero agradecer al Dr. Juan Fornoni por haberme apoyado y haber realizado un gran esfuerzo por sacar este proyecto adelante. En segundo lugar agradezco a, ya no al Dr, sino a Juan Fornoni por enseñarme a ver al trabajo como algo secundario, ver al trabajo como un resultado inevitable derivado de solo perseguir aquello que gusta, que estimula y que divierte. Por hacer de su hobby su trabajo.

También quiero agradecer de sobre manera al Dr. César Domínguez por su apoyo y por siempre aportar una forma alterna, no solo de los argumentos, de las ideas que discutimos, sino de la forma de pensar.

Muchísimas gracias al Dr. Zenón Cano, a la Dra Graciela Guzmán y al Dr. Mauricio Quezada que me apoyaron al revisar la tesis y exponer nuevas ideas y mostrar problemas en la forma de presentar las ideas. También gracias a la Dra. Karina Boege por revisar el escrito y aportar nuevas ideas.

Finalmente quiero dar las gracias a las super chicas del servicio social que sin su ayuda nomás no... Gracias Elizabeth, Gisela, Irina, Alejandra, Zelmy y a Paola (amiga de años). Gracias a mis compañeros de laboratorio que cuando pudieron me apoyaron en lo que pudieron. Gracias a Etzel, a Lupita, a Eder y al Jonatone . Gracias en especial a Etzel por ser una extraña muy buena amiga con la que disfruto pasar el tiempo y a veces no. Otras gracias especiales al Jonatone por ser tan entusiasta en el trabajo que me motivó en los peores momentos. De nuevo gracias a Karina Boege por siempre estar dispuesta a platicar y regalar sugerencias y puntos de vista valiosísimos; por mostrar siempre una actitud humilde y positiva. Gracias a Rubén por ser un excelente técnico que apoya hasta aquellos a los que no tendría por que ayudarnos. Gracias a Alejandra Valero por ayudarme en el campo y compartir muchas de esas pequeñas cosas que hacen grande la vida; gracias por prestarme tu ipod!!! (es broma); gracias por todo. De nuevo, gracias a Juan por enseñarme a soportar que me escurra el moco cuando mi alergia a la hierba *Datura stramonium* (Solanaceae) se torna terrible. Gracias a Don Antonio por prestarnos su terreno para realizar este trabajo y amenizar aunque sea por uno minutos las horas que tuve que pasar agachandome o arrastrandome en el campo. Gracias al Dr. Juan Núñez-Farfán por todo, sobre todo por haberme dado una de las mejores clases del posgrado (Genética Cuantitativa). Finalmente, gracias a Dulcinea por llevarme y traerme. Gracias a toda esa gente que estando o no estando, ayudando o no crearon el contexto en el cual se desarrollo esta tesis.

Le dedico esta tesis a mi madre y a mi padre. Gracias por darme la libertad de elegir el camino de volver mi hobby mi trabajo.

**CONTENIDO**

<b>RESUMEN/ABSTRACT</b>	<b>3</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>7</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODO</b>	<b>10</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>18</b>
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>20</b>
<b>LITERATURA CITADA</b>	<b>24</b>
<b>TABLAS</b>	<b>33</b>
<b>FIGURAS</b>	<b>38</b>
<b>APÉNDICE</b>	<b>42</b>

## RESUMEN

En este estudio se evaluó el efecto del daño causado por el herbívoro folívoro *Epitrix* sp. durante la etapa juvenil sobre el éxito reproductivo de la planta hospedera *Datura stramonium*. Además se examinó la posible presencia de efectos indirectos del daño a través del crecimiento y el inicio de la floración. Se realizó un experimento de campo y se estimó la intensidad de la selección natural sobre el daño, el crecimiento y el inicio de la floración. En una parcela experimental en la localidad de San Francisco Mazapa (Edo. de México) se estableció una parcela experimental en un área de 2700 m<sup>2</sup>. En la parcela se sembraron 800 plantas provenientes de la población local previamente germinadas en el invernadero. Luego del trasplante se aplicaron dos tratamientos (con y sin insecticida) para manipular la cantidad de daño causado por el herbívoro *Epitrix* sp siguiendo un diseño de bloques al azar. Se midió el crecimiento de las plantas durante su etapa juvenil, el momento de inicio de la floración y la producción de frutos (estimador del éxito reproductivo). Los resultados indicaron que el insecticida redujo el daño de 18 a 9% del área foliar total de las plantas. En el tratamiento con mayor daño las plantas presentaron un reducción del 47% en la producción de frutos, de 6% en el crecimiento y el inicio de la floración. Bajo los niveles naturales de daño, se observó un efecto indirecto de éste sobre la adecuación a través del inicio de la floración. El daño tuvo un efecto positivo sobre las plantas favoreciendo a aquellas más comidas que adelantaron el inicio de la floración. El efecto positivo del daño sugiere que la resistencia no sería el mecanismo de defensa de *D. stramonium* frente al daño temprano. Dado que ambos atributos estuvieron relacionados positivamente con la adecuación se sugiere que los efectos indirectos jugaron un papel

importante para entender los mecanismos por los que se compensó el daño. Por lo tanto, la respuesta de la planta al daño temprano podría condicionar su historia de vida.

**PALABRAS CLAVE:** análisis de rutas, crecimiento, *Datura stramonium*, efectos indirectos, herbivoría, inicio de la floración, selección natural, *Epitrix* sp.

### ABSTRACT

This study evaluated the effect of early damage on fitness caused by the specialist herbivore *Epitrix* sp, and the possible mechanism behind the response of the plant specie *Datura stramonium*. In particular, growth rate, flowering time and total fruit production was estimated in a factorial experiment where the abundance of the herbivore was manipulated. The intensity and pattern of natural selection acting on these characters was determined. The experiment was conducted in an experimental plot in San Francisco Mazapa (Edo. de México) during the summer of 2005. A total of 800 plants were grown in the experimental plot (400 plants per treatment). The results indicated that the amount of damage was reduced by the application of insecticide from 18 to 9%. In the insecticide treatment fruit production increased 47%, and growth rate and flowering time 6%. Within treatment analysis revealed the presence of indirect effects of damage on fitness through flowering time. In both treatments growth rate and flowering time were positively selected. Also correlational selection favoring an increase in growth and a rapid switch to reproduction was observed. The intensity of this pattern was higher under natural levels of damage. The analyses indicated the presence of a positive relationship between damage and fitness suggesting that resistance is unlikely to be the defensive mechanism selected against early damage in this system. Also the positive direct effect of damage on fitness suggests that the stress induced by the loss of leaf area may have stimulated a compensatory response enhancing fitness or that other not measured traits could account for this positive effect. Overall the effect of damage on growth and flowering time indicate that herbivory play an important role in the evolution of the life history of *Datura stramonium*.

**KEY WORDS:** path analysis, growth rate, *Datura stramonium*, indirect effects, herbivory, flowering time, natural selection, *Epitrix* sp.

## INTRODUCCIÓN

Durante los últimos 50 años se ha demostrado que la herbivoría puede afectar el éxito reproductivo de las plantas (Marquis, 1992), la dinámica poblacional (Harper 1977), e incluso la estructura y diversidad de las comunidades (Green *et al.*, 1997; Hanley, 1998; Del-Val & Crawley, 2005). Esta evidencia ha apoyado la hipótesis de que la interacción entre las plantas y sus consumidores ha jugado un papel importante en la evolución de las mismas (Rausher, 1996; Strauss & Zangerl, 2005). En particular, el estudio de la evolución de las defensas de las plantas contra herbívoros ha centrado su atención en los efectos directos que el daño (o algún componente de la defensa) tiene sobre la adecuación (Fritz & Simms, 1992). Sin embargo, la mayoría de los estudios sobre selección natural de la defensa en plantas ha estimado el daño por herbívoros durante la etapa adulta (Marquis, 1992; Núñez-Farfán & Dirzo, 1994; Kingsolver *et al.*, 2001; Stinchcombe, 2002; Straus *et al.*, 2002). Por lo tanto, la percepción generalizada de que reducir el daño por los herbívoros favorece a las plantas se ha construido básicamente considerando el daño en estadios tardíos del desarrollo de las plantas (Rausher, 1996, 2001, Strauss & Zangerl, 2005; ver Tiffin, 2002).

Un escenario muy común al que se enfrentan las plantas es la posibilidad de que sean consumidas durante los primeros estadios de desarrollo (Crawley, 1999; Boege & Marquis, 2005). Los estudios que han evaluado los efectos del daño antes de la reproducción de las plantas indican que éste puede tener efectos negativos directos considerables sobre la supervivencia, y reproducción (Strauss, 1991, 1996; Juenger & Bergelson, 2000; Stinchcombe, 2002; Knight, 2003; Del-Val & Crawley, 2005; Hanley & May, 2006), e indirectos sobre la cantidad y calidad de las recompensas a los polinizadores,

y la competencia (Dirzo & Harper, 1982; Strauss, 1996; Lehtila & Strauss, 1999; Adler, 2000; Mosterhead & Marquis, 2000; Cresswell *et al.*, 2001; Gómez, 2003).

