



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS

“Biología reproductiva y herbivoría en una especie distílica  
(Psychotria horizontalis)”

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**B I Ó L O G A**

P R E S E N T A:

**MARIANA ABARCA ZAMA**

DIRECTORA DE TESIS:  
DRA. KARINA BOEGE PARÉ

2007





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.

A Tamaro

## Agradecimientos

A Karina Boege, por las ideas, la energía, el apoyo y todo el tiempo que me dedicó antes y durante el desarrollo de esta tesis.

A mis sinodales, Ek del Val, Juan Fornoni, César Domínguez e Irene Pisanty, por los comentarios que contribuyeron a mejorar este trabajo.

A Cecilia Mendoza, Karina Boege, Pablo Frank y John Williams por su ayuda con el trabajo de campo.

A mis padres, por su apoyo.

A Pablo Frank, por su ayuda en la construcción de la base para tomar las fotografías.

A Rubén Pérez por el apoyo logístico.

La identificación de una de las morfo especies fue realizada por A. M. Alma Solis. (*Desmia ploralis* Guenee) Systematic entomology laboratory, agricultural research service, E. U. Department of agriculture.

## Contenido

Introducción.....	1
Influencia de los herbívoros en la reproducción de las plantas.....	5
Características de las especies distílicas.....	8
Especialización sexual en especies distílicas.....	9
Objetivos y predicciones.....	12
Métodos.....	13
Sitio de estudio.....	13
Especie de estudio.....	13
Caracterización de la biología reproductiva.....	14
Herbivoría.....	16
Impacto de la herbivoría en la adecuación.....	19
Resultados.....	20
1. Historia natural.....	20
2. Biología reproductiva.....	22
3. Herbivoría.....	24
4. Impacto de la herbivoría en la adecuación.....	28
Discusión.....	31
Conclusiones.....	37
Referencias.....	38

## Resumen

Entre las principales funciones de las plantas para mantenerse vivas y maximizar su adecuación se encuentran el crecimiento, la reproducción y la defensa. De acuerdo con la teoría de asignación de recursos, la asignación a una función limita la cantidad de recursos que puede destinarse a las otras, situación que provoca conflictos que definen las estrategias de vida de las plantas. Entre las estrategias reproductivas de las plantas se encuentra la especialización sexual. La separación de sexos puede tener repercusiones sobre la relación de las plantas con sus herbívoros, al alterar los recursos disponibles para la defensa. Por lo general los herbívoros prefieren el consumo de los individuos masculinos, ya que tienen una menor cantidad de atributos defensivos.

Las especies distílicas se distinguen por tener dos morfos sexuales, que pueden identificarse de acuerdo a la longitud de sus estambres y estilo. A pesar de que ambos morfos son hermafroditas, es común que uno de ellos se especialice en la función femenina y el otro en la masculina. El objetivo de este trabajo fue determinar si hay especialización sexual en *Psychotria horizontalis* (Rubiaceae) y en caso de haberla; determinar cuál es su relación con la herbivoría.

Para describir la biología reproductiva de esta especie se realizaron conteos de inflorescencias, flores y frutos, se cuantificó la producción de néctar, el peso de los frutos y se hicieron colectas de polinizadores. Para evaluar la preferencia de los herbívoros por alguno de los morfos, se realizó un experimento de palatabilidad y dos mediciones de herbivoría durante la temporada reproductiva de 2006.

Los individuos del morfo *Pin* tuvieron una mayor adecuación femenina que los del morfo *Thrum*. El follaje de *Thrum* fue más palatable, sin embargo, el daño foliar fue igual en ambos morfos. Los morfos tuvieron capacidades diferentes para tolerar el daño foliar, ya que el impacto negativo de la herbivoría en la adecuación femenina fue mayor en el morfo *Thrum* que en el *Pin*.

Los resultados sugieren que está ocurriendo un proceso de especialización sexual en la población estudiada de *Psychotria horizontalis* y que las diferencias entre morfos en la capacidad para tolerar la herbivoría podrían estar fomentando este proceso.

## Introducción

Las plantas utilizan los recursos que tienen disponibles para desempeñar funciones que las mantienen vivas y maximizan su adecuación; como el crecimiento, la reproducción y la defensa. El crecimiento consiste en la producción de nuevos tejidos, como raíces, hojas y tallos, y representa una inversión para poder seguir adquiriendo recursos. La reproducción incluye la producción de flores, gametos, frutos y semillas, que determinan la aportación genética de cada individuo a la siguiente generación. La defensa involucra la producción de caracteres que protegen a la planta en contra de enemigos naturales, como herbívoros y patógenos, evitando la pérdida de tejidos vegetativos o estructuras reproductivas (Bazzaz 1997, Karban y Baldwin 1997, Lerdaу y Gershenzon 1997). De acuerdo con la teoría de asignación de recursos, la asignación a una función limita la cantidad de recursos que pueden destinarse a las otras, situación que provoca conflictos que definen las estrategias de vida de las plantas (Lerdaу y Gershenzon 1997, Campbell 2000).

Las plantas tienen la capacidad de hacer ajustes en la manera en que distribuyen sus recursos ante cambios ambientales, de tal forma que se maximice la acumulación de recursos que posteriormente se han de asignar a la reproducción (Bazzaz 1997). La acumulación de recursos es importante porque la etapa de reproducción generalmente comienza cuando la planta ha alcanzado cierta biomasa (Bazzaz 1997), promoviendo una correlación positiva entre el tamaño y el éxito reproductivo de las plantas (Herrera 1991). La inversión de recursos en atributos de defensa ocurre en función del beneficio de evitar la pérdida de tejido existente y las posibilidades de reemplazarlo. De esta manera, la asignación de recursos al crecimiento y a la defensa debe ser eficiente, para que los individuos puedan alcanzar el tamaño necesario para reproducirse en un tiempo óptimo.

La mayoría de las especies vegetales son hermafroditas (Renner y Ricklefs 1995), ya que típicamente producen gametos masculinos y femeninos en todas sus flores. Sin embargo, hay otros sistemas reproductivos que involucran la separación de los sexos, ya sea con la producción de flores exclusivamente femeninas o masculinas en la misma planta (monoecia) o en diferentes plantas (diecia), como sucede en la mayor parte de los animales (Sakai y Weller 1999). La distilia es un sistema reproductivo en el que existen dos tipos de individuos en la población que se distinguen por la forma de sus flores. Ambos tipos o morfos producen flores hermafroditas, pero éstas difieren en la longitud de sus anteras y estilos, como se describirá más adelante.

Uno de los conflictos de las plantas hermafroditas surge de la necesidad de asignar recursos simultáneamente a sus dos funciones sexuales, la femenina y la masculina, con la imposibilidad de obtener el máximo beneficio por las dos vías. Es común que este tipo de plantas presente diferencias en cuanto a su eficiencia como progenitoras de uno u otro sexo (Horovitz 1978, Charnov 1984, Lloyd y Bawa 1984, Brunet 1992), y que el éxito de cada individuo como madre o como padre dependa del genotipo, de la cantidad de recursos invertidos en cada función y de factores ambientales como la disponibilidad de polinizadores y del periodo de floración (Klinkhamer y de Jong 1997). Por ejemplo, hay plantas que cambian de sexo a lo largo de su vida como respuesta a las condiciones ambientales y/ o con respecto a su tamaño (Lloyd y Bawa 1984). Existe una tendencia general a incrementar la asignación de recursos a la función femenina conforme aumenta el tamaño del individuo. Cuando hay limitación en la disponibilidad del polen, esto se debe a que las plantas más grandes tienen despliegues florales mayores y atraen más polinizadores. Por otro lado, cuando el polen no es un recurso limitante, esta tendencia puede atribuirse a que las plantas grandes tienen una mayor disponibilidad de recursos, que les permite aumentar la proporción de flores que se convierten en frutos (Klinkhamer *et al.* 1997, Koelewijn y Hunscheid 2000).

Hay plantas hermafroditas que pueden alterar la asignación de recursos a cada función sexual aumentando o reduciendo el número de granos de polen y óvulos que producen en cada flor, o alterando la tasa de producción de semillas por flor. Una tasa baja, es decir, una producción de pocas semillas en relación a la cantidad de flores producidas, se asocia con la especialización masculina. Esto es porque una gran parte de las flores funcionan únicamente como donadoras de polen. Por otro lado, una alta eficiencia en la producción de semillas con respecto a la producción de flores, indica una tendencia a favorecer la función femenina (Kinkhamer y de Jong 1997). Ante la capacidad de las plantas cosexuales para realizar cambios y ajustes en la cantidad de recursos que asignan a sus funciones reproductivas, se espera que la selección natural actúe en cada caso favoreciendo la función reproductiva que maximice su adecuación (Lloyd y Bawa 1984), promoviendo así la presencia de gran variación en la expresión de la sexualidad y la evolución de distintos sistemas reproductivos (Ashman 2002).

La cantidad de recursos almacenados en las plantas cosexuales puede determinar el grado de expresión sexual de cada sexo (Lloyd y Bawa 1984). Bajo el supuesto de que una función sexual es más costosa que la otra, se esperaría que las plantas con



menos recursos o sometidas a un mayor estrés, favorecieran la función menos costosa. De esta manera, la expresión sexual dependería de las condiciones ambientales.

La separación de sexos puede ser favorecida de acuerdo al éxito reproductivo obtenido en función de la asignación de recursos (Thompson y Brunet 1990). En la figura 1 se muestra que el éxito reproductivo puede incrementarse de manera desacelerada (a), lineal (b) o acelerada (c), conforme se incrementa la asignación de recursos a la reproducción.

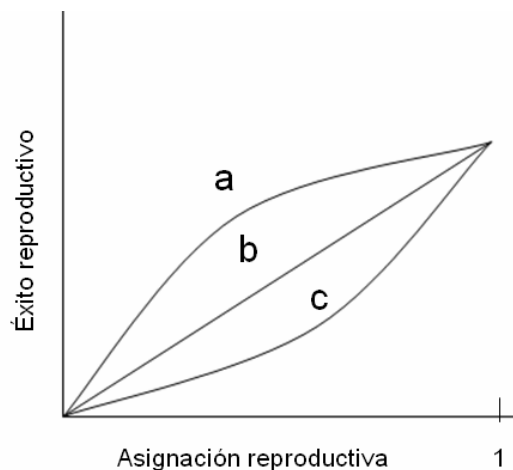


Figura 1. Funciones que describen el éxito reproductivo según la asignación de recursos. a) desacelerada, b) lineal y c) acelerada. (Figura tomada de Thompson y Brunet 1990)

Cuando la función es lineal, el éxito reproductivo aumenta de manera proporcional al aumento en la asignación reproductiva del individuo. Cuando la función es desacelerada, hay un punto óptimo de asignación de recursos que maximiza el éxito reproductivo, mientras que cuando la función es acelerada, la misma asignación de recursos representa un éxito reproductivo menor. Es decir, un organismo con una función acelerada, tendrá que asignar más recursos para obtener el mismo éxito reproductivo que otros con funciones lineales o desaceleradas.

Cuando la función es acelerada, es decir que da como resultado una curva cóncava, se favorece la separación de sexos, mientras que cuando es desacelerada, se favorece el hermafroditismo, como se muestra en la figura 2 (Thompson y Brunet 1990). La separación de sexos se favorece por encima de la diagonal, cuando la curva es convexa, ya que la suma del éxito reproductivo femenino y masculino es mayor al punto máximo de cada uno (1). Por debajo de la diagonal, cuando la curva es cóncava, el

mayor éxito reproductivo se obtiene a partir de una de las dos funciones, y la suma de ambas siempre es menor a 1.

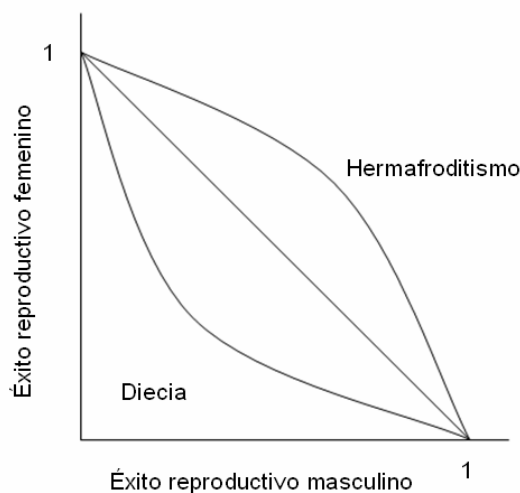


Figura 2. Funciones entre el éxito reproductivo femenino y masculino que favorecen la diecia (por debajo de la diagonal) y el hermafroditismo (sobre la diagonal). (Figura tomada de Thompson y Brunet 1990)

En el caso de que los sexos ya se hayan separado y suponiendo que ambas funciones sexuales tienen costos diferentes (Lloyd y Bawa 1984) se plantean dos alternativas. Por un lado, que las plantas con la función menos costosa inviertan más recursos para llevar a cabo otras funciones como el crecimiento y la defensa. Y por otro, que a pesar de la especialización, ambos sexos sigan invirtiendo la misma cantidad de recursos en la reproducción (Charlesworth y Morgan 1991, Obeso 2002). Hay estudios que respaldan ambas opciones. Por un lado, Ashman (1994) encontró que en *Sidalcea oregana* (ginodióica) tanto las plantas femeninas como las masculinas invierten la misma cantidad de recursos en reproducción, mientras que Delph (1990) y Khon (1989), encontraron que en *Hebe subalpina* (subdióica) y en *Cucurbita foetidissima* (ginodióica) las hembras asignan, en total, una cantidad mayor de biomasa a la reproducción que los individuos con función masculina. Es de esperarse que los patrones de asignación a crecimiento y defensa sean diferentes entre morfos sexuales en los casos en los que existe una asignación reproductiva diferencial. Estas modificaciones a su vez, pueden generar diferencias intersexuales en interacciones bióticas como la competencia y la herbivoría, al modificar la capacidad competitiva o la calidad de las plantas como alimento para los herbívoros (Miller y Lovett-Doust 1987, Ågreen *et al.* 1999, Ashman 2002, Cole y Ashman 2005, Cornelissen y Stiling 2005, Eppley 2006).

