



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

BIOLOGÍA EVOLUTIVA

GENÉTICA CUANTITATIVA DE LA VARIACIÓN INTER E INTRAPOBLACIONAL

EN CARACTERES FLORALES DE *Datura stramonium*

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

BIÓL. ERIKA ROSALBA OLMEDO VICENTE

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. JUAN SERVANDO NÚÑEZ-FARFÁN
INSTITUTO DE ECOLOGÍA**

COMITÉ TUTOR: DRA. EK DEL VAL DE GORTARI

CENTRO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS (CIECO)

COMITÉ TUTOR: DR. JUAN PABLO JARAMILLO CORREA

INSTITUTO DE ECOLOGÍA

MÉXICO, D.F. JUNIO DE 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

BIOLOGÍA EVOLUTIVA

GENÉTICA CUANTITATIVA DE LA VARIACIÓN INTER E INTRAPOBLACIONAL

EN CARACTERES FLORALES DE *Datura stramonium*

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

BIÓL. ERIKA ROSALBA OLMEDO VICENTE

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. JUAN SERVANDO NÚÑEZ-FARFÁN
INSTITUTO DE ECOLOGÍA**

**COMITÉ TUTOR: DRA. EK DEL VAL DE GORTARI
CENTRO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS (CIECO)**

**COMITÉ TUTOR: DR. JUAN PABLO JARAMILLO CORREA
INSTITUTO DE ECOLOGÍA**

MÉXICO, D.F. JUNIO DE 2013

Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted, que el Subcomité de Biología Evolutiva y Sistemática, en su sesión ordinaria del día 04 de marzo de 2013, aprobó el jurado para la presentación de su examen para obtener el grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** del Posgrado en Ciencias Biológicas, de la alumna **OLMEDO VICENTE ERIKA ROSALBA** con número de cuenta 511012208 con la tesis titulada: titulada "**GENÉTICA CUANTITATIVA DE LA VARIACIÓN INTRA E INTERPOBLACIONAL EN CARACTERES FLORALES DE *Datura stramonium***", realizada bajo la dirección del **DR. JUAN SERVANDO NÚÑEZ FARFAN**:

Presidente: DRA. GUADALUPE JUDITH MÁRQUEZ GUZMÁN
Vocal: DR. JUAN ENRIQUE FORNONI AGNELLI
Secretario: DR. JUAN PABLO JARAMILLO CORREA
Suplente: DR. MAURICIO QUESADA AVENDAÑO
Suplente: DRA. EK DEL VAL DE GORTARI

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 20 de mayo de 2013.

M. del Coro Arizmendi

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA

c.c.p. Expediente del interesado.

Agradecimientos

Al Posgrado en Ciencias Biológicas y al Instituto de Ecología de la UNAM por aceptarme en el programa de Maestría y por el apoyo para la obtención del grado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca de maestría 363401/245322 otorgada durante el periodo del 1 agosto 2010 a 30 julio 2012.

A los miembros del Comité Tutor: Dra. Ek del Val de Gortari, Dr. Juan Pablo Jaramillo Correa y Dr. Juan Núñez-Farfán. Gracias por su asesoría y comentarios durante todo el desarrollo de mi proyecto.

Agradecimientos a título personal

Al Dr. Juan Núñez- Farfán por aceptarme como su estudiante en el laboratorio, por todo el apoyo para el desarrollo del proyecto de investigación y principalmente por brindarme su amistad.

A la Dra. Ek del Val de Gortari y al Dr. Juan Pablo Jaramillo- Correa, gracias por sus valiosos comentarios durante todo desarrollo del proyecto.

A la Dra. Judith Márquez, al Dr. Juan Enrique Fornoni Agnelli y Al Dr. Mauricio Quesada Avendaño por ser parte del Jurado y por sus comentarios pertinentes.

A la M en C. Rosalinda Tapia, por todo el apoyo logístico para realizar el trabajo de campo, el experimento y el trabajo en el laboratorio.

A la M en C. Laura Lorena Cruz por su apoyo durante todo el desarrollo del experimento.

Al M en C. Guillermo Castillo por apoyo en todas las salidas de campo.

A todos mis compañeros y amigos del laboratorio de Genética Ecológica y Evolución. Gracias por su apoyo en el experimento, por sus sugerencias y retroalimentación cotidiana, pero más que nada, por su amistad y por todos los momentos divertidos que hemos compartido juntos. Gracias a Pili, Mariana, Vania, Eunice, Iván, Lily, Yorch, Memo, Marisol, Adán, Cruz, Lore, Rose.