La relación directa que se ha establecido entre la cantidad de daño y el éxito reproductivo se debe, fundamentalmente, a que el daño limita la cantidad de recursos que la planta pudiera utilizar para su reproducción (Marquis, 1992). A su vez, los cambios en tamaño y en las prioridades funcionales durante el desarrollo pueden alterar la capacidad de las plantas para adquirir y asignar recursos (Boege & Marquis 2005). Bajo esta misma lógica es posible suponer que la pérdida de área foliar antes, durante, o después de iniciada la reproducción podría tener efectos diferentes sobre la adecuación de las plantas (Ehrlen, 1995). En particular, cuando el daño ocurre antes del inicio de la reproducción se incrementan las posibilidades de que sean afectadas otras funciones vitales. Por ejemplo, en muchas especies el inicio de la reproducción depende de haber alcanzado cierto tamaño (Roff, 1992), por lo que la herbivoría podría retrasar el momento en que las plantas alcanzan el tamaño necesario para reproducirse (Juenger & Bergelson, 1997). Retrasar la reproducción puede ser muy costoso en plantas con ciclo de vida cortos (anuales) si el retraso incrementa la probabilidad de mortalidad antes de que culmine la estación reproductiva (Huelber *et al.*, 2006; Pilson, 2000). En *Ipomopsis aggregata* se encontró que las plantas dañadas antes de la floración tuvieron una disminución en el éxito reproductivo debido a que se retrasó el inicio de la floración disminuyendo las visitas de los polinizadores (Juenger & Bergelson, 1998). El cambio en la expresión de la defensa durante la ontogenia podría expresar compromisos con otras funciones vitales de la plantas (Fornoni *et al.*, 2003; ), variación en la probabilidad e intensidad del daño por herbívoros (Del Val & Dirzo, 2003; Boege & Marquis, 2005) o cambios en el valor adaptativo de

diferentes mecanismos defensivos (Fornoni *et al.*, 2004). A pesar de que se ha documentado que la defensa de las plantas cambia durante la ontogenia (Briggs & Schultz, 1990; Karban & Thaler, 1999; Stout *et al.*, 2002; del Val & Dirzo, 2003; Boege & Marquis, 2005), no existe una hipótesis sobre los cambios en el valor adaptativo de los mecanismos defensivos. Los únicos dos estudios que han estimado la selección natural sobre el daño temprano y tardío en plantas indican que la intensidad del efecto del daño puede variar durante la ontogenia (Tiffin, 2002; Stinchcombe, 2002). Sin embargo, las causas de esta variación no han sido exploradas todavía. Un sistema que pudiera permitir explorar estas ideas es el de la hierba *Datura stramonium* y sus herbívoros asociados.

En la planta anual *Datura stramonium* se ha observado que el ataque de uno de sus principales herbívoros folívoros (*Epitrix* sp.) ocurre preferentemente durante los estadios juveniles. En contraste, otro escarabajo, *Lema trilineata*, la consume a partir del inicio de la floración (Nuñez-Farfán & Dirzo, 1994). Este patrón temporal en el consumo de los dos herbívoros principales de *D. stramonium* permite examinar el efecto particular del daño causado por *Epitrix* sp. sobre el desempeño de la planta. Curiosamente en un estudio previo en condiciones naturales se detectó una relación positiva entre el daño ocasionado por *Epitrix* sp. antes de la floración y la adecuación de las plantas (Nuñez-Farfán & Dirzo, 1994). Este estudio sin embargo no manipuló la presencia del herbívoro, por lo que no es posible saber si la presencia del herbívoro efectivamente favorece a la planta o la relación positiva entre el daño y la adecuación refleja un mecanismo defensivo diferente a la resistencia. En el mismo sistema otro estudio detectó una asociación positiva entre la intensidad del daño ocasionado por *Epitrix* sp. y la concentración de escopolamina (alcaloide involucrado en la defensa contra herbívoros) durante la etapa adulta de las

plantas (Shonle & Bergelson, 2000). A su vez se detectó que la selección favoreció una reducción en los niveles de escopolamina, sugiriendo una relación negativa entre el daño por *Epitrix* sp. y la reproducción de *D. stramonium* (Shonle & Bergelson, 2000). En este estudio el daño causado por *Epitrix* sp. se estimó en la etapa adulta de las plantas reflejando el daño acumulado. Es posible que las diferencias encontradas en estos estudios reflejen, entre otras cosas, cambios durante la ontogenia de la planta en el valor selectivo del daño por este herbívoro especialista. Dada la falta de evidencia sobre selección natural del daño por herbívoros en estadios tempranos en el desarrollo de las plantas y los posibles mecanismo involucrados (ver Stinchcombe, 2002), en el presente estudio se propuso examinar el valor selectivo del daño temprano sobre la reproducción. En particular, se plantearon los siguientes objetivos: (1) Determinar el mecanismo a través del cual el daño foliar causado por *Epitrix* sp. durante los primeros estadios de desarrollo afecta la reproducción de *D. stramonium*, (2) Determinar la importancia relativa de los efectos directos e indirectos del daño sobre la reproducción, y (3) Determinar como actúa la selección natural sobre el crecimiento, el inicio de la floración y el daño en estadios tempranos causado por *Epitrix* sp.

## MATERIAL Y MÉTODO

### Sistema de Estudio

*Datura stramonium* (Solanaceae) es una hierba anual, ruderal, que coloniza hábitats perturbados, y zonas de cultivo. Se distribuye esencialmente en México y Estados Unidos (Nuñez-Farfán, 1991). Es una planta que tiene afinidad por suelos ricos en nutrientes (Weaver & Warwick, 1984) y en particular por aquellos ricos en nitrógeno (Department of Agriculture U. S., 1970). Es una planta hermafrodita autocompatible que se propaga por semillas. En condiciones naturales esta especie es consumida por un grupo relativamente pequeños de herbívoros que producen un daño promedio entre poblaciones de 10 a 50% del área foliar total de las plantas (Valverde *et al.*, 2001). *D. stramonium* produce alcaloides, entre los que destacan la hiosiamina, atropina y escopolamina (Sharova *et al.*, 1976). Tanto estos compuestos, como la presencia de tricomas, han sido reconocidos como componentes de la resistencia contra herbívoros. Además, estos caracteres son blanco de la selección natural (Shonle & Bergelson, 2000; Valverde *et al.*, 2001). En *D. stramonium* no se ha detectado evidencia de inducción los metabolitos secundarios (Shonle & Bergelson, 2000). Además, otros estudios han demostrado que esta hierba también tiene la capacidad de tolerar el daño foliar y que la tolerancia es seleccionada en algunas poblaciones (Fornoni *et al.*, 2004).

En el Centro de México los consumidores más frecuentes son dos coleópteros de la familia Chrysomelidae (*Lema trilineata* y *Epitrix* sp.) y un acrídido (*Sphenarium purpurascens*) (Nuñez-Farfán & Dirzo, 1994). La presencia de estos herbívoros, al igual que la importancia relativa que cada uno tiene como enemigo natural de *D. stramonium*, puede variar entre localidades y durante la temporada de crecimiento de las plantas

(Fornoni *et al.*, 2004; Nuñez-Farfán & Dirzo, 1994). *Epitrix* sp. es el herbívoro que presenta el mayor grado de solapamiento en su intervalo de distribución con *D. stramonium* en México (Fornoni, *com. pers.*).

Observaciones de campo sugieren que el escarabajo *L. trilineata* se encuentra asociado a esta hierba preferentemente en sitios templados del centro-sur de México (Fornoni & Nuñez-Farfán, *obs. pers.*). *L. trilineata* desarrolla todas las fases de su vida excepto la de pupa asociada a *D. stramonium*. Se ha observado que este escarabajo puede remover el 100% del área foliar de una planta (Nuñez-Farfán & Dirzo, 1994). En particular, *L. trilineata* coloniza las plantas cuando estas inician la floración (Nuñez-Farfán & Dirzo, 1994).

Por su parte, *Epitrix* sp. también se alimenta de las hojas principalmente en las etapas tempranas del desarrollo de *D. stramonium* (Nuñez-Farfán & Dirzo, 1994). El daño ocasionado por este escarabajo consiste en pequeñas perforaciones muy regulares de aproximadamente 3 mm de diámetro (Alcázar, 2002). Se ha observado que puede llegar a consumir hasta un 25% del área foliar total de una planta (Fornoni *et al.*, 2003; Nuñez-Farfán & Dirzo, 1994), por lo que en varias localidades constituye el herbívoro más importante (Valverde *et al.*, 2001). El adulto de este escarabajo mide aproximadamente 2 mm. Su coloración va desde un color pardo claro a negro presentando brillo metálico. Tienen patas muy desarrolladas que le permiten saltar cuando es perturbado. Sus huevos son microscópicos, ovalados y blanquecinos. La larva mide entre 2 y 3 mm de largo y presenta una coloración blanquecina cremosa; presenta tres pares de patas torácicas. Las pupas también son de color blanco y miden aproximadamente entre 6 y 8 mm de largo (Alcázar, 2002). La hembra de *Epitrix* sp. oviposita en el suelo cerca del tallo de la planta.

Las larvas se alimentan de las raíces. Después de un mes estas larvas pupan en el suelo y después de una semana emergen los adultos. El ciclo total es de un mes y medio. Estos escarabajos son abundantes en épocas de calor y en ausencia de lluvias (Alcázar, 2002).

### **Sitio de estudio**

El estudio se llevó a cabo en la localidad de Teotihuacán (Edo. de México; 19°Norte, 98°Oeste) a unos 2294 msnm, con una precipitación media anual de 559.6 mm y una temperatura media anual de 14.8 °C. La vegetación de la zona es predominantemente xerófila. En esta localidad se ha observado la presencia de poblaciones de *D. stramonium* al menos desde 1989 (Núñez-Farfán, 1991). Esta localidad fue elegida para llevar a cabo el estudio debido a que se ha observado la presencia de herbívoros, niveles de daño cercanos al 37% y selección natural sobre la resistencia a insectos herbívoros (Valverde *et al.*, 2001).