## **Influencia de los herbívoros en la reproducción de las plantas**

Los herbívoros ejercen fuertes presiones de selección sobre las plantas, ya que al consumir tejido fotosintético pueden incrementar su mortalidad y tener efectos negativos sobre su crecimiento, reproducción y finalmente sobre su adecuación (Harper 1977, Coley *et al.* 1985, Ricklefs y Miller 1999). Los herbívoros pueden evitar que las plantas se reproduzcan de manera directa acortándoles la vida o impidiendo que adquieran o acumulen los recursos necesarios para esta función (Coley *et al.* 1985, Hendrix 1988). Pueden también disminuir la fecundidad de los individuos (Marquis 1992) y afectar la calidad de los eventos reproductivos, al reducir el número de semillas y la viabilidad de las mismas (Marquis 1984), o fomentando el aborto de frutos (Stephenson 1980). Los herbívoros pueden afectar el éxito reproductivo de las plantas de manera indirecta si el daño modifica la conducta de los polinizadores al provocar cambios en los caracteres florales que influyen en sus preferencias (Strauss *et al.* 1999, Strauss y Murch 2004). Pueden también alterar el sistema de apareamiento, es decir la proporción de la progenie que se produce por medio de autofecundación y entrecruzamiento (Strauss y Karban 1994)

Las plantas han desarrollado varios mecanismos para lidiar con el daño que les provocan los herbívoros; uno de ellos es la tolerancia, que es una estrategia que consiste en reducir los costos de la herbivoría en la adecuación (Rosenthal y Kotanen 1994). Otros mecanismos consisten en reducir la cantidad de daño que provocan los herbívoros, como el escape a través de ajustes fenológicos (Freeman *et al.* 2003), o los mecanismos de defensa físicos y químicos. Los mecanismos físicos consisten en la producción de estructuras como tricomas y espinas, el incremento en la dureza de las hojas, de las cortezas, y de las testas de las semillas, así como el desarrollo de cutículas cerosas en las hojas (Gurevitch *et al.* 2002). Las defensas químicas son compuestos que disminuyen la digestibilidad del tejido foliar, que retardan el crecimiento de los herbívoros, o que les resultan tóxicos. Entre las defensas químicas más comunes se encuentran los alcaloides, terpenos y fenoles. También existen proteínas nocivas, aminoácidos que inhiben a las proteasas y compuestos cianogénicos (Gurevitch *et al.* 2002), que son liberados en el momento en que la planta es atacada por los herbívoros, provocando que estos la abandonen (Pollard 1992).

Los atributos de defensa física y química son los factores principales de los que depende la calidad de las plantas como alimento para los herbívoros (Fraenkel 1959,

Levin 1976). Estas defensas pueden ser inducidas, es decir, que comienzan a producirse después del daño por los herbívoros, o constitutivas, que se producen continuamente, independientemente de si ésta recibe daño por herbívoros o no (Gurevitch *et al.* 2002). De acuerdo con la teoría de la defensa óptima planteada por Rhoades (1979), la defensa es costosa y los recursos asignados a ella no pueden asignarse simultáneamente a otras funciones. Así mismo, no todas las partes de la planta son igualmente valiosas y algunos órganos y tejidos son más vulnerables que otros; por lo que se predice que las defensas se asignarán de manera preferencial a las partes más valiosas y más susceptibles al ataque por herbívoros.

Lerdau y Gershenzon (1997) proponen que los costos de los atributos de defensa se producen en función de la biosíntesis, el almacenaje, el transporte, el mantenimiento y la imposibilidad de utilizar los recursos que se invierten en ellas para otra función. Sin embargo, es difícil calcular el costo exacto, pues es necesario ponderar los costos de producción, considerando el beneficio que obtienen las plantas a través de estos atributos (Bazzaz 1997). Strauss (1997) encontró que la asignación de recursos a la producción de atributos de defensa restringe la cantidad de los mismos que se asignan a la reproducción.

Es común que la inversión en atributos defensivos tenga costos ecológicos importantes, por un lado, en ausencia de herbívoros se reduce la fecundidad de las plantas (Zangerl y Bazzaz 1992). Por otro, puede afectar la relación de las plantas con sus polinizadores. De manera directa los afecta con la presencia de metabolitos secundarios en el polen y/o néctar (Strauss *et al.* 1996) y de manera indirecta, disminuyendo el atractivo de las plantas para los mismos, al afectar la asignación de recursos a la producción de caracteres florales (Agrawal *et al.* 1999).

La asignación de recursos a la defensa puede afectar de manera diferente a cada función sexual, como en el caso de *Raphanus raphanistrum*, especie en la que Agrawal *et al.* (1999) encontraron que la producción de defensas inducidas afectaba la producción de granos de polen (*i.e.*, adecuación masculina), sin afectar los caracteres de adecuación femenina.

Hay una gran cantidad de estudios realizados en especies dioicas que vinculan el sexo y el ataque por los herbívoros. Ågren *et al.* (1999) explican que la asignación reproductiva a cada función sexual afecta la tasa de crecimiento, que a su vez influye en la palatabilidad de las plantas dioicas y por lo tanto en el consumo de las mismas por los herbívoros. Los tejidos de las plantas de crecimiento lento tienen un valor relativo

mayor que los de las plantas de crecimiento rápido, debido a que es más costoso reponerlos, por lo que es razonable esperar que se encuentren más defendidos (Coley *et al.* 1985). Generalmente, las plantas femeninas tienen un gasto mayor en la reproducción (Lloyd y Bawa 1984, Ågren 1988, Delph 1999), por lo que su tasa de crecimiento es menor. Por el contrario, las plantas masculinas tienen más recursos para asignar al crecimiento y al crecer más rápido, invierten menos en la producción de caracteres de defensa para tejidos que pueden ser reemplazados con mayor facilidad (Cornelissen y Stiling 2005). A partir de un estudio reciente, basado en dos meta análisis con 54 y 33 especies de plantas, respectivamente, Cornelissen y Stiling (2005) encontraron una tendencia general a que los machos presenten una menor concentración de metabolitos secundarios y a que sean más atacados por los herbívoros que las hembras.

El que las plantas con crecimiento lento inviertan más en caracteres de defensa puede explicarse bajo dos perspectivas diferentes, una evolutiva y otra fisiológica. Desde la perspectiva evolutiva, la hipótesis de la tasa de crecimiento/disponibilidad de recursos (Coley *et al.* 1985) sugiere que este patrón ha sido seleccionado en plantas con tasas intrínsecas de crecimiento lentas que habitan ambientes con recursos limitados, dado que no tienen la disponibilidad de recursos para reponer los tejidos perdidos bajo estas condiciones. En contraste, hay especies o poblaciones que históricamente han evolucionado tasas altas de crecimiento y una menor producción de defensas, como resultado de habitar un ambiente con mayor disponibilidad de recursos y de la facilidad de reponer los tejidos consumidos. Las diferencias en asignación a crecimiento y a defensa entre morfos sexuales podrían explicarse bajo esta perspectiva si las tasas de crecimiento fueran inherentes a cada sexo, y estuvieran diferenciadas genéticamente como resultado de la especialización sexual. Por otro lado, la mayor producción de atributos de defensa en plantas con crecimiento lento, puede explicarse como una consecuencia fisiológica de la limitación de los recursos disponibles para crecer, pero no para realizar la fotosíntesis. Con la imposibilidad de sintetizar proteínas debido a la falta de nutrientes, las plantas acumulan carbono en las hojas en forma de metabolitos secundarios, promoviendo así una alta concentración de defensas cuya composición química se basa en este elemento (Loomis 1932 y 1953 en Stamp 2003). Las diferencias intersexuales en la concentración de metabolitos secundarios podrían explicarse bajo esta perspectiva, suponiendo que la asignación de recursos a reproducción es diferente entre sexos. Aquel sexo con la función reproductiva más costosa, tendrá un crecimiento

más lento causado por la limitación de nutrientes destinados a la reproducción. Esta limitación del crecimiento podría tener como consecuencia la acumulación de metabolitos secundarios.

En las especies dioicas, las diferencias entre sexos ocurren no sólo en relación a la cantidad de recursos que cada uno asigna a la reproducción, sino también con respecto al momento en que lo hacen. Por lo general, el gasto reproductivo de las hembras es mayor (Ågren 1988, Delph 1999), sin embargo durante el periodo de floración el gasto de los machos supera la asignación de recursos de las hembras (Ågren 1988, Delph 1999). Por esta razón, el daño por los herbívoros podría tener efectos diferentes entre sexos según el momento en que es inflingido. Este es el caso de *Hebe subalpina* (Delph 1990) y de *Carex picta* (Delph *et al.* 1993), especies en las que la cantidad de recursos invertida en reproducción difiere entre las plantas femeninas y masculinas y a lo largo del tiempo. A partir de estos dos estudios, Delph *et al.* (1993) concluyen que el sexo que asigna más recursos a la reproducción durante el periodo previo a la defoliación, sufre una reducción mayor en la asignación de recursos al crecimiento y más probabilidades de perecer debido a la pérdida de tejido fotosintético.

### **Características de las especies distílicas**

La heterostilia es una condición que ha surgido de manera independiente en 25 familias de angiospermas (Lloyd y Webb 1992) y se caracteriza por la existencia de dos (distilia) o tres (tristilia) morfos florales en una población. Los morfos de las especies distílicas son el *Thrum*, que tiene las anteras largas y el estilo corto; y el *Pin*, que tiene las anteras cortas y el estilo largo. En general, este dimorfismo está acompañado por un sistema de incompatibilidad y por una serie de características auxiliares como el tamaño y la forma del polen y del estigma, que evitan la autofecundación y la fertilización entre individuos del mismo morfo. El sistema de incompatibilidad está controlado por un supergen y se ha planteado que promueve el entrecruzamiento y las cruas legítimas, es decir, entre morfos opuestos (Barrett 1992a). Los principales polinizadores de las especies distílicas son colibríes e insectos, y en sólo una familia (Clusiaceae) de las 24 que presentan heterostilia, las flores no producen néctar para recompensarlos (Lloyd y Webb 1992).

### **Especialización sexual en especies distílicas**

En las plantas heterostílicas la especialización sexual es común. Es decir, que un morfo se reproduce en mayor medida a través de la función masculina y el otro por la

femenina (Casper 1992). Se ha propuesto que este fenómeno es una de las rutas de la evolución a la diecia (Casper 1992, Domínguez *et al.* 1997, Avila-Sakar y Dominguez 2000). Una de las explicaciones del origen de la especialización sexual es que cada morfo se especializa en aquel sexo que le confiere mayor éxito reproductivo, en función de la arquitectura de la flor (Beach y Bawa 1980, Charnov 1984, Wyatt 1986, Casper 1992 y Barrett 1992b). La especialización sexual puede generarse a partir de las interacciones ecológicas de cada morfo con sus polinizadores. Un cambio en la conducta, la abundancia o la composición de los polinizadores puede alterar el flujo de polen de tal manera que un morfo funcione como donador y otro como receptor (Ornduff 1966, Beach y Bawa 1980, Charnov 1984, Wyatt 1986, Casper 1992). En este caso es más frecuente que en *Pin* se desarrolle mejor la función femenina y en *Thrum* la masculina, ya que si los polinizadores son poco eficientes, se favorece el flujo de polen de *Thrum*, que tiene las anteras más expuestas a *Pin*, que tiene el estigma más expuesto (Casper 1992). La morfología floral también favorece este patrón, ya que por lo general *Pin* tiene el estigma más grande, lo que le facilita la recepción de polen (Dulberger 1992).

Por otro lado, se ha propuesto que los conflictos entre genes nucleares y citoplásmicos son los que moldean la asignación de recursos a las funciones femenina y masculina en especies hermafroditas y por lo tanto, los que determinan la especialización sexual (Saumitou-Laprade *et al.* 1994, Domínguez 1995). Los conflictos genéticos surgen porque la información genética de las células se divide entre la que se encuentra en el núcleo y la que se encuentra en el citoplasma (en organelos como la mitocondria y el cloroplasto). La información genética nuclear se hereda tanto por vía materna como paterna, mientras que la citoplasmática se hereda únicamente por vía materna (en todas las angiospermas). La selección natural actúa de manera independiente en ambos conjuntos genéticos; en el genoma nuclear favorecerá la producción de gametos masculinos y femeninos. Mientras que en los genes citoplasmáticos, favorecerá la producción de gametos femeninos (promoviendo la esterilidad masculina), creando el llamado conflicto núcleo-citoplasmático (Saumitou-Laprade *et al.* 1994). En este caso, el morfo que adquiera la mutación de esterilidad, evolucionará hacia la función femenina; independientemente de sus características morfológicas. Este es el caso de *Erythroxylum havanense*, en el que *Thrum* se especializa en la función femenina y *Pin* en la masculina, al contrario de lo que sucede

en la mayor parte de las especies distílicas con algún grado de especialización sexual (Avila-Sakar y Domínguez 2000).

Las especies distílicas resultan un modelo útil para estudiar la relación entre la herbivoría y la especialización sexual porque en ellas se pueden distinguir claramente los morfos sexuales, a diferencia de las especies hermafroditas clásicas. Además, en ellas puede evaluarse la influencia de la herbivoría la etapa de transición del proceso de separación de sexos, a diferencia de las especies dióicas, en las que la especialización ya ocurrió. Sin embargo, hay pocos trabajos que hayan evaluado las preferencias de los herbívoros por uno u otro morfo.

