



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA
BIOLOGÍA EVOLUTIVA

ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA TOLERANCIA AL DAÑO FOLIAR
EN POBLACIONES DE *DATURA STRAMONIUM* DE MÉXICO Y ESPAÑA

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

DIANA ELIZABETH LÓPEZ COBOS

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. JUAN SERVANDO NÚÑEZ FARFÁN
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM
COMITÉ TUTOR: DR. PEDRO LUIS VALVERDE PADILLA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA, IZTAPALAPA
DRA. KARINA BOEGE PARÉ
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

CIUDAD DE MÉXICO, MAYO, 2018



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA
BIOLOGÍA EVOLUTIVA

ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA TOLERANCIA AL DAÑO FOLIAR
EN POBLACIONES DE *DATURA STRAMONIUM* DE MÉXICO Y ESPAÑA

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

DIANA ELIZABETH LÓPEZ COBOS

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. JUAN SERVANDO NÚÑEZ FARFÁN
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DR. PEDRO LUIS VALVERDE PADILLA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA, IZTAPALAPA
DRA. KARINA BOEGE PARÉ
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

MÉXICO, D.F. MAYO, 2018

OFICIO CPCB/320/2018

Asunto: Oficio de Jurado para Examen de Grado


Dra. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presenta

Me permito informarle a usted, que el Subcomité de Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas, en su sesión ordinaria del día 23 de octubre de 2017, aprobó el jurado para la presentación del examen para obtener el grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**, a la alumna **LÓPEZ COBOS DIANA ELIZABETH** con número de cuenta 515015483 con la tesis titulada: **"ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA TOLERANCIA AL DAÑO FOLIAR EN POBLACIONES DE *Datura stramonium* DE MÉXICO Y ESPAÑA"**, bajo la dirección del **DR. JUAN SERVANDO NÚÑEZ FARFÁN**:

Presidente:	DR. JUAN ENRIQUE FORNONI AGNELLI
Vocal:	DRA. NATALIA IVALÚ CAHO GONZÁLEZ
Secretario:	DRA. KARINA BOEGE PARÉ
Suplente:	DR. PEDRO LUIS VALVERDE PADILLA
Suplente:	DR. JOSÉ JAIME ZÚÑIGA VEGA

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a, 18 de abril de 2018


DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA
COORDINADOR DEL PROGRAMA



AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme ingresar y darme todos los recursos necesarios realizar mis estudios de maestría.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por otorgarme una beca de maestría durante los dos años de mi investigación.

Agradezco a los proyectos PAPIIT IN212214 y 1G200717 dentro de los que se encuentra mi proyecto de tesis y también gracias a los cuales se obtuvo al financiamiento necesario para llevar todas las actividades correspondientes.

Agradezco al programa de apoyo a estudiantes de posgrado (PAEP) de la UNAM por darme el apoyo económico para participar en un congreso nacional y uno internacional y exponer parte de los resultados de mi investigación

Le agradezco a mi asesor de tesis, el Dr. Juan Núñez Farfán y a los otros dos miembros de mi comité tutorial, la Dra. Karina Boege Paré y el Dr. Pedro Luis Valverde Padilla por toda su supervisión y apoyo.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

Quiero darle las gracias a mi familia biológica: María Isabel Cobos, Oscar López y Paulina López por su apoyo incondicional desde que tengo memoria. Tengo mucha suerte de ser una hija muy querida. A la par, quiero agradecer a las mujeres que se han convertido en mi familia adoptiva y que desde hace 10 años forman uno de los pilares que me sostienen en las buenas y en las malas: Ángela Riancho, Pamela Medina, Carmen Salazar, Ángeles García y Silvia Alcocer.

Mi agradecimiento también va para las personas que estuvieron durante mi formación en la maestría, que me brindaron su apoyo no solo emocional sino físico y que estuvieron conmigo en los momentos más difíciles: Laura Giraldo, Maried Zavala, Erika Olmedo, Rosalinda Tapia. Sin ustedes hubiera sido muy difícil superar los malos ratos. Gracias por enseñarme el valor de la amistad y la confianza.

También quiero agradecer a todos los integrantes del laboratorio del que formé parte, el Laboratorio de Genética Ecológica y Evolución del Instituto de Ecología de la UNAM quienes me ayudaron dándome consejos y ensuciándose las manos conmigo en el invernadero: Lore, que siempre estuvo al pie del cañón y sin quien yo no hubiera podido hacer tanto; Eunice, Pili, Vania e Iván Mijail por sus consejos. Les agradezco mucho a todos, especialmente a la Dra. Rosalinda Tapia por todo el apoyo que me dio y todos los recursos que me facilitó. También a la M. en C. Laura Lorena Cruz por ayudarme durante todo el experimento con apoyo tanto en la planeación como en la implementación.

Agradezco a mi asesor, el Dr. Juan Núñez por todo el apoyo que me dio durante el desarrollo de mi proyecto. Por último, le agradezco a los miembros de mi sínodo por sus valiosos consejos sobre el manuscrito de esta tesis: de nuevo los doctores Karina y Pedro Luis, junto con el Dr. Juan Fornoni, la Dra. Ivalú Cacho y el Dr. José Jaime Zúñiga.

TABLA DE CONTENIDO

OFICIO DE EMPASTE	1
AGRADECIMIENTOS	2
AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL	3
TABLA DE CONTENIDOS	4
LISTA DE FIGURAS	5
LISTA DE TABLAS	6
RESUMEN	7
ABSTRACT	8
INTRODUCCIÓN	9
ANTECEDENTES	12
HIPÓTESIS	15
OBJETIVO	15
MÉTODO	16
Sistema de estudio	16
Poblaciones y condiciones de germinación	16
Trabajo en invernadero	16
Estimación de <i>fitness</i> relativo	17
Estimación de tolerancia al daño foliar	17
Medición de caracteres vegetativos asociados a la tolerancia	18
Análisis estadístico	18
RESULTADOS	19
Vigor de las plantas	19
<i>Fitness</i> relativo	23
Tolerancia al daño foliar	27
Caracteres vegetativos asociados con la tolerancia	28
DISCUSIÓN	35
CONCLUSIONES	38
LITERATURA CITADA	39

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	19
Altura inicial de <i>Datura stramonium</i> de cuatro poblaciones (dos del sitio de distribución nativa y dos del sitio nuevo) creciendo en un ambiente común.	
Figura 2	20
Diámetro inicial de plantas de <i>Datura stramonium</i> provenientes de su sitio nativo (México) y de un ambiente nuevo (España).	
Figura 3	21
Área foliar inicial de plantas de <i>Datura stramonium</i> provenientes de su sitio nativo (México) y de un ambiente nuevo (España).	
Figura 4	22
Área foliar inicial de <i>Datura stramonium</i> de cuatro poblaciones (dos del sitio nativo y dos del sitio nuevo) creciendo en un ambiente común.	
Figura 5	24
<i>Fitness</i> relativo promedio + Error Estándar de plantas de <i>Datura stramonium</i> provenientes de su sitio nativo (México) y de un ambiente nuevo (España).	
Figura 6	24
<i>Fitness</i> relativo promedio de <i>Datura stramonium</i> de cuatro poblaciones (dos del sitio de distribución nativo y dos del sitio nuevo) creciendo en un ambiente común.	
Figura 7	25
<i>Fitness</i> relativo promedio de plantas de <i>Datura stramonium</i> sometidas a dos niveles de daño (0% y 50%) provenientes de cuatro poblaciones (dos del sitio de distribución nativa y dos del sitio nuevo) creciendo en un ambiente común.	
Figura 8	26
Número de semillas promedio por familia de cada una de cuatro poblaciones de <i>Datura stramonium</i> provenientes de su ambiente nativo y de un ambiente nuevo.	
Figura 9	28
Tolerancia a daño foliar promedio de cuatro poblaciones de <i>Datura stramonium</i> . Dos de las poblaciones pertenecen al sitio nativo (Teotihuacán y Ticumán) y las otras dos son del sitio no nativo (Valdeflores y Zubia).	
Figura 10	29
Área foliar producida después del daño + Error Estándar en plantas de <i>Datura stramonium</i> originarias de dos ambientes distintos.	
Figura 11	29
Área foliar producida después del daño + Error Estándar en plantas de <i>Datura stramonium</i> provenientes de dos poblaciones mexicanas y dos poblaciones españolas.	
Figura 12	30
Área foliar total (hojas producidas antes y después del daño) + Error Estándar de plantas de <i>Datura stramonium</i> originarias de dos ambientes distintos.	
Figura 13	30
Área foliar total (hojas producidas antes y después del daño) + Error Estándar de plantas de <i>Datura stramonium</i> provenientes de dos poblaciones mexicanas y dos poblaciones españolas.	

LISTA DE TABLAS

Tabla 1	19
Análisis de varianza de la altura inicial de <i>Datura stramonium</i> provenientes de dos ambientes. Los valores en negritas y marcados con asterisco fueron estadísticamente significativos.	
Tabla 2	20
Análisis de varianza de la altura inicial de cuatro poblaciones de <i>Datura stramonium</i> . Los valores en negritas y marcados con asterisco fueron estadísticamente significativos.	
Tabla 3	20
Análisis de varianza del diámetro inicial de <i>Datura stramonium</i> provenientes de dos ambientes. Los valores en negritas y marcados con asterisco fueron estadísticamente significativos.	
Tabla 4	21
Análisis de varianza del diámetro inicial de cuatro poblaciones de <i>Datura stramonium</i> . Los valores en negritas y marcados con asterisco fueron estadísticamente significativos.	
Tabla 5	22
Análisis de varianza del área foliar inicial de <i>Datura stramonium</i> provenientes de dos ambientes. Los valores en negritas y marcados con asterisco fueron estadísticamente significativos.	
Tabla 6	22
Análisis de varianza del área foliar de cuatro poblaciones de <i>Datura stramonium</i> . Los valores en negritas y marcados con asterisco fueron estadísticamente significativos.	
Tabla 7	23
Análisis de covarianza del número de semillas entre el sitio de distribución de plantas de <i>Datura stramonium</i> ; altura inicial y el área foliar inicial fueron empleadas como covariables. Los valores en negritas y marcados con asterisco fueron estadísticamente significativos.	
Tabla 8	23
Análisis de covarianza del número de semillas de plantas de <i>Datura stramonium</i> entre poblaciones, la altura inicial y el área foliar inicial fueron empleadas como covariables. Los valores en negritas y marcados con asterisco fueron estadísticamente significativos.	
Tabla 9	25
Análisis de varianza del <i>fitness</i> relativo de <i>Datura stramonium</i> provenientes del sitio de distribución nativa y el sitio nuevo, bajo dos niveles de daño foliar artificial. Los valores en negritas y marcados con asterisco fueron estadísticamente significativos.	
Tabla 10	27
Análisis de varianza del número de semillas en función de la familia (genotipo), nivel de daño e interacción en cuatro poblaciones <i>Datura stramonium</i> . Los valores en negritas y marcados con asterisco fueron estadísticamente significativos.	
Tabla 11	28
Análisis de la tolerancia a herbivorismo en poblaciones de <i>D. stramonium</i> de su sitio nativo y un sitio no nativo. Los valores en negritas y marcados con asterisco fueron estadísticamente significativos.	
Tabla 12	31
Análisis del efecto de dos niveles de daño foliar y el sitio de distribución sobre siete caracteres vegetativos asociados con la tolerancia en <i>Datura stramonium</i> . Los valores en negritas y marcados con asterisco fueron estadísticamente significativos.	
Tabla 13	32
Análisis del efecto de dos niveles de daño foliar sobre siete caracteres vegetativos asociados con la tolerancia en plantas de <i>Datura stramonium</i> provenientes de su sitio nuevo de distribución (España). Los valores en negritas y marcados con asterisco fueron estadísticamente significativos.	
Tabla 14	33
Análisis del efecto de dos niveles de daño foliar sobre siete caracteres vegetativos asociados con la tolerancia en plantas de <i>Datura stramonium</i> provenientes de su sitio nativo de distribución (México). Los valores en negritas y marcados con asterisco fueron estadísticamente significativos.	
Tabla 15	34
Resultados de la prueba de poder del análisis y número mínimo significativo para tolerancia al daño foliar, caracteres vegetativos iniciales y después del daño artificial. <i>Significativo</i> muestra los caracteres y factores que fueron estadísticamente significativos en los ANOVAS.	

RESUMEN

Los herbívoros consumen parte de la biomasa de las plantas afectando la asignación de su presupuesto energético a otros componentes como el crecimiento, la reproducción o la defensa y, en consecuencia, a su éxito reproductivo o *fitness*. La defensa de las plantas contra sus herbívoros y patógenos se agrupa en dos estrategias: resistencia y tolerancia. La primera limita o impide el daño, mientras que la tolerancia reduce los costos una vez que el daño se ha producido. Si las estrategias de defensa son costosas y las plantas asignan en ambas, la selección debería favorecer sólo una. Las alteraciones en las interacciones bióticas son determinantes en el éxito de las plantas que invaden o colonizan ambientes nuevos. Dentro de estas interacciones, la herbívoro-planta es una de las más estudiadas. La teoría predice que la selección natural reduciría la asignación de recursos a los caracteres de resistencia a herbívoros y aumentaría el crecimiento y reproducción, mecanismos asociados con la tolerancia (hipótesis de liberación de enemigos, HLE). También es posible que la selección natural favorezca un incremento en la habilidad competitiva de las plantas en el ambiente nuevo, redistribuyendo los recursos de la defensa hacia otros procesos (hipótesis de la evolución de la mejora de la habilidad competitiva, EMHC), si existen pocos herbívoros. Ambas hipótesis podrían ser dos resultados de un mismo fenómeno. El objetivo de este estudio fue determinar si existe mayor tolerancia al daño foliar en poblaciones de plantas introducidas a un ambiente nuevo, donde la diversidad de herbívoros es menor, en comparación con las poblaciones nativas. El modelo de estudio es la planta anual mexicana *Datura stramonium* L. (Solanaceae), conocida popularmente como “toloache”. Para ello, se realizó un experimento en invernadero, con semillas de dos poblaciones del ambiente nativo (Ticumán y Teotihuacán, México), y dos del nuevo (Valdeflores y Zubia, España) producidas por auto-fertilización en un jardín común dentro del sitio nativo. De cada población, se germinaron en el invernadero 10 semillas de entre 13 y 15 plantas (familias). Una vez que las plantas produjeron la primera flor, ésta se cortó y se midió en cada planta la estatura, diámetro del tallo y área foliar. Las plantas de cada familia se asignaron aleatoriamente a dos tratamientos de daño foliar: grupo testigo (sin daño) y grupo experimental (50% de daño en cada hoja). Dos meses después se tomaron las mismas medidas y se obtuvo el número de semillas por planta. La tolerancia se estimó como la diferencia en *fitness* entre las plantas de cada familia con y sin daño foliar. Los resultados indican que, bajo condiciones controladas, no existen diferencias en la tolerancia al daño foliar entre plantas de *D. stramonium* del sitio nativo y el sitio nuevo. A pesar de esto, las plantas de España tuvieron valores más altos en *fitness*, diámetro y área foliar, que las plantas nativas. El daño aplicado afectó la producción de hojas. No se detectó varianza genética en los caracteres vegetativos iniciales, pero sí en la producción de semillas en la población Ticumán y Zubia. En Ticumán se detectó además una interacción Familia × Tratamiento (daño) significativa, indicando diferencias en la respuesta de los genotipos al daño. El presente trabajo sugiere que no existen cambios en la tolerancia a daño foliar entre *D. stramonium* del ambiente nativo y plantas introducidas a un sitio con pocos herbívoros, aunque las plantas del ambiente nuevo presentan algunos cambios (*e. gr.*, mayor *fitness*, mayor área foliar y tallos más grandes) asociados a la tolerancia al daño foliar. Hacen falta más pruebas para poder respaldar del todo la hipótesis de liberación de enemigos.