### **Diseño Experimental**

En el verano de 2004 se colectaron frutos de aproximadamente 115 plantas de *D. stramonium* de la población de Teotihuacán. Una muestra de 30 semillas de cada planta fue sembrada en el invernadero del Instituto de Ecología (UNAM) en macetas de 2 litros con suelo comercial. Las semillas fueron germinadas siguiendo el protocolo descrito en Fornoni & Nuñez-Farfán (2000). De cada familia se mantuvo una planta por maceta para producir semillas por autofertilización. Durante el verano del 2005 se sembró una muestra por planta de las semillas obtenidas en el 2004 con el fin de reducir los efectos del ambiente materno entre las semillas. En junio de 2006 se sembraron 20 semillas por planta en el invernadero para producir la población experimental. Cuando las plántulas produjeron las primeras dos

hojas fueron transplantadas a una parcela experimental de  $42.4 \times 65$  m el 4 de julio del 2006. La parcela fue arada y desyerbada antes del transplante. Las plantas se ubicaron a una distancia dentro y entre surcos de 1 y 0.8 m respectivamente siguiendo un diseño de bloques al azar. La parcela se dividió en dos bloques dentro de los cuales se asignaron al azar las plantas a dos tratamientos: con insecticida (CI) y sin insecticida (SI). En total se plantaron  $400$  plántulas  $\times$   $2$  tratamientos =  $800$  plántulas. Para el tratamiento CI, se aplicó el insecticida de contacto SevinXP<sup>®</sup> a una concentración de  $25$  g/l, cada ocho días. Este insecticida pertenece al grupo de los carbamatos y ha sido efectivo para disminuir la abundancia de *Epitrix* sp. sin afectar la cantidad de frutos ni el número de semillas por fruto por planta en *D. stramonium* y otras especies (Simms & Rausher, 1989; Shonle & Bergelson, 2000). El tratamiento SI consistió en permitir el libre acceso a las plantas por parte de *Epitrix* sp. y en remover manualmente cada 7 días las puestas de *Lema trilineata*. Cada 15 días las malezas fueron removidas para controlar cualquier variación microambiental que éstas pudieran causar dentro de la parcela.

### **Toma de Datos**

A los 26 días de la fecha de transplante (29 de julio del 2006) se contó el número de hojas totales de cada plantas. El número de hojas se contó nuevamente entre los 44 y 55 días de la fecha de transplante para estimar el incremento en el número de hojas antes del inicio de la floración. A partir de estas mediciones se estimó el crecimiento de las plantas como:

$$\left[ \frac{\ln \text{hojas}_{t_2} - \ln \text{hojas}_{t_1}}{t_2 - t_1} \right] \text{ (Pearcy } et \text{ al., 1989). Dado que } Epitrix \text{ sp. consume a su hospedero}$$

preferentemente durante el estadio juvenil, el análisis del daño se concentró en las primeras

hojas producidas por la planta. El daño causado se estimó a partir de la colecta de las primeras 4-6 hojas senescentes de las plantas. La estimación considera el daño total acumulado por la planta durante su estadio juvenil de desarrollo. El promedio de la proporción de área foliar consumida por el herbívoro para cada planta se estimó mediante la digitalización de las hojas colectadas utilizando un sistema de análisis de imágenes (WinDIAS Basic, (Delta-T Devices Ltd) (Valverde *et al.*, 2001). Para cada planta se registró como “inicio de la floración” el día en el que las primeras flores alcanzaron la antésis. Por otro lado, evidencia previa ha confirmado que existe una correlación positiva entre la producción de frutos y semillas de las plantas de esta especie ( $r = 0.92$ ,  $P < 0.0001$ ,  $N = 150$ , Valverde, Fornoni & Núñez-Farfán, *datos no publicados*), indicando que el número de frutos por planta es un buen estimador de la cantidad de total de semillas por planta. El número de frutos totales se utilizó como un estimador del éxito reproductivo de las plantas.

### **Análisis de Datos**

Para determinar si la manipulación de la presencia de *Epitrix* sp. tuvo algún efecto sobre las variables de interés (daño, crecimiento, inicio de la floración y adecuación), se realizó un análisis de varianza incluyendo los efectos: bloque, fecha de transplante (covariable) y tratamiento. Antes de realizar los análisis, las variables fueron transformadas para mejorar su normalidad y heterocedasticidad. Al daño (proporción de área foliar removida por el herbívoro) se le aplicó la transformación  $(\arcseno\sqrt{\text{daño}})$  y al número de frutos totales se le aplicó la transformación logarítmica. Antes de realizar los análisis de selección los caracteres daño, crecimiento e inicio a la floración fueron estandarizados para todo el

conjunto de datos  $\left[ \frac{x_i - \bar{x}}{\sigma_x} \right]$  y la adecuación fue relativizada ( $x_i/\bar{x}$ ) para cada tratamiento

con el fin de comparar, entre tratamientos, la forma e intensidad de los patrones de selección (Lande & Arnold, 1983).

La selección natural se estimó aplicando una regresión múltiple sobre la adecuación de las plantas y los caracteres de interés (Lande & Arnold, 1983). La presencia de selección direccional se determinó a partir de un modelo de regresión donde solo se incluyeron los términos lineales. La presencia de selección estabilizadora/disruptiva y correlativa se determinó a partir de un modelo de regresión donde se incluyeron los términos lineales y cuadráticos. Los coeficientes de regresión parcial de los modelos se utilizaron como estimadores de los patrones y la intensidad de selección (Lande & Arnold, 1983). Para comparar los patrones y la intensidad de la selección entre tratamientos se realizaron análisis de covarianza. Estos análisis tuvieron como objetivo comparar las pendientes de las relaciones entre los caracteres y la adecuación entre tratamientos. El contraste de los gradientes de selección direccional se realizó con un modelo de efectos lineales, mientras que para el contraste de los gradientes cuadráticos se realizó un modelo incluyendo los términos cuadráticos. Los gradientes se consideraron significativamente diferentes cuando la interacción Tratamiento  $\times$  carácter<sub>i</sub>, Tratamiento  $\times$  carácter<sub>i</sub><sup>2</sup>, o Tratamiento  $\times$  carácter<sub>i</sub>  $\times$  carácter<sub>j</sub> resultó significativa (Dudley, 1996; Mauricio *et al.*, 1997; Fornoni *et al.*, 2004).

Con el fin de analizar de manera explícita la importancia relativa de las relaciones causales, tanto directas como indirectas del daño, el crecimiento y el inicio de la floración sobre la adecuación, se realizó un análisis de rutas (Brodie *et al.*, 1995; Conner, 1996). Para cada tratamiento se hizo un análisis de rutas usando la misma hipótesis causal (ver

diagrama de rutas en Figura 1). Esta hipótesis causal fue diseñada considerando dos argumentos principales. Por un lado, las relaciones causales directas del daño con las otras variables se sustentan en el argumento de que el daño disminuye los recursos de la planta (Marquis, 1992), por lo que este pudiera alterar la expresión fenotípica de todos los caracteres involucrados. Por otro lado, la relación causal directa que tiene el crecimiento sobre el inicio de la floración se sustenta en la evidencia de que en muchas especies el inicio de la reproducción depende de haber alcanzado cierto tamaño (Roff, 1992), por lo que la velocidad a la que se alcance este tamaño (crecimiento) puede afectar el inicio de la floración.

Los análisis por tratamiento se realizaron con todas las variables estandarizadas. Los coeficientes de ruta ( $p_{ij}$ ; donde  $i$  = variable dependiente o efecto y  $j$  = variable independiente o causa) fueron obtenidos a partir de los coeficientes parciales de regresión  $\beta_{ji.1,2,\dots,n}$ , donde  $\beta_{ji.1,2,\dots,n}$  es el coeficiente de regresión entre  $j$  e  $i$  independiente de la relación de  $i$  con las variables 1, 2, ... $n$ . De esta manera, los coeficientes de ruta ( $p_{ji}$ ) estimados a partir de los coeficientes parciales de regresión estandarizados ( $\beta_{ji}$ ), nos dicen la fracción de desviación estándar de la variable dependiente  $i$  de la cual un factor  $j$  es directamente responsable. Esta relación se obtiene de mantener constantes las otras variables independientes (1, 2, ... $n$ .) que pudieran modificar a la variable dependiente  $i$  (Mitchell, 2001). Por otro lado, los coeficientes de correlación ( $r_{ij}$ ) fueron descompuestos en sus componentes: *directos* (ED), *indirectos* (EI), *espurios* (S) y *no analizables* (U). Esto se realizó con el fin de obtener los coeficientes de efecto o *efectos totales* (Green *et al.* 1997) que se obtienen de sumar ED y EI, y permiten comparar los efectos que diferentes variables tienen sobre una variable endógena. Los residuales para cada variable endógena fueron

calculados como  $e_i^2 = \sqrt{1 - R_{i,1,2,\dots,n}^2}$  donde  $R_{i,1,2,\dots,n}^2$  es el coeficiente de determinación múltiple de la variable endógena  $i$  con las variables  $1, 2, \dots, n$  que la afectan.

Debido a que los diagramas de rutas presentados son modelos *recursivos saturados* (recursive model just identified), es decir, los flujos causales son unidireccionales (recursivo) y todas las variables están interconectadas (saturados), no es necesario realizar la prueba de bondad de ajuste del modelo debido a que un modelo de estas características siempre se ajusta a los datos (Pedhazur, 1982, pp. 616). Para este tipo de modelos el coeficiente de determinación múltiple se calculó como  $R^2 = 1 - \prod_{i=1}^n (1 - R_i^2)$ , donde  $R_i$  corresponde a los residuales de cada una de las variables involucradas en el modelo. Este coeficiente se interpreta como la cantidad de varianza explicada (devianza) por el modelo.