A mi querida familia por su cariño y apoyo incondicional, a Rosalba Ivette y Nicole A la familia Orozco-Vicente por recibirme siempre con los brazos abiertos. A Dafne, mi hermanita de la vida, gracias por estar conmigo. A Jerónimo por su apoyo incondicional y por ser parte de mi vida.

A mi madre

Índice

Resumen en español.....	9
Resumen en inglés.....	11
Introducción.....	13
Metodología.....	19
Resultados.....	30
Discusión.....	47
Conclusiones.....	56
Literatura citada	57

Resumen

La evolución de las flores y sus caracteres constitutivos ha sido promovida por la selección natural impuesta por los polinizadores, generando diferenciación genética y fenotípica entre poblaciones. La respuesta a la selección requiere la existencia de variación genética al interior de las poblaciones, sin embargo puede verse afectada también por la covariación entre caracteres, que puede acelerar o restringir la evolución floral adaptativa. En este estudio, analicé la variación interpoblacional en ocho rasgos florales de la herbácea anual *Datura stramonium* (Solanaceae) mediante un experimento de jardín común, empleando progenies (hermanos completos) de once poblaciones. *Datura stramonium* produce flores solitarias, tiene un sistema de apareamiento mixto y síndrome de polinización por esfíngidos. Los resultados indicaron que: 1) Existe variación fenotípica interpoblacional en todos los rasgos florales analizados: largo y ancho de la corola, largo del estambre y estilo, hercogamia, largo de la cámara de néctar, distancia a la punta de la corola (longitud entre funciones sexuales y borde de la corola) y largo del pedicelo. 2) Las poblaciones están diferenciadas genéticamente (Q_{ST}) en todos los rasgos florales analizados, siendo mayor que la esperada en rasgos neutrales (F_{ST}). 3) Los rasgos florales poseen varianza genética y heredabilidad significativa (en sentido amplio) que varía entre poblaciones. 4) El fenotipo floral de *D. stramonium* están significativamente integrado en todas las poblaciones, con un máximo de integración floral del 28.4%. Los pares de caracteres con la correlación más alta fueron el largo de la corola-largo del estambre, largo de la corola-largo de la cámara de néctar, largo del estambre-largo del estilo y largo del estambre-largo de la cámara de néctar. 6) La estructura de la matriz de varianza-covarianza difiere entre poblaciones y podría afectar la respuesta a la selección. Por lo tanto, esta investigación da indicios de que la selección direccional ha generado diferenciación adaptativa entre poblaciones de *Datura stramonium*, en rasgos asociados con la atracción y recompensa de polinizadores así como en rasgos asociados con el sistema de apareamiento. Por otro lado, se sugiere que los caracteres florales potencialmente podrían responder a presiones selectivas futuras y seguir trayectorias distintas, debido a diferencias en la estructura de la matriz **G**.

Palabras claves: variación, caracteres florales, heredabilidad, correlaciones, diferenciación poblacional, integración fenotípica, matriz **G**.

Abstract

The evolution of flowers and their constitutive traits has been promoted by natural selection imposed by pollinators, generating phenotypic and genetic differentiation among populations. Response to selection in flower traits makes necessary the presence of genetic variation within populations, however, even when present, flower evolution may also be affected by the covariance among traits, which may accelerate or slow adaptive floral evolution. In this study, I analyzed the variation in eight floral traits of the annual weed *Datura stramonium* (Solanaceae), among eleven populations through a common garden experiment using progenies (full siblings). *Datura stramonium* produces solitary flowers, has mixed mating system, and hawkmoth pollination syndrome. The results showed that: 1) There is phenotypic variation among populations in all analyzed floral traits: length and width of the corolla, stamen and style length, herkogamy, chamber length, the distance to corolla mouth (length between sexual functions and the corolla edge) and pedicel length. 2) Populations are genetically differentiated (Q_{ST}) in all analyzed floral traits, and the magnitude of population differentiation exceeded the expected value under neutral differentiation (F_{ST}). 3) Floral traits have significant genetic variance and heritability (in the broad sense), both parameters showing variation between populations. 4) The floral phenotype of *D. stramonium* is significantly integrated in all populations, with a maximum floral integration of 28.4 %. Pair-wise correlations between characters indicate that was corolla length-stamen length, corolla length-nectar chamber length, stamen length-style length and stamen length-nectar had the higher correlations 6) The structure of the variance-covariance matrix differed between populations and may affect the response to the selection. Therefore, this research provides evidence consistent with an scenario of adaptive differentiation among populations of *Datura stramonium* in traits associated with pollinator attraction and rewarding as well as traits associated with mating system. Furthermore, it is suggested that potentially, floral characters might respond to future selective pressures and to follow different trajectories due to differences in the structure of the **G** matrix.