ABSTRACT

Herbivores consume a part of the plant biomass affecting plant's growing, reproduction or defense, and so the reproductive success and plant fitness. Plants defence against herbivores and pathogens are grouped in two strategies: resistance and tolerance. Resistance limit or avoid damage, while tolerance reduce costs when damage has been done. If defense strategies are costly and plants assign for both, natural selection would improve just one of them. Alterations in biotic interactions are determinant for the success of plant that invade or colonize new environments. Within these interactions, herbivore-plant interactions are one of the most studied. The theory predicts that natural selection would reduce resources assignation to herbivore resistance characters and would increase growing and reproduction, associated mechanism with tolerance (Enemy release hypothesis, ERH). Also, is possible that natural selection would favorize the plant competitiveness ability in the new environment and with this, it would reassign the resources from the defense characters to other plant process (Evolution of increased competitive ability hypothesis, EICAH) if there are few herbivores. Both, the ER hypothesis and the EICA hypothesis seem to be the result of the same phenom. The aim of this study was to determinate if the introduced plant populations that coexist with a less herbivores, have more herbivore tolerance than the native populations. The study model is the Mexican annual plant *Datura stramonium* L. (Solanaceae), commonly called "toloache". A greenhouse experiment was carried out with seeds from two populations from the native environment (Ticuman and Teotihuacán, México), and two populations from the introduced range (Valdeflores and Zubia, España). The seeds were produced by autocross in a common garden within the native range. From each population it has been used 10 seeds from 13-15 plants (genetic families) for a total of 130-150 seeds per population. When the plants produce the first flower, it was removed, and, in each plant, it was measured height, shoot diameter and foliar area. Plant from every genetic family were randomly assigned to one of the treatment: control group (with no damage) or the experimental group (50% artificial damage for each leaf). Two months later the second measurements were performed and the seeds per plant were counted. Tolerance was estimated as the difference in fitness between the plants from every family with and without foliar damage. The results indicate that within controlled conditions, there is not difference in tolerance between *D. stramonium* plants from the native and the introduced range. However, plants from Spain had higher values in fitness, shoot diameter and foliar area than the native plants. The applied damage affected leaf production showing more leaves after damage in the Spanish plants. There is any genetic variation detected in the initial vegetative characters but there is a variation in seed production within Ticuman and Zubia populations. In Ticuman population there is a significant Family X Treatment (damage) interaction which means the existence of differences between the genotypes responses. This experiment suggests that there are no changes in foliar damage tolerance between *D. stramonium* from the native and the introduced site (with less herbivory) although plant from the new environment show some new changes (more fitness, more foliar area and biggest shoots) associates with foliar damage tolerance. There is a need for further work to provide more support for the Enemies release hypothesis.

I. INTRODUCCIÓN

Los herbívoros pueden consumir una gran proporción de la biomasa de las plantas afectando la asignación de su presupuesto energético a otros componentes como el crecimiento, la reproducción o la defensa, y en consecuencia al *fitness* (Strauss *et al.*, 2002). Este efecto negativo de los herbívoros puede ser aún más dañino si existe una limitación de recursos para las plantas (Fornoni *et al.*, 2004).

La defensa de las plantas contra sus herbívoros (y patógenos) reduce las pérdidas potenciales del *fitness* relativo e incluye diversas características que pueden agruparse, en general, en dos estrategias: (i) la resistencia y (ii) la tolerancia (Stamp, 2003; Agrawal *et al.*, 2004; Núñez-Farfán *et al.*, 2007). La primera limita o impide el daño causado por herbívoros; puede ser constitutiva (*e.gr.* tricomas o espinas) o inducida ante la presencia de daño (*e. gr.* latex, taninos) (Rosenthal y Kotanen, 1994). La tolerancia, por otro lado, reduce los costos del daño por herbívoros (*e. gr.* mayor producción de hojas, raíces o biomasa para el tallo) (Strauss y Agrawal, 1999; Núñez-Farfán *et al.*, 2007). Se ha propuesto que el efecto neto de la selección natural sobre cada estrategia dependerá de los costos y beneficios que cada una involucra (Pilson, 2000; Tiffin, 2000; Fornoni *et al.*, 2004).

Cuando las estrategias de defensa son costosas y el beneficio derivado de cada una es redundante, la selección debería favorecer solo una (Simms y Triplett, 1994). Si esto es correcto, la asignación a las estrategias se ajusta a un *trade-off* (compromiso), y se espera encontrar una correlación genética negativa entre ambas (van der Meijden *et al.*, 1988; Fineblum y Rausher, 1995).

Pero ¿cuál estrategia será favorecida en una población de plantas? La respuesta no es simple pues depende de varios factores entre los cuales, uno de los más críticos es la abundancia y tipo de herbívoros, así como su especialización trófica; es decir, si son especialistas o generalistas (Carmona y Fornoni, 2012; Castillo *et al.*, 2014). Según la teoría general de la defensa (Rhoades y Cates 1979; Rhoades, 1979) las defensas cualitativas (*e.gr.*, alcaloides) pueden funcionar contra herbívoros generalistas mientras que las defensas cuantitativas (*e.gr.*, taninos) funcionan contra los especialistas, que han desarrollado mecanismos contra las defensas cualitativas (Mauricio y Rausher, 1997; Ali y Agrawal, 2012). Por ello, de acuerdo con el tipo de herbívoro y su interacción (Del Val y Crawley, 2005), se espera que cambie la media poblacional de las estrategias y los caracteres defensivos asociados, promoviendo la diferenciación poblacional y originando un mosaico selectivo (Castillo *et al.*, 2014).

La tolerancia es la capacidad de un genotipo para compensar la disminución en *fitness* debido al daño, y puede estimarse como la pendiente de la relación entre el *fitness* de un genotipo en un gradiente de daño (Strauss & Agrawal 1999; Simms 2000; Fornoni *et al.*, 2003b). Si se detecta variación genotípica significaría la presencia de distintos niveles de tolerancia entre las plantas dañadas y no dañadas de una población. Esta diferencia en el *fitness*

promedio de los genotipos indica variación en el vigor general (Fornoni *et al.*, 2003a). Aunque se ha demostrado que la tolerancia es una estrategia efectiva para mitigar los efectos negativos del daño, ha sido menos estudiada que la resistencia (Garrido y Fornoni, 2006; Fornoni, 2011). Además, los estudios sobre la tolerancia se han enfocado en los atributos asociados al daño y no a los mecanismos detrás de la respuesta tolerante (Stowe *et al.* 2000; Tiffin 2000a; Valverde *et al.*; 2003; Fornoni, 2011). Algunos estudios mencionan que los caracteres putativamente relacionados con la tolerancia son fisiológicos o arquitectónicos (Strauss y Agrawal, 1999; Stowe *et al.*, 2000; Fornoni *et al.*, 2003; Garrido *et al.*, 2015). La pérdida de área foliar debido a los herbívoros puede compensarse fisiológicamente mediante la redistribución de recursos para incrementar la tasa de crecimiento o de la fotosíntesis (Fornoni, 2011; Coley *et al.*, 1985; van der Meijden *et al.*, 1988). No obstante, la disponibilidad de recursos en el ambiente y el tipo de tejido afectado por los herbívoros son dos factores importantes para definir la respuesta tolerante (Fornoni, 2011). Si la herbivoría reduce la adquisición de un recurso limitante, la tolerancia no sería favorecida (Wise y Abrahamson 2005, 2007). Por ejemplo, si existe limitación de radiación fotosintéticamente activa, y los herbívoros consumen hojas, que son el órgano de captación, la tolerancia será muy baja (Cisneros *et al.* 2017). Además, de otros factores ambientales, los costos reproductivos, las restricciones genéticas, la ontogenia y la filogenia de las plantas, son piezas clave en la evolución de esta estrategia (Fornoni y Núñez-Farfán 2003; Boege *et al.*, 2007; Núñez-Farfán *et al.*, 2007; Agrawal y Fishbein, 2008).

Se ha señalado (Stowe *et al.*, 2000; Núñez-Farfán *et al.*, 2007) que los caracteres asociados con la tolerancia a herbívoros también participan en la tolerancia a otros factores estresantes, como el fuego, desecación, patógenos, heladas, etcétera (Belsky *et al.*, 1993; Fornoni *et al.*, 2003; Fornoni, 2011), sugiriendo que la tolerancia podría ser una respuesta generalizada al daño y/o pérdida de tejido.

La modificación de la interacción de las plantas con sus enemigos naturales es una de las hipótesis más aceptadas para el éxito en la invasión o colonización de ambientes nuevos por las plantas (Fornoni, 2011). La tolerancia al ser una respuesta más generalizada a cualquier tipo de daño y no sólo al ocasionado por herbívoros, puede jugar un papel muy importante en la colonización de nuevos sitios (Ashton y Lerdau, 2008). Se han propuesto dos hipótesis para explicar el éxito en la colonización: La hipótesis de liberación de enemigos (HLE) (Crawley, 1987; Keane y Crawley, 2002) y la hipótesis de la evolución de la mejora de la habilidad competitiva (EMHC) (Blossey y Notzold, 1995). La primera (HLE) establece que las poblaciones de plantas, fuera de su sitio nativo, experimentan un aumento en su desempeño y abundancia debido a la ausencia de sus enemigos naturales (Keane y Crawley, 2002; Blumenthal, 2006). Sin embargo, existen estudios como el de Daheler y Strong (1997) y Leger y Forister (2005) que indican lo contrario. En el primero se encontró que las poblaciones de *Spartina alterniflora* introducidas a un nuevo ambiente, sin sus enemigos naturales, tienen menos resistencia, pero también menos tolerancia al exponerlas a su herbívoro especialista.

En casos de plantas que interactúan con herbívoros especialistas, como es el caso de *Datura stramonium*, una predicción de la HLE es que al colonizar un ambiente nuevo, donde sus enemigos naturales están ausentes, la selección natural reduciría la asignación de recursos a los caracteres de resistencia dejando más recursos disponibles para asignarlos al crecimiento y reproducción (mecanismos asociados con la tolerancia) (Blossey y Notzold, 1995; Maron *et al.*, 2004; Ashton y Lerdau, 2008), por lo que podría esperarse mayor tolerancia en comparación con las plantas de los ambientes nativos. De los estudios recientes que pretenden encontrar evidencia de lo anterior, el trabajo de Valverde *et al.*, 2015 se realizó con el mismo modelo de estudio empleado en el presente experimento. La investigación de Valverde y colaboradores (2015) se llevó a cabo con poblaciones del ambiente nativo (México) y de un ambiente nuevo (España). Encontraron menor daño por herbívoros, menor pubescencia (carácter de resistencia) y mayor tamaño en las poblaciones españolas que en las del sitio nativo, mientras estas últimas fueron las que presentaron selección positiva en la resistencia relativa. Los autores sugieren que sus resultados apoyan la Hipótesis de liberación de enemigos.

La segunda hipótesis (EMHC) propone que, si una población se encuentra en un sitio sin sus enemigos naturales, la selección natural favorecerá el incremento de su habilidad competitiva, como consecuencia de los cambios en la asignación de recursos, originalmente asignados la defensa hacia otros procesos como el crecimiento o reproducción (Blossey y Notzold, 1995). La conjunción de ambas hipótesis puede interpretarse como dos pasos del mismo fenómeno, ya que, si en un ambiente nuevo el desempeño de los individuos de una población aumenta, puede desencadenarse un cambio evolutivo rápido (Valverde *et al.*, 2015) que culmine en una elevada habilidad competitiva.

Los caracteres asociados a la tolerancia a herbívoros también pueden estar involucrados en la capacidad de competencia de las plantas (Zou *et al.*, 2007), lo que dificultaría identificar el componente relacionado a la competencia en presencia de herbívoros. Los estudios realizados sobre este tema indican que la tolerancia en los ambientes introducidos podría estar ligada no sólo a la disminución o cambio en la diversidad de herbívoros sino al aumento en la habilidad competitiva (Zou *et al.*, 2007).

Los experimentos de jardín común donde poblaciones nativas e introducidas se exponen a los herbívoros naturales permiten identificar diferencias en los caracteres asociados a la interacción de las plantas con sus enemigos naturales (Joshi y Vrieling, 2005). Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue determinar si las poblaciones de *Datura stramonium* introducidas a un ambiente nuevo sin sus herbívoros naturales, son más tolerantes al daño que las poblaciones nativas, si existen diferencias en la reproducción, y qué ocurre con la tolerancia de las poblaciones de ambos ambientes. Las preguntas de investigación: 1) ¿Las poblaciones de *D. stramonium* del sitio no nativo (España) poseen mayor tolerancia al daño y mayor *fitness* relativa que las poblaciones del sitio nativo (México)?, 2) ¿Existe varianza genética en la respuesta a la herbivoría en poblaciones nativas e introducidas? y 3) ¿Las plantas del ambiente nuevo presentan mayores tamaños y tasas de crecimiento que las del sitio nativo?

II. ANTECEDENTES

Datura stramonium L. (Solanaceae) es una planta ampliamente usada como modelo de estudio de la defensa contra herbívoros y otros enemigos naturales. La mayoría de los estudios están enfocados en los mecanismos que subyacen a la resistencia o en la correlación que existe entre esta estrategia y la tolerancia (Kariñho-Betancourt & Núñez-Farfán, 2015). Fornoni y Núñez-Farfán (2000) analizaron la existencia de variación genética de la tolerancia a herbivorismo, y los costos en el *fitness* para las plantas. Para ello usaron familias genéticas de una población de *D. stramonium* del centro de México (Pedregal de San Ángel), y evaluaron cuáles caracteres (crecimiento, producción de flores, frutos y semillas) se relacionan con la tolerancia. Sometieron a las plantas a cuatro niveles de defoliación (0%, 10%, 30% y 70%) en un ambiente controlado. Encontraron variación genética significativa entre los niveles de daño, siendo 30% y 70% de daño, los niveles donde se redujo el *fitness*. Este resultado sugiere que la tolerancia puede ser seleccionada, ya que los genotipos presentan distinta capacidad para amortiguar las pérdidas en *fitness* producidas por el daño. Con este estudio se puede respaldar el potencial de selección de las normas de reacción bajo un gradiente de daño foliar.