Para que la herbivoría promueva un proceso de especialización sexual en especies distílicas, sería necesario que el daño o el efecto del mismo, fuera diferente en cada uno de los morfos y además, tuviera repercusiones sobre la reproducción, disminuyendo o fomentando alguna de las funciones sexuales. En otras palabras, que los herbívoros ejerzan una selección natural sobre los atributos reproductivos de manera diferencial entre morfos.

Dos de los trabajos que han estudiado la relación entre la herbivoría y la especialización sexual en especies distílicas se refieren a la herbivoría floral y concluyen que las partes florales más expuestas, como las anteras de *Thrum* y el pistilo de *Pin* son las más atacadas. A partir de esta evidencia se ha propuesto que si el daño por herbívoros florales es específico de la posición en que se encuentran los órganos sexuales, entonces esta interacción antagónica podría promover la especialización sexual en una población distílica (Leege y Wolfe 2002) y por lo tanto favorecer la evolución de la distilia a la diecia. En el caso de la herbivoría foliar, se han encontrado patrones diferentes, por un lado, ambos morfos de *Lithospermum croceum* son atacados con la misma intensidad (McCall 1996), mientras que Ornelas *et al.* (2004) encontraron que en *Palicourea padifolia*, los individuos del morfo *Pin* son más consumidos que los del *Thrum* (Ornelas *et al.* 2004), el morfo que produce más frutos. Encontraron también una correlación negativa entre la cantidad de daño foliar y la producción de frutos, por lo que proponen que, dado que las plantas más atacadas tienen menor adecuación femenina, la herbivoría podría acelerar el proceso de especialización sexual en su población de estudio. En cuanto a la producción de atributos de defensa, también se han encontrado diferencias entre morfos. En *Gelsemium sempervirens* los individuos del morfo *Thrum* producen una mayor cantidad de gelsemina (alcaloide que sintetizan como



sustancia de defensa) en las hojas que los del *Pin*, aunque las repercusiones de la herbivoría no se han evaluado directamente (Irwin y Adler 2006).

En síntesis, el ataque por los herbívoros es una de las presiones ambientales con el potencial para promover la especialización sexual en plantas. En este trabajo, se determinó si hay evidencias de especialización sexual en una especie distílica y se evaluó si los herbívoros pudieran estar involucrados en el proceso de especialización.

Dado que no se han realizado estudios sobre el sistema reproductivo de *P. horizontalis*, este estudio se realiza partiendo del supuesto de que se comporta como una distílica clásica, es decir, que tiene auto incompatibilidad, al igual que incompatibilidad intramorfo.

## Objetivos y predicciones

### Objetivo general

El objetivo general de este trabajo fue determinar si hay especialización sexual en *Psychotria horizontalis* y en caso de haberla; determinar cuál es su relación con la herbivoría.

### Objetivos particulares

- 1) Describir la biología reproductiva de *Psychotria horizontalis* (Rubiaceae) para determinar si el éxito reproductivo por la vía femenina es similar entre morfos.
- 2) Determinar si los herbívoros invertebrados prefieren el consumo de alguno de los dos morfos florales.
- 3) Evaluar el impacto de la herbivoría en la adecuación de cada morfo floral.

### Predicciones

- 1) Si la asignación reproductiva a la función femenina es diferente entre morfos, entonces podría haber especialización sexual.
- 2) Partiendo del supuesto, basado en estudios previos, de que los costos de cada función sexual son diferentes, se espera que:
  - a) Si existen diferencias en la asignación de recursos a la función femenina, éstas deberían provocar diferencias en la asignación de recursos a la defensa, y como consecuencia, en la preferencia de los herbívoros por alguno de los morfos.
  - b) La preferencia de los herbívoros por uno de los morfos podría desencadenar un proceso de reasignación de recursos en funciones diferentes a la defensa, situación que podría promover la especialización sexual.

## Métodos

### Sitio de estudio

Este estudio se realizó en la Estación de Biología de Chamela (EBC) del Instituto de Biología de la UNAM. La EBC se encuentra en la costa del estado de Jalisco entre los 19° 29' y 19° 34' N y los 104° 58' y 105° 04' O. Actualmente forma parte de la Reserva de la Biosfera Chamela-Cuixmala, que tiene una extensión de 13142 ha (Noguera *et al.* 2002). La temperatura media anual es de 24.6° C (1978-2000), con una oscilación media anual de 4.3° C (García Oliva *et al.* 2002). La precipitación promedio anual es de 788 mm con una gran variación entre años (1977-2000) y el 80% se precipita entre junio y octubre, (García-Oliva *et al.* 2002). El clima de la EBC (registros de 1977-2000), según la clasificación de Köepen modificada por García (1988) es cálido subhúmedo, Aw<sub>0</sub>1 (García Oliva *et al.* 2002).

La vegetación predominante es selva baja caducifolia con selva mediana a lo largo de las cañadas; en México, este ecosistema es muy diverso en cuanto a especies de plantas y de vertebrados (Lott *et al.* 1987, Noguera *et al.* 2002). En la EBC se encuentran 125 familias de plantas vasculares, siendo Leguminosae y Euphorbiaceae las que cuentan con un mayor número de especies (Lott y Atkinson 2002).

### Especie de estudio

*Psychotria horizontalis* Sw (Rubiaceae) es un árbol distílico que mide de uno a tres metros de altura, con hojas pecioladas de 2.5 a 13.8 cm de largo y 0.7 a 5.8 cm de ancho. Produce un gran número de flores agrupadas en panículas terminales. Las flores son tubulares, blancas, de alrededor de 3 mm de largo. Los frutos son drupas rojas y en ocasiones amarillas o verdes, miden de 3.1 a 7.1 mm de largo y 1.9 a 5.2 mm de ancho. Cada fruto contiene dos semillas. *P. horizontalis* tiene una distribución neotropical, desde México a Ecuador, Brasil y las Antillas (Domínguez-Licona 2005). En la zona de Chamela florece durante julio y agosto y fructifica de agosto a octubre (Domínguez-Licona 2005).

Estudios previos con *P. horizontalis* en Barro Colorado, Panamá, han reportado índices de herbivoría de hasta el 37% del área foliar consumida y que ésta tiene efectos negativos sobre su reproducción y crecimiento (Sagers y Coley 1995). Como estrategia de defensa, produce hojas duras y sintetiza taninos de manera constitutiva (Sagers y Coley 1995). Sus herbívoros principales son orugas de las familias Pyralidae y

Ctenuchidae, que tienen una respuesta conductual ante las defensas de la planta. Esta conducta consiste en la formación de estructuras con las hojas y su seda, de tal forma que aíslan a los brotes nuevos de la luz, provocando una reducción de la dureza del 31% y de la concentración de taninos del 15%, sin afectar la concentración de nitrógeno y agua de las hojas (Sagers 1992).

### **Caracterización de la biología reproductiva**

Se localizó una población de *Psychotria horizontalis* dentro de la Estación de Biología de Chamela, en la que se marcaron todos los individuos encontrados (154); 122 de ellos florecieron y se utilizaron para determinar la proporción de morfos en la población. Se seleccionaron 40 individuos de cada morfo con un intervalo entre 83 y 235 cm de altura, para realizar las mediciones correspondientes a este estudio y que se describen a continuación.

Para cubrir el primer objetivo particular, determinar si en *P. horizontalis* hay especialización sexual asociada al morfo floral, se cuantificó la producción de inflorescencias, flores, frutos y néctar en los ochenta individuos antes mencionados.

Se realizaron 6 conteos de inflorescencias y flores en todos los individuos durante el periodo de floración de 2006, entre el 9 de julio y el 30 de agosto. El intervalo de tiempo entre un conteo y otro fue variable y se ajustó a los niveles de producción de flores, los primeros dos fueron de 3 días, mientras que entre el último y el penúltimo el intervalo fue de 23.

En cada planta se contó el total de flores e inflorescencias producidas, las inflorescencias se clasificaron en dos categorías, dañadas (cuando los herbívoros se las habían comido) y no dañadas. El daño típico en las inflorescencias consiste en el consumo de todas las flores, dejando únicamente la base de la inflorescencia, por lo que para calcular el número total de flores producidas se consideró el número de flores contadas más un número estimado de flores consumidas (multiplicando el número de bases por el promedio de flores por inflorescencia de cada planta por censo).

Se realizó un conteo de frutos inmaduros el 7 de agosto y los frutos maduros se colectaron entre el 11 de septiembre y el 3 de octubre del mismo año. Para obtener una medida de la inversión de recursos en los frutos maduros, éstos se pesaron en fresco el día que fueron colectados.

Para determinar las diferencias en la adecuación entre los morfos, se creó una variable multiplicativa (VM) propuesta por Herrera (1991). La VM es el producto de una

variable absoluta que es la producción total de flores (F) y dos probabilidades, la probabilidad de fecundación (PF) (frutos inmaduros/flores) y la probabilidad de maduración (PM) (frutos maduros/frutos inmaduros).

$$VM = F \times PF \times PM$$

Se obtuvo un valor de VM por cada planta. La VM es un estimador de la producción de frutos y en adelante me referiré a ella como fecundidad. La ventaja de utilizarla es que estima mejor la adecuación femenina que otras medidas relativas como el *fruit set*, pues toma en cuenta la producción absoluta de frutos, que es un factor de suma importancia al medir la adecuación femenina (Herrera 1991). Este estimador de fecundidad tiene además la ventaja estadística de que permite comparar tres atributos en una misma variable, evitando la pérdida de poder que implica la comparación de tres variables en la misma prueba.

Dado que el tamaño de la planta es un factor muy importante en la producción de atributos reproductivos como flores, frutos y semillas (Herrera 1991), en cada individuo se midió el perímetro basal, la altura y se contó el número de hojas. El número de hojas fue el mejor estimador del tamaño de las plantas porque se trata de una población sujeta a perturbaciones ambientales que provocan la caída, ruptura y curvatura de los tallos, por lo que es difícil determinar la altura. Los individuos de ambos morfos no difirieron significativamente en tamaño ( $F_{1,78} = 0.046$ ,  $P = 0.831$ ).

Para comparar la variable multiplicativa entre las plantas de cada morfo, los datos se normalizaron utilizando la transformación  $\log(x + 1)$  y se compararon por medio de un ANDECOVA, incorporando el tamaño de la planta como covariable. Éste fue estimado como el número de hojas y corregido con la función Arcoseno-raíz cuadrada.

Para estimar las posibles diferencias en la producción de recompensas para polinizadores, se determinó la producción de néctar por morfo, cuantificando el néctar producido por 10 flores de 34 árboles del morfo *Pin* y 32 del morfo *Thrum*. Las mediciones se llevaron a cabo del 11 al 23 de julio, entre las ocho de la mañana y las doce del día, ya que según un muestreo previo, es durante este periodo cuando ocurre el pico de producción de néctar. Las inflorescencias fueron embolsadas un día antes, cuando los botones aún estaban cerrados. En cada planta se seleccionaron dos flores de cinco inflorescencias diferentes ( $N = 10$ ), siempre y cuando la disponibilidad de las últimas lo permitiera. El néctar se extrajo utilizando tubos capilares de 5  $\mu$ L. Debido a que las flores son muy pequeñas, el muestreo tuvo que ser destructivo. En cada flor se

extrajo todo el néctar producido con un tubo capilar de 5  $\mu$ L y luego se midió la longitud del mismo para calcular el volumen producido.

Para comparar la producción de néctar y el peso de los frutos maduros, los datos se transformaron con el  $\log(x + 1)$  y se compararon por separado, primero con un ANDECOVA tomando en cuenta el tamaño de la planta como covariable, y al no encontrar un efecto significativo de ésta, ni un ajuste de los datos al modelo, con un ANDEVA.

Para determinar si el patrón de floración fue igual entre morfos se realizó un análisis de supervivencia, tomando en cuenta el número de inflorescencias producidas en cada uno de los seis censos realizados entre el nueve de julio y el 30 de agosto. Los análisis de supervivencia son útiles para describir patrones de floración ya que son robustos y no necesitan que los datos tengan distribución normal (Fox 1990). Se utilizó un modelo de riesgos proporcionales (*proportional hazards*), que parte del planteamiento de una función de riesgo (cuál es la probabilidad de que un evento suceda en cada uno de los tiempos estudiados, dado que no ha sucedido) y entonces se pregunta cómo una o más covariables, afectan la función de supervivencia en el tiempo (Fox 1990). En este caso se plantea una función que describe la probabilidad de que una inflorescencia madure en cada uno de los censos y cómo varía según el morfo floral.

Con el objetivo de conocer a los visitantes florales de *P. horizontalis*, se realizaron colectas durante el periodo de mayor producción de néctar. Los insectos atrapados se sacrificaron en una cámara de cianuro, se montaron y se almacenaron para su posterior identificación.

### **Herbivoría**

Para determinar si los herbívoros tienen preferencia por alguno de los dos morfos florales, se realizó una prueba de palatabilidad en el laboratorio y dos mediciones de herbivoría en campo. Para todas las mediciones de daño foliar se tomaron fotografías con una cámara digital Power Shot A510 Canon, y las imágenes se analizaron con el programa SigmaScan Pro 5 (SPSS 1999).

### **Censos de herbívoros**

Para conocer la identidad de los herbívoros que consumen el follaje de *P. horizontalis* se realizaron 6 censos de herbívoros entre el 9 de julio y el 30 de agosto. Se identificaron 4 morfo-especies de orugas y se colectaron individuos de cada una, se criaron en el laboratorio y se obtuvieron los adultos con el objetivo de identificarlos posteriormente. Para evaluar si la abundancia y la distribución de los herbívoros eran

iguales entre morfos, se realizaron dos pruebas de  $\chi^2$ , una para determinar las diferencias en la abundancia de herbívoros y otra en la diversidad de especies.