## RESULTADOS

La aplicación del insecticida afectó la expresión de todos los caracteres (Tabla 1). En particular, se redujo la cantidad de daño producido por *Epitrix* sp. en un 47% en el tratamiento sin insecticida (Tabla 1). En el tratamiento sin insecticida las plantas tuvieron en promedio 17% de daño mientras que en el tratamiento CI el daño se redujo a un 9%. El número promedio de frutos por planta disminuyó un 33% en el tratamiento sin insecticida con respecto al tratamiento CI (Tabla 1). De igual manera, el tratamiento sin insecticida causó una reducción del 6% en la tasa de crecimiento de las plantas y retrasó el inicio de la floración en un 6% (Tabla 1).

El análisis de las correlaciones fenotípicas entre caracteres detectó una asociación positiva entre el daño por *Epitrix* sp. y la producción de frutos en el tratamiento sin insecticida. De igual manera, se detectó una correlación positiva entre el crecimiento y la adecuación y una correlación negativa entre el inicio de la floración y la adecuación (Tabla 2). Por otro lado, se detectó una asociación negativa entre el daño por *Epitrix* sp. y el inicio de la floración (Tabla 2). Es decir, aquellas plantas más dañadas en el tratamiento SI iniciaron la reproducción más temprano que las menos dañadas. En el tratamiento CI, solo se detectó una relación positiva entre el crecimiento y la producción de frutos, y una relación negativa entre el inicio de la floración y la producción de frutos (Tabla 2)

El análisis de selección natural permitió estimar la selección directa que actúa sobre el daño, la tasa de crecimiento y el inicio de la floración (Tabla 3). Este análisis se realizó para cada tratamiento (SI y CI). En ambos tratamientos se detectó la presencia de selección direccional positiva sobre el crecimiento y selección direccional negativa sobre el inicio de la floración. El análisis de covarianza únicamente detectó que los gradientes de selección

sobre el crecimiento fueron diferentes entre tratamientos (Tabla 3 y A1), siendo el valor selectivo del crecimiento de mayor intensidad en el tratamiento SI (Tabla 3, Figura 2). También se detectó selección correlativa negativa sobre el crecimiento y el inicio de la floración (Tabla 3). La intensidad del gradiente correlativo fue dos veces mayor en el tratamiento SI (Tabla 3 y A2; Figura 3). Finalmente, no se detectó selección de ningún tipo actuando directamente sobre el daño.

El análisis de rutas reveló que la aplicación de insecticida modificó la intensidad de las relaciones entre los caracteres y la adecuación (Tabla 4 y 5, Figura 4). En particular, el efecto total del daño sobre la adecuación en ambos tratamientos fue positivo, aunque 6.5 veces más intenso en el tratamiento SI con respecto al tratamiento CI. Esta diferencia se debe a que en el tratamiento SI, tanto los efectos directos como los indirectos del daño sobre la adecuación fueron de mayor intensidad (Tabla 4 y 5). En ambos tratamientos se observó un efecto directo positivo del daño sobre la adecuación (Figura 4). La presencia de un efecto directo negativo del daño sobre el inicio de la floración en el tratamiento SI fue una de las diferencias observadas más importantes entre tratamientos (Tabla 4 y 5). Además, el efecto negativo del daño sobre el crecimiento fue de mayor intensidad en el tratamiento CI. En resumen, en el tratamiento SI el efecto del daño al adelantar el inicio de la floración favoreció a las plantas, por lo que aquellas plantas más dañadas produjeron más frutos. La importancia relativa del crecimiento y el inicio de la floración fue diferente entre tratamientos. Por un lado, en el tratamiento CI el inicio de la floración fue la variable que presentó un efecto total mayor sobre la adecuación (Tabla 4), mientras que en el tratamiento SI la variable con mayor efecto total fue el crecimiento (Tabla 5).

## DISCUSIÓN

En este estudio se encontró que las plantas expuestas al daño natural de *Epitrix* sp. presentaron una disminución en el crecimiento, un retraso en el inicio de la floración y una reducción en la cantidad de frutos totales con respecto a las plantas expuestas a menor cantidad de daño. El análisis de selección (regresión múltiple) no detectó que la selección natural actúe sobre el daño causado por el herbívoro. Por el contrario, la reducción en el nivel de daño natural de 18 a 9 % disminuyó el valor selectivo del crecimiento y de la asociación entre el crecimiento y el inicio de la floración. En condiciones naturales, las plantas con altos valores de crecimiento y una floración temprana tuvieron mayor producción de frutos. El análisis de rutas indicó la presencia de efectos directos e indirectos del daño sobre la producción de frutos. En general los efectos directos fueron de mayor intensidad que los indirectos. En conjunto, los resultados indican que bajo condiciones naturales, con un promedio de daño de 18 % durante el estadio juvenil aquellas plantas que experimentaron niveles relativamente altos de daño foliar tuvieron un beneficio directo e indirecto en términos de adecuación al adelantar el inicio de la floración.

En general los estudios que han estudiado la selección natural sobre el daño y la defensa, se han concentrado en los efectos directos utilizando el método de regresión múltiple (Agrawal, 2005; Berenbaum *et al.*, 1986; Fornoni *et al.*, 2004; Juenger & Bergelson, 2000; Mauricio *et al.*, 1997; Nuñez-Farfán & Dirzo, 1994; Pilson, 2000; Simms & Rausher, 1989; Stinchcombe & Rausher, 2001; Tiffin & Rausher, 1999; Valverde *et al.*, 2003; Weinig *et al.*, 2003). Sin embargo, los pocos casos que han seguido la aproximación del análisis de rutas han podido distinguir entre los efectos directos e indirectos que el daño puede tener sobre la adecuación (Cariveau *et al.*, 2004; Rey *et al.*, 2006; Schemske &

Horvitz, 1988; este estudio). Por ejemplo, en la hierba tropical, *Calathea ovadensis*, los efectos directos e indirectos contribuyeron en igual medida sobre el efecto negativo total del daño floral causado por las larvas del herbívoro *Eurybia elvina* (Riodinidae) (Schemske & Horvitz, 1988). En la hierba perenne *Helleborus foetidus*, el efecto negativo directo del consumo por áfidos y larvas de lepidópteros sobre las flores y frutos se debió principalmente a los efectos directo (Rey *et al.*, 2006).

La asociación positiva entre el daño temprano y la adecuación de las plantas es consistente con lo encontrado en un estudio previo en el mismo sistema (Núñez-Farfán & Dirzo 1994). El beneficio para las plantas de ser dañadas durante el estadio juvenil sugiere que el costo de la pérdida de área foliar fue menor que el beneficio de adelantar la floración. En *D. stramonium* se ha observado que las plantas presentan la capacidad de amortiguar completamente en términos de adecuación una reducción de aproximadamente 10 % del área foliar de una planta (Fornoni & Núñez-Farfán 2000). Estudios previos que estimaron el daño causado por *Epitrix* sp. en otras poblaciones encontraron que la media del daño podría variar entre 1 % en el norte de Estados Unidos a 23 % e el Centro de México (Fornoni *et al.*, 2003; Shonle & Bergelson, 2000). En otro estudio en el Centro de México se determinó que en promedio un 54% de las hojas de las plantas presentaron daño por *Epitrix* sp. (Núñez-Farfán & Dirzo, 1994). Dado este rango de variación, los niveles de daño observados en la parcela experimental podrían considerarse como ligeramente bajos. En este sentido, la tolerancia de las plantas en las condiciones de la parcela experimental pudo haber sido suficiente para amortiguar la pérdida de área foliar. Dado que el crecimiento fue favorecido con mayor intensidad en presencia del herbívoro es posible que la selección favorezca la activación de mecanismos compensatorios (incremento en la tasa

de crecimiento) frente al daño temprano. En *Ipomopsis aggregata* también se observó que el patrón de selección sobre el total de ramas producidas y el inicio de la floración fueron alterados como resultado de la manipulación de la presencia del herbívoro (Juenger & Bergelson, 2000). Al igual que el presente estudio la intensidad de la selección sobre ambos caracteres fue mayor en el tratamiento con mayor intensidad de daño y también se observó un patrón de selección correlativo favoreciendo la floración temprana y un incremento en el crecimiento. El mismo estudio demostró que ambos caracteres funcionaron como componentes de la tolerancia al daño (Juenger & Bergelson, 2000). Los resultados para *I. aggregata* y *D. stramonium* apoyan fuertemente la hipótesis de que los herbívoros pueden ejercer un papel importante en la evolución de la historia de vida de las plantas.

La importancia del crecimiento y el inicio de la reproducción en la respuesta de la planta frente a su herbívoro sugiere que otros agentes de selección podrían restringir la respuesta a la selección impuesta por los herbívoros. Por ejemplo, tanto el crecimiento como el inicio de la floración son caracteres sensibles a responder a la presión impuesta por otros agentes de selección como las interacciones competitivas (Aarssen 1995). Por lo tanto, si la intensidad de la competencia cambia, la respuesta de la planta frente a su herbívoro podría verse afectada. Por otro lado, estudios previos indican que la abundancia de herbívoros puede generar fluctuaciones en la selección sobre la defensa y otros caracteres relacionados (Juenger & Bergelson, 1998; Stinchcombe & Rausher, 2002). De esta manera si la evolución del crecimiento y el inicio de la floración dependen de la cantidad de daño, cualquier cambio en la abundancia del herbívoro podría producir fluctuaciones en la selección sobre estos caracteres.