Para evaluar la existencia de varianza genética en tolerancia y resistencia a herbívoros y el *trade-off* entre ambas, Fornoni *et al.* (2003, 2004) llevaron a cabo trasplantes recíprocos con dos poblaciones de *D. stramonium*. Las poblaciones estaban genéticamente diferenciadas para ambas estrategias. Encontraron varianza genética aditiva en la resistencia y en la tolerancia. También detectaron diferenciación genética en ambas estrategias entre las poblaciones, así como interacción genotipo-ambiente. Mediante análisis de selección, los autores encontraron que la tolerancia era favorecida en el sitio donde previamente se había detectado el nivel más alto de tolerancia; mientras que la selección favorecía a la resistencia en la población con los niveles más altos anteriormente. Esto apoya la hipótesis de una correlación negativa entre la resistencia y la tolerancia a la herbivoría y que esta correlación podría limitar la evolución de ambas estrategias de forma simultánea. A su vez, esto respalda la hipótesis de diferencia adaptativa, es decir, que la selección favorece a una u otra estrategia dependiendo de la población, promoviendo un mosaico adaptativo de la defensa.

Otro estudio (Valverde *et al.*, 2003), enfocado en analizar el efecto de la selección natural en las dos estrategias de defensa encontró resultados distintos. Evaluaron el efecto de la selección en el crecimiento (asociado con la tolerancia) y la resistencia de *D. stramonium*, en tres poblaciones, en presencia y ausencia de herbívoros. Los resultados mostraron varianza genética en crecimiento y resistencia con diferencias poblacionales para la resistencia y ninguna correlación entre crecimiento y resistencia ni diferencias en *fitness* entre estrategias entre las poblaciones. La manipulación de herbívoros mostró que no influyen en el patrón de selección sobre el crecimiento. Esto sugiere que la resistencia y la tolerancia pueden evolucionar en la misma población.

Bustos-Segura *et al.* (2014) realizaron un experimento de jardín común para evaluar los cambios evolutivos en las dos estrategias de defensas contra herbívoros (resistencia y tolerancia) en *D. stramonium*, usando semillas de la misma población, pero colectadas con 20 años de diferencia. Usando genotipos recientes del herbívoro especialista (*Lema daturaphila*), el estudio no mostró una respuesta significativa en los caracteres medidos para evaluar la resistencia (consumo, tricomas y alcaloides) ni evidencia de disyuntiva entre ambas estrategias. Por el contrario, sí encontraron diferencias en la tolerancia entre las plantas de ambas colectas. En otro experimento hallaron que la supervivencia de los herbívoros dependía del genotipo de la planta, indicando la existencia de varianza genética en resistencia. Los autores concluyeron que la tolerancia a herbívoros evolucionó durante los 20 años que separaban a las plantas estudiadas, y que su estudio respaldaba la idea de que, si la resistencia a herbívoros no es efectiva, la selección favorecería a la tolerancia.

Existen estudios en distintas especies de plantas (Crawley, 1997; Willis y Blossey, 1999; Keane y Crawley, 2002) en donde se compara talla, tasa de crecimiento y reproducción en su ambiente nativo y en las regiones donde se introdujeron. La tendencia general encontrada indica que, en las nuevas regiones, las plantas son más grandes, se reproducen más y viven por más tiempo. Liu y Stiling (2006) realizaron un meta-análisis para probar las predicciones de la hipótesis de liberación de enemigos. El análisis se realizó con especies silvestres que fueron introducidas en nuevos ambientes por lo menos 100 años atrás. Los resultados indican que: 1) las especies tienen mayor número de especies fitófagas en su ambiente nativo que en las áreas introducidas; 2) que en las áreas nativas existe mayor número de herbívoros especialistas y de especies que se alimentan de las partes reproductivas. Sin embargo, no encontraron resultados concluyentes al analizar la herbivoría entre congéneres introducidos y nativos en una misma región. Los autores de este estudio concluyen que su análisis respalda la hipótesis de liberación de enemigos.

Otros trabajos respaldan dicha hipótesis desde años atrás. Schierenbeck *et al.* (1994) estudiaron dos especies hermanas, una nativa (*Lonicera sempervirens*) y una invasora, (*L. japonica*). La especie nativa tiene mayores tasas de crecimiento relativo y área foliar en niveles bajos de herbivoría. *L. japonica* (invasora) compensa mejor el daño por herbívoros mediante un aumento en la asignación de recursos hacia las hojas. Los autores mencionan que la fenología foliar y la asignación flexible de recursos, en respuesta a la herbivoría, pueden ser factores clave para la dispersión y persistencia de especies exóticas. Agrawal *et al.* (2005) realizaron un estudio con 15 pares de especies emparentadas (una nativa y una introducida). Las especies introducidas recibieron 22% menos daño (promedio) y encontraron un efecto filogenético en el grado de herbivoría. Por otro lado, Ashton y Lerdau (2008) encontraron en un estudio con 12 especies de enredaderas invasivas, que éstas eran más tolerantes al daño artificial que sus parientes nativos y que esto podría contribuir al éxito en colonizar nuevos sitios. En un meta-análisis realizado con 79 estudios, Daehler (2003) encontró que las especies exóticas tienden a superar a las especies nativas en sitios con alta disponibilidad de recursos,

pero no en sitios con baja disponibilidad de los mismos. En conclusión, a pesar de que existe suficiente evidencia que sugiere que en los sitios introducidos las especies de plantas tienen un mejor desempeño, las condiciones bajo las que ocurre esto son muy variables. Por ello, es importante poner a prueba una hipótesis en condiciones controladas, es decir, manteniendo constantes las variables ambientales.

La tendencia general encontrada en estudios con otras especies de plantas es respaldada por el estudio de Valverde *et al.* (2015) con *D. stramonium*. En la investigación, compararon el daño foliar, talla de las plantas, resistencia relativa y la magnitud de selección sobre estos dos caracteres en poblaciones introducidas a un nuevo ambiente (España) y del sitio nativo de *D. stramonium* (México). Los resultados del estudio indicaron que no se encuentran presentes los herbívoros especialistas en el área nueva y que las poblaciones de España presentan menos daño por herbívoros, menor densidad de tricomas y mayores tallas que las plantas de México.

III. HIPÓTESIS

Suponiendo que la resistencia y la tolerancia a herbivoría son estrategias redundantes debido a costos similares en su expresión; que durante la colonización de nuevos ambientes la tolerancia ofrece mayores beneficios debido a que permite compensar el daño no sólo por herbívoros sino por otros factores de las nuevas áreas, y que en éstas la selección natural actuaría en contra de los genotipos que inviertan más en resistencia y favorecería a aquellos con mayores habilidades competitivas como la reproducción y el crecimiento asociados con la tolerancia, se espera que las plantas de *D. stramonium* del ambiente nuevo (España) sean más tolerantes al daño que las plantas del sitio nativo (México).

IV. OBJETIVO

Determinar experimentalmente y en condiciones controladas si existen diferencias en tolerancia al daño entre poblaciones de *Datura stramonium* nativas (mexicanas) e introducidas (españolas).

Objetivos particulares:

Determinar las diferencias en vigor, reproducción y crecimiento entre plantas de *Datura stramonium* de sus sitios nativos e introducidos.

Determinar si existe variación genética en plantas con y sin daño, entre poblaciones nativas e introducidas de *Datura stramonium*.

V. MÉTODO

Sistema de estudio

Datura stramonium, conocida con el nombre vulgar de “toloache”, es una planta anual de distribución cosmopolita, nativa de México, que crece en zonas perturbadas de todo el país (Weaver y Warwick, 1984; Núñez-Farfán y Dirzo, 1994). Es una hierba ruderal de raíz superficial y ramificada, con tallos macizos y rectos de hasta dos metros de altura. Sus hojas son pecioladas, alternas, simples, y consumidas principalmente por insectos herbívoros especialistas como *Epitrix parvula* y *Lema trilineata* (Chrysomeliadae: Coleoptera) y generalistas como *Sphenarium purpurascens* (Pyrgomorphidae; Orthoptera). Tiene flores actinomorfas sobre pedúnculos cortos, y los frutos son cápsulas ovoides, de hasta 7 cm de largo y 5 cm de ancho, dehiscentes, con cuatro valvas y cubiertos por espinas (Weaver y Warwick, 1984). Las semillas son consumidas por *Trichobaris soror* (Curculionidae: Coleoptera), un herbívoro especialista. Los polinizadores de esta especie son abejas, abejorros y esfingidos.

Poblaciones y condiciones de germinación

Se utilizaron semillas (f1) producidas por auto-fertilización de plantas que crecieron en un jardín común en Atlixco, Puebla con la finalidad de que los efectos maternos fueran los mismos para todas las plantas en las que se analizaría la tolerancia a herbivoría, junto con otros caracteres asociados a ésta. Los progenitores son originarios de cuatro poblaciones: dos del ambiente nativo (Ticumán y Teotihuacán, México) y de dos del ambiente nuevo (Zubia y Valdeflores, España). A las semillas f1 usadas en este experimento se les realizó un corte en la testa y se hidrataron en un recipiente con agua y circulación constante de oxígeno. Cuando aparecieron las radículas (aproximadamente 30% del total de semillas por genotipo), se sembraron en vasos de plástico de 200 ml usando como sustrato 50% de turba y 50% de suelo. Cuando las plántulas desarrollaron ambos cotiledones y dos hojas, se trasplantaron a macetas de plástico de 1L con sustrato 50% arena, 25% vermiculita y 25% agrolita. Al ser trasplantadas se les fertilizó con 200 ml de fertilizante Peters ® 20:20:20 (NPK) en una concentración de 50 ml por litro. A las cuatro semanas se les aplicó una segunda dosis de fertilizante.

Trabajo en invernadero

El experimento se realizó en el invernadero del Instituto de Ecología (UNAM, Ciudad de México). con poblaciones usadas en estudios anteriores. Las poblaciones mexicanas se seleccionaron porque mostraron selección positiva para la resistencia, mientras que en las españolas se detectó una mayor selección positiva para el crecimiento y la producción de frutos (Valverde et al., 2015). En el invernadero se germinaron 10 individuos seleccionados al azar de cada población, y se determinó el área foliar de entre tres y cuatro hojas por individuo con un medidor de área foliar (Licor). Posteriormente, con el área medida y el largo y ancho de cada hoja se obtuvo una ecuación por cada ambiente, para determinar el área foliar por hoja

(Ecuación 1a y 1b) y con esto poder calcular cuánta área por hoja debía defoliarse para el tratamiento del 50% de daño:

Ecuación 1a. España: $\text{Área foliar}_{\text{España}} = 0.391028 + 0.004(L \times A)$. ($R^2 = 0.898$, $p = < 0.0001$)

Ecuación 1b. México: $\text{Área foliar}_{\text{México}} = 0.077393 + 0.00553(L \times A)$. ($R^2 = 0.947$, $p = < 0.0001$)

donde $L \times A$ = largo por ancho de la hoja.

Se germinaron 13 familias de Teotihuacán, 15 de Ticumán, 15 de Zubia y 13 de Valdeflores. Sin embargo, durante el invierno se perdieron varios genotipos de cada población. Debido a la mortandad, al final del experimento quedaron cuatro genotipos de Teotihuacán, nueve de Ticumán, 11 de Zubia y nueve de Valdeflores. Se asignaron las plantas de cada familia aleatoriamente a dos tratamientos de daño artificial, 0% y 50%; en cada tratamiento hubo de 2 a 5 réplicas por genotipo. Los porcentajes de daño se seleccionaron de acuerdo con Fornoni y Núñez-Farfán (2000), quienes encontraron que a partir del 30% de área foliar perdida, se reduce el *fitness* de las plantas. Las poblaciones de *D. stramonium* en el ambiente nativo, pueden alcanzar porcentajes de herbivoría de hasta el 100%

Las plantas se mantuvieron en condiciones de jardín común durante 16 semanas, ocho de las cuales fueron posteriores a la primera floración. Para aplicar los tratamientos en el mismo fenostado, se midieron los caracteres vegetativos asociados putativamente con la tolerancia a daño (área foliar, largo y diámetro de tallo) al momento de la floración (t_1) de cada individuo y a cada uno se les retiró la primera flor. A las plantas asignadas para el tratamiento de 50% de daño, se les hicieron orificios equivalentes al 50% del área de cada hoja, con un horador de área conocida. Empleando las regresiones 1a y 1b, se determinó el número de orificios a realizar por hoja, toda vez que se conocía el área del horador. Seis semanas después de la primera toma de medidas, se colectaron las hojas de cada planta y se tomaron las mismas medidas por segunda ocasión (t_2). Dos semanas después de la colecta de hojas, se colectaron los frutos. Ambas colectas se hicieron de acuerdo con los tiempos de desarrollo de cada planta, para tomar las medidas en los mismos estadios.

Estimación de *fitness* relativo

Se calculó el *fitness* relativo para cada planta del experimento siguiendo la fórmula propuesta por Lande y Arnold (1983):

$$\text{Ecuación 2. } W = \frac{w_i}{\bar{W}}$$

donde w_i es el número total de semillas producidas por planta y \bar{W} es el promedio de semillas por planta en la población.

Estimación de tolerancia a daño foliar

La tolerancia se estimó como la norma de reacción del *fitness* relativo bajo un gradiente de herbivorismo (Fornoni *et al.*, 2003, 2004). Se tomó como base la ecuación de Strauss y Agrawal

(1999) que se construye con el *fitness* relativo de plantas dañadas y de las plantas sin daño, de cada familia:

$$\text{Ecuación 3. } \frac{\overline{W}_a \text{Daño} - \overline{W}_a \text{Control}}{\overline{W}_a \text{Control}}$$

donde W_a es *fitness* relativo de réplicas de la familia a .

Medición de caracteres vegetativos asociados a la tolerancia

Durante el experimento se realizaron medidas en dos momentos: cuando las plantas produjeron la primera flor (t_1) y a las seis semanas de la primera toma de datos (t_2), ya una vez aplicado el daño. Los caracteres medidos fueron el diámetro y altura de los tallos, y el largo y ancho de las hojas para calcular el área foliar. Con estas medidas se calcularon las tasas de crecimiento relativo para: diámetro del tallo, altura de la planta y área foliar. Las tasas de crecimiento se calcularon de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\text{Ecuación 4. } TCR = \frac{t_2 - t_1}{t_1}$$

donde t_1 son las medidas tomadas en el tiempo 1 y t_2 son las tomadas en el tiempo 2.