### **Palatabilidad**

Para llevar a cabo la prueba de palatabilidad, se colectaron 40 orugas generalistas del género *Hypercompe* (Arctiidae). Esta especie ha sido observada consumiendo follaje de *P. horizontalis* (M. Abarca, obs. pers.). Las orugas se alimentaron con lechuga por una noche para homogeneizar su dieta, y posteriormente se sometieron a un periodo de ayuno de 10 horas. A la mañana siguiente, el 8 de julio a las 8:41 am, se colocaron en botes individuales de plástico con dos hojas, cada una proveniente de un individuo de cada morfo (*i.e.*, todas las hojas provenían de diferentes individuos). El experimento se dio por terminado cuando la oruga hubiera consumido al menos un tercio de alguna de las dos hojas. Esto sucedió entre ocho y 70 horas después de iniciado el experimento. La variación en la duración del experimento se debió a las diferencias en la velocidad de ingesta de las orugas. Al final del experimento, cada hoja fue fotografiada para calcular el área remanente utilizando el programa SigmaScanPro 5.0 (SPSS 1999). El área original de cada hoja ( $A$ ) fue estimada a partir del producto del largo ( $l$ ) por el ancho ( $a$ ) de las hojas, utilizando la ecuación:  $A = 0.33 + 0.62 (l \times a)$  ( $N = 94$ ,  $R^2 = 0.994$ ,  $P < 0.0001$ ). Esta ecuación se obtuvo a partir de una regresión entre el producto del largo por el ancho y el área foliar de una muestra de hojas sin daño colectadas aleatoriamente de una muestra de 94 individuos de ambos morfos en el campo. El porcentaje de área foliar consumida de cada morfo fue estimado como el área original menos el área remanente, y se dividió entre el tiempo que duró el experimento, es decir, las horas en las que cada par de hojas estuvo expuesto a las orugas. Las diferencias en el área foliar removida de cada morfo por hora fueron analizadas utilizando una prueba de  $t$  pareada (JMP, SAS Institute 2001).

### **Folivoría**

En los mismos individuos en que se realizaron las mediciones descritas anteriormente, 40 del morfo *Pin* y 40 del morfo *Thrum*, se marcaron con alambres numerados, 20 hojas elegidas sistemáticamente. Para que todos los niveles del dosel quedaran representados, primero se determinó el total de hojas de cada planta (contando una por una) y éste número se dividió entre 20, obteniendo así un número  $x$ . Posteriormente se colocó un alambre numerado cada  $x$  número de hojas. Se realizaron dos mediciones de herbivoría, la primera entre el 1 y el 5 de agosto y la segunda entre el 4 y el 6 de octubre. Estas fechas coinciden con los meses de mediados y finales de la época reproductiva. Para la

primera medición, se fotografiaron las hojas dañadas en pie, es decir, sin arrancarlas del árbol. Para la segunda, se colectaron todas las hojas marcadas para ser fotografiadas posteriormente, ya que su remoción ya no implicaba repercusiones para este estudio. El área original de cada hoja se estimó utilizando la ecuación  $A = 2.93 + 0.52 (l \times a)$  ( $N = 99$   $R^2 = 0.973$   $P < 0.0001$ ), en la que se incluyó un intervalo de tamaños de las hojas mayor. El porcentaje de área foliar consumida de cada morfo en los dos censos, se comparó con un ANDEVA de medidas repetidas. Los datos se normalizaron con la función arcoseno-raíz cuadrada.

### **Florivoría**

Como se describió anteriormente, en cada uno de los 6 conteos de flores e inflorescencias de los 40 individuos de cada morfo, se contaron éstas últimas asignándoles una de dos categorías, dañada y no dañada. Debido al patrón de consumo de las inflorescencias por parte de los herbívoros, la categoría de inflorescencias dañadas corresponde a las que estaban totalmente consumidas, con excepción de la base, mientras que las no dañadas estaban intactas (Figura 3). No se observaron inflorescencias con niveles intermedios de daño. Se obtuvo la proporción de inflorescencias consumidas por planta. Para estimar las diferencias en el porcentaje de inflorescencias consumidas en cada morfo, se realizó un análisis con ecuaciones de estimación generalizadas. Este análisis es una generalización de un modelo general lineal y permite estimar parámetros en datos correlacionados en el tiempo, con distribuciones no normales (Stokes *et al.* 2001), como es el caso de los conteos de florivoría, en que los mismos individuos fueron evaluados a lo largo de censos sucesivos.

### **Impacto de la herbivoría en la adecuación**

Se realizó un análisis de selección para evaluar el efecto de la herbivoría sobre la adecuación femenina (producción de frutos). Este análisis consistió en la creación de un modelo de regresión múltiple para predecir la adecuación relativa en función del morfo, el porcentaje de daño foliar (folivoría), el número de inflorescencias dañadas (florivoría) y sus interacciones.

Debido a la fuerte correlación entre el número de inflorescencias producidas (vigor) y la adecuación relativa, se eliminó la variación en la producción de frutos ocasionada por diferencias en el vigor, utilizando para el análisis los residuales de un



análisis de regresión entre el vigor y la adecuación relativa de cada planta. Esta se obtuvo dividiendo el número de frutos producido por planta entre el promedio de frutos producidos por la población.

Los residuales del modelo fueron verificados para asegurar que se cumplieran los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. El análisis de selección se expresó en dos gráficas tridimensionales, una por cada morfo, utilizando el programa Statistica 5.5 (StatSoft 1999).

Para detectar si hubo un patrón de densa dependencia entre la oferta de flores (vigor) y la florivoría, se estimó la correlación entre estas dos variables.

Todos los análisis descritos anteriormente se llevaron a cabo con el programa JMP 4.0.4 (SAS Institute 2001), con excepción del análisis de supervivencia y del de ecuaciones de estimación generalizadas, para los que se utilizó el programa SAS (SAS Institute, 1999).



## Resultados

### 1. Historia natural

Las flores de *P. horizontalis* duran un día, abren entre las cinco y las seis de la mañana y se marchitan al atardecer. Cada inflorescencia produce en promedio 17.5 ( $\pm$  0.8) flores, que abren de manera progresiva. En la figura 3 se muestra una inflorescencia intacta (a), el daño característico que producen los herbívoros florales (b) y una infrutescencia (c). Los frutos son fotosintéticos y maduran asincrónicamente dentro de la infrutescencia.



Figura 3. a) Inflorescencia intacta, b) Inflorescencia dañada c) Infrutescencia.

### Fenología

El periodo de floración de *P. horizontalis* en 2006 comenzó a principios de julio, antes de que se realizara el primer conteo y terminó a finales de agosto. En la figura 4 se muestra la producción acumulativa de flores por morfo, la pendiente de la curva indica que la mayor producción de flores se concentra en julio, disminuyendo con el paso del tiempo. El patrón de producción de inflorescencias en el tiempo no fue significativamente diferente entre los morfos florales ( $\chi^2 = 0.73$ ,  $gl = 1$   $P = 0.39$ ) y presentó un marcado pico alrededor del 14 de julio (Fig. 5).

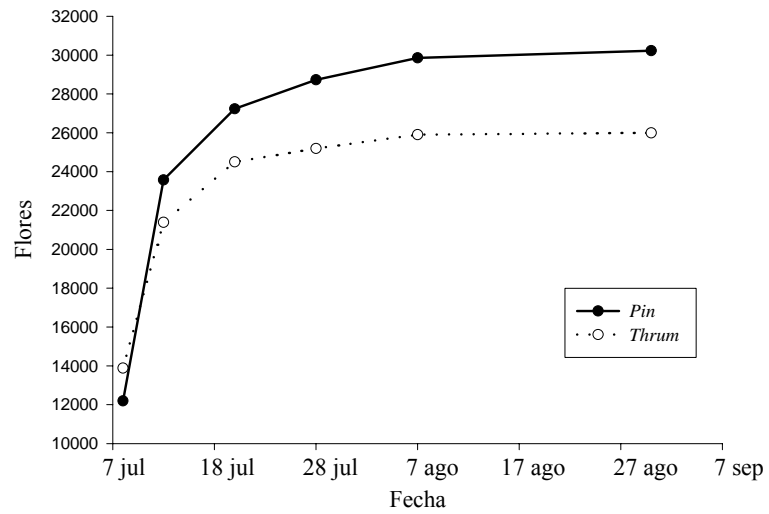


Figura 4. Producción acumulativa de flores entre el 8 de julio y el 7 de septiembre de 2006.

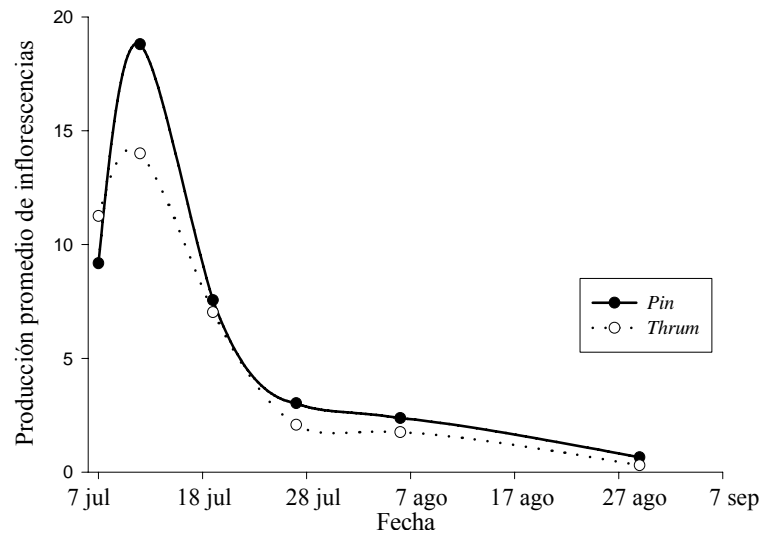


Figura 5. Producción promedio de inflorescencias por morfo.

La maduración de los frutos ocurrió dos meses después de la producción de las primeras flores y se extendió hasta octubre de 2006 (Fig. 6); en total se colectaron 5314 frutos, 3348 de los individuos del morfo *Pin* y 1966 de los individuos del morfo *Thrum*.

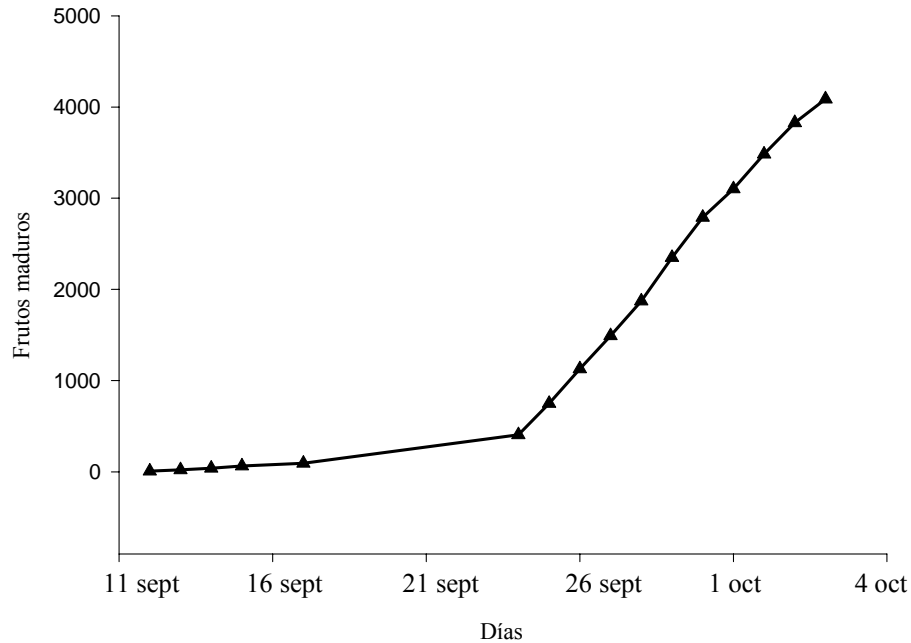


Figura 6. Producción acumulativa de frutos maduros considerados en ambos morfos conjuntamente.

### Visitantes florales

Se colectaron visitantes florales de los órdenes Hemiptera, Coleoptera, Diptera y Lepidoptera.

## 2. Biología Reproductiva

La proporción de los morfos florales en la población estudiada de *Psychotria horizontalis* fue de 1:1 ya que de 122 individuos muestreados, 61 pertenecieron al morfo *Pin* y 61 al *Thrum*.

### Producción de atributos reproductivos

En la figura 7 se muestra la producción promedio de flores, frutos inmaduros y maduros. No se comparó la producción de estos atributos entre morfos. En la figura 8 se muestran los valores del componente de adecuación femenina, que fue 0.6 veces mayor en las plantas del morfo *Pin* que en las del morfo *Thrum* (Tabla 2.1). El tamaño de la planta, que se tomó en cuenta como covariable, tuvo un efecto significativo sobre el componente de adecuación femenina (Tabla 2.1).