Los resultados del presente estudio contrastan con la evidencia existente para otras especies sobre los posibles efectos positivos del daño sobre la reproducción de las plantas. Todos los casos reportados de efectos positivos del daño sobre la reproducción de las plantas indican que en ausencia de daño el éxito reproductivo de las plantas disminuye con respecto a las plantas en presencia de daño (Maschinski & Whitham, 1989; Bergelson & Crawley, 1992). En este caso se considera que las plantas presentan la capacidad de sobrecompensar el daño. En el presente estudio, las plantas en presencia de daño produjeron menor cantidad de frutos aunque bajo estas condiciones las plantas más consumidas produjeron más frutos. Es decir, aunque el daño redujo el éxito reproductivo, resistirse al daño durante el estadio juvenil no parece ser la estrategia óptima para las plantas. Este patrón contrasta con los únicos dos estudios que han examinado el valor selectivo del daño temprano en las plantas. El estudio de Tiffin (2002) con *Ipomoea purpurea* y el de Stinchcombe (2002) con *Ipomoea hederacea*, indican que el valor selectivo del daño fue negativo sugiriendo que convendría resistir el ataque de los herbívoros. Es posible también que el efecto directo positivo del daño sobre la adecuación pudiera ser explicado por otras variables que no se incluyeron en el análisis de rutas. Por ejemplo, se ha observado en algunas especies que la interacción planta-herbívoro puede afectar la interacción planta-polinizador reduciendo la atracción de los individuos más resistentes (Strauss 1997). Este efecto podría suceder cuando la herbivoría reduce la cantidad o calidad de las recompensas (Adler 2000). Para el caso particular de *D. stramonium* se ha propuesto que los polinizadores podrían no ser un factor limitante en la producción de semillas (Nuñez-Farfán et al., 1996). Sin embargo, no existe evidencia

empírica sobre la relación entre la cantidad de daño y los atributos relacionados con las preferencias de los polinizadores.

La presencia de selección sobre la resistencia contra herbívoros durante la etapa adulta de las plantas en la zona de estudio (Valverde *et al.*, 2001), y los resultados del presente estudio sugieren que el valor selectivo de la resistencia probablemente cambie durante la ontogenia en *D. stramonium* (Boege & Marquis 2005). Aunque algunos estudios han propuesto que los cambios en la expresión de la resistencia durante la ontogenia serían frecuentes, ningún estudio ha examinado las causas de esta variación. Por último, dado que el 30% de las plantas en condiciones de daño natural por *Epitrix* sp. tuvieron una producción de frutos superior al promedio de las plantas cuando se redujo la cantidad de daño, es posible suponer que las condiciones de daño registradas en el tratamiento sin insecticida reflejen el escenario más común experimentado por *D. stramonium* en el sitio de estudio. En este sentido, la respuesta de la planta frente al herbívoro podría reflejar un proceso de adaptación expresado a través del crecimiento y el inicio de la floración.

**LITERATURA CITADA**

- Aarssen, W. (1995) Hypotheses for the evolution of apical dominance in plants: implications for the interpretation of overcompensation. *Oikos*, **74**, 149-156.
- Adler, L.S. (2000) Alkaloid uptake increases fitness in a hemiparasitic plant via reduced herbivory and increased pollination. *The American Naturalist*, **156**, 92-99.
- Agrawal, A.A. (2005) Natural selection on common milkyweed (*Asclepias syriaca*) by a community of specialized insect herbivores. *Evolutionary Ecology Research*, **7**, 651-667.
- Alcázar, J. (2002). Principales plagas de la papa: gorgojo de los andes, *Epitrix* y gusanos de tierra. En: *Producción de tubérculos-semillas de papa. Manual de Capacitación*, Vol. 3.6, pp. 1-7, Lima, Perú.
- Berenbaum, M.R., Zangerl, A.R., & Nitao, J.K. (1986) Constraints on Chemical Coevolution: Wild Parsnips and the Parsnip Webworm. *Evolution*, **40**, 1215.
- Boege, K. & Marquis, R.J. (2005) Facing herbivory as you grow up: the ontogeny of resistance in plants. *Trends in Ecology & Evolution*, **20**, 441.
- Briggs, M.A. & Schultz, J.C. (1990) Chemical defense production in *Lotus corniculatus* L. II. Trade-off among growth, reproduction and defense. *Oecologia*, **83**, 32-37.
- Brodie III, E.D., Moore, A.J., & Janzen, F.J. (1995) Visualizing and quantifying natural selection. *Trends in Ecology & Evolution*, **10**, 313.
- Cariveau, D., Irwin, R.E., Brody, A.K., Garcia-Mayeya, L.S., & von der Ohe, A. (2004) Direct and indirect effects of pollinators and seed predators to selection on plant and floral traits. *Oikos*, **104**, 15.

- Conner, J.K. (1996) Understanding natural selection: an approach integrating selection gradients, multiplicative fitness components, and path analysis. *Ethology, Ecology and Evolution*, **8**, 387-397.
- Crawley, M.J. (1999). Herbivory. In *Physiological Plant Ecology* (eds. J.D. Scholes & M.G. Barker), pp. 480. Blackwell Scientific Publication, Oxford.
- Cresswell, J.E., Hagen, C., & Woolnough, J.M. (2001) Attributes of individual flowers of *Brassica napus* L. are affected by defoliation but not by intraspecific competition. *Annals of Botany*, **88**, 111-117.
- Del-Val, E. & Dirzo, R. (2003) Does ontogeny causes changes in the defensive strategies of the mymecophyte *Cecropia peltata*?. *Plant Ecology*, **169**, 35-41.
- Del-Val, E.K. & Crawley, M.J. (2005) Are grazing increaser species better tolerators than decreaseers? An experimental assessment of defoliation tolerance in eight British grassland species. *Journal of Ecology*, **93**, 1005.
- Delta-T Devices Ltd WinDIAS, Cambridge, England.
- Department of Agricultura, U. S. (1970). Selected weeds of the United States, Washington D.C.
- Dirzo, R. & Harper, J.L. (1982) Experimental studies on slug-plant interactions: IV. The performance of cyanogenetic and acyanogenic morphs of *Trifolium repens* in the field. *The Journal of Ecology*, **70**, 119-138.
- Dudley, S.A. (1996) Differing selection on plant physiological traits in response to environmental water availability: a test of adaptive hypotheses. *Evolution*, **50**, 92-102.

- Ehrlén, J. (1995) Demography of the perennial herba *Lathyrus vernus*. II. Herbivory and population dynamics. *Journal of Ecology*, **83**, 297-308.
- Fornoni, J. & Nuñez-Farfán, J. (2000) Evolutionary ecology of *Datura stramonium*: genetic variation and costs of tolerance to defoliation. *Evolution*, **54**, 789-797.
- Fornoni, J., Valverde, P.L., & Nuñez-Farfán, J. (2003) Quantitative genetics of plant tolerance and resistance against natural enemies of two natural populations of *Datura stramonium*. *Evolutionary Ecology Research*, **5**, 1049-1065.
- Fornoni, J., Valverde, P.L., & Nuñez-Farfán, J. (2004) Population variation in the cost and benefit of tolerance and resistance against herbivory in *Datura stramonium*. *Evolution*, **58**, 1696-1704.
- Fritz, R. S. and E. L. Simms (editors). 1992. Plant Resistance to Herbivores and Pathogens: Ecology, Evolution, and Genetics. The University of Chicago Press, Chicago.
- Gómez, J.M. (2003) Herbivory reduces the strength of pollinator-mediated selection in the mediterranean herb *Erysimum mediohispanicum*: consequences for plant specialization. *The American Naturalist*, **162**, 242-256.
- Green, P.T., O'Dowd, D.J., & Lake, P.S. (1997) Control of seedling recruitment by land crabs in rain forest on a remote oceanic island. *Ecology*, **78**, 2474.
- Hanley, M.E. (1998) Seedling herbivory, community composition and plant life history traits. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, **1**, 191-205.
- Hanley, M.E. & May, O.C. (2006) Cotyledon damage at the seedling stage affects growth and flowering potential in mature plants. *New Phytologist*, **169**, 243-250.

- Huelber, K., Gottfried, M., Pauli, H., Reiter, K., Winkler, M., & Gragherr, G. (2006) Phenological responses of snowbed species to snow removal dates in the central alps: implications for climate warming. *Arctic, Antarctic and Alpine Research*, **38**, 99-103.
- Juenger, T. & Bergelson, J. (1997) Pollen and resource limitation of compensation to herbivory in scarlet gilia, *Ipomopsis aggregata*. *Ecology*, **78**, 1684-1695.
- Juenger, T. & Bergelson, J. (1998) The evolution of compensation to herbivory in scarlet gilia, *Ipomopsis aggregata*: herbivore-imposed natural selection and the quantitative genetics of tolerance. *Evolution*, **54**, 764-777.
- Juenger, T. & Bergelson, J. (2000) Does early season browsing influence the effect of self-pollination in scarlet gilia? *Ecology*, **81**, 41-48.
- Karban, R. & Thaler, J.S. (1999) Plant phase change and resistance to herbivory. *Ecology*, **80**, 510-517.
- Kingsolver, J.G., Hoekstra, H.E., Hoekstra, J.M., Berrigan, D., Vignieri, S.N., Hill, C.E., Hoang, A., Gilbert, P., & Beerli, P. (2000) The strength of phenotypic selection in natural population. *The American Naturalist*, **3**, 246-261.
- Knight, T.M. (2003) Effects of herbivory and its timing across populations of *Trillium grandiflorum* (Liliaceae). *American Journal of Botany*, **90**, 1207-1214.
- Lande, R. & Arnold, S.J. (1983) The measurement of selection on correlated characters. *Evolution*, **37**, 1210-1226.
- Lehtila, K. & Strauss, S.Y. (1999) Effects of Foliar Herbivory on Male and Female Reproductive Traits of Wild Radish, *Raphanus raphanistrum*. *Ecology*, **80**, 116.