Análisis estadístico

Los caracteres analizados fueron el área foliar, altura y diámetro de tallo, antes y después de aplicar el daño foliar a cada grupo experimental de plantas, y la tolerancia y *fitness* de cada familia. Los factores considerados como fuentes de variación fueron: el país de origen, la población y el nivel de daño. Las variables asociadas con la tolerancia fueron transformadas a su logaritmo para asegurar normalidad. Con las mediciones iniciales que mostraron diferencias estadísticamente significativas entre sitios de distribución se realizaron análisis de covarianza (ANCOVA).

Para evaluar el vigor de las plantas se hicieron análisis de varianza (ANOVA) con los valores genotípicos y fenotípicos iniciales entre los sitios nativo e introducido (i.e., México y España) y entre poblaciones. Para analizar el efecto del daño, se realizaron ANOVAs de un factor (país-daño y población-daño) con los valores fenotípicos ya que, no fue posible realizar ANOVAs anidados (país-población-genotipo) ni ANOVAs con los valores genotípicos debido al bajo número de familias con suficientes réplicas en algunas poblaciones al final del experimento. También, se realizó una regresión lineal simple de una de las variables significativas (área foliar) con el *fitness* relativo. Por último, se hicieron pruebas para analizar la fuerza de los análisis estadísticos. Todos los análisis se hicieron en el programa JMP versión 10.

VI. RESULTADOS

1) Vigor de las plantas

A nivel fenotípico la altura inicial no mostró diferencias significativas entre los sitios de distribución ($F_{1,208} = 2.9542$, $p = 0.0872$; Tabla 1), pero sí se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las dos poblaciones del ambiente nuevo ($F_{1,139} = 9.0562$, $p = 0.0031$; Figura 1). Las plantas de Valdeflores tuvieron una altura promedio de 13.26 cm y las de Zubia 11.06 cm, es decir que las plantas de Valdeflores fueron 16.59% más altas. Un análisis de varianza entre las cuatro poblaciones mostró que las plantas que provienen de Zubia, España presentan las alturas más bajas ($F_{3,208} = 4.92$, $p = 0.0026$; Tabla 2). Los análisis de varianza de la altura inicial realizados con los promedios familiares no detectaron diferencias entre los sitios de distribución ($F_{1,32} = 1.4149$, $p = 0.2433$; Tabla 1) ni a nivel poblacional ($F_{3,32} = 1.8202$, $p = 0.1655$; Tabla 2).

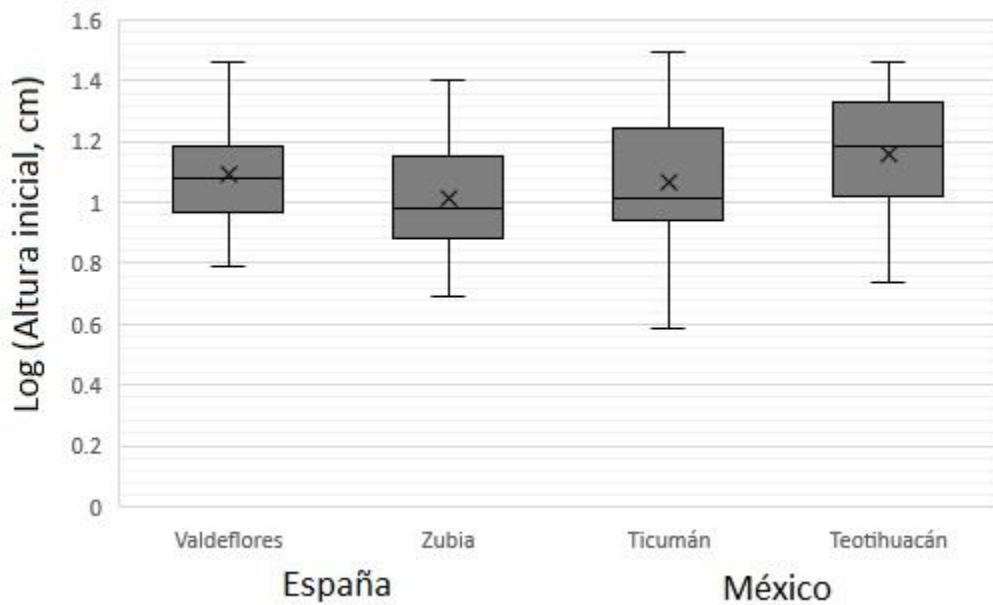


Figura 1. Altura inicial de *Datura stramonium* de cuatro poblaciones (dos del ambiente nativo y dos del ambiente nuevo) creciendo en un ambiente controlado.

Tabla 1. Análisis de varianza de la altura inicial de *Datura stramonium* provenientes de dos ambientes.

Fuente de variación	Análisis fenotípico				Análisis genotípico			
	g.l.	SC	F	p	g.l.	SC	F	p
Sitio de distribución	1	0.1028	2.9542	0.0872	1	0.0199	1.4149	0.2433
Error	206	7.1743			31	0.4555		

Tabla 2. Análisis de varianza de la altura inicial de cuatro poblaciones de *Datura stramonium*. Los valores en negritas y marcados con asterisco fueron estadísticamente significativos.

Fuente de variación	Análisis fenotípico				Análisis genotípico			
	g.l.	SC	<i>F</i>	<i>p</i>	g.l.	SC	<i>F</i>	<i>p</i>
Población	3	0.4879	4.8871	0.0027*	3	0.0722	1.8202	0.1655
Error	204	6.7893			29	0.3834		

El diámetro inicial fue significativamente distinto entre los ambientes nativo y nuevo indicando que las plantas procedentes de España presentan los tallos 5% más anchos ($F_{1,215}=5.80$, $p=0.0168$; Figura 2; Tabla 3), aunque sólo a nivel fenotípico (España: 3.22 mm; México: 3.07 mm), ya que con los valores genotípicos no se detectaron diferencias ($F_{1,32}=1.80$, $p=0.1891$; Tabla 3). El análisis de varianza para detectar diferencias entre las poblaciones de cada sitio no fue significativo para ninguno de los países (España: $F_{1,143}=0.04$, $p=0.8470$; México: $F_{1,71}=0.34$, $p=0.5626$).

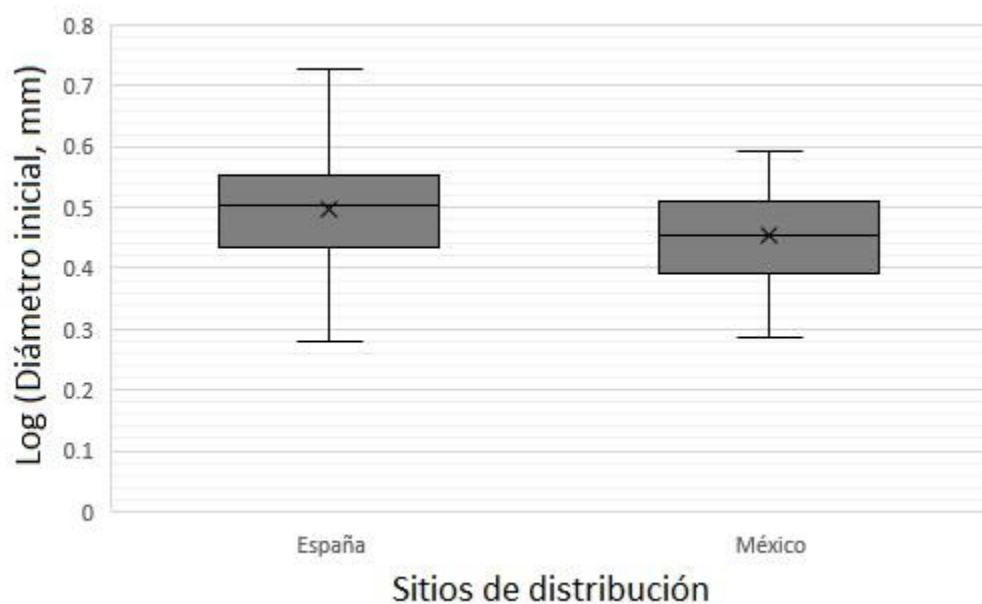


Figura. 2. Diámetro inicial de plantas de *Datura stramonium* provenientes de su sitio nativo (México) y de un ambiente nuevo (España).

Tabla 3. Análisis de varianza del diámetro inicial de *Datura stramonium* provenientes de dos ambientes. Los valores en negritas y marcados con asterisco fueron estadísticamente significativos.

Fuente de variación	Análisis fenotípico				Análisis genotípico			
	g.l.	SC	<i>F</i>	<i>p</i>	g.l.	SC	<i>F</i>	<i>p</i>
Sitio de distribución	1	0.0574	5.8026	0.0168*	1	0.0055	1.8032	0.1891
Error	214	2.1198			32	0.0992		

Tabla 4. Análisis de varianza del diámetro inicial de cuatro poblaciones de *Datura stramonium*. Los valores en negritas y marcados con asterisco fueron estadísticamente significativos.

Fuente de variación	Análisis fenotípico				Análisis genotípico			
	g.l.	SC	<i>F</i>	<i>p</i>	g.l.	SC	<i>F</i>	<i>p</i>
Población	3	0.0624	2.0862	0.1031	3	0.0056	0.5787	0.6337
Error	212	2.1148			32	0.0992		

Los análisis mostraron que los valores fenotípicos y genotípicos del área foliar inicial fueron distintos entre ambientes (Fenotipo: $F_{1,218} = 732.14$, $p < 0.0001$; Genotipo: $F_{1,32} = 3.90$, $p < 0.0001$ Figura 3; Tabla 5) y entre las poblaciones del ambiente nuevo ($F_{1,146} = 10.84$, $p = 0.0013$). Las plantas de origen español (3336.03 cm^2) presentaron 80% más área foliar que las mexicanas (647.6522 cm^2). Dentro del ambiente no nativo, las plantas provenientes de la población Zubia, tuvieron 18.12% menos área foliar que Valdeflores (Fig. 4). No se encontraron diferencias entre las poblaciones mexicanas ($F_{1,72} = 0.39$, $p = 0.5363$).

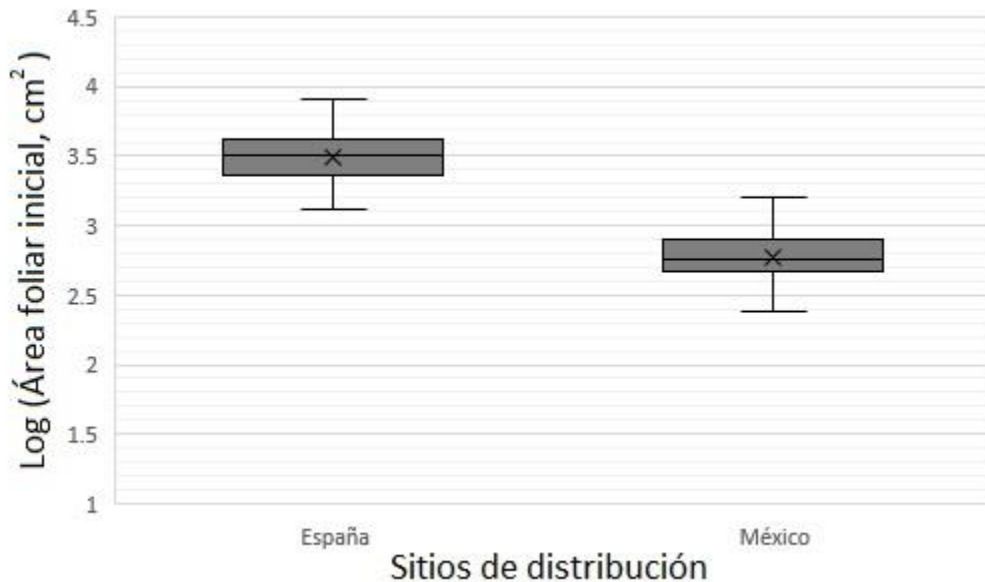


Figura 3. Área foliar inicial de plantas de *Datura stramonium* provenientes de su sitio nativo (México) y de un ambiente nuevo (España).

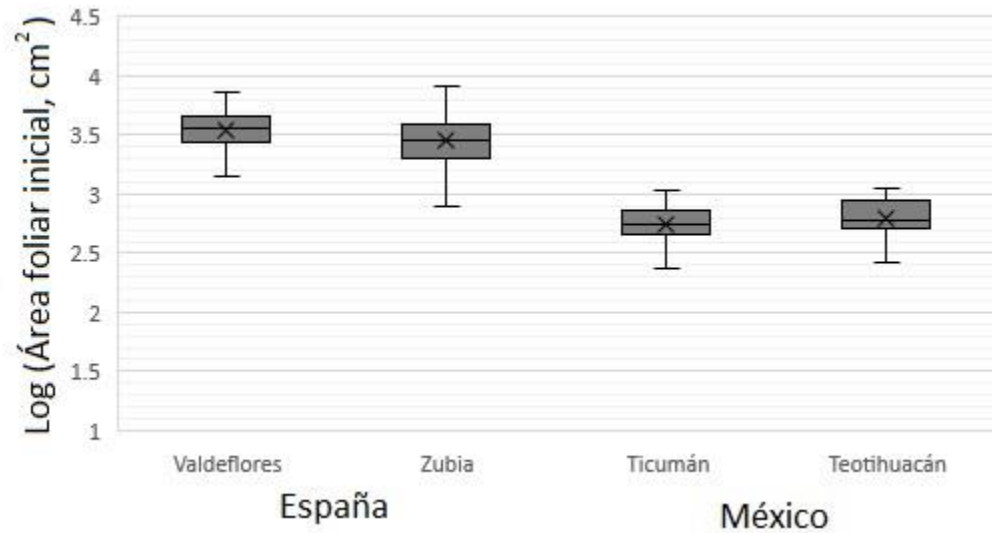


Figura 4. Área foliar inicial de *Datura stramonium* de cuatro poblaciones (dos del sitio de distribución nativo y dos del sitio nuevo) creciendo en un ambiente controlado.

Tabla 5. Análisis de varianza del área foliar inicial de *Datura stramonium* provenientes de dos ambientes. Los valores en negritas y marcados con asterisco fueron estadísticamente significativos.

Fuente de variación	Análisis fenotípico				Análisis genotípico			
	g.l.	SC	<i>F</i>	<i>p</i>	g.l.	SC	<i>F</i>	<i>p</i>
Sitio de distribución	1	24.5225	732.1392	<0.0001*	1	3.8977	267.2656	<0.0001*
Error	218	7.3017			32	4.3298		

Tabla 6. Análisis de varianza del área foliar de cuatro poblaciones de *Datura stramonium*. Los valores en negritas y marcados con asterisco fueron estadísticamente significativos.