Keywords: variation, floral traits, heritability, correlations, population differentiation, phenotypic integration, **G** matrix.

Introducción

La variación fenotípica de las flores ha llamado la atención de los biólogos evolutivos desde la publicación del libro “On the various contrivances by which orchids are fertilised by insects...” (Darwin, 1862), donde Darwin expone, de manera asombrosa, que la extensa variación floral es la consecuencia de la selección natural, para favorecer el entrecruzamiento mediante la interacción entre planta-polinizador (por ejemplo, mediante el ajuste perfecto entre el tamaño del polinizador y la forma de la flor). Gracias a este y otros trabajos, Darwin sentó las bases del estudio de la evolución floral. A partir de entonces este campo ha crecido de manera sorprendente y ha incorporado otras disciplinas como la genética cuantitativa para entender mejor las causas de la variación fenotípica en caracteres florales (Crane, *et al.* 2010).

¿Cuánta variación genética poseen las poblaciones en rasgos fenotípicos florales y cómo éstos se correlacionan entre sí?, son preguntas relevantes debido a que la evolución adaptativa requiere varianza genética aditiva. A partir de aproximaciones experimentales (regresión padre-hijo, análisis de progenies) es posible separar los componentes genético y ambiental de la variación fenotípica y determinar su importancia relativa. Mediante esta aproximación, los estudios cuantitativos nos permiten hacer inferencias sobre las fuerzas evolutivas que han estructurado las poblaciones y realizar predicciones sobre la dinámica evolutiva poblacional de los caracteres florales a corto plazo (Falconer y Mackay 1996; Lynch y Walsh, 1998; Byers, 2008).

La dinámica evolutiva de los caracteres fenotípicos está determinada por su capacidad de respuesta a la selección. La respuesta a la selección univariada se ha resumido en la ecuación $R = h^2S$, donde R es el cambio en la media de un rasgo seleccionado entre generaciones, como resultado del producto de la varianza genética aditiva del carácter (heredabilidad, h^2) y el diferencial de selección (S) (Falconer y Mackay 1996; Lynch y Walsh, 1998). Por ello, estimar la fracción de la varianza fenotípica debida a la varianza aditiva (h^2) es importante, ya que una baja heredabilidad

limitaría la respuesta a la selección, mientras que si un carácter posee altos niveles de heredabilidad (>0.5) éste podría responder más rápidamente (Mitchell, 2004; Kaczorowski *et al.*, 2008; Visscher *et al.* 2008)

Varios estudios han estimado h^2 significativas en caracteres florales, por ejemplo, el sistema de apareamiento (hercogamia), los caracteres sexuales primarios (estambre y estilo) y los rasgos de atracción (corola, néctar y número de flores) (Motten y Stone, 2000; Ashman y Majetic, 2006). Esto indica, en general, que la respuesta a la selección, en los atributos de las flores no se vería constreñida por falta de variación genética (Ashman y Majetic, 2006; Visscher *et al.*, 2008). Alternativamente, se ha calculado otra medida de potencial evolutivo conocida como evolucionabilidad (I_A). Este parámetro obtenido como la varianza genética estandarizada por la media del carácter. I_A representa el cambio porcentual esperado en un carácter bajo una unidad de selección (Houle, 1992; Hansen *et al.*, 2011).

Sin embargo, aún cuando exista variación genética, la tasa y dirección de la evolución a corto plazo se puede ver afectada por la covariación entre caracteres (Williams y Conner, 2001; Conner, 2002, 2006;). Ésta ocurre cuando la variación en un rasgo se ve afectada por la variación en otro, como resultado de pleiotropía (un *locus* afecta simultáneamente varios rasgos) o desequilibrio en la fase gamética (asociación no aleatoria entre alelos de diferentes *loci*) (Bissell y Diggle, 2010) Las correlaciones (covariaciones estandarizadas) son importantes porque pueden aumentar la evolución adaptativa si los dos rasgos afectan de manera positiva al *fitness*, llevando a la población más rápidamente a un pico adaptativo. Por ejemplo, en *Raphanus raphanistrum*, la correlación entre el largo del filamento y el tubo de la corola favorecen la correcta exportación de polen porque mejoran el contacto físico con el polinizador. (Conner, *et al.*, 2003). Sin embargo, las correlaciones también pueden disminuir la tasa de evolución si uno de los rasgos no confiere una ventaja (evolución no adaptativa) o si la selección que afecta a los rasgos es de signo opuesto, constituyéndose como una restricción a la evolución (Kleunen y Ritland, 2004; Sapir y Armbruster, 2010). Por ejemplo, la

presencia de correlaciones negativas entre el número y tamaño de flores y de los granos de polen en *Silene latifolia* o en *Brassica spp.* respectivamente, se han considerado una restricción para la evolución de flores y granos de polen más grandes.