- Lethila, K. & Strauss, S.Y. (1997) Leaf damage by herbivores affects attractiveness to pollinators in wild radish, *Raphanus raphanistrum*. *Oecologia*, **111**, 396-405.
- Marquis, R.J. (1992) The selective impact of herbivores. In *Plant resistance to herbivores and pathogens. Ecology, evolution, and genetics*. (eds R.S. Fritz & E.L. Simms), pp. 301-326. The University of Chicago Press, Chicago
- Mauricio, R., Rausher, M.D., & Burdick, D.S. (1997) Variation in the defense strategies of plants: are resistance and tolerance mutually exclusive? *Ecology*, **78**, 1301-1311.
- Mothershead, K. & Marquis, R.J. (2000) Fitness impacts of herbivory through indirect effects on plant-pollinator interactions in *Oenothera macrocarpa*. *Ecology*, **81**, 30-40.
- Núñez-Farfán, J. (1991) Biología evolutiva de *Datura stramonium* L. en el centro de México: selección natural de la resistencia a los herbívoros, sistema de cruzamiento y variación genética intra e interpoblacional. Tesis Doctoral. Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico.
- Núñez-Farfán, J. & Dirzo, R. (1994) Evolutionary ecology of *Datura stramonium* L. in central Mexico: natural selection for resistance to herbivorous insects. *Evolution*, **48**, 423-434.
- Pearcy, R.W., Ehleringer, J., Money, H.A. & Rundel, P.W. (1989) *Plant Physiological Ecology*. Champan & Hall, Nueva York.
- Pedhazur, E.J. (1982) *Multiple regression in behavioural research*, 2nd edn. Hartcourt Brace College Publishers.
- Pilson, D. (2000) The evolution of plant response to herbivory: simultaneously considering resistance and tolerance in *Brassica rapa*. *Evolutionary Ecology*, **14**, 457.

- Rausher, M.D. (1996) Genetic analysis of coevolution between plants and their natural enemies. *Evolution*, **43**, 563-572.
- Rausher, M.D. (2001) Co-evolution and plant resistance to natural enemies. *Nature*. **411**, 857-864
- Rey, P.J., Herrera, C.M., Guitian, J., Cerda, X., Sanchez-Lafuente, A.M., Medrano, M., & Garrido, J.L. (2006) The geographic mosaic in predispersal interactions and selection on *Helleborus foetidus* (Ranunculaceae). *Journal of Evolutionary Biology*, **19**, 21.
- Roff, D.A. (1992) *The Evolution of Life Histories; Theory and Analysis*, Chapman & Hall, New York.
- Scheiner, Mitchell, & Callahan (2000) Using path analysis to measure natural selection. *Journal of Evolutionary Biology*, **13**, 423.
- Schemske, D.W. & Horvitz, C.C. (1988) Plant-animal interactions and fruit production in a neotropical herb: a path analysis. *Ecology*, **69**, 1128.
- Sharova, E.G., Arinova, C.Y., & Abdilalimov, O.A. (1976) Alkaloids of *Hyoscyamus niger* and *Datura stramonium*. *Chemistry of Natural Compounds*, **13**, 117-118.
- Shonle, I. & Bergelson, J. (2000) Evolutionary ecology of the tropane alkaloids of *Datura stramonium* L. (Solanaceae). *Evolution*, **54**, 778-788.
- Simms, E.L. & Rausher, M.D. (1989) The evolution of resistance to herbivory in *Ipomoea purpurea*. II. Natural selection by insects and costs of resistance. *Evolution*, **43**, 573-585.
- Stinchcombe, J.R. (2002) Fitness consequences of cotyledon and mature-leaf damage in the ivyleaf morning glory. *Oecologia*, **131**, 220-226.

- Stinchcombe, J.R. & Rausher, M.D. (2001) Diffuse selection on resistance to deer herbivory in the ivyleaf morning glory, *Ipomoea ederacea*. *The American Naturalist*, **158**, 376-388.
- Stinchcombe, J.R. & Rausher, M.D. (2002). The evolution of tolerance to deer herbivory: modifications caused by the abundance of insect herbivores. *Proc. Royal Soc. London B*, **269**, 1241-1246.
- Stout, M.J., Rice, W.C. & Ring, D.R. (2002) The influence of plant age on tolerance of rice to injury by the rice water weevil, *Lissorhoptus oryzophilus* (Coleoptera: Curculionidae). *Bulletin of Entomological Research*, **92**, 177-184.
- Strauss, S.Y. (1991) Direct, indirect, and cumulative effects of three native herbivores on a shared host plant. *Ecology*, **72**, 543.
- Strauss, S.Y. (1996) Foliar herbivory affects floral characters and plant attractiveness to pollinators: implications for male and female plant fitness. *The American Naturalist*, **147**, 1098-1107.
- Strauss, S.Y., Rudgers, J.A., Lau, J.A. & Irwin, R.E. (2002) Direct and ecological costs of resistance to herbivory. *Trends in Ecology & Evolution*, **17**, 278-285
- Strauss, S.Y., Sahli, H., & Conner, J.K. (2005) Toward a more trait-centered approach to diffuse (co)evolution. *New Phytologist*, **165**, 81.
- Strauss, S.Y. & Zangerl, A.R. (2005). Plant-insect interactions in terrestrial ecosystems. In *Plant animal interactions. An evolutionary approach* (eds C. Herrera & O. Pellmyr), pp. 313. Blackwell, Oxford.

- Tiffin, P. & Rausher, M.D. (1999) Genetic constraints and selection acting on tolerance to herbivory in the common morning glory *Ipomoea purpurea*. *American Naturalist*, **154**, 700-716.
- Tiffin, P. (2002) Competition and time of damage affect the pattern of selection acting on plant defense against herbivores. *Ecology* **87**, 1981-1990.
- Valverde, P.L., Fornoni, J., & Nuñez-Farfán, J. (2001) Defensive role of leaf trichomes in resistance to herbivorous insects in *Datura stramonium* *Journal of Evolutionary Biology*, **14**, 424-432.
- Valverde, P.L., Fornoni, J., & Nuñez-Farfán, J. (2003) Evolutionary ecology of *Datura stramonium*: Equivalent fitness benefits of growth and resistance against herbivory. *Journal of Evolutionary Biology*, **16**, 127-137.
- Weaver, S.E. & Warwick, S.I. (1984) The biology of Canadian weeds. *Datura stramonium* L. *Canadian Journal of Plant Science*, **64**, 979-991.
- Weiner, J. & Solbrig, O.T. (1984) The meaning and measurement of size hierarchies in plant population. *Oecologia*, **61**, 334-336.

Tabla 1. Para cada atributo de las plantas de *Datura stramonium* se presenta su media y desviación estándar registrados en dos tratamientos: con insecticida (**CI**) y sin insecticida (**SI**). La adecuación corresponde al número total de frutos por planta. La columna de diferencias esperadas indica la predicción propuesta sobre el efecto de los tratamientos en los caracteres medidos. Para facilitar la comparación entre tratamientos para cada carácter, la diferencia observada entre las medias de cada atributo fue estandarizada utilizando la desviación estándar de ambos tratamientos simultáneamente. Las probabilidades fueron tomadas de un análisis de varianza para cada carácter. Los números entre paréntesis denotan la *N*. Los datos fueron obtenidos entre el 4 de julio y el 22 de septiembre del 2006.

Atributo	<b>SI</b>	<b>CI</b>	Diferencias esperadas	Diferencias observadas $(\bar{Z}_{SI} - \bar{Z}_{CI})/\sigma_P$
Daño (% área removida)	$0.17 \pm 0.08$ (275)	$0.09 \pm 0.07$ (324)	<b>CI &gt; SI</b>	1.02*
Crecimiento (No. Hojas/día)	$0.93 \pm 0.22$ (317)	$0.99 \pm 0.21$ (363)	<b>CI &gt; SI</b>	-1.01*
Inicio floración (días)	$56.6 \pm 8.69$ (317)	$53.2 \pm 8.20$ (363)	<b>CI &lt; SI</b>	3.99*
Adecuación (No. frutos/planta)	$1.94 \pm 2.71$ (317)	$2.92 \pm 3.48$ (363)	<b>CI &gt; SI</b>	-0.31*

\*  $P < 0.0001$ .

Tabla 2. Correlaciones fenotípicas entre el daño foliar causado por *Epitrix* sp., el crecimiento, el inicio de la floración y el número de frutos. Los valores de las correlaciones para el tratamiento sin insecticida (**SI**) se presentan por encima de la diagonal, y aquellas correspondientes al tratamiento con insecticida (**CI**) se presentan por debajo de la diagonal. El asterisco indica que la correlación fue significativamente diferente de 0. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.005$ .