Fuente de variación	Análisis fenotípico				Análisis genotípico			
	g.l.	SC	<i>F</i>	<i>p</i>	g.l.	SC	<i>F</i>	<i>p</i>
Población	3	24.8890	258.3928	<0.0001*	3	3.9516	95.9193	<0.0001*
Error	216	6.9352			32	4.3498		

Debido a que se presentaron diferencias iniciales en los caracteres antes mencionados, se realizó un ANCOVA tomando como covariables a la altura inicial y el área foliar inicial, y al número de semillas como variable de respuesta (Tablas 7 y 8). El análisis indicó un efecto significativo del área foliar inicial ($F_{3,208} = 5.61$, $p = 0.0010$).

Tabla 7. Análisis de covarianza del número de semillas entre el sitio de distribución de plantas de *Datura stramonium*; altura inicial y el área foliar inicial fueron empleadas como covariables. Los valores en negritas y marcados con asterisco fueron estadísticamente significativos.

Carácter	Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	F
Número de semillas	Sitio de distribución	1	117.993	0.9784 ^{ns}
	Altura inicial	1	143.727	1.1918 ^{ns}
	Área foliar inicial	1	777.855	6.4498*
	Error	205	24723.211	
	R ²	0.1*		

Tabla 8. Análisis de covarianza del número de semillas de plantas de *Datura stramonium* entre poblaciones, la altura inicial y el área foliar inicial fueron empleadas como covariables. Los valores en negritas y marcados con asterisco fueron estadísticamente significativos.

Carácter	Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	F
Número de semillas	Población	3	334.219	0.9228 ^{ns}
	Altura inicial	1	94.843	0.7856 ^{ns}
	Área foliar inicial	1	818.044	6.7761*
	Error	203	24506.985	
	R ²	0.1*		

2) *Fitness* relativo

Los análisis para detectar diferencias en *fitness* relativo entre los ambientes de distribución y las poblaciones, dentro de cada uno, indicaron que el *fitness* en las plantas españolas fue significativamente mayor (26.9%) que en las plantas del sitio nativo. Las plantas españolas tuvieron un *fitness* de 1.07, mientras que en las plantas de México fue de 0.78 ($F_{3,220} = 5.03$, $p = 0.0022$; Figura 5; Tabla 9). Estas diferencias se deben al lugar de origen ($p = 0.0038$) y no al daño artificial aplicado a las plantas ($p = 0.5731$). Sin embargo, el efecto del ambiente tiene una interacción significativa con el nivel de daño ($p = 0.0113$). Las plantas mexicanas con daño del 50% son las que presentaron el menor *fitness* ($w = 0.63$). Las plantas dañadas de Teotihuacán mostraron el *fitness* relativo más baja ($w = 0.68$ Figuras 6; Figura 7).

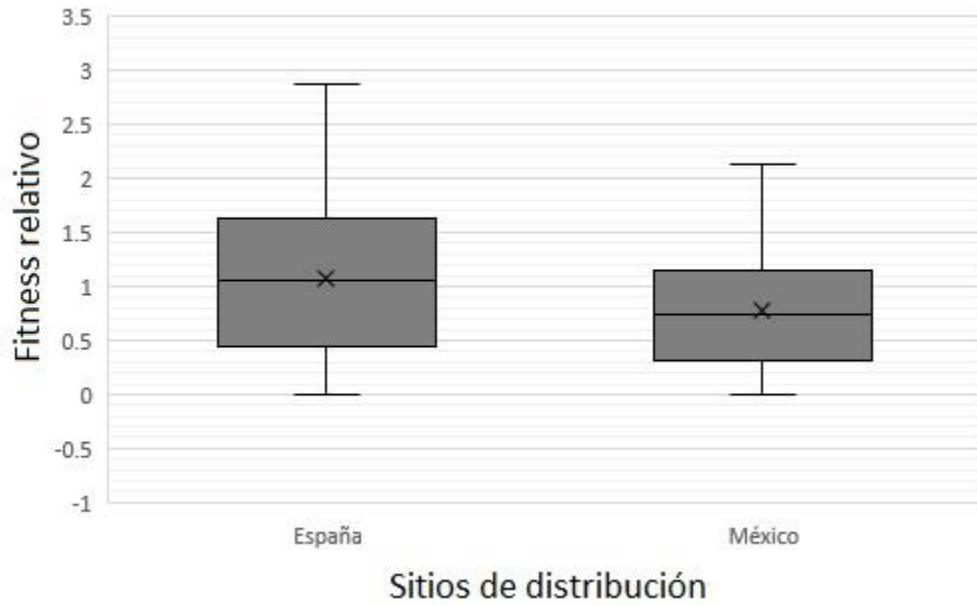


Figura 5. *Fitness* relativo promedio de plantas de *Datura stramonium* provenientes de su sitio nativo (México) y de un ambiente nuevo (España).

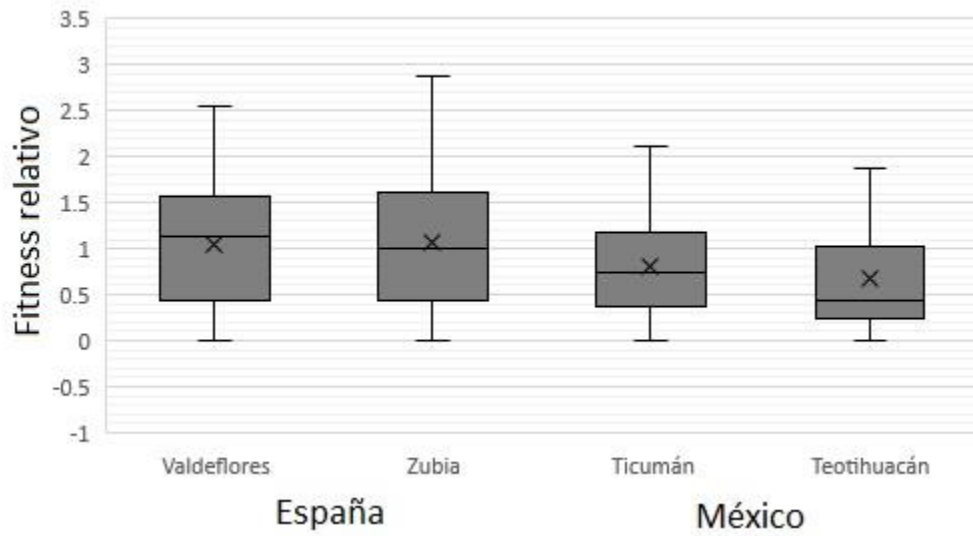


Figura 6. *Fitness* relativo promedio de *Datura stramonium* de cuatro poblaciones (dos del sitio de distribución nativo y dos del ambiente nuevo) creciendo en un ambiente controlado.

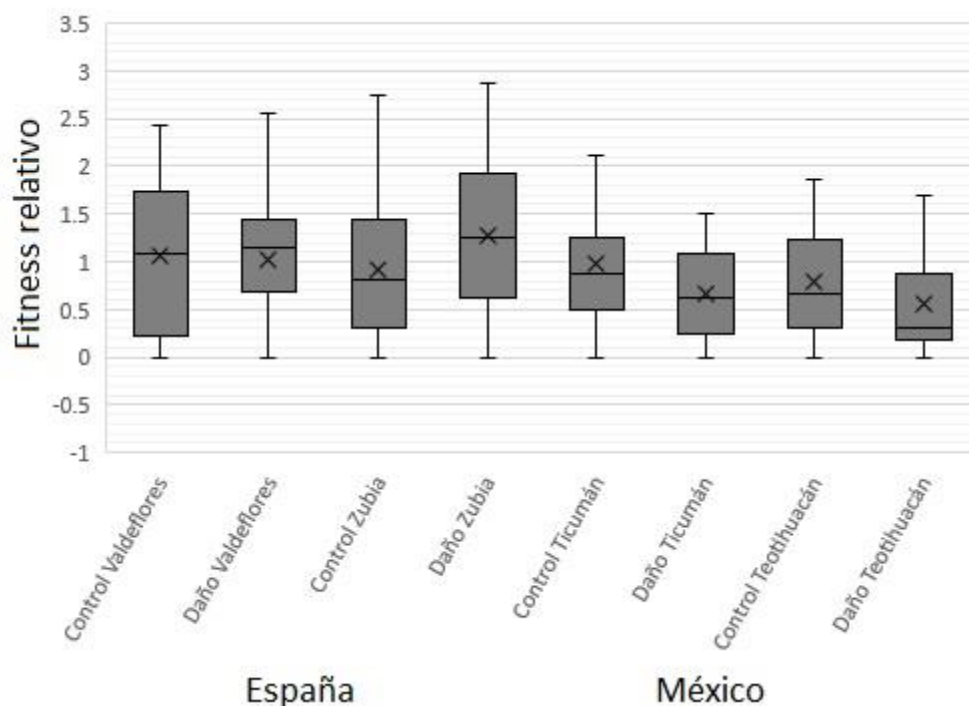


Figura 7. *Fitness* relativo promedio de plantas de *Datura stramonium* bajo dos niveles de daño (Control= 0% y Daño= 50%) provenientes de cuatro poblaciones (dos del sitio de distribución nativo y dos del sitio nuevo) creciendo en un ambiente controlado.

Tabla 9. Análisis de varianza del *fitness* relativo de *Datura stramonium* provenientes del ambiente nativo y el nuevo, bajo dos niveles de daño foliar artificial. Los valores en negritas y marcados con asterisco fueron estadísticamente significativos.

Fuente de variación	Análisis fenotípico			
	g.l	SC	<i>F</i>	<i>p</i>
Modelo	3	7.126	5.0330	0.0022*
Sitio de distribución	1	4.030	8.5407	0.0038*
Daño foliar	1	0.150	0.3184	0.5731
Sitio × Daño	1	3.081	6.5295	0.0113*

El número de semillas producidas por familias fue significativamente distinto (Figura 8; Tabla 10) dentro de una población mexicana (Ticumán: $F_{17,51} = 2.61$, $p = 0.0084$) y una española (Zubia: $F_{21,84} = 3.28$, $p = 0.0001$). En Ticumán, México se detectaron diferencias entre familias ($p = 0.0362$) así como entre niveles de daño ($p = 0.0067$). Sin embargo, la interacción entre ambos efectos no fue significativa (Tabla 10). Para Zubia, España se encontraron diferencias entre familias ($p = 0.0002$) pero no entre niveles de daño (Tabla 10). No obstante, la interacción de ambos factores sí resultó significativa ($p = 0.0456$).

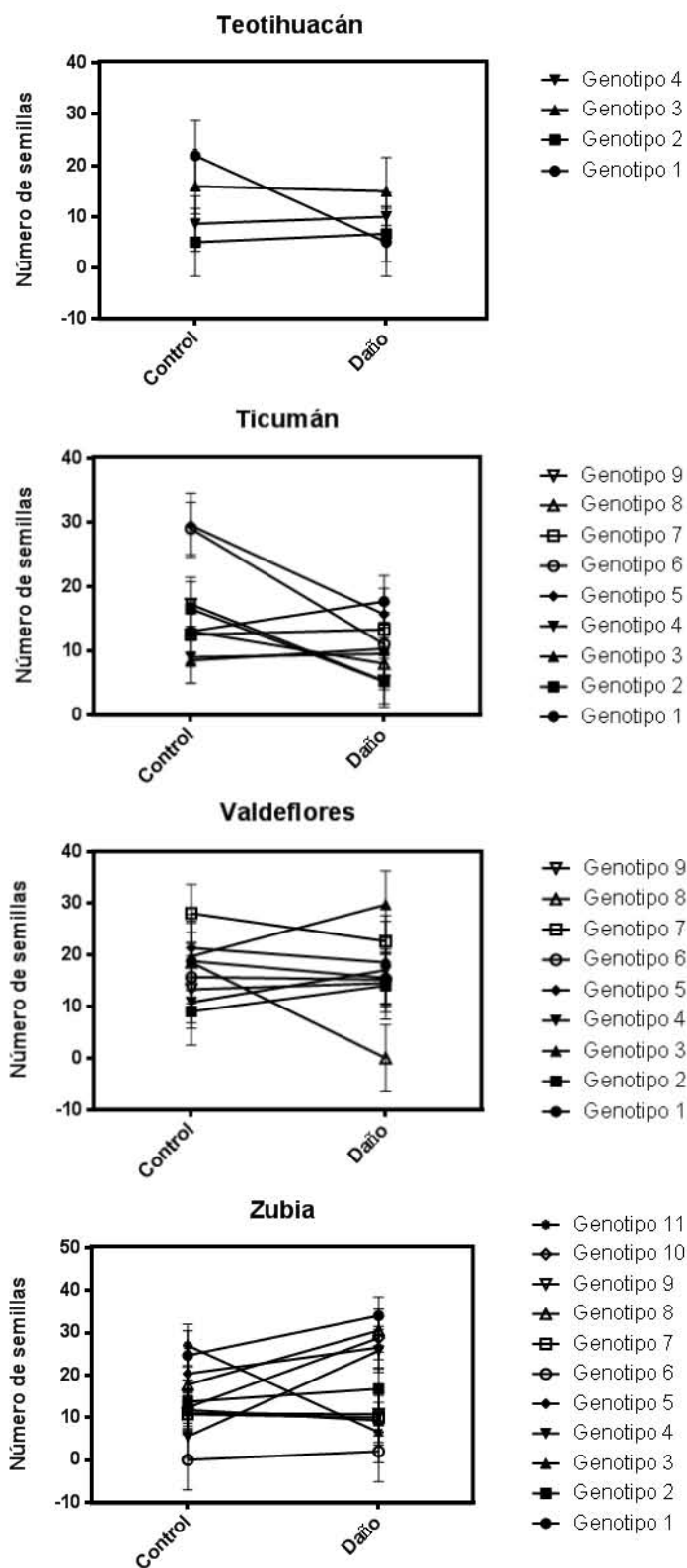


Figura 8. Número de semillas promedio por familia de cada una de cuatro poblaciones de *Datura stramonium* provenientes de su ambiente nativo y de un ambiente nuevo.

Tabla 10. Análisis de varianza del número de semillas en función de la familia (genotipo), nivel de daño e interacción en cuatro poblaciones *Datura stramonium*. Los valores en negritas y marcados con asterisco fueron estadísticamente significativos.