Por otro lado, las correlaciones genéticas pueden estar reflejando selección pasada, la cual ha favorecido combinaciones óptimas entre caracteres dando como resultado una *integración* entre rasgos relacionados funcionalmente (Conner, 2006). Hipotéticamente los polinizadores serían los agentes selectivos más importantes de los caracteres florales, favoreciendo ciertos rasgos individuales (o valores de carácter) pero también combinaciones entre caracteres, por ejemplo aquellos relacionados con la atracción y la transferencia de polen, produciendo *módulos* funcionales *altamente integrados* (Galen, 1996; Fenster y Armbruster, 2004; Parachnowitsch y Kessler, 2010).

La *integración fenotípica* definida como la correlación entre caracteres dentro de unidades funcionales (i.e. la flor) (Murren 2002), nos permite evaluar si pueden ocurrir respuestas eventuales a la selección en un carácter seleccionado, independientemente de otros. Si la magnitud de la integración es alta, pueden existir limitaciones a la respuesta evolutiva, ya que los rasgos no varían independientemente (Sánchez-Lafuente y Parra, 2009). Sin embargo, altas correlaciones dentro de la flor puede ser ventajosas si incrementan una función específica (i.e. exportación de polen). Para estudiar el efecto multivariado de las correlaciones sobre la respuesta a la selección y la divergencia evolutiva, se han utilizado comparaciones entre matrices **G**. La matriz **G** resume la varianza genética y las covariaciones entre caracteres relevantes para determinar las trayectorias evolutivas de los caracteres (Roff *et al.*, 2012). Es posible que dos matrices **G** difieran en estructura y que afecten de manera distinta la respuesta a la selección. (Marroig y Cheverud, 2001; Cheverud y Marroig, 2007; Roff *et al.* 2012). Si las diferencias en las matrices se deben a efectos de la selección natural se esperaría variación en la orientación o forma de la matriz **G** (Calsbeek y Goodnight, 2009).

Finalmente, además de favorecer la integración floral, la selección mediada por polinizadores puede promover la diferenciación genética entre poblaciones. Esto puede deberse, por ejemplo, a la variación espacio-temporal en el tipo y abundancia de polinizadores (Schemske y Horvitz 1989, Fenster and Armbruster 2004). Sin embargo, rara vez actúa sobre las poblaciones una única fuerza evolutiva. De tal modo que, la diferenciación genética puede ocurrir en genes no asociados con caracteres adaptativos por los efectos de la deriva génica. Entonces, un método utilizado para discernir si la estructuración genética ha sido generada por la selección natural, es la comparación de la medida de diferenciación genética entre poblaciones para caracteres cuantitativos (Q_{ST}) con la medida de diferenciación para *loci* neutrales entre meta-poblaciones (F_{ST}) (Whitlock, 2008; Whitlock y Guillaume 2009).

F_{ST} es la medida de diferenciación para un locus genético entre sub-poblaciones. En el caso de la divergencia poblacional adaptativa se espera que la selección natural incremente (o reduzca) el valor de F_{ST} de *loci* seleccionados en relación al *loci* neutrales. (Leinonen *et al.*, 2013; Whitlock y Guillaume, 2009; Whitlock, 2008). Q_{ST} es el análogo cuantitativo de F_{ST} que mide la cantidad de variación genética entre poblaciones, en relación a la cantidad de variación genética total del rasgo. Si el carácter cuantitativo es neutral se espera que el valor de Q_{ST} sea estadísticamente igual al valor de F_{ST} para un locus genético neutral. Por el contrario, si Q_{ST} es mayor que F_{ST} se puede inferir que la selección direccional ha exacerbado la diferenciación en caracteres relevantes asociados con el *fitness* para diferentes óptimos locales. Entonces el valor de F_{ST} estimado a partir de marcadores moleculares neutrales puede utilizarse como modelo nulo para el grado de divergencia poblacional por deriva y migración (Whitlock, 2008; Whitlock y Guillaume, 2009; Leinonen *et al.*, 2013). Las comparaciones entre Q_{ST} y F_{ST} se han utilizado para detectar selección en distintos caracteres florales, como la forma, el color, el tiempo de floración, los volátiles florales, etc. En estos estudios se han detectado valores de Q_{ST} mayores que F_{ST} , sugiriendo que la selección natural ha generado

diferenciación en rasgos florales (Jolivet and Bernasconi 2007, Yoshida *et al.* 2008, Streisfeld y Kohn 2010; Page, 2011).