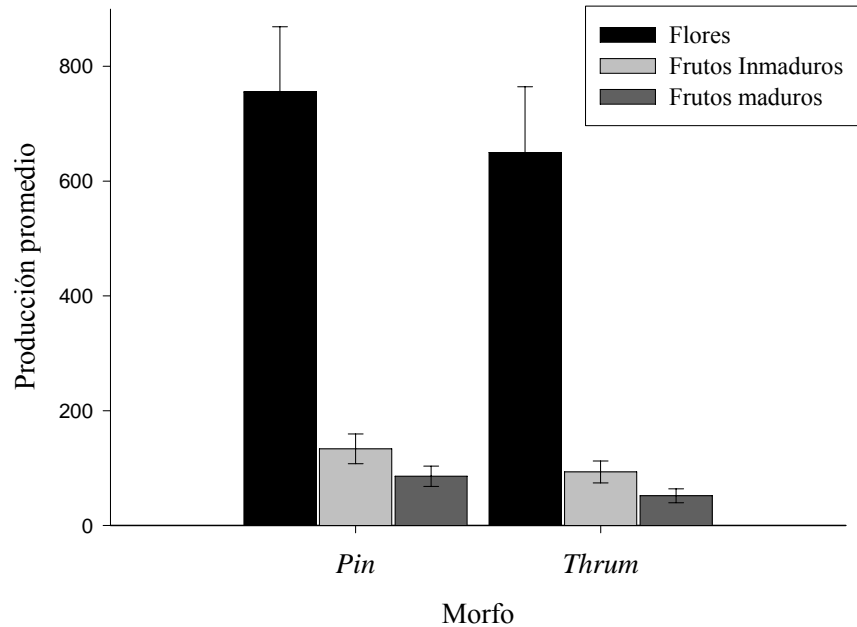


Figura 7. Producción de atributos reproductivos por morfo. En el eje X se muestran los atributos tomados en cuenta para obtener la variable multiplicativa y en el Y la producción promedio ( $\pm$  error estándar) por planta de cada atributo.

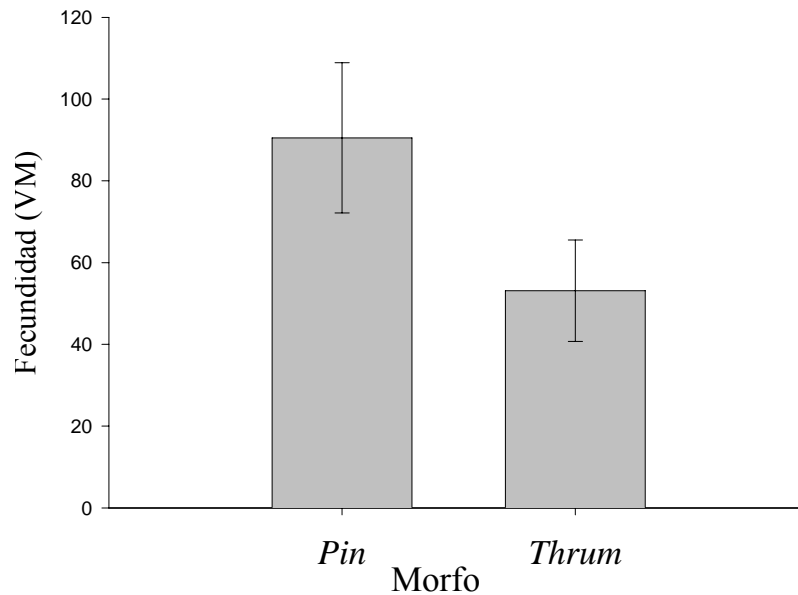


Figura 8. Valores y promedio ( $\pm$  error estándar) de la fecundidad estimada con la variable multiplicativa por morfo

Tabla 2.1. ANDECOVA del efecto del tamaño y del morfo en la fecundidad.

Fuente de variación	N parm	gl	Suma de cuadrados	F	P
Morfo	1	1	4.01	0.05	0.049
Tamaño	1	1	16.44	11.87	0.001

### Producción de néctar y peso de los frutos

La producción promedio de néctar de las flores del morfo *Pin* fue de  $0.49 \mu\text{L} \pm 0.04$  ( $n = 34$ ) y del morfo *Thrum* de  $0.51 \pm 0.05$  ( $n = 32$ ) (Fig. 9a) y no difirieron significativamente entre morfos ( $F_{1,65} = 0.03$ ,  $P = 0.85$ ).

El peso promedio de los frutos de los individuos del morfo *Pin* fue de  $0.129 \text{ g} \pm 0.005$  ( $n = 34$ ) y del morfo *Thrum* de  $0.127 \text{ g} \pm 0.003$  ( $n = 32$ ) (Fig. 9b). Este atributo tampoco fue significativamente diferente entre morfos ( $F_{1,69} = 0.091$ ,  $P = 0.764$ ).

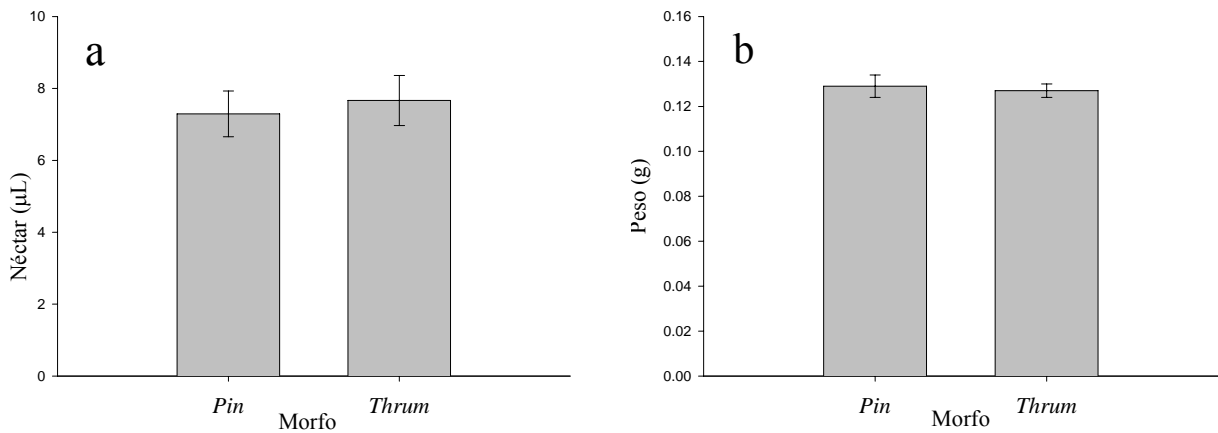


Figura 9. Producción de néctar promedio (a) y peso promedio de los frutos por morfo (b).

### 3. Herbivoría

#### Herbívoros

Se identificaron cuatro morfo-especies de herbívoros de *P. horizontalis*: H1 y H2 son larvas de mariposas del género *Xylophanes* (Sphingidae) (Com. Pers. A. Pescador); H4 de la familia Ctenuchinae y H7, que ya ha sido identificada como *Desmia ploralis* (Crambidae) (Solis M. A.) (Fig.10). El resto de las morfo-especies se encuentran bajo el proceso de identificación en el Smithsonian Institute, Washington D. C.

*Xilophanes* sp (H1) Larva



H1 Adulto



*Xilophanes* sp (H2) Larva



H2 Adulto



H4 Larva



H4 Adulto



*Desmia ploralis* (H7) larva



*Desmia ploralis* (H7) adulto



Figura 10. Morfo-especies de herbívoros registradas en *P. horizontalis*



A lo largo de 6 censos se registraron 43 herbívoros en total, 16 en el morfo *Pin* y 27 en el morfo *Thrum*. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre morfos en la diversidad de los herbívoros ( $\chi^2 = 1.97$ , gl = 3,  $P = 0.58$ ), ni en la abundancia de los mismos ( $\chi^2 = 2.81$ , gl = 1,  $P = 0.094$ , Fig. 11).

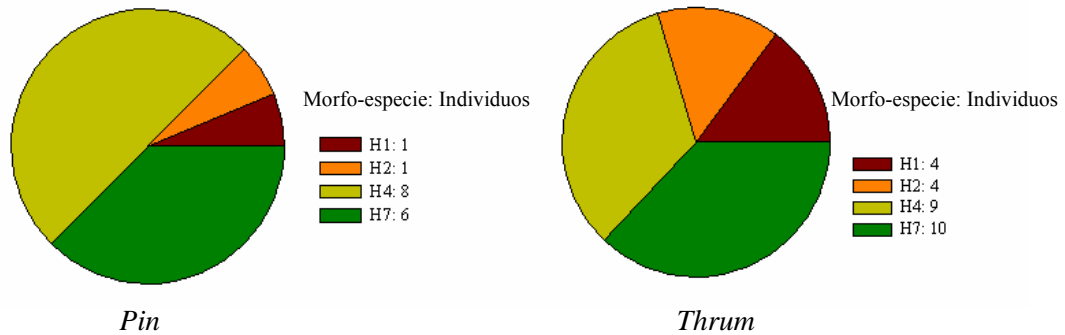


Figura 11. Abundancias relativas de los herbívoros censados por morfo entre julio y agosto de 2006.

### Palatabilidad

Las orugas utilizadas en la prueba de palatabilidad consumieron 1.31 veces más tejido de las plantas *Thrum* que de las plantas *Pin* ( $t = -126.5$ , gl = 38,  $P = 0.05$ ,  $n = 39$ , Fig. 12). Esto sugiere que los herbívoros generalistas sí tuvieron una preferencia marcada por el consumo del follaje del morfo *Thrum*.

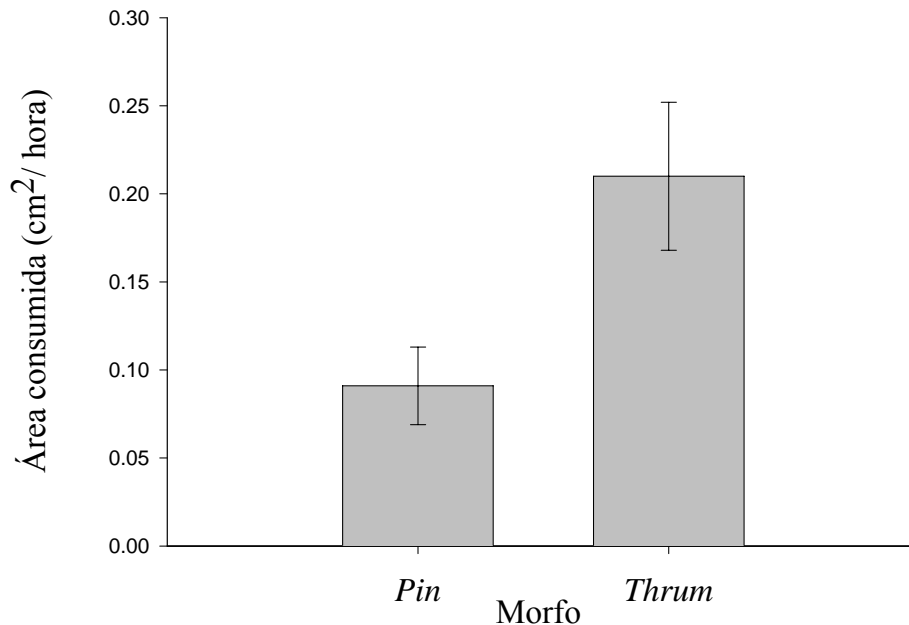


Figura 12. Promedio del área foliar consumida de cada morfo durante la prueba de palatabilidad.

### Folivoría

Los niveles de herbivoría en la población estudiada de *P. horizontalis* no difirieron entre morfos, pero sí entre un censo y otro (Fig. 13), aumentando con el paso del tiempo (Tabla 3.1). En el primer censo, el porcentaje de área foliar removida promedio del morfo *Pin* fue de 17.60% y en el segundo de 19.28%; mientras que en caso del morfo *Thrum*, en el primer censo fue de 21.49% y en el segundo de 24.85%.

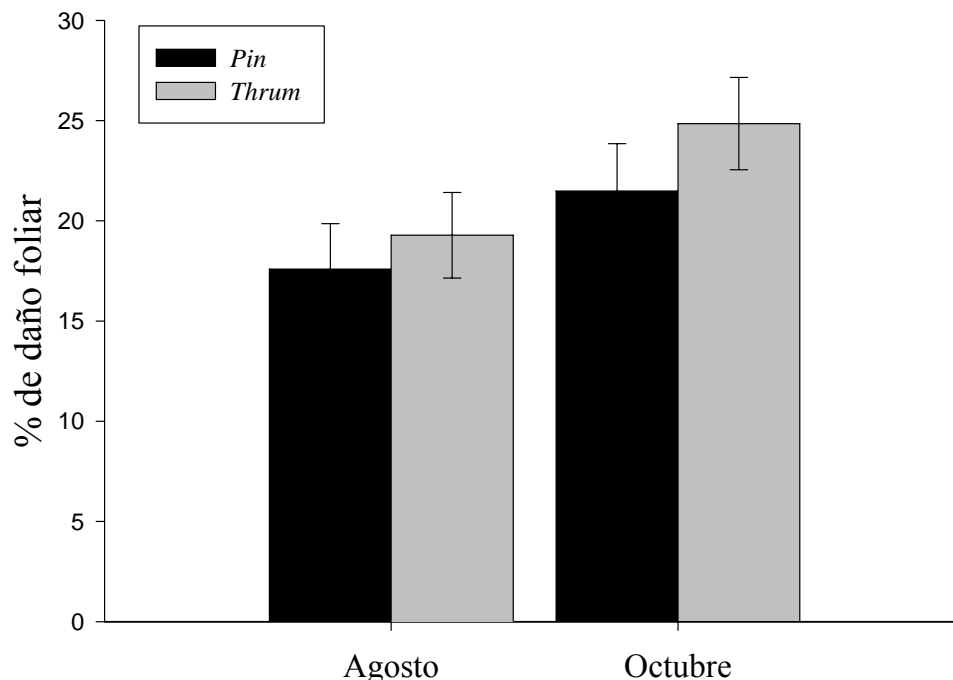


Figura 13. Porcentaje de daño foliar por morfo en agosto y en octubre de 2006.

Tabla 3.1. Análisis de varianza de medidas repetidas. Se muestra un efecto significativo del tiempo, pero no del morfo en el patrón de consumo del follaje de *P. horizontalis* por los herbívoros.