Sitio de distribución	Población	Fuente de variación	g.l.	SC	F	p
Distribución nativa (México)	Teotihuacán	Modelo	7	569.238	0.9182	0.5230
		Genotipo	3	268.334	1.0099	0.4197
		Daño	1	69.2308	0.7817	0.3927
		Genotipo X Daño	3	258.725	0.9738	0.4349
	Ticumán	Modelo	17	127.624	2.6111	0.0084*
		Genotipo	8	936.849	2.3959	0.0362*
		Daño	1	408.204	8.3516	0.0067*
		Genotipo X Daño	8	746.273	1.9085	0.0909
Distribución nueva (España)	Valdeflores	Modelo	17	2593.165	1.2120	0.2953
		Genotipo	8	1630.275	1.6191	0.1469
		Daño	1	11.668	0.0927	0.7622
		Genotipo X Daño	8	763.383	0.7582	0.6407
	Zubia	Modelo	21	6900.264	3.2789	0.0001*
		Genotipo	10	4079.061	4.0704	0.0002*
		Daño	1	337.099	3.3638	0.0714
		Genotipo X Daño	10	2025.389	2.0211	0.0456*

3) Tolerancia al daño foliar

El análisis de varianza para detectar diferencias en la tolerancia entre ambientes no fue significativo ($F_{1,31} = 2.50$, $p = 0.1244$). El ANOVA para la tolerancia dentro de cada ambiente tampoco mostró diferencias estadísticas entre las poblaciones (España: $F_{1,18} = 1.06$, $p = 0.3169$; México: $F_{1,12} = 0.3394$, $p = 0.5719$). Sin embargo, se encontró que las poblaciones de España tuvieron valores positivos ($T > 0$), sugiriendo sobretolerancia al daño. Las poblaciones mexicanas mostraron valores de tolerancia negativos ($T < 0$) sugiriendo que no existe tolerancia. Se encontró que el poder estadístico de la prueba fue bajo (Tabla 15). Por tanto, carecemos de poder para rechazar la hipótesis nula. Tampoco fue posible realizar un análisis a nivel genotípico dentro de cada población debido al bajo número de familias.

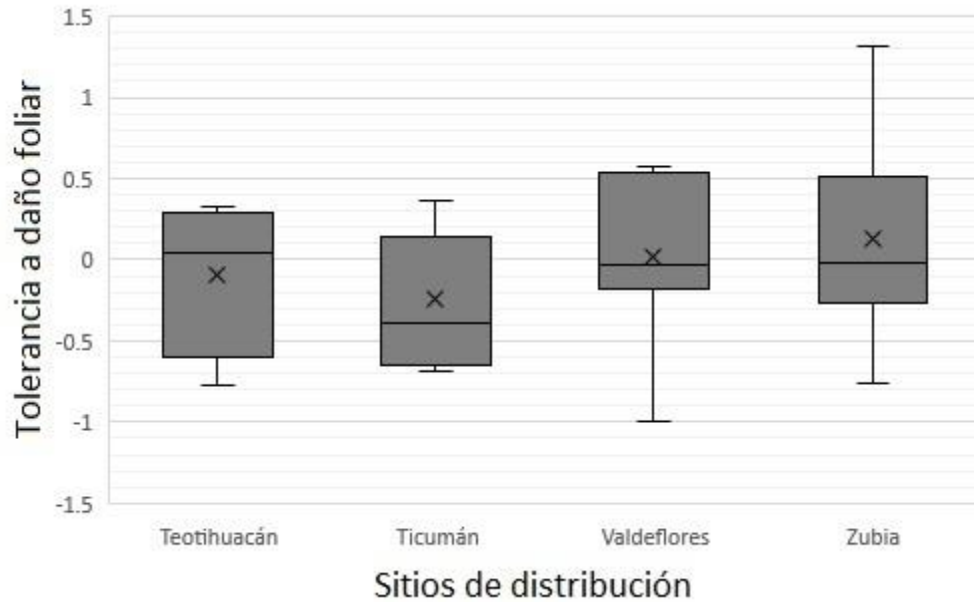


Figura 9. Tolerancia a daño foliar promedio de cuatro poblaciones de *Datura stramonium*. Dos de las poblaciones pertenecen al sitio de distribución nativo (Teotihuacán y Ticumán) y las otras dos son del sitio no nativo (Valdeflores y Zubia).

Tabla 11. Análisis de la tolerancia a herbivoría en poblaciones de *D. stramonium* de su ambiente nativo y un ambiente no nativo. Los valores en negritas y marcados con asterisco fueron estadísticamente significativos.

Sitio de distribución	g.l.	SC	<i>F</i>	<i>p</i>
Nativo (México)	1	0.0639	0.3394	0.5719
Nueva (España)	1	1.01937	1.0633	0.3169

4) Caracteres vegetativos asociados con la tolerancia

Dos de los siete caracteres medidos (altura, diámetro, área foliar, tasa de crecimiento relativa de altura, diámetro y área foliar), dos mostraron diferencias significativas entre países: el área foliar producida después del daño ($F_{3,104} = 41.84$, $p < 0.0001$; Figura 10) y el área foliar total ($F_{3,105} = 59.31$, $p < 0.0001$; Figura 12). Para los dos caracteres, las diferencias se debieron al sitio de origen de las plantas (Tabla 12). En ambos casos, fueron las plantas del sitio de distribución nuevo las que presentaron mayor área foliar.

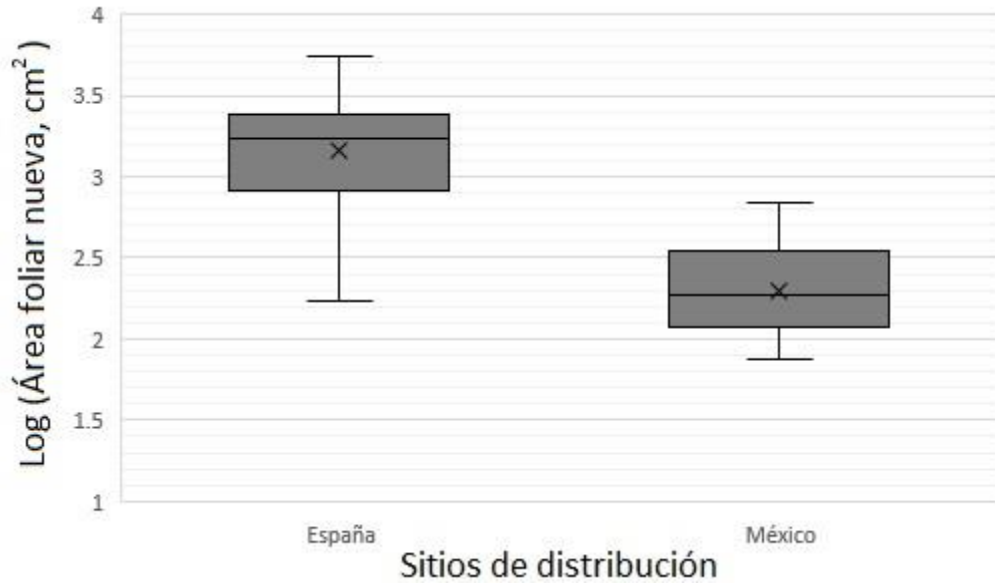


Figura 10. Área foliar producida después del daño en plantas de *Datura stramonium* originarias de dos ambientes distintos.

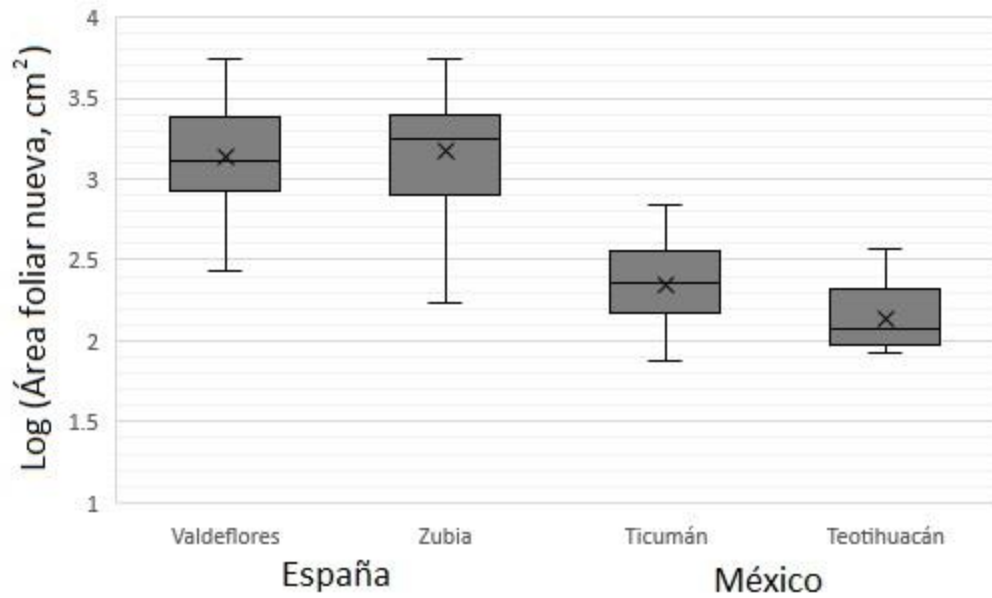


Figura 11. Área foliar producida después del daño en plantas de *Datura stramonium* provenientes de dos poblaciones mexicanas y dos poblaciones españolas.

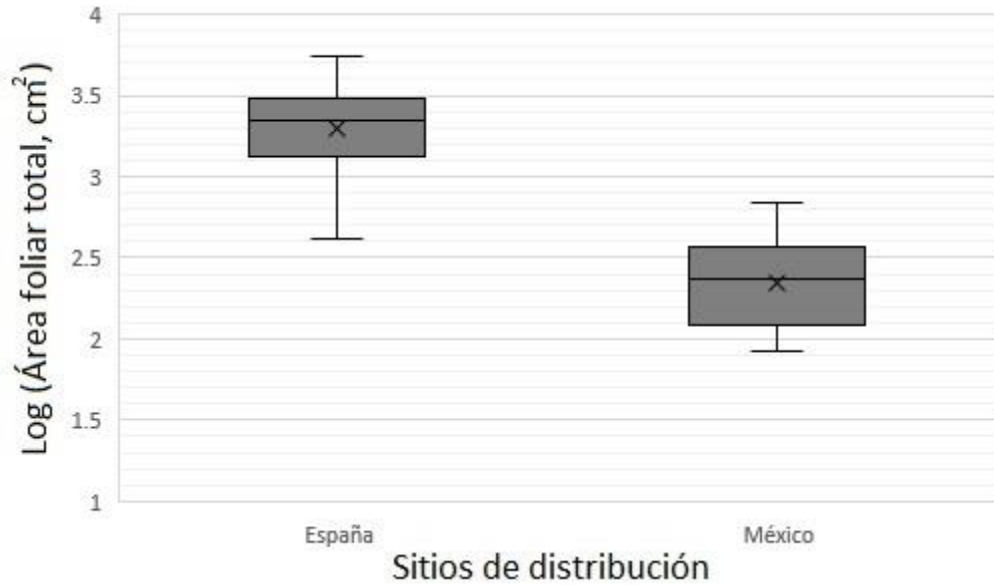


Figura 12. Área foliar total (hojas producidas antes y después del daño) de plantas de *Datura stramonium* originarias de dos ambientes distintos.

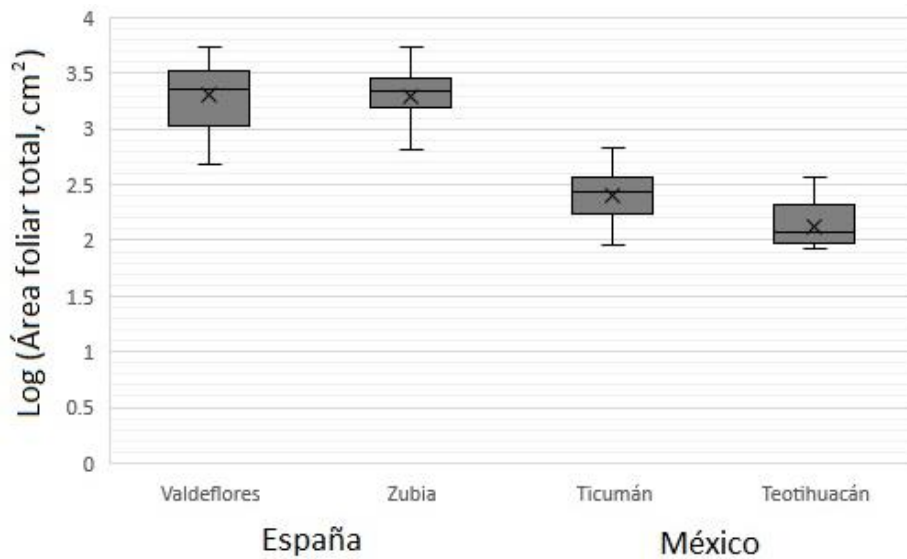


Figura 13. Área foliar total (hojas producidas antes y después del daño) de plantas de *Datura stramonium* provenientes de dos poblaciones mexicanas y dos poblaciones españolas.

El efecto de los dos niveles de daño foliar fue analizado para ambos ambientes de origen y dentro de cada uno. Los análisis no mostraron valores significativos en la interacción ambiente X daño ni en la interacción población X daño. Únicamente se encontraron diferencias originadas por los países o las poblaciones de origen (Tablas 12, 13 y 14).

Tabla 12. Análisis del efecto de dos niveles de daño foliar y el sitio de distribución sobre siete caracteres vegetativos asociados con la tolerancia en *Datura stramonium*. Los valores en negritas y marcados con asterisco fueron estadísticamente significativos.

Carácter	Fuente de variación	Análisis fenotípico			
		g.l.	SC	F	p
Altura	Modelo	3	0.0619	1.4578	0.2305
	Sitio de distribución	1	0.0373	2.6331	0.1077
	Daño foliar	1	0.0139	0.9853	0.3232
	Sitio X Daño foliar	1	0.0007	0.0472	0.8284
Diámetro	Modelo	3	0.0773	2.0537	0.1102
	Sitio de distribución	1	0.072	5.7372	0.0182*
	Daño foliar	1	0.0051	0.4063	0.5251
	Sitio X Daño foliar	1	0.0013	0.1013	0.7508
Área foliar nueva	Modelo	3	12.4377	41.8395	<0.0001*
	Sitio de distribución	1	11.7310	118.3863	<0.0001*
	Daño foliar	1	0.0744	0.7512	0.3881
	Sitio X Daño foliar	1	0.0506	0.5106	0.4765
Área foliar total	Modelo	3	14.8113	59.3095	<0.0001*
	Sitio de distribución	1	14.4306	173.3541	<0.0001*
	Daño foliar	1	0.0521	0.6255	0.4308
	Sitio X Daño foliar	1	0.0021	0.0252	0.8742
TCR Altura	Modelo	3	0.0900	00.0774	0.9721
	Sitio de distribución	1	0.0844	0.2178	0.6417
	Daño foliar	1	0.0122	0.0316	0.8593
	Sitio X Daño foliar	1	0.0137	0.0354	0.8511
TCR Diámetro	Modelo	3	0.7905	0.2635	0.6328
	Sitio de distribución	1	0.2693	0.6468	0.4229
	Daño foliar	1	0.0399	0.0958	0.7574
	Sitio X Daño foliar	1	0.4998	1.2004	0.2755
TCR AFN	Modelo	3	2.7936	1.1752	0.3230
	Sitio de distribución	1	2.5854	3.3890	0.0685
	Daño foliar	1	0.147	0.1855	0.6676
	Sitio X Daño foliar	1	0.017	0.0214	0.884

Tabla 13. Análisis del efecto de dos niveles de daño foliar sobre siete caracteres vegetativos asociados con la tolerancia en plantas de *Datura stramonium* provenientes de su sitio nuevo de distribución (España). Los valores en negritas y marcados con asterisco fueron estadísticamente significativos.