En resumen, es de suma importancia conocer el papel de los procesos estocásticos y determinísticos en el modelado del fenotipo floral y la capacidad del mismo para responder a nuevas presiones de selección. Ambos procesos se espera contribuyan a la evolución de la amplia diversidad de formas florales presentes en la naturaleza.

En este trabajo se estudió la arquitectura genética cuantitativa y el papel de la selección natural en la diferenciación poblacional en caracteres florales de *Datura stramonium* L. (Solanaceae), una planta anual con flores hermafroditas auto-compatibles y síndrome de polinización por esfingidos (flores tubulares, anthesis en el crepúsculo y producción de grandes cantidades de néctar) (Motten y Antonovics, 1992; Juárez -Ramírez, 2008;). Estudios previos en esta especie sugieren que varios rasgos florales están sujetos a selección natural y que poseen varianza genética (Motten y Stone, 2000). Por otro lado, las poblaciones de *D. stramonium* están distribuidas en ambientes con diferencias climáticas (i.e. precipitación) y se ha reportado variación en el tipo y eficiencia de los polinizadores de *D. stramonium* (Motten y Antonovics, 1992; Cuevas, 1996). Se ha reportado que esta especie es visitada tanto por mariposas nocturnas (Sphingidae, Lepidoptera), tales como como *Manduca quinquemaculata*, *M. sexta*, *Hyles lineata* e *Sphinx geminu*, como por abejas halictidas y *Apis mellifera*. (Motten y Antonovics, 1992; Cuevas, 1996). En algunas poblaciones de México se ha reportado variación en las visitas florales por parte de esfingidos (López-Velázquez, 2003, datos no publicados). Por lo tanto, dado que *Datura stramonium* se distribuye en ambientes con características contrastantes, en cuanto a los polinizadores, se espera que las diferencias en las presiones de selección experimentadas por las distintas poblaciones hayan generado diferenciación genética adaptativa en los caracteres florales.

En este contexto, el presente estudio intentó contestar las siguientes preguntas: ¿Existe variación fenotípica en caracteres florales de *Datura stramonium*? ¿Existe variación genética que

permita una respuesta a presiones de selección impuestas entre ambientes?, ¿Existen restricciones a la evolución fenotípica determinadas por la covarianza entre caracteres? y finalmente, ¿Es el patrón de diferenciación poblacional de *D. stramonium* consistente con lo esperado por selección natural?. Para contestar estas preguntas estimé la magnitud de la varianza genética poblacional en caracteres florales asociados con el sistema de apareamiento en *Datura stramonium* del centro de México. En particular (i) evalué la existencia de variación fenotípica interpoblacional en los caracteres florales de *D. stramonium*, (ii) estimé la varianza genética (h^2_B) así como las correlaciones genéticas entre los caracteres florales y (iii) obtuve los valores de diferenciación poblacional en los caracteres cuantitativos (Q_{ST}).

Metodología

Especie

Datura stramonium L. (Solanaceae) es una hierba anual distribuida ampliamente en las regiones templadas y subtropicales del mundo, tanto en zonas de cultivo como en zonas perturbadas (Weaver y Warwick, 1984). Presenta flores hermafroditas solitarias, con forma de trompeta, que miden de 5-10 cm de longitud, abren en el crepúsculo y presentan el síndrome de polinización por esfíngidos (Motten y Antonovics, 1992). *D. stramonium* es una planta auto-compatible, con sistema de apareamiento mixto capaz de responder a la selección (Motten y Antonovics, 1992; Núñez-Farfán y Dirzo, 1994; Motten y Stone, 2000). En México, se han observado que algunos caracteres florales de *D. stramonium* varían dentro y entre poblaciones (Sosensky, 2004) y que poseen bases genéticas (López-Velázquez 2003; Juárez-Ramírez, 2008).