Fuente	Valor	<i>F</i> Exacta	gl numerador	gl denominador	<i>P</i>
Morfo	0.01	0.87	1	76	0.35
Censo	1.46	110.70	1	76	<0.0001
Morfo × Censo	0.001	0.099	1	76	0.75

### Florivoría

El porcentaje de inflorescencias con daño por herbívoros no difirió significativamente entre morfos ( $\chi^2 = 1.42$ ,  $gl = 1$ ,  $P = 0.23$ ), aunque sí a lo largo del tiempo ( $\chi^2 = 37.53$ ,  $gl = 3$ ,  $P <$

0.0001). La interacción entre el morfo y el tiempo no fue significativa ( $\chi^2 = 3.61$ , 3 gl  $P = 0.31$ , Fig. 14).

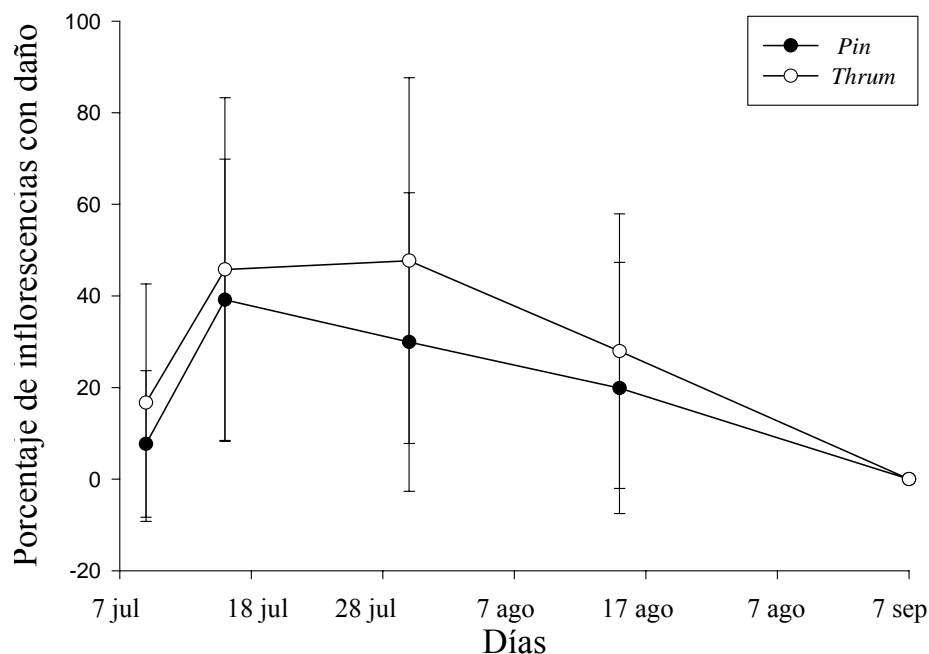


Figura 14. Porcentaje de inflorescencias con daño durante la época de floración. Se muestran los promedios por morfo  $\pm$  la desviación estándar.

#### 4. Impacto de la herbivoría en la adecuación

El número de inflorescencias producidas tuvo una correlación positiva con la adecuación femenina relativa ( $r = 0.69$   $P < 0.0001$ ). Los residuales de esta correlación se utilizaron para realizar el modelo que se describe a continuación.

En la tabla 4.1 se muestran los coeficientes de selección lineales ( $\beta$ ) y no lineales del efecto del morfo floral y los dos tipos de herbivoría (florivoría y folivoría) sobre la adecuación femenina residual (adecuación FRR). El modelo explica el 24 % de la variación total en la adecuación femenina ( $F = 2.93$ ,  $P = 0.01$ ).

Se encontró un efecto significativo de la interacción entre el morfo y la florivoría (Tabla 4.1), ya que el impacto negativo de la florivoría fue mayor en el morfo *Thrum* que en el *Pin* (Figura 15). De la misma manera, hubo un efecto significativo de la interacción entre la folivoría y la florivoría en la adecuación FRR (Tabla 4.1), lo que sugiere que distintas combinaciones de estos tipos de daño tienen como resultado valores de adecuación diferentes. Por un lado, en el morfo *Thrum* el punto de mayor adecuación coincidió con el punto de menor folivoría y florivoría; los valores intermedios de adecuación se registraron

cuando la folivoría era baja y la florivoría alta o viceversa, mientras que los valores más bajos se registraron en la combinación de los valores más altos de ambos tipos de herbivoría (Fig. 15 a).

Los valores de adecuación FRR predichos por el modelo para el morfo *Pin* fueron en general más altos que los predichos para el *Thrum* y tuvieron un patrón de distribución diferente de acuerdo a las combinaciones de ambos tipos de herbivoría (Fig. 15). En este caso, los valores de adecuación más altos se encontraron en los puntos de mayor folivoría en combinación con menor florivoría o de mayor florivoría en combinación con menor folivoría (Fig. 15 b). Los valores de adecuación intermedios, que son más altos que los mayores registrados para *Thrum*, se encontraron en la zona de las combinaciones de los niveles intermedios de ambos tipos de daño, mientras que los valores más bajos se encontraron en la zona donde se combinan los mayores niveles de ambos tipos de daño como sucedió en las plantas *Thrum*. Una diferencia importante con el morfo *Thrum* es que en el morfo *Pin*, la zona donde se combinan bajos niveles de ambos tipos de herbivoría corresponde a niveles de adecuación FRR bajos, que incluso menores a los predichos para el morfo *Thrum* en esa zona (Fig. 15). En el caso de los puntos con mayor florivoría, no hay valores registrados en el campo que se ajusten a ese patrón.

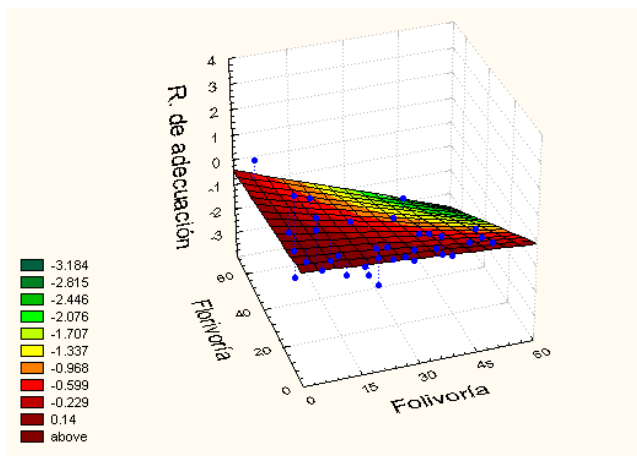
El vigor (número de inflorescencias producidas) tuvo una correlación positiva con la florivoría ( $r = 0.81$ ,  $P < 0.0001$ ), indicando que las plantas con un número mayor de inflorescencias eran las más atacadas por los florívoros. Esta correlación sugiere un efecto de denso dependencia en la florivoría.

Tabla 4.1. Análisis de selección de la herbivoría en los distintos morfos de *P. horizontalis*. Los valores corresponden a los valores de los gradientes de selección lineales  $\beta$  y no lineales.

\*  $P < 0.05$ .

Fuente de variación	$\beta$	Gradientes no lineales
Morfo	0.131	-
Folivoría	-0.005	-
Florivoría	-0.011	-
Morfo $\times$ Folivoría	-	0.009
Morfo $\times$ Florivoría	-	0.015*
Folivoría $\times$ Florivoría	-	-0.001*
Morfo $\times$ Folivoría $\times$ Florivoría	-	-0.001

a) *Thrum*



b) *Pin*

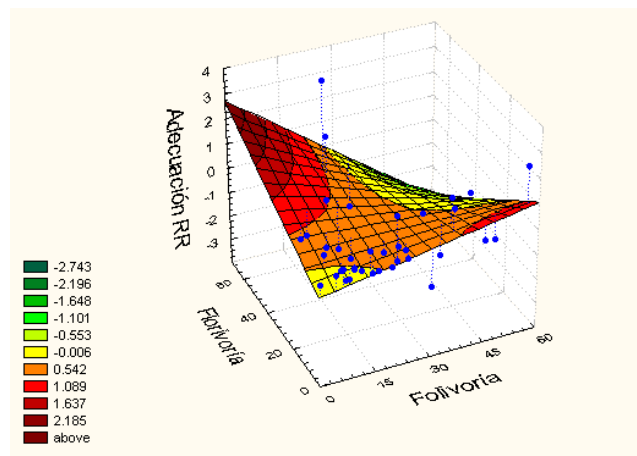


Figura 15. Valores de la adecuación relativa residual por morfo observados (puntos azules) y superficies de respuesta predichas por el análisis de selección en función de los niveles de folivoría y florivoría.

## Discusión

Los hallazgos más relevantes de este trabajo son, como se describe a continuación, que se encontraron indicios de especialización sexual en *P. horizontalis*, ya que la adecuación femenina de *Pin* fue mayor que la de *Thrum*. Por otro lado, se encontró que a pesar de que los niveles de florivoría y folivoría fueron iguales para ambos morfos, la susceptibilidad ante estos tipos de herbivoría fue diferente entre ellos. Esta susceptibilidad diferencial entre morfos podría aumentar las diferencias en adecuación femenina, por lo que la herbivoría podría contribuir con el proceso de especialización sexual en esta especie.

### Biología reproductiva

Los resultados sugieren que *P. horizontalis* presenta cierto grado de especialización sexual. El morfo *Pin* tuvo una producción de frutos 0.6 veces mayor que el *Thrum*. Estos resultados coinciden con la mayor parte de los casos reportados de especialización sexual en especies distílicas, en los que las plantas *Pin* se especializan en la función femenina y las *Thrum* en la masculina (Webb 1999). La proporción de morfos en la población (1:1) no sugiere que existan diferencias entre morfos en la adecuación total de los individuos, sin embargo, para determinar si las hay, sería necesario evaluar también caracteres de adecuación masculina. En otras especies se ha reportado que *Pin* produce significativamente más frutos, mientras que *Thrum* parece compensar su menor adecuación femenina por medio de la masculina, produciendo más polen (Lack y Kevan 1987).

De manera alternativa, podría ocurrir que ambos morfos tuvieran la misma adecuación femenina, pero con estrategias reproductivas diferentes, con *Pin* produciendo más frutos, pero de menor calidad que *Thrum*. Sin embargo, la estimación de la calidad de los mismos a partir de su peso fresco no reflejó diferencias significativas entre morfos. Sería recomendable hacer estudios de germinación para comprobar la calidad de las semillas producidas, ya que en *Erythroxylum havanense*, una especie distílica con especialización sexual, se han reportado diferencias en la calidad de las semillas, sin que existan diferencias en el peso fresco de los frutos (Ávila- Sakar y Domínguez 2000, Rosas *et al.* 2005)

Hubo un efecto significativo del vigor de las plantas (expresado tanto por el número de hojas como por el de inflorescencias) sobre su producción de flores y frutos, situación

que coincide con el común de las especies vegetales (Lloyd y Bawa, 1984, Herrera 1991). Sin embargo, ya que los individuos de ambos morfos no difirieron significativamente en estos atributos, es poco probable que las diferencias encontradas entre morfos se deban al vigor, como en el caso *Lithospermum croceum* (Boraginaceae), especie en la que la aparente especialización sexual se explica porque el mayor tamaño de las plantas *Pin* les permite producir más frutos que las *Thrum* (McCall 1996).

El volumen de néctar por flor no difirió significativamente entre los morfos. Esto coincide con otros estudios que muestran que los morfos florales de las especies heterostílicas producen néctar de la misma calidad y en igual cantidad (Arroyo y Dafni 1995, Leege y Wolfe 2002). De igual manera, ambos morfos de la población estudiada de *P. horizontalis* presentaron el mismo patrón fenológico, que coincide con el reportado por Domínguez-Licona para esta especie (2005). Estos datos sugieren que las diferencias en adecuación femenina no son promovidas por una recompensa para polinizadores diferencial entre morfos.

### **Herbivoría**

Los censos de herbívoros y las mediciones de herbivoría en campo indican que no hubo diferencias en el ataque por herbívoros entre los morfos. En contraste, la prueba de palatabilidad mostró una clara preferencia de los herbívoros por el follaje de las plantas *Thrum*. La palatabilidad de las plantas depende principalmente de los nutrientes y atributos de defensa que producen (Fraenkel 1959, Levin 1976, Stamp 2003), lo que hace suponer que el morfo *Pin* es menos nutritivo o está mejor defendido que el *Thrum*, ya sea con hojas más duras o con una mayor concentración de taninos. Sería recomendable realizar estudios sobre la composición química del follaje de ambos morfos para determinar de manera definitiva, cuál es la causa de la preferencia reportada.

En el caso de que la palatabilidad de los individuos de *P. horizontalis* se deba a la producción de caracteres de defensa, es posible que la inconsistencia entre los resultados de la prueba de palatabilidad y las mediciones de herbivoría en el campo se deba a que la primera fue realizada con herbívoros generalistas, que son más sensibles a la producción de defensas que los especialistas (Fritz 1992). En contraste, dos de las morfo-especies registradas en este estudio, H1 y H2, pertenecen al género *Xylophanes* (Com. Pers. A.

Pescador), que por lo general se alimenta de especies de la familia Rubiaceae, particularmente del género *Psychotria* (Janzen. y Hallwachs 2005). Si estos herbívoros especialistas no son sensibles a las defensas de *P. horizontalis*, podrían generar patrones de herbivoría similares en ambos morfos, a pesar de las diferencias en calidad detectadas por los herbívoros generalistas utilizados en la prueba de palatabilidad.