Sitio nuevo (España)		Análisis fenotípico			
Carácter	Fuente de variación	g.l.	SC	F	P
Altura	Modelo	3	0.1134	3.0839	0.0317*
	Población	1	0.1012	8.2634	0.0051*
	Daño foliar	1	0.0117	0.9562	0.3310
	Población X Daño foliar	1	0.00007	0.0054	0.9413
Diámetro	Modelo	3	0.03703	0.9671	0.4121
	Población	1	0.0219	1.7185	0.1934
	Daño foliar	1	0.00001	0.0004	0.9851
	Población X Daño foliar	1	0.0142	1.1164	0.2937
Área foliar nueva	Modelo	3	0.4184	1.3239	0.2723
	Población	1	0.0265	0.2522	0.6169
	Daño foliar	1	0.3808	3.6154	0.0608
	Población X Daño foliar	1	0.0534	0.5065	0.4787
Área foliar total	Modelo	3	0.0639	0.2441	0.8653
	Población	1	0.0126	0.1448	0.7045
	Daño foliar	1	0.0508	0.5822	0.4476
	Población X Daño foliar	1	0.0051	0.0586	0.8094
TCR Altura	Modelo	3	0.8581	0.7086	0.5496
	Población	1	0.8362	2.0714	0.1539
	Daño foliar	1	0.0036	0.0089	0.9249
	Población X Daño foliar	1	0.0411	0.1018	0.7505
TCR Diámetro	Modelo	3	2.7553	1.8270	0.1484
	Población	1	1.5351	3.0537	0.0842
	Daño foliar	1	0.6243	1.2419	0.2682
	Población X Daño foliar	1	1.0463	2.0813	0.1528
TCR AFN	Modelo	3	1.9604	0.7080	0.5499
	Población	1	1.3220	1.4324	0.2348
	Daño foliar	1	0.0126	0.0137	0.9072
	Población X Daño foliar	1	0.4831	0.5235	0.4714

Tabla 14. Análisis del efecto de dos niveles de daño foliar sobre siete caracteres vegetativos asociados con la tolerancia en plantas de *Datura stramonium* provenientes de su sitio nativo de distribución (México). Los valores en negritas y marcados con asterisco fueron estadísticamente significativos.

Sitio nativo (México)		Análisis fenotípico			
Caracter	Fuente de variación	g.l.	SC	F	p
Altura	Modelo	3	0.0353	0.6037	0.6221
	Población	1	0.0040	0.2076	0.6547
	Daño foliar	1	0.0004	0.0184	0.8938
	Población X Daño foliar	1	0.026	1.3350	0.2649
Diámetro	Modelo	3	0.0199	0.5621	0.6449
	Población	1	0.0147	1.2471	0.2743
	Daño foliar	1	0.0001	0.0104	0.9197
	Población X Daño foliar	1	0.0031	0.2661	0.6103
Área foliar nueva	Modelo	3	0.2712	1.2884	0.3124
	Población	1	0.2153	3.0674	0.0990
	Daño foliar	1	0.0573	0.8172	0.3794
	Población X Daño foliar	1	0.06864	0.9781	0.3374
Área foliar total	Modelo	3	0.435	2.5730	0.0903
	Población	1	0.3086	5.4774	0.0325*
	Daño foliar	1	0.0219	0.3880	0.5421
	Población X Daño foliar	1	0.1250	2.2189	0.1558
TCR Altura	Modelo	3	0.3546	0.3607	0.7822
	Población	1	0.3375	1.0300	0.3253
	Daño foliar	1	0.0525	0.1603	0.6942
	Población X Daño foliar	1	0.000001	0.0000	0.9999
TCR Diámetro	Modelo	3	0.4392	1.5275	0.2309
	Población	1	0.0438	0.5049	0.4837
	Daño foliar	1	0.0622	0.6497	0.4275
	Población X Daño foliar	1	0.1382	1.4415	0.2407
TCR AFN	Modelo	3	0.6048	1.1749	0.3503
	Población	1	0.4816	2.8064	0.1133
	Daño foliar	1	0.0002	0.0012	0.9733
	Población X Daño foliar	1	0.0609	0.3549	0.5597

Tabla 15. Resultados de la prueba de poder del análisis y número mínimo significativo para tolerancia al daño foliar, caracteres vegetativos iniciales y después del daño artificial. *Significativo* muestra los caracteres y factores que fueron estadísticamente significativos en los ANOVAS.

Carácter		Factor	Poder del análisis	N	N mínimo significativo
Tolerancia		Sitio	0.3340	32	52
		Población	0.3244	32	64
Medidas iniciales	Altura	Sitio	0.4017	208	273
		Población	<i>Significativo</i>		
	Diámetro	Sitio	<i>Significativo</i>		
		Población	0.5288	216	273
Caracteres vegetativos después del daño artificial	Altura	Sitio	0.3625	107	159
		Población	<i>Significativo</i>		
		Daño	0.166	107	420
	Diámetro	Sitio	0.6611	120	83
		Población	0.6797	120	111
		Daño	0.0969	120	1137
	Área foliar nueva	Sitio	<i>Significativo</i>		
		Población	<i>Significativo</i>		
		Daño	0.1378	105	539
	Área foliar total	Sitio	<i>Significativo</i>		
		Población	<i>Significativo</i>		
		Daño	1227	106	653
	TCR Altura	Sitio	0.0748	105	1854
		Población	0.2823	105	259
		Daño	0.0536	105	12780
	TCR Diámetro	Sitio	0.1254	119	709
		Población	0.3993	119	203
		Daño	0.0609	119	4772
	TCR AFN	Sitio	0.4458	106	123
		Población	0.4721	106	151
Daño		0.0711	106	2198	

VII. DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio sugieren que la tolerancia al daño entre sitios no es significativamente distinta. A pesar de esto, los valores de tolerancia en las plantas españolas fueron superiores a 1, indicando sobretolerancia, a diferencia de lo hallado en las poblaciones del sitio nativo (subtolerancia, <1). Por otro lado, sí se detectaron diferencias en el *fitness* relativo, originadas por el sitio de distribución de las plantas. En un trabajo previo para analizar la resistencia y el crecimiento en poblaciones de *D. stramonium* en el sitio nativo y el no nativo (Valverde *et al.*, 2015) se detectó selección positiva sobre el tamaño (diámetro) en ambos ambientes. Sin embargo, no encontraron un patrón de selección positiva sobre los caracteres de resistencia en el sitio nuevo. Esto podría indicar que no es necesaria una estrategia de resistencia en el ambiente no nativo, debido a que no existen diversidad e incidencia tan altas de herbívoros. A esto se suma que no están presentes los enemigos naturales, ni generalistas ni especialistas, de la planta *D. stramonium* (Valverde *et al.*, 2015), sino otras especies. Muchas especies de plantas que son introducidas en nuevos ambientes experimentan menor proporción de herbivoría ya que en el sitio nuevo no coexisten con sus enemigos naturales (Wolfe, 2002; Wolfe *et al.*, 2004; Agrawal *et al.*, 2005). Esto podría estar ocurriendo con *D. stramonium* en España, reforzando la idea propuesta por la hipótesis de liberación de enemigos. A pesar de que en esta investigación no se detectaron diferencias en la tolerancia, sí encontramos diferencias en algunos de los caracteres vegetativos medidos asociados con ésta. Esto sugiere la existencia de fenotipos distintos entre ambos sitios de distribución.

En un estudio anterior con *D. stramonium* Fornoni *et al.* (2004) encontraron una disyuntiva entre la tolerancia y la resistencia a los herbívoros en la población de Ticumán. Para esta población, se encontró una relación positiva entre la resistencia y el *fitness* relativo. Lo opuesto ocurrió con la relación tolerancia-*fitness*. Los autores hallaron evidencia de selección direccional contra los genotipos tolerantes y diferencias en cuanto a la magnitud de la resistencia, indicando que se puede promover la divergencia adaptativa entre las poblaciones. Los niveles bajos de tolerancia a herbivoría encontrados en el presente estudio para la misma población pueden deberse a que presenta costos altos de asignación de recursos (Fornoni *et al.*, 2004). Por lo tanto, no conocemos en qué medida la asignación a la resistencia oscurece los patrones de tolerancia observados en las poblaciones de ambos ambientes. Por otro lado, para una de las poblaciones españolas (Zubia) existe evidencia de selección negativa sobre los componentes de defensa (tricomos y alcaloides) sugiriendo posibles costos en producción de semillas (Calahorra, 2016; Valverde *et al.*, 2015).

Otro factor que puede ocultar el efecto del daño foliar es la cantidad de nutrientes (Mole, 1994) del sustrato en donde crecen las plantas. El experimento se realizó con la cantidad mínima de nutrientes para evitar un incremento en la producción de semillas y un posible aumento en la tolerancia al daño. Sin embargo, pudo haber ocurrido un sesgo hacia el lado opuesto, ya que se tuvo que suministrar una segunda dosis de fertilizante a las plantas debido a que con tamaños muy reducidos comenzaron a reproducirse (observación personal). Estas

plantas fueron reemplazadas en el experimento para evitar alterar la información. A pesar de esto, las plantas presentaron en su mayoría un solo fruto y tamaños en promedio menores a los obtenidos en experimentos anteriores bajo las mismas condiciones.

Los caracteres vegetativos iniciales que presentaron diferencias fueron la altura entre las poblaciones del sitio nuevo; el diámetro del tallo entre los sitios de distribución, y el área foliar entre sitios y entre poblaciones dentro de cada ambiente. El análisis de covarianza indicó que las diferencias detectadas se deben al área foliar inicial. La población con mayor área foliar inicial (Valdeflores, España) presentó también el *fitness* relativo más alta. Para confirmar la existencia de una relación positiva significativa, se realizó una regresión lineal simple usando como variable predictiva el logaritmo del área foliar y como variable de respuesta se usaron los valores del *fitness*. La regresión fue significativa ($F_{1,219} = 14.39$, $p=0.0002$) indicando la siguiente relación: $w = (-0.525283) + [0.460624 * \text{Log}(\text{área foliar inicial})]$. Sin embargo, la proporción de variación explicada por este modelo, aunque significativa, es muy baja ($r^2 = 0.06$) sugiriendo que las diferencias se deben a otros factores. Entre estos podrían encontrarse algunos cambios asociados a la cantidad de radiación solar que puede usarse para la fotosíntesis, el tipo de sustrato o la cantidad de agua disponible. La población de Valdeflores se encuentra a orillas de un río, con precipitación y temperaturas anuales promedio de 598.2 mm y 17 °C, respectivamente, a diferencia del resto de las poblaciones: Zubia, España es una zona de cultivo con 337.5 mm de precipitación media anual y 15°C de temperatura promedio; la población de Teotihuacán, México se encuentra en matorral xerófilo con 559.8 mm de lluvias y 14.8 °C, mientras que Ticumán, México es un bosque tropical con precipitación de 802.1 mm y 23 °C (Valverde et al., 2001, 2003). Estas variaciones ambientales también podrían explicar las diferencias en la altura entre las poblaciones españolas, y en el área foliar nueva entre y dentro de los sitios, y en el área foliar total únicamente entre ambientes, que detectaron los análisis de varianza.

En un estudio previo en poblaciones de *D. stramonium* del sitio nativo (México) y el no nativo (España) se encontró que el daño foliar por herbívoros, el diámetro del tallo y la densidad de tricomas (carácter asociado con resistencia) difieren entre sitios de distribución y dentro de ellos (Valverde et al., 2015). Para las poblaciones del sitio no nativo, se encontró que la defoliación y la densidad de tricomas son menores que en las poblaciones mexicanas. Valverde y colaboradores (2015) también encontraron que las plantas españolas tienen un diámetro mayor que las plantas mexicanas. Este último resultado es consistente con el actual estudio.

Otros estudios realizados con *D. stramonium* (Valverde et al., 2003; Carmona y Fornoni, 2012) han arrojado evidencia de que las estrategias de defensa no son redundantes. El trabajo de Valverde et al., (2003) encontró que ambas estrategias confieren mayor *fitness* en distintos casos, y ambas tienen el material sobre el cual la selección natural trabaja (variación genética). Aunado a esto, no detectaron correlación negativa entre el crecimiento y la resistencia, sugiriendo que estas estrategias podrían estar limitadas por recursos distintos. Los autores

sugieren que los alcaloides (usados como defensa química) podrían estar compitiendo con el crecimiento ya que ambos requieren del mismo precursor (nitrógeno). Esto plantea la posibilidad de analizar las potenciales disyuntivas en defensa desde el punto de vista fisiológico, para entender lo que ocurre una vez que sucede la interacción con los enemigos naturales. Además, existe evidencia de que, dependiendo de la fase de la planta, algunos procesos metabólicos demandan mayor cantidad de recursos energéticos dependiendo del estadio de la planta (Boege *et al.*, 2007).

Por otra parte, de acuerdo con la prueba del poder del análisis estadístico y número de réplicas mínimo significativo (JMP; Tabla 15), sería necesario un número mayor para poder detectar diferencias estadísticas en la tolerancia. Lo mismo parece ocurrir con los caracteres vegetativos medidos después de aplicado el daño (Tabla 15). Al hacer estas pruebas se encontró que todos los caracteres que no mostraron diferencias estadísticas entre sitios de distribución tuvieron un poder de análisis bajo y un número de réplicas muy pequeño.

A pesar de que los resultados de este trabajo no son concluyentes, muestran la tendencia de que las plantas del ambiente nuevo presentan valores más altos en ciertos caracteres asociados con tolerancia. La hipótesis de liberación de enemigos respalda la idea de que las plantas introducidas en un nuevo sitio presentan más vigor que sus conespecíficos del ambiente nativo debido a la ausencia de enemigos naturales que limiten su desarrollo (Crawley 1987; Valverde *et al.*, 2015). Si bien existe evidencia de esto (Maron and Vilá 2001; Keane y Crawley 2002) y de que el resultado inmediato es una mayor asignación de recursos al crecimiento de las plantas en el ambiente no nativo (Keane and Crawley, 2002; Vilá *et al.*, 2005), es importante considerar otros factores que pueden influir como la limitación de recursos, la capacidad de absorción de nutrientes, entre otros.