<b>CI / SI</b>	Daño	Crecimiento	Inicio floración	No. de frutos
Daño		-0.0530	-0.1672**	0.1306*
Crecimiento	-0.1062		-0.0565	0.4120**
Inicio floración	0.0061	-0.0478		-0.4003**
No. de frutos	0.0182	0.3173**	-0.4012**	

Tabla 3. Resultados de los análisis de regresión múltiple para estimar los gradientes de selección direccional, cuadrática (estabilizadora/disruptiva) y correlativa sobre el daño, crecimiento y el inicio a la floración en los tratamientos sin insecticida (**SI**) y con insecticida (**CI**). Los valores en paréntesis corresponden a los errores estándar de los coeficientes de regresión parcial. Los valores de  $F$  se obtuvieron de los análisis de varianza presentados en la Tabla A1 y A2. Para el modelo de efectos lineales se obtuvo respectivamente una  $R^2 = 0.34$ ,  $F_{4,270} = 36.78$ ,  $P < 0.0001$  y  $R^2 = 0.28$ ,  $F_{4,319} = 32.89$ ,  $P < 0.0001$  para el tratamiento **SI** y **CI**. Para el modelo de efectos no lineales se obtuvo respectivamente una  $R^2 = 0.39$ ,  $F_{10,264} = 19.23$ ,  $P < 0.0001$  y  $R^2 = 0.30$ ,  $F_{10,313} = 15.11$ ,  $P < 0.0001$  para el tratamiento **SI** y **CI**.

Atributo	<b>SI</b>	<b>CI</b>	Valores de $F$
<b>Gradientes de selección direccional</b>			
	$\beta_i$	$\beta_i$	
Daño	0.05 (0.11)	0.01 (0.07)	0.00
Crecimiento	0.71*** (0.10)	0.42*** (0.08)	5.04*
Inicio floración	-0.82*** (0.10)	-0.65*** (0.07)	1.24
<b>Gradientes de selección cuadrática</b>			
	$\gamma_{ii}$	$\gamma_{ii}$	
Daño <sup>2</sup>	0.15 (0.09)	0.00 (0.04)	2.14
Crecimiento <sup>2</sup>	0.06 (0.08)	-0.02 (0.06)	0.35
Inicio floración <sup>2</sup>	0.11 (0.07)	0.10 (0.06)	0.01
<b>Gradientes de selección correlativa</b>			
	$\gamma_{ij}$	$\gamma_{ij}$	
Daño × Crecimiento	0.16 (0.14)	-0.06 (0.08)	1.89
Daño × Inicio floración	0.02 (0.11)	-0.11 (0.07)	0.39
Crecimiento × Inicio floración	-0.49*** (0.11)	-0.23** (0.08)	6.39**

\*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$  \*\*\*  $P < 0.0001$ .

Tabla 4. Efectos directos (ED), indirectos (EI) y totales (ET) a partir del análisis de rutas para el tratamiento con insecticida (CI).

Variable	Efecto en								
	Crecimiento			Inicio floración			Adecuación		
	ED*	EI	ET	ED*	EI	ET	ED*	EI	ET
Dato	-0.11	-----	-0.11	0.00	0.01	0.01	0.05	-0.03	0.02
Crecimiento	-----	-----	-----	-0.05	-----	-0.05	0.30	0.02	0.32
Inicio floración	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-0.40	-----	-0.40

\*Los efectos directos son los coeficientes de ruta.

Tabla 5. Efectos directos (ED), indirectos (EI) y totales (ET) a partir del análisis de rutas para el tratamiento sin insecticida (SI).

Variable	Efecto en								
	Crecimiento			Inicio floración			Adecuación		
	ED*	EI	ET	ED*	EI	ET	ED*	EI	ET
Dato	-0.05	-----	-0.05	-0.17	0.00	-0.00	0.09	0.04	0.13
Crecimiento	-----	-----	-----	-0.06	-----	-0.06	0.39	0.02	0.42
Inicio floración	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-0.36	-----	-0.36

\*Los efectos directos son los coeficientes de ruta.

### LEYENDAS DE LAS FIGURAS

Figura 1. Modelo de rutas que propone las relaciones causales entre las variables: daño, crecimiento, inicio de la floración y adecuación. La variable daño es considerada como variable exógena.

Figura 2. Relación entre el crecimiento (estandarizado) y la adecuación de las plantas (relativizada) en los tratamientos (A) **CI** y (B) **SI**. Ambos ajustes son significativos y difieren entre si (ver Tabla 3 y A1).

Figura 3. Superficie adaptativa para el crecimiento y el inicio de la floración en el tratamiento con y sin insecticida. Los símbolos + y – indican las zonas de máxima y mínima adecuación. El círculo con la cruz indica el valor promedio de la población experimental en cada tratamiento. Ambas superficies difieren significativamente (ver Tabla 3 y A2).

Figura 4. Digrama de rutas para el tratamiento con y sin insecticida. El grosor de las líneas indica la intensidad de las rutas.

Figura 1

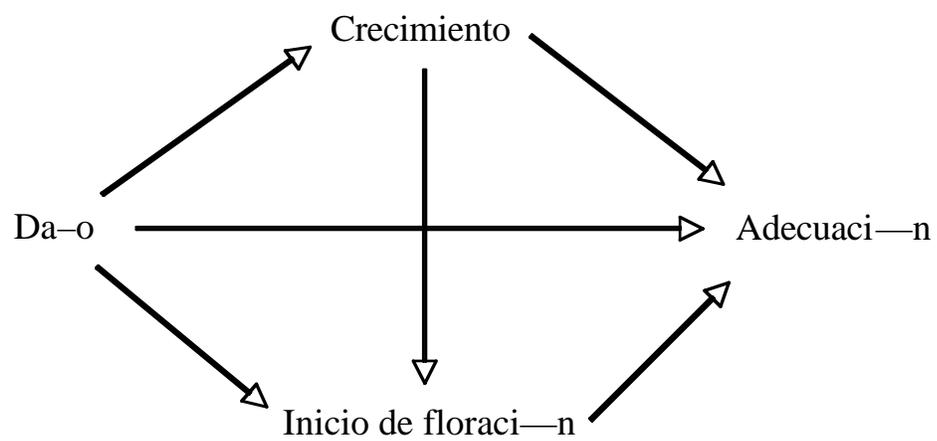


Figura 2A

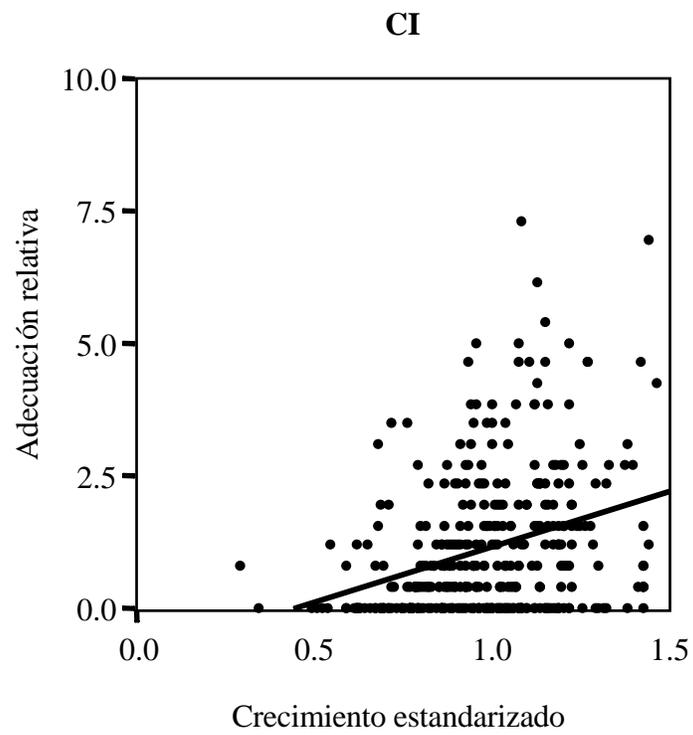
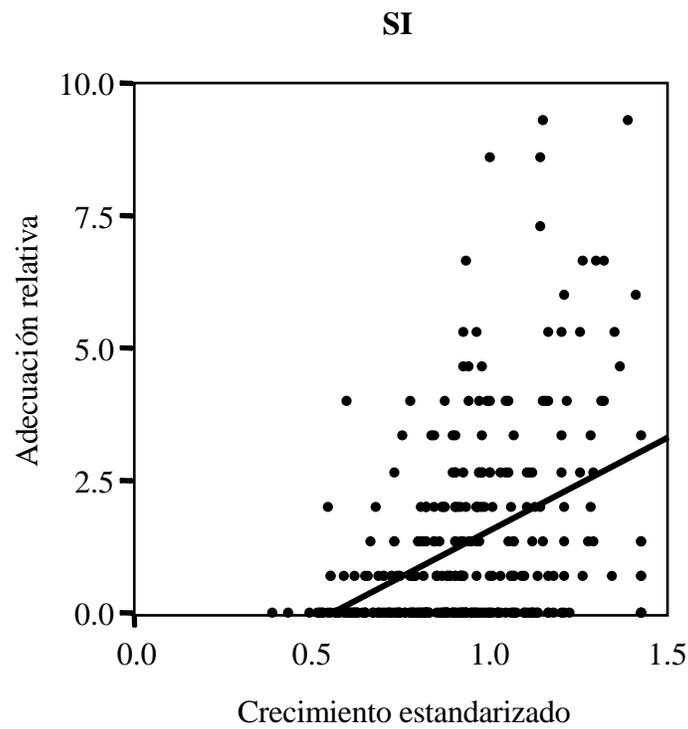