Otra posibilidad es que la preferencia de los herbívoros por un morfo u otro cambie a lo largo de la temporada reproductiva. Si la inversión reproductiva de los morfos fuera diferente en el tiempo (Delph 1990, Delph *et al.* 1993), se esperaría que *Pin*, el morfo más femenino, tuviera un mayor gasto durante la maduración de los frutos. Durante este tiempo, los individuos del morfo *Pin* podrían utilizar el carbono almacenado en sus hojas para la producción de frutos, reduciendo así su concentración de metabolitos secundarios. De esta manera, se incrementaría su palatabilidad conforme avanza la temporada reproductiva y los niveles de herbivoría entre morfos podrían igualarse. Sin embargo, el patrón de herbivoría registrado por las dos mediciones no sustenta esta afirmación, además sería necesario contar con datos sobre la inversión reproductiva y la concentración de taninos en las hojas a través del tiempo para sostener esta hipótesis.

Por último, la falta de diferencias en folivoría entre morfos podría ser promovida por una mayor influencia del tercer nivel trófico que por el grado de defensa de las plantas (Bernays y Graham 1988, Hunter y Price 1992, Erikson *et al.* 2004). Esto podría suceder si el costo de alimentarse de una planta con follaje de baja calidad nutricional fuera menor para los herbívoros que el costo que involucra la depredación (Damman 1987). Si este fuera el caso, el riesgo de depredación por aves y avispas podría incrementarse en plantas con pocas defensas y con altas densidades de herbívoros (Sipura 1999), o al moverse para buscar plantas de mejor calidad (Bergelson y Lawton 1988). Este escenario promovería una distribución homogénea de los herbívoros en la población de *P. horizontalis*, independientemente de sus niveles de defensa, homogeneizando los niveles de herbivoría. Sería recomendable realizar estudios posteriores para evaluar la posibilidad de que sean los enemigos naturales de los herbívoros los que determinan su distribución y como consecuencia el daño foliar en *P. horizontalis*.

La posibilidad de que los herbívoros afecten los sistemas reproductivos de las plantas de manera directa (Steets y Ashman 2004, Ivey y Carr 2005, Ashman *et al.* 2004) y



de manera indirecta afectando su relación con los polinizadores (Lehtilä y Strauss 1997, Strauss 1997, Krupnick y Weis 1999), ya ha sido propuesta, sin embargo, la posibilidad de que el tercer nivel trófico juegue también un papel en este proceso, moldeando los patrones de distribución de los herbívoros y restringiendo así las presiones que pudieran representar para la especialización sexual, no se ha sugerido antes y requiere de mayor atención en investigaciones futuras.

### **Impacto de la herbivoría en la adecuación**

En ambos morfos florales se encontró que la combinación de altos niveles de los dos tipos de herbivoría tuvo como consecuencia una reducción en los niveles de adecuación femenina. Esta situación no es sorprendente, debido a que los efectos negativos de ambos tipos de herbivoría sobre la adecuación ya se han descrito y están bien fundamentados (Harper 1977, Coley *et al.* 1985, Ricklefs y Miller 1999, McCall e Irwin 2006).

Se encontraron diferencias interesantes entre los efectos no aditivos de combinaciones particulares de cada tipo de de herbivoría. Por un lado, el morfo *Thrum* tuvo una baja capacidad para tolerar ambos tipos de herbivoría, ya que sus niveles más altos de adecuación femenina correspondieron a los niveles más bajos de ambos tipos de daño. Sin embargo, este morfo mostró una capacidad para tolerar la folivoría cuando los niveles de florivoría eran bajos y viceversa, pero no para tolerar simultáneamente niveles intermedios o altos de ambos tipos de daño.

Por otro lado, el morfo *Pin* mostró una capacidad mayor que la del *Thrum* para tolerar niveles intermedios de ambos tipos de herbivoría; mostrando inclusive patrones de sobrecompensación ante un solo tipo de daño, ya que cuando se presentaron niveles bajos de ambos tipos de herbivoría, la adecuación fue menor que cuando se presentaron niveles intermedios. El modelo predice una tendencia en este morfo, que concuerda con los datos registrados en el campo, a tolerar altos niveles de florivoría y altos niveles de folivoría, siempre y cuando no ocurran simultáneamente. Esta situación sugiere que las plantas *Pin* tienen limitaciones energéticas para tolerar altos niveles de ambos tipos de herbivoría.

La tolerancia observada en *Pin* podría ser promovida gracias a la expresión de mecanismos de compensación como el incremento en las tasas fotosintéticas, la reasignación de recursos o la activación de meristemos (Stowe *et al.* 2000). En el caso de la

folivoría, cuando esta se da en las primeras etapas de la temporada reproductiva, las plantas tienen tiempo para mitigar los efectos sobre la producción de frutos durante el periodo de maduración de los mismos (Maschinski y Whitham 1989). También hay mecanismos particulares que permiten tolerar los efectos de los florívoros, como la producción de más flores, el aborto de las flores dañadas y consecuente reasignación de los recursos que se iban a destinar a ellas, a las flores remanentes y el incremento en el atractivo para los polinizadores de las flores que se producirán subsecuentemente (Louda 1982, McCall e Irwin 2006). Las diferencias observadas en la capacidad de cada morfo de tolerar ambos tipos y niveles de herbivoría, podrían ser explicadas bajo el mismo razonamiento que el utilizado para explicar una asignación diferencial a la defensa: Si los morfos difieren en las tasas intrínsecas de crecimiento y el *Thrum* crece más rápido que el *Pin*, entonces el *Pin* tendría una reserva de recursos adicional para asignar a la tolerancia. Los resultados de la prueba de palatabilidad sugieren que el morfo *Thrum* es menos resistente que el *Pin* y dado que no se observaron diferencias en los niveles de daño foliar entre morfos, entonces probablemente *P. horizontalis* es una de las especies en las que la mejor estrategia para lidiar con los herbívoros ya no es la resistencia, sino la tolerancia (Jokela *et al.* 2000).

Por otro lado, si la capacidad fotosintética de los frutos permite tener una tolerancia mayor a la herbivoría (Bazzaz *et al.* 1997), el morfo *Pin*, que tuvo más frutos podría obtener un mayor beneficio de fotosintatos adicionales.

Los efectos negativos de la florivoría en la adecuación pueden ser directos (McCall e Irwin 2006), ya que ésta implica el consumo de los gametos y los órganos sexuales (Krupnick y Weis 1999, Leege y Wolfe 2002), además de que disminuye significativamente la calidad y la cantidad de las flores que se producen después del daño (McCall 2006). Por otro lado, la florivoría también tiene efectos directos en la adecuación, ya que puede provocar alteraciones en la conducta de los polinizadores como consecuencia de los cambios que implica en el despliegue floral (Lehtilä y Strauss 1997). Este estudio no permite distinguir en qué medida los efectos nocivos de ésta fueron directos o indirectos, por lo que sería recomendable realizar estudios más detallados.

Las diferencias observadas en adecuación femenina entre morfos podrían estar relacionadas con las respuestas diferenciales ante el daño por herbívoros. De ser así, la herbivoría en *P. horizontalis* podría contribuir y reforzar el proceso de especialización

sexual, pero a diferencia de lo que se ha sugerido en otros estudios, no es a través del consumo diferencial de los órganos florales (Olesen 1979, Leege y Wolfe 2002) ni como consecuencia de distintos niveles de folivoría entre morfos (Ornelas *et al.* 2004). En este caso las diferencias entre morfos se encuentran en la manera en que estos responden ante la herbivoría. Por alguna razón hasta ahora desconocida, el morfo *Pin* tiene una mayor capacidad que el *Thrum* para tolerar la florivoría y la folivoría mediante la producción de más frutos. Este constituye el primer reporte de diferencias en la capacidad compensatoria a la herbivoría entre morfos de especies heterostílicas.

## **Conclusiones**

Este estudio aporta evidencias de que es necesario entender la evolución de los sistemas reproductivos en un contexto en el que las plantas interactúan con diversos enemigos naturales; ya que éstos pueden ejercer presiones ecológicas importantes que moldeen las estrategias de asignación de recursos a la reproducción en las plantas.

A pesar de que no se encontraron diferencias en los niveles de florivoría y daño foliar como se ha reportado en otros sistemas, este estudio sugiere diferencias en la susceptibilidad de cada morfo al daño por florívoros y folívoros y en su capacidad de compensarlo, proponiendo así que esta capacidad podría ser un factor importante en el proceso de especialización sexual.

## Referencias

- Agrawal, A. A., Strauss, S. Y. y M. J. Stout. 1999. Costs of induced responses and tolerance to herbivory in male and female fitness components of wild radish. *Evolution* 53: 1093-1104.
- Ågren J., Danell K., Elmqvist T., Ericson L. y J. Hjältén. 1999. Sexual Dimorphism and Biotic Interactions. En Geber M. A, Dawson T.E. y L. F. Delph (Eds). *Gender and Sexual Dimorphism in Flowering Plants*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Berlin, pp 217-246.
- Ågren J. 1988. Sexual differences in biomass and nutrient allocation in the dioecious *Rubus chamaemorus*. *Ecology* 69: 962-973.
- Arroyo J. y Dafni A. 1995. Variations in habitat, season, flower traits and pollinators in dimorphic *Narcissus tazetta* L. (Amaryllidaceae) in Israel. *New Phytologist* 129: 135-145.
- Ashman T. 1994. Reproductive allocation in hermaphrodite and female plants of *Sidalcea oregana* ssp. *Spicata* (Malvaceae) using four currencies. *American journal of botany* 81: 433-438.
- Ashman T. 2002. The role of herbivores in the evolution of separate sexes from hermaphroditism. *Ecology* 83: 1175-1184.
- Ashman T., Cole D. H. y M. Bradburn. 2004. Sex-differential resistance and tolerance to herbivory in a gynodioecious wild strawberry. *Ecology* 85:2550-2559.
- Avila-Sakar G. y C. A. Domínguez. 2000. Parental effects and gender specialization in a tropical heterostylous shrub. *Evolution* 54: 866-877.
- Barrett, S. C. H. 1992a. Heterostylous genetic polymorphisms: Model systems for evolutionary analysis. En Barrett H. (ed). 1992. *Evolution and function of heterostyly*. Springer-Verlag, Berlin, pp 1-29.
- Barrett, S. C. H. 1992b. Gender variation in *Wurmbea dioica* (Liliaceae) and the evolution of dioecy. *Journal of evolutionary biology* 5: 423-444.
- Bazzaz, A. F. 1997. Allocation of resources in plants: state of the science and critical questions. En Bazzaz A. F. y J. Grace (eds). *Plant resource allocation*. Academic press, EU, pp 1-37.
- Beach, J. H. y K. S. Bawa. 1980. Role of pollination in the evolution of dioecy from distyly. *Evolution* 34: 1138-1142.
- Bernays E. y Graham M. 1988. On the evolution of host specificity in phytophagous arthropods. *Ecology* 69: 886-892.
- Bergelson J. M. y J. H. Lawton 1988. Does foliage damage influence predation on the insect herbivores of birch? *Ecology* 69:434-435.
- Brunet J. 1992. Sex allocation in hermaphroditic plants. *Trends in ecology and evolution* 7: 79-84.
- Campbell D. R. 2000. Experimental tests of sex- allocation theory in plants. *Trends in ecology and evolution* 15: 227- 232.
- Casper B. B. 1992. The application of sex allocation theory to heterostylous plants. En Barrett H. (ed). *Evolution and function of heterostyly*. Springer-Verlag, Berlin, pp 209-221.
- Charnov, E. L. 1984. Behavioural ecology of plants. En Krebs J. R. y N. B. Davis (eds) 2a ed. *Behavioural ecology*. Blackwell, Oxford, pp 362-380.
- Charlesworth D. y M. T. Morgan 1991. Allocation of resources to sex functions in flowering plants. *Philosophical transactions: Biological sciences* 332: 91-102.

- Cole D. H. y T. Ashman. 2005. Sexes show differential tolerance to spittlebug damage and consequences of damage for multi-species interactions. *American journal of botany* 92: 1708-1713.
- Coley, P. D., Bryant J. P. y F. S. Chapin. 1985. Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science* 230: 895-899.
- Cornelissen T. y P. Stiling. 2005. Sex-biased herbivory: a meta-analysis of the effects of gender on plant-herbivore interactions. *Oikos* 111: 488-500.
- Damman H. 1987. Leaf quality and enemy avoidance by the larvae of a pyralid moth. *Ecology* 68:88-97.
- Delph L. F. 1990. Sex-Differential resource allocation patterns in the subdioecious shrub *Hebe subalpina*. *Ecology* 71: 1342-1351.
- Delph L., Lu Y. y L. D. Jayne. 1993. Patterns of resource allocation in a dioecious carex (Cyperaceae). *American journal of botany* 80: 607-615.
- Delph L.F. 1999. Sexual dimorphism in live history .En Geber M. A, Dawson T.E. y L. F. Delph (Eds). *Gender and Sexual Dimorphism in Flowering Plants*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin, pp 149-173.
- Domínguez C. A. 1995. Genetic conflicts of interest in plants. *Trends in ecology and evolution* 10: 412-416.
- Dominguez C. A., Avila- Sakar G., Vazquez- Santana S. y J. Marquez-Guzmán. 1997. Morph biased male sterility in the tropical distylous shrub *Erythroxylum havanense* (Erythroxylaceae). *American journal of botany* 84:626-632.
- Domínguez- Licona E. 2005. La familia Rubiaceae Juss. En la estación de biología de Chamela (Jalisco), IBUNAM. Tesis de maestría. Instituto de Biología, UNAM, México.
- Dulberger R. 1992. Floral polymorphisms and their functional significance in the heterostylous syndrome. En Barrett H. (ed). 1992. *Evolution and function of heterostyly*. Springer-Verlag, Berlin, pp 41-84.
- Eppley S. M. 2006. Females make tough neighbors: sex-specific competitive effects in seedlings of a dioecious grass. *Oecologia* 146:549-554.
- Erikson A. A., Bell S. S. y C. Dawes. 2004. Does mangrove leaf chemistry help explain crab herbivory patterns? *Biotropica* 36:333-343.
- Fox G. 1990. Drought and the evolution of flowering time in desert annuals. *American journal of botany* 77:1508-1518.
- Fraenkel G. S. 1959. The raison d'Être of secondary plant substances. *Science* 129: 1466-1470.
- Frazee J. E. y R. J. Marquis. 1994. Environmental contribution to floral trait variation in *Chamaecrista fasciculata* (Fabaceae: Caesalpinoideae). *American journal of botany* 81:206-215.
- Freeman R. S., Brody A. K. y C. D. Neefus. 2003. Flowering phenology and compensation for herbivory in *Ipomopsis aggregata*. *Oecologia* 136: 394-401.
- Fritz R.S. 1992. Community structure and species interactions of phytophagous insects on resistant and susceptible host plants. En Fritz R. S. y E. Simms (eds). *Plant Resistance to herbivores and pathogens: Ecology, evolution and genetics*. The University of Chicago Press. Chicago, EU, pp 240-277.
- García Oliva F., Camou A. y J. M. Maass. 2002. El clima de la región central de la costa del Pacífico mexicano. En Noguera F.A., Vega R. J.H. García A. A. y A. M. Quesada (eds). *Historia Natural de Chamela*. Instituto de Biología UNAM, México. pp 3-10.
- Gurevitch J., Scheiner S. M. y G. A. Fox. 2002. *The ecology of plants*. Sinauer Associates, Sunderland Massachusetts.