Colecta de semillas

Se colectaron frutos de 20 plantas por población en localidades de *D. stramonium* del centro y sur de México durante los meses de agosto a octubre del año 2010 (Fig. 1) (Tabla 1).

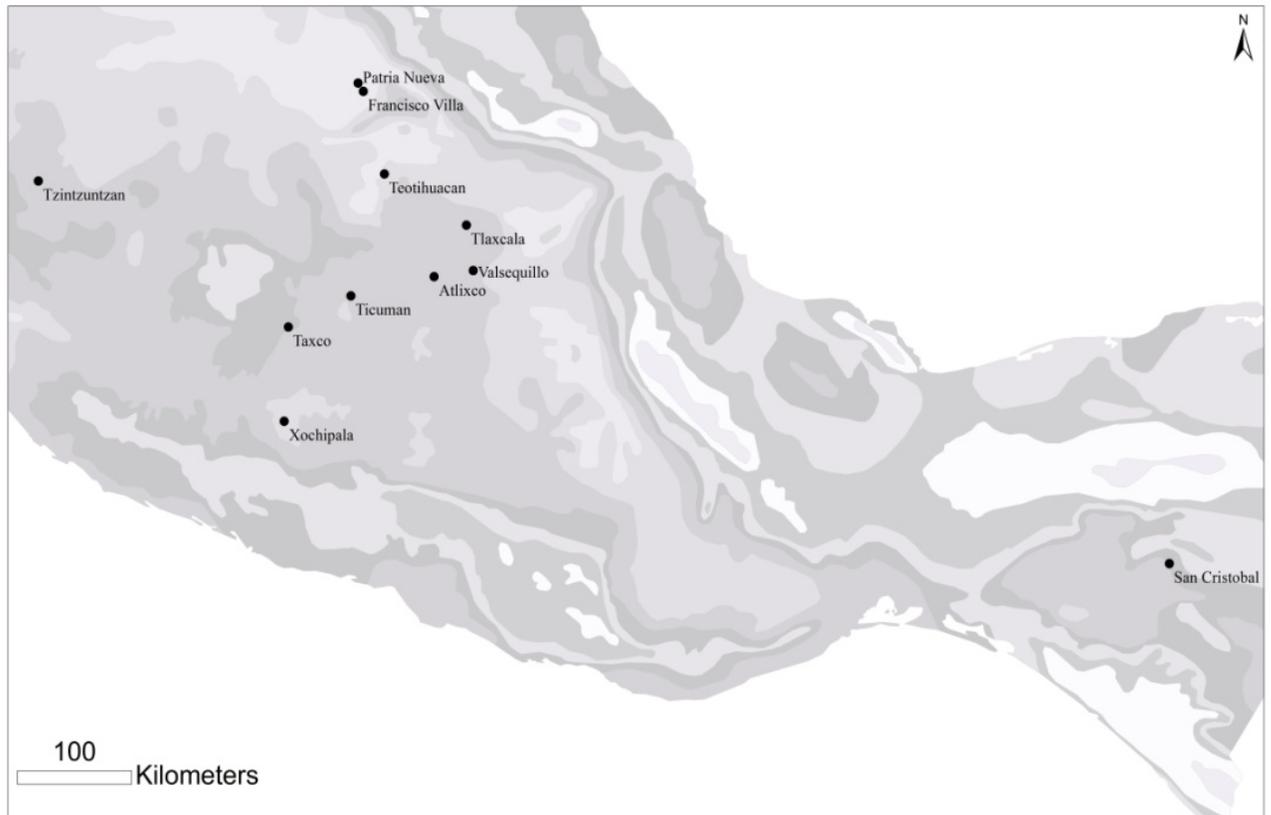


Figura 1. Localización de las poblaciones de *Datura stramonium* estudiadas en el centro y sur de México. Atlixco (ATL), Francisco Villa (FV), Patria Nueva (PN), San Cristóbal (SC), Taxco (TAX), Teotihuacán (TEO), Ticumán (TIC), Tlaxcala (TLAX), Tzintzuntzan (TZZ), Valsequillo (VAL), Xochipala (XOCH).

Tabla 1. Coordenadas Geográficas y Altitud de las localidades de *Datura stramonium* utilizadas en el presente estudio.

Localidad	Estado	Latitud Norte	Longitud Oeste	Altitud
Atlixco	Puebla	18.904067°	-98.449850°	1858
Francisco Villa	Hidalgo	20.313950°	-99.007317°	1962
Patria Nueva	Hidalgo	20.376117°	-99.048683°	1911
San Cristóbal	Chiapas	16.719807°	-92.658480°	2059
Taxco	Guerrero	18.520417°	-99.598033°	1497
Teotihuacán	Edo. de México	19.685016°	-98.842316°	2291
Ticumán	Morelos	18.757215°	-99.105995°	970
Tlaxcala	Tlaxcala	19.631431°	-101.568094°	2315
Tzintzuntzan	Michoacán	18.950567°	-98.142600°	2054
Valsequillo	Puebla	19.295667°	-98.196150°	2163
Xochipala	Guerrero	17.803350°	-99.630917°	1108

Experimento de Jardín Común

Se llevó a cabo un experimento de jardín común en los invernaderos del Instituto de Ecología de la UNAM, México D.F., durante marzo-agosto del 2011. Se germinaron 100 semillas por planta por población, las cuales constituyeron una familia genética. Las familias cuyo porcentaje de germinación fue muy bajo fueron excluidas del experimento. Posteriormente, 6 plántulas de cada familia se trasplantaron a macetas individuales con 1 kg de suelo comercial. En el invernadero las macetas se arreglaron bajo un diseño experimental de bloques aleatorios (Cochran y Cox 1962).

En total se utilizaron para el experimento ~ 15 familias por población, utilizando 6 réplicas por familia (ver Tabla 2). En total se sembraron 1,008 plantas, las cuales fueron regadas diariamente, y se les aplicó insecticida (Valor marca Verur) para evitar que los herbívoros afectaran su crecimiento y los caracteres florales.

Se midieron de 2 a 4 flores por planta para un total de 2,660 flores, durante un periodo de 8 semanas (finales de junio a mediados de agosto 2011). A cada flor se le midieron ocho caracteres (Fig. 2), empleando un vernier digital (resolución 0.1 mm; Mitutuyo Corp, Kanagawa, Japón). Las mediciones de cada planta se hicieron a partir de la segunda y tercera flor. Simultáneamente se realizaron mediciones del diámetro del tallo de cada individuo. Esta medida fue utilizada en los análisis como covariable para controlar los posibles efectos de la edad y del tamaño de la planta en los caracteres florales.

Tabla 2. Número de familias genéticas (hermanos completos) por población utilizadas en el experimento

Población	Familias	Réplicas x familia	Individuos totales
Atlixco (ATL)	19	6	114
Francisco Villa (FV)	14	6	84
Patria Nueva (PN)	13	6	78
Taxco (TAX)	14	6	84
Tlaxcala (TLAX)	11	6	66
San Cristóbal (SC)	12	6	72
Teotihuacán (TEO)	18	6	108
Ticumán (TIC)	13	6	78
Tzintzuntzan (TZZ)	14	6	84
Valsequillo (VAL)	21	6	126
Xochipala (XOCH)	19	6	114

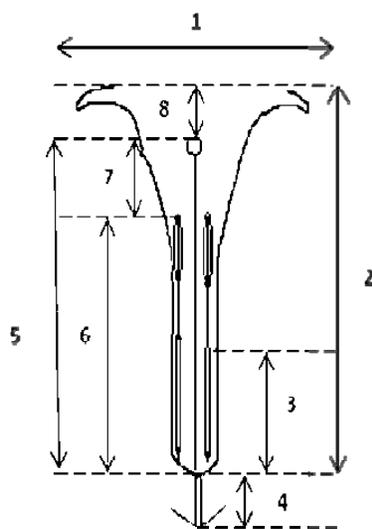


Figura 2. Esquema de un corte longitudinal de la flor de *Datura stramonium* que muestra los caracteres medidos: 1. Ancho de la corola (AC), 2. Largo de la corola (LC), 3. Cámara de néctar (NECT), 4. Largo del pedicelo (PEDI), 5. Largo del estilo (LESTI), 6. Largo del estambre (LEST), 7. Hercogamia (HERC) y 8. Distancia a la punta de la corola (TIP).

Análisis Estadísticos

Variación interpoblacional en caracteres florales

Se realizó un análisis de la función discriminante (*DFA*, por sus siglas en inglés) para explorar los patrones entre poblaciones. Se utilizaron siete variables florales para construir las funciones discriminantes, las cuales son combinaciones lineales de las variables originales que maximizan la separación entre grupos. El primer discriminante explica la mayor parte de la varianza entre grupos y así sucesivamente. Para evaluar la significancia de la diferencia entre grupos (poblaciones) se calculó el estadístico *Pillai's Trace* (Quinn y Keough, 2002; Nattero, et al. 2011).