Figura 2B



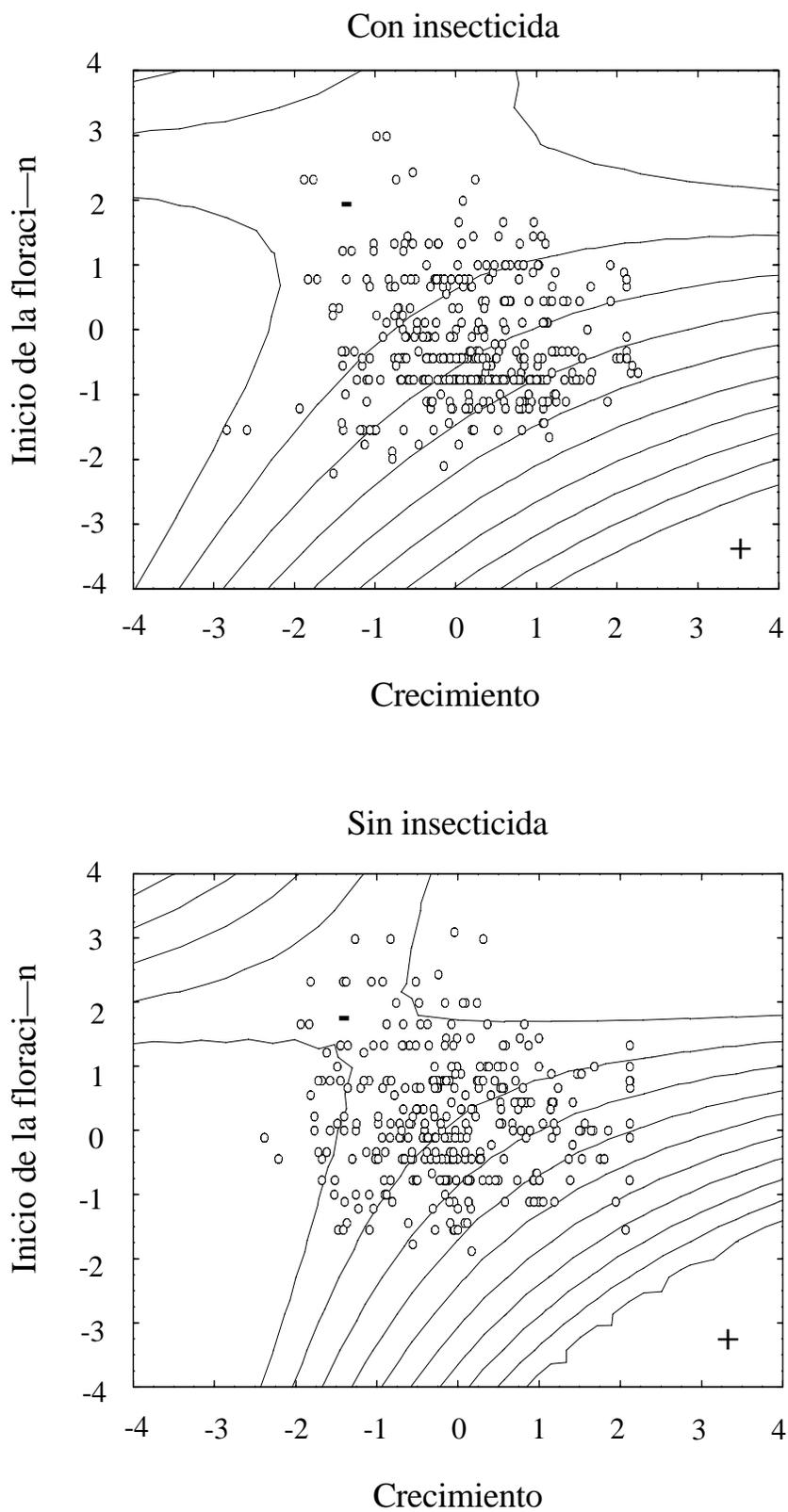
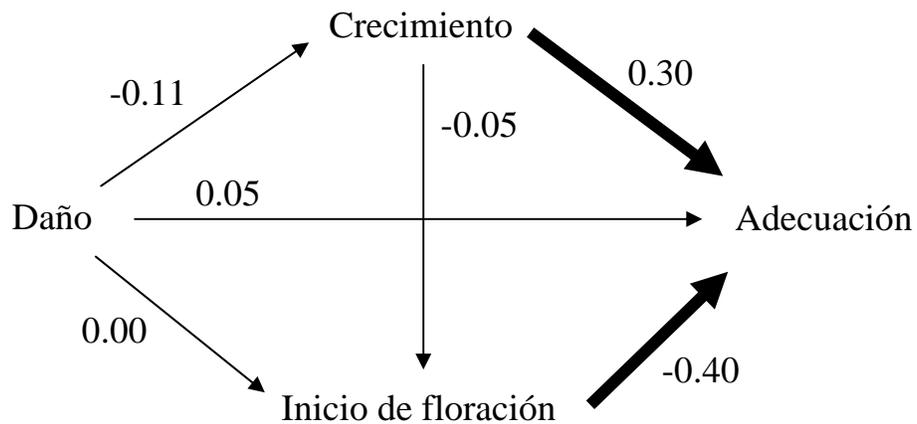
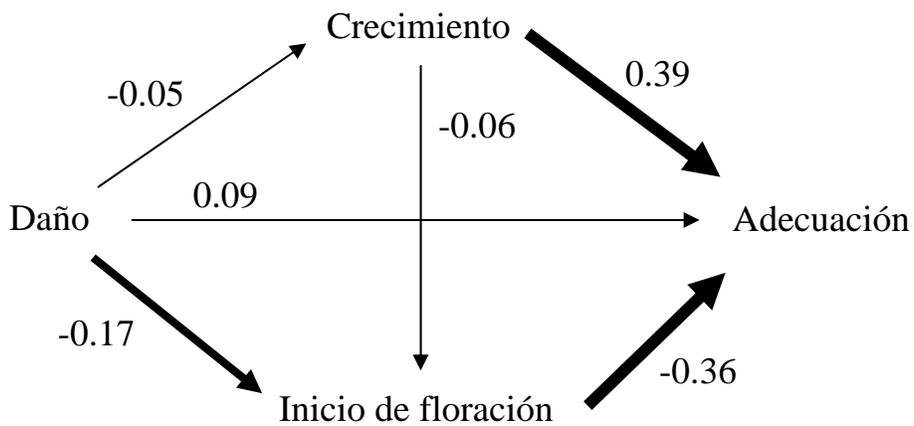


Figura 3.

Figura 4A. CI:  $R^2 = 0.33$ ,  $N = 324$ Figura 4B. SI:  $R^2 = 0.33$ ,  $N = 275$ 

## APÉNDICE

Tabla A1. Resultados del análisis de varianza para la adecuación relativizada (estimada a partir del número de frutos totales) por tratamiento para comparar las pendientes de la relación entre los caracteres y la adecuación entre tratamientos. El ajuste corresponde al modelo de efectos lineales.  $R^2 = 0.32$ ,  $F_{9,589} = 32.58$ ,  $P < 0.0001$ ,  $N = 680$ . El término significativo correspondiente al contraste de las pendientes se indica en negritas.

Fuente de variación	g.l.	Suma de Cuadrados	<i>F</i>	<i>P</i>
Bloque	1	3.1805	1.78	0.1816
Día de transplante	1	57.3500	32.26	<0.0001
Tratamiento	1	30.38	17.09	<0.0001
Daño	1	0.1686	0.09	0.7582
Crecimiento	1	120.6146	67.85	<0.0001
Inicio floración	1	243.2273	136.82	<0.0001
Trat. × Daño	1	0.4525	0.25	0.6140
<b>Trat. × Crecimiento</b>	<b>1</b>	<b>9.5836</b>	<b>5.39</b>	<b>0.0206</b>
Trat. × Inicio floración	1	2.8950	1.62	0.2024
error	672	1047.0313		

Tabla A2. Resultados del análisis de varianza para la adecuación relativizada estimada a partir del número de frutos totales. El ajuste corresponde al modelo de efectos cuadráticos.  $R^2 = 0.36$ ,  $F_{20,578} = 18.17$ ,  $P < 0.0001$ ,  $N = 680$ . El término significativo correspondiente al contraste de las pendientes se indica en negritas.

Fuente de variación	g.l.	Suma de Cuadrados	<i>F</i>	<i>P</i>
Bloque	1	3.18	1.91	0.1670
Día de transplante	1	52.6904	31.62	<0.0001
Tratamiento	1	11.1628	6.70	0.0099
Daño	1	0.2226	0.13	0.7148
Crecimiento	1	121.7979	73.11	<0.0001
Inicio floración	1	243.1570	145.96	<0.0001
Trat. × Daño	1	0.8205	0.49	0.4831
Trat. × Crecimiento	1	12.5625	7.54	0.0062
Trat. × Inicio floración	1	6.3761	3.82	0.0509
Daño <sup>2</sup>	1	4.4909	2.69	0.1012
Crecimiento <sup>2</sup>	1	0.2355	0.14	0.7070
Inicio floración <sup>2</sup>	1	8.2804	4.97	0.0262
Daño × Crecimiento	1	0.6857	0.41	0.5214
Daño × Inicio floración	1	0.7745	0.46	0.4956
Crecimiento × Inicio floración	1	47.0926	28.26	<0.0001
Trat. × Daño <sup>2</sup>	1	3.7974	2.27	0.1316
Trat. × Crecimiento <sup>2</sup>	1	1.1255	0.67	0.4114
Trat. × Inicio floración <sup>2</sup>	1	0.0415	0.02	0.8746
Trat. × Daño × Crecimiento	1	3.6916	2.21	0.1371
Trat. × Daño × Inicio floración	1	1.5190	0.91	0.3400
<b>Trat. × Crecimiento × Inicio floración</b>	<b>1</b>	<b>6.4200</b>	<b>3.85</b>	<b>0.0501</b>
error	666	605.5408		