- Harper J. L. 1977. Population biology of plants. Academic press, New York.
- Hendrix S. D. 1988. Herbivory and its impact on plant reproduction. En Lovett Doust J. y L. Lovett Doust (eds). Plant reproductive ecology: Patterns and strategies. New York Oxford University Press, pp 246-263.
- Herrera C. M. 1991. Dissecting factors responsible for individual variation in plant fecundity. *Ecology* 72:1436-1448.
- Horovitz, A. 1978. Is the hermaphrodite flowering plant equisexual? *American journal of botany* 65: 485-486.
- Hunter M. D. y P. W. Price. 1992. Playing chutes and ladders: heterogeneity and the relative roles of bottom-up and top-down forces in natural communities. *Ecology* 73:724-732.
- Irwin R. E. y L. S. Adler. 2006. Correlations among traits associated with herbivore resistance and pollination: implications for pollination and nectar robbing in a distylous plant. *American journal of botany* 93: 64-72.
- Ivey C. T. y D. E. Carr. 2005. Effects of herbivory and inbreeding on the pollinators and mating system of *Mimulus guttatus* (Phrymaceae). *American journal of botany*. 92:1641-1649.
- Janzen, D. H. y W. Hallwachs. 2005. Dynamic database for an inventory of the macrocaterpillar fauna, and its food plants and parasitoids, of Area de Conservacion Guanacaste (ACG), northwestern Costa Rica (nn-SRNP-nnnnn voucher codes) <<http://janzen.sas.upenn.edu>>.
- Karban, R. e I. T. Baldwin. 1997. Induced responses to herbivory. Chicago Press, Chicago.
- Khon J. R. 1989. Sex ratio, seed production, biomass allocation, and the cost of male function in *Cucurbita foetidissima* HBK (Cucurbitaceae).
- Klinkhamer, P. G. L. y T. T. de Jong. 1997. Size dependent allocation to male and female reproduction. En Bazzaz A. F. y J. Grace (eds). Plant resource allocation. Academic press, San Diego, pp 211-229.
- Klinkhamer, P. G. L., de Jong T. T. y H. Metz. 1997. Sex and size in cosexual plants. *Trends in ecology and evolution* 12: 260-265.
- Koelewijn H. P. y M. P. H. Hunscheid. 2000. Intraspecific variation in sex allocation in hermaphroditic *Plantago cronopus* (L.). *Journal of Evolutionary Biology* 13: 302-305.
- Krupnick G. A. y A. E. Weis. 1999. The effect of floral herbivory on male and female reproductive success in *Isomeris arborea*. *Ecology* 80: 135-149.
- Lack a. J. y J. Kevan. 1987. The reproductive biology of a distylous tree, *Sarcotheca celebica* (Oxalidaceae) in Sulawesi, Indonesia. *Botanical journal of the Linnean society* 95: 1-8.
- Leege L. M. y L. M. Wolfe. 2002. Do floral herbivores respond to variation in flower characteristics in *Gelsemium sempervirens* (Loganiaceae) a distylous vine? *American journal of botany* 89:1270-1274.
- Lerdau, M. y J. Gershenzon. 1997. Allocation theory and chemical defense. En Bazzaz A. F. y J. Grace (eds). Plant resource allocation. Academic press, San Diego, pp. 265-277.
- Levin D. A. 1976. The chemical defenses of plants to pathogens and herbivores. *Annual review of ecology and systematics* 7: 121-159.
- Lehtilä K. y S. Y. Strauss. 1997. Leaf damage by herbivores affects attractiveness to pollinators in wild radish, *Raphanus raphanistrum*. *Oecologia* 111: 396-403.
- Lloyd D. G. y Webb 1992. Evolution of heterostily. En S. C. H. Barrett (ed) *Evolution and function of heterostyly*, Springer-Verlag, Berlin, pp 151-178.
- Lloyd, D. G. y K. S. Bawa. 1984. Modification of gender of seed plants in varying conditions. *Evolutionary biology* 17: 255- 338.

- Lott E. J. y T. H. Atkinson. 2002. Biodiversidad y fitogeografía de Chamela-Cuixmala, Jalisco. En Noguera F.A., Vega R. J.H. García A. A. y A. M. Quesada (eds.). Historia Natural de Chamela. Instituto de Biología UNAM, México, pp 83-97.
- Lott, E. J., Bullock S. H. y A. Solis- Magallanes. 1987. Floristic diversity and structure of upland and arroyo forests of coastal Jalisco. *Biotropica* 19: 228-232.
- Louda S. M. 1982. Limitation of the recruitment of the shrub *Haplopappus squarrosus* (Asteraceae) by flower- and seed- feeding insects. *Journal of ecology* 70: 43-53.
- Marquis R. J. 1992. Selective impacts of herbivores. En Fritz R. S. y E. L. Simms (eds). Plant resistance to herbivores and pathogens. University of Chicago press, Chicago, pp 301-325.
- Marquis R. J. 1984. Leaf herbivores decrease fitness of a tropical plant. *Science* 226: 537-539.
- Maschinski J. y T. G. Whitham. 1989. The continuum of plant responses to herbivory: the influence of plant association, nutrient availability, and timing. *The american naturalist* 134: 1-19.
- McCall C. 1996. Gender specialization and distyly in Hoary puccoon, *Lithospermum croceum* (Boraginaceae). *American journal of botany* 83: 162-168.
- McCall C. y R. E. Irwin. 2006. Florivory: the intersection of pollination and herbivory. *Ecology letters* 9:1351-1365.
- Miller J. y J. Lovett-Doust. 1987. The effects of plant density and snail grazing on female and male spinach plants. *New phytologist* 107: 613-621.
- Noguera F. A., Vega R. J. H., García A. A. N. 2002. Introducción. En Noguera F. A., Vega R. J. H., García A. A. y A. M. Quesada (eds.). Historia Natural de Chamela. Instituto de Biología UNAM, México, pp xv-xxi.
- Obeso J.R. 2002. The costs of reproduction in plants. *New phytologist*. 155: 321-348.
- Olesen J. M. 1979. Differential anther eating by snails in the heterostylous plant species, *Primula heliotor* (L.) HILL. *Acta botanica neerlandica*. 28: 519-521.
- Ornduff R. 1966. The origin of dioecism from heterostyly in *Nymphoides* (Menyanthaceae). *Evolution* 20: 309-314.
- Ornelas J. F., Gonzalez C., Jiménez L., Lara C. y J. A. Martínez. 2004. Reproductive ecology of distylous *Palicourea padifolia* (Rubiaceae) in a tropical montane cloud forest. II. Attracting and rewarding mutualistic and antagonistic visitors. *American journal of botany* 91: 1061-1069.
- Pollard A. J. 1992. The importance of deterrence: responses of grazing animals to plant variation. En Fritz S R y Simms L E. Plant resistance to herbivores and pathogens: ecology, evolution, and genetics. The University of Chicago Press EU, pp 216-239.
- Rosas L. F. Pérez- Alquicira J. y C. A. Domínguez. Environmentally induced variation in fecundity compensation in the morph-biased male-sterile distylous shrub *Erythroxylum havanense* (Erythroxylaceae). *American journal of botany*. 92: 116-122.
- Renner S. S. y R. E. Ricklefs 1995. Dioecy and its correlates in the flowering plants. *American journal of botany*. 82:596-606.
- Rhoades, D. F. 1979. Evolution of plant chemical defenses against herbivory. En G. A. Rosenthal y D. H. Janzen (eds). *Herbivores: their interaction with secondary plant metabolites*. Academic press, New York. 3-54.
- Ricklefs R. E. y G. L. Miller. 1999. *Ecology*, 4 ed. W. H. Freeman and company, New York. USA.
- Rosenthal J. P. y P. M. Kotanen. 1994. Terrestrial plant tolerance to herbivory. *Trends in ecology and evolution* 9: 145-148.



- Sagers C. L. 1992. Manipulation of host plant quality: Herbivores keep leaves in the dark. *Functional ecology* 6:741-743.
- Sagers C. L. y P. D. Coley. 1995. Benefits and costs of defense in a neotropical shrub. *Ecology* 76: 1835-1843.
- Saumitou-Laprade P., Cuguen J. y P. Vernet. 1994. Cytoplasmic male sterility in plants: molecular evidence and the nucleocytoplasmic conflict. *Trends in ecology and evolution* 9: 431-435.
- Sakai A. K. y S.G. Weller. 1999. Gender and sexual dimorphism in flowering plants: A review of terminology, biogeographic patterns, ecological correlates, and phylogenetic approaches. En Geber M. A, Dawson T.E. y L.F. Delph (eds). *Gender and sexual dimorphism in flowering plants*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Berlin, pp 1-25.
- SAS Institute. 2001. JMP. Version 4.0.4. Cary, North Carolina, USA.
- SAS Institute. 1999. SAS version 8.0. SAS Institute, Cary, N.C., USA.
- Sipura M. 1999. Tritrophic interactions: willows, herbivorous insects and insectivorous birds. *Oecologia* 121: 537-545.
- SPSS.1999. SigmaScan Pro 5.0. Users guide. SPSS Science, Chicago, EU.
- Stamp N. 2003. Out of the quagmire of plant defense hypotheses. *The quarterly review of biology* 7:23- 55.
- StatSoft, Inc. 1999. STATISTICA for windows version 5.5. StatSoft Inc, Tulsa. OK.
- Steets J.A. y T. Ashman. 2004. Herbivory alters the expression of a mixed-mating system. *American journal of botany* 91:1046-151.
- Stephenson, A. G. 1980. Fruit set, herbivory, fruit reduction, and the fruiting strat of *Catalpa speciosa* (Bignoniaceae). *Ecology* 61: 57-64.
- Stokes, M. E., C.S. Davis y G. G. Koch. 2001. *Categorical data analysis using the SAS system*. SAS Institute, Cary, North Carolina.
- Stowe K. A. Marquis R. J. Hochwender C. G. y E. L. Simms. 2000. The evolutionary ecology of tolerance to consumer damage. *Annual review of ecology and systematics* 31: 565-595.
- Strauss S. Y., Conner J.K. y S.L. Rush. 1996. Foliar herbivory affects floral characters and plant attractiveness to pollinators: implications for male and female plant fitness. *American naturalist* 147: 1098-1107.
- Strauss S.Y. 1997. Floral characters link herbivores, pollinators, and plant fitness. *Ecology* 78: 1640- 1645.
- Strauss S. Y. y Karban R. 1994. The significance of outcrossing in an intimate plant-herbivore relationship. I. Does outcrossing provide an escape from herbivores adapted to the parent plant? *Evolution* 48: 454- 464.
- Strauss S. Y., Siemans D. H., Dekker M. B. y T. Mitchell-Olds. 1999. Ecological costs of plant resistance to herbivores in the currency of pollination. *Evolution* 53: 1105-1113.
- Strauss S. Y. y P. Murch. 2004. Towards an understanding of the mechanisms of tolerance: compensating for herbivore damage by enhancing a mutualism. *Ecological entomology* 29: 234-239.
- Strauss S. Y., Watson W. y Allen M. T. 2003. Predictors of male and female tolerance to insect herbivory in *Raphanus raphanistrum*. *Ecology* 84: 2074-2082.
- Thompson J. D. y J. Brunet. 1990. Hypotheses for the evolution of dioecy in seed plants. *Trends in ecology and evolution* 5:11-17.
- Tiffin P. 2002. Competition and time of damage affect the pattern of selection acting on plant defense against herbivores. *Ecology* 83: 1981-1990.

- Webb C. J. 1999. Empirical studies: Evolution and maintenance of dimorphic breeding systems.. En Geber M. A, Dawson T.E. y L.F.Delph (eds). Gender and Sexual Dimorphism in Flowering Plants. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.Berlin, pp 61-90.
- Wyatt, R. 1986.Ecology and evolution of self-pollination in *Arenaria uniflora* (Caryophyllaceae), an endemic Hawaiian genus. Plant species biology 5: 83-96.
- Zangerl, A. R. y Bazzaz, F. A. 1992. Theory and pattern in plant defense allocation. En Fritz R. S. y E. L. Simms (eds). Plant resistance to herbivores and pathogens. University of Chicago press, Chicago, pp 363-391.