Posteriormente, se realizó un análisis multivariado de covarianza (MANCOVA) de los ocho caracteres florales medidos en cada planta como función de población, familia (anidado en población), bloque y tamaño (diámetro del tallo como covariable) como fuentes de variación. Además se realizó un análisis de la covarianza (ANCOVA) para cada rasgo individual en función de las mismas fuentes de variación.

Estimación de varianza genética, heredabilidad y evolucionabilidad de los caracteres florales

La variación fenotípica de cada carácter floral de *D. stramonium* se fraccionó para obtener los componentes genéticos y ambientales mediante un modelo de efectos mixtos, que toma en cuenta efectos fijos (estimados) y aleatorios (predicciones) (Lynch y Walsh, 1998). Este análisis se ejecutó para cada población de *D. stramonium*.

En el modelo para la estimación de la heredabilidad se consideraron el bloque como efecto fijo, la familia como variable aleatoria y el tamaño (diámetro del tallo) como covariable. La covariable se

añadió al modelo para remover un posible efecto del tamaño de la planta sobre los caracteres florales.

La heredabilidad en sentido amplio (h^2_B) se obtuvo como:

$$\frac{2V_G}{V_P} \text{ (Falconer y Mackay, 1996).}$$

Donde V_G es la variación genética explicada por el componente de la familia y V_P es la varianza fenotípica total (V_P) para cada carácter. V_P se obtuvo mediante la sumatoria de los componentes de la varianza (varianza de familias y varianza residual). El coeficiente que multiplica a V_G se refiere a la covarianza genética entre los hermanos completos, la cual es igual a $\frac{1}{2}$ de la varianza aditiva (Falconer y Mackay, 1996; Lynch y Walsh, 1998). Los componentes de varianza y las pruebas de significancia se realizaron por medio del método iterativo de máxima verosimilitud restringida (REML, por sus siglas en inglés) en el programa estadístico *R* (R Development Core Team, 2008), el cual es apropiado para diseños desbalanceados. La significancia de los componentes de varianza se obtuvo mediante una prueba de X^2 . Los errores estándar y los intervalos de confianza para los valores de la heredabilidad de cada carácter floral se obtuvieron mediante la técnica de jackknife (Sokal y Rohlf, 1981). La técnica de jackknife borra iterativamente una familia y con el conjunto de datos truncados recalcula el valor de h^2_B . A partir del valor promedio de h^2_B se obtienen los errores estándar y los intervalos de confianza (IC) asociados (Lynch y Walsh, 1998). Esta técnica es útil para el cálculo de IC para diseños de hermanos completos (Roff, 1997) y cuando se desconoce la distribución de heredabilidad de los caracteres (Lynch y Walsh, 1998). Además, es un método robusto que disminuye el sesgo en la estimación de los componentes de varianza (Knapp, yYang, 1989) cuando hay variación el número de familias (Roff, 1997).

Adicionalmente, se calculó la evolucionabilidad de los caracteres como:

$$I_A = 100 * \frac{V_G}{m^2}$$

Donde V_G es la varianza genética y m es la media de cada carácter. I_A originalmente está calculada a partir de en la varianza aditiva (V_A) (Houle, 1992) sin embargo se ha visto que V_G puede ser un buen estimado de V_A (Ashman y Majetic, 2006). La evolucionabilidad (I_A) permite una interpretación más directa del potencial evolutivo, como el cambio porcentual esperado en un carácter por una unidad de selección (Houle, 1992; Hansen y Armbruster, 2003; Hansen *et al.*, 2011).

Diferenciación poblacional en caracteres cuantitativos

Para evaluar la diferenciación genética entre poblaciones, se estimó la diferenciación en caracteres cuantitativos (Q_{ST}) para cada uno de los caracteres florales. Q_{ST} mide la proporción de la varianza fenotípica que se debe a las diferencias genéticas entre poblaciones (Streisfeld y Kohn, 2010) y se calculó como:

$$V_{G\text{ POB}} / V_{G\text{ POB}} + 2 V_{G\text{ FAM}} ,$$

donde $V_{G\text{ POB}}$, es la varianza genética entre poblaciones y $V_{G\text{ FAM}}$, es la varianza de un carácter dentro de poblaciones (Spitze 1993, Whitlock 2008). Como se ha mencionado, V_G contiene tanto los efectos aditivos como los no aditivos, sin embargo la inferencia de valores de Q_{ST} mayores que F_{ST} se ve poco afectada