Si las plantas del ambiente nuevo asignan menos recursos a la resistencia a herbivoría puede esperarse que asignen estos recursos a otras funciones vitales como el crecimiento, lo que posibilitaría un incremento en su habilidad competitiva (Blossey y Notzold, 1995) y, por lo tanto, su *fitness* relativo (Blossey y Notzold, 1995; Cahill *et al.*, 2008). En el estudio de Valverde *et al.* (2015) se encontró que en las poblaciones de *D. stramonium* de ambos sitios hay selección positiva del tamaño de las plantas, pero son las poblaciones del ambiente nuevo, las que presentan una media superior. Los resultados del presente estudio respaldan parcialmente lo anterior ya que se encontró mayor diámetro del tallo, más área foliar, mayor producción de hojas después del daño y *fitness* relativa más alta en las plantas provenientes del sitio de distribución no nativo. En contraste, fueron las plantas mexicanas las que mostraron medias superiores en cuanto a la altura y no se detectaron diferencias significativamente estadísticas en la tolerancia a daño foliar.

VIII. CONCLUSIONES

La especie *Datura stramonium* presenta características que la hacen un buen modelo para evaluar la evolución de la defensa en la colonización de nuevos ambientes y específicamente para poner a prueba tres hipótesis: la hipótesis de tolerancia y resistencia como estrategias redundantes, la hipótesis de liberación de enemigos (HLE) y la hipótesis de la evolución de la mejora de la habilidad competitiva (EMHC). Por ello, este estudio se centró en detectar cambios en la tolerancia a daño foliar entre el ambiente nativo y nuevo y en buscar evidencia que respalde estas tres premisas. Los presentes resultados no permiten respaldar por completo las anteriores hipótesis, ya que indicaron que no hay diferencias significativas en la tolerancia entre el sitio de distribución nativo (México) y el sitio no nativo (España). A pesar de esto, se encontró que las plantas del ambiente nuevo presentaron valores más altos en *fitness* y en algunos de los caracteres medidos antes y después del daño: diámetro del tallo y área foliar lo que sugiere que las plantas del ambiente nuevo presentan algunos cambios (*e. gr.*, mayor *fitness*, mayor área foliar) asociados con la tolerancia a daño foliar. La limitación en la adquisición de recursos durante el experimento y el poder estadístico de los análisis para detectar efectos significativos de los tratamientos fue bajo, lo que dificulta nuestra capacidad para rechazar la hipótesis nula. Por lo tanto, se recomienda realizar otros experimentos encaminados a resolver estas interrogantes.

IX. LITERATURA CITADA

1. Agrawal A. y M. Fishbein. (2008). Phylogenetic escalation and decline of plant defense strategies. *PNAS*. 105 (29): 10057- 10060.
2. Agrawal A., Kotanen P., Mitchell C., Power A., Godsoe W. y J. Klironomos. (2005). Enemy release? An experiment with congeneric plant pairs and diverse above and belowground enemies. *Ecology*. 86 (11): 2979- 2989.
3. Agrawal A., Underwood N. y J. Stinchcombe. (2004). Intraspecific variation in the strength of density dependence in aphid populations. *Ecological Entomology*. 29: 521- 526.
4. Ali J. y A. Agrawal. (2012). Specialist versus generalist insect herbivores and plant defense. *Trends in Plant Science*. 1-12
5. Ashton I. y Lerda M. (2008). Tolerance to herbivory, and not resistance, may explain differential success of invasive, naturalized, and native North American temperate vines. *Diversity and Distributions*. 14: 169- 178.
6. Belsky A., Carson W., Jensen C. y G. Fox. (1993). Overcompensation by plants: herbivore optimization or red herring? *Evolutionary Ecology*. 7: 109- 121.
7. Blossey B. y R. Notzold. (1995). Evolution of increased competitive ability in invasive nonindigenous plants: A hypothesis. *Journal of Ecology*. 83 (5): 887- 889.
8. Blumenthal D. (2006). Interactions between resource availability and enemy release in plant invasion. *Ecology letters*. 9: 887- 895.
9. Boege K., Dirzo R., Siemsen D. y P. Brown. (2007). Ontogenetic switches from plant resistance to tolerance: minimizing costs with age. *Ecology letter*. 10: 177- 187.
10. Bryant J. y S. Chapin. (2017). Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science, New Series*. 230 (4728): 895- 899.
11. Bustos-Segura C., Fornoni J., Núñez-Farfán J. (2014). Evolutionary changes in plant tolerance against herbivory through a resurrection experiment. *Journal of Evolutionary Biology*. 27:488-496.
12. Cahill J., Kembel S., Lamb E. y P. Keddy. (2008). Does phylogenetic relatedness influence the strength of competition among vascular plants? *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*. 10(1). 41-50.
13. Carmona D. y J. Fornoni. (2012). Herbivores can select for mixed defensive strategies in plants. *New Phytologist*. 197: 576- 585.
14. Castillo G., Cruz L., Tapia-López R., Olmedo-Vicente E., Carmona D., Anaya-Lang A., Fornoni J., Andraca-Gómez G., Valverde P. y J. Núñez-Farfán. (2014). Selection mosaic exerted by specialist and generalist herbivores on chemical and physical defense of *Datura stramonium*. *PLOS ONE*. 9 (7): 1- 7.

15. Cisneros-Silva A., Castillo G., Chávez-Pesqueira M., Bello-Bedoy R., Camargo I. y J. Núñez-Farfán. 2017. Light limitation reduces tolerance to leaf damage in *Datura stramonium*. *Evolutionary Ecology Research*. 18: 351- 362.
16. Crawley M. (1987). What makes a community invasible? Colonization, succession and stability (eds. A. J. Gray, M. J. Crawley y P.J. Edwards), pp429- 453. *Blackwell Scientific Publications*. Oxford.
17. Daehler C. (2003). Performance comparisons of co-occurring native and alien invasive plants: implications for conservation and restoration. *Annual review of ecology, evolution and systematics*. 34: 183- 211.
18. Daehler C. y D. Strong. (1997). Reduced herbivore resistance introduced smooth cordgrass (*Spartina alterniflora*) after a century of herbivore-free growth. *Oecologia*. 110: 99- 108.
19. de Jong T. y E. van der Meijden. (2000). On the correlation between allocation to defence and regrowth in plants. *Oikos*. 88: 503- 508.
20. Del Val E. y M. Crawley. (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- 1016
21. Fineblum y Rausher, (1995). Tradeoff between resistance and tolerance to herbivore damage in a morning glory. *Nature*. 517- 520.
22. Fornoni J. (2011). Ecological and evolutionary implications of plant tolerance to herbivory. *Functional ecology*. 25: 399- 407.
23. Fornoni J. y J. Núñez-Farfán. (2000). Evolutionary ecology of *Datura stramonium*: genetic variation and costs for tolerance to defoliation. *Evolution*. 54(3): 789- 797.
24. Fornoni J., Núñez-Farfán J. y P. Valverde. (2003a). Evolutionary ecology of tolerance to herbivory: Advances and perspectives. *Comments on theoretical biology*. 8: 643- 663.
25. Fornoni J., Valverde P. y J. Núñez-Farfán. (2003b). Quantitative genetics of plant tolerance and resistance against natural enemies of two natural populations of *Datura stramonium*. *Evolutionary ecology research*. 5: 1049- 1065.
26. Fornoni J., Valverde P. y J. Núñez-Farfán. (2004). Population variation in the cost and Benefit of tolerance and resistance against herbivory in *Datura stramonium*. *Evolution*. 58(8): 1696- 1704.
27. Garrido E. y J. Fornoni. (2006). Host tolerance does not impose selection on natural enemies. *New phytologist*. 1- 6.
28. Garrido E., Llamas-Guzmán L. y J. Fornoni. (2015). The effect of frequency-dependent selection on resistance and tolerance to herbivory. *Journal of Evolutionary Biology*. 29: 483-489.

29. Huang W., Siemann E., Wheeler G., Jianwen Z., Carrillo J. y J. Ding. (2010). Resource allocation to defence and growth are driven by different responses to generalist and specialist herbivory in an invasive plant. *Journal of Ecology*. 98: 1157-1167.
30. Joshi J. y K. Vrieling. (2005). The enemy release and EICA hypothesis revisited: incorporating the fundamental difference between specialist and generalist herbivores. *Ecology Letters*. 8: 704- 714.
31. Kariñho-Betancourt E. y J. Núñez-Farfán. (2015). Evolution of resistance and tolerance to herbivores: testing the trade-off hypothesis. *PeerJ* 3:e789; DOI 10.7717/peerj.789
32. Keane R. y M. Crawley. (2002). Exotic plant invasions and enemy release hypothesis. *Trends in Ecology and Evolution*. 17(4): 164- 170.
33. Lande R. y S. Arnold. (1983). The measurement of selection on correlated characters. *Evolution*. 37(6): 1210- 1226.
34. Leger E. y M. Forister. (2005). Increased resistance to generalist herbivores in invasive populations of the California poppy (*Eschscholzia californica*). *Diversity and distributions*. 11: 311- 317.
35. Liu H. y P. Stiling. (2006). Testing the enemy release hypothesis: a review and meta-analysis. *Biological invasions*. 8: 1535-1545.
36. Maron J. y M. Vilá. (2001). When do herbivores affect plant invasion? Evidence for the natural enemies and biotic resistance hypothesis. *Oikos*. 95(3): 361- 373.
37. Maron J., Vila M. y J. Arnason. (2004). Loss of enemy resistance among introduced populations of St. John's wort (*Hypericum perforatum*). *Ecology*. 85(12): 3243
38. Mauricio R. y M. Rausher. (1997). Experimental manipulation of putative selective agents provides evidence for the role of natural enemies in the evolution of plant defense. *Evolution*. 51(5): 1435-1444.
39. Mauricio R., Rausher M. y D. Burdick. (1997). Variation in the defense strategies of plants: are resistance and tolerance mutually exclusive? *Ecology*. 78(5): 1301-1311.
40. Núñez-Farfán J. y R. Dirzo. (1994). Evolutionary Ecology of *Datura stramonium* L. in Central Mexico: Natural selection for resistance to herbivorous insects. *Evolution*. 48(2): 423- 436.
41. Núñez-Farfán J., Fornoni J. y P. Valverde. (2007). The evolution of resistance and tolerance to herbivores. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*. 38: 541-566.
42. Pilson D. (2000). The evolution of plant response to herbivory: simultaneously considering resistance and tolerance in *Brassica rapa*. *Evolutionary Ecology*. 14: 457-489.

43. Rhoades D. (1979). Evolution of plant chemical defense against herbivores. Pages 3-54 in G. A. Rosenthal and D. H. Janzen, eds. *Herbivores: their interaction with secondary plant metabolites*. Academic Press, New York.
44. Rhoades s, D., y R. Cates. (1976). Toward a general theory of plant antiherbivore chemistry. *Recent Advances in Phytochemistry*. 10:168-21
45. Rosenthal J. y P. Kotanen. (1994). Terrestrial plant tolerance to herbivory. *Trends in Ecology and Evolution*. 9(4): 145- 148.
46. Schierenbeck K., Mack R. y R. Sharitz. (1994). Effects of herbivory on growth and biomass allocation in native and introduced species of *Lonicera*. *Ecology*. 75(6): 1661- 1672.
47. Simms E. (2000). Defining tolerance as a norm of reaction. *Evolutionary Ecology*. 14: 563- 570.
48. Simms E. y J. Triplet. (1994). Cost and benefits of plant responses to disease: resistance and tolerance. *Evolution*. 48(6): 1973- 1985.
49. Stamp N. (2003). Theory of plant defensive level: Example of process and pitfalls in development of ecological theory. *Oikos*. 102(3): 672- 678.
50. Stowe K., Marquis R., Hochwender C. y E. Simms. (2000). The evolutionary ecology of tolerance to consumer damage. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 31: 565- 595.
51. Strauss S. y A. Agrawal (1999). The ecology and evolution of plant tolerance to herbivory. *Trends in Ecology and Evolution*. 14(5): 179- 185.
52. Strauss S., Rudgers J., Lau J. y R. Irwin. (2002). Direct and ecological costs of resistance to herbivory. *Trends in Ecology and Evolution*. 17(6): 278- 285.
53. Tiffin P. (2000a). Mechanisms of tolerance to herbivore damage: what do we know? *Evolutionary Ecology*. 14: 523-536.
54. Tiffin P. y M. Rausher. (1999). Genetic constraints and selection acting on tolerance to herbivory in the common morning glory *Ipomoea purpurea*. *The American Naturalist*. 154(6): 1999.
55. Tiffin, P. (2000b). Are tolerance, avoidance, and antibiosis evolutionarily and ecologically equivalent responses of plants to herbivores? *The American Naturalist*. 155(1): 128- 138.
56. Uriarte M., Canham C. y R. Root. (2002). A model of simultaneous evolution of competitive ability and herbivore resistance in a perennial plant. *Ecology*. 83(10): 2649- 2663.
57. Valverde P. Fornoni J. y J. Núñez-Farfán. (2001). Defensive role of leaf trichomes in resistance to herbivorous insects in *Datura stramonium*. *Journal of Evolutionary Biology*. 14. 424- 432.

58. Valverde P., Arroyo J., Núñez-Farfán J., Castillo G., Calahorra A., Rérez-Barrales R. y R. Tapia-López. (2015). Natural selection on plant resistance to herbivores in the native and introduced range. *AoB Plants*. 1-13.
59. Valverde P., J. Fornoni y Núñez-Farfán J. (2003). Evolutionary ecology of *Datura stramonium*: equal plant fitness benefits of growth and resistance against herbivory. *Journal of Evolutionary Biology*. 16: 127- 137.
60. van der Meijden E., Wijn M. y H. Verkaar. (1988). Defence and regrowth, alternative plant strategies in the struggle against herbivores. *Oikos*. 51(3): 355- 363.
61. Weaver S. y S. Warwick. (1984). The biology of Canadian weeds. 64. *Datura stramonium* L. *Canadian Journal of Plant Science*. 64: 979- 919.
62. Willis A. y B. Blossey. (1999). Benign environments do not explain the increased vigour of non-indigenous plant: a cross continental transplant experiment. *Biocontrol Science and Technology*. 9(4): 567- 577.
63. Wise M. y W. Abrahamson. (2005). Beyond the compensatory continuum: Environmental resource levels and plant tolerance of herbivory. *Oikos*. 109(3): 417- 428.
64. Wise M. y W. Abrahamson. (2007). Effects of resource availability on tolerance of herbivory: A review and assessment of three opposing models. *The American Naturalist*. 169(4): 443- 454.
65. Wolfe et al., 2004. Increased susceptibility to enemies following introduction in the invasive plant *Silene latifolia*. *Ecology letters*. 7: 813- 820.
66. Wolfe L. (2002). Why alien invaders succeed: Support for the Escape-from-enemy hypothesis. *The American Naturalist*. 160(6): 705- 711.
67. Zou J., Rogers W. y E. Siemann. (2007). Increased competitive ability and herbivory tolerance in the invasive plant *Sapium sebiferum*. *Biological Invasions*. 10(3). 291- 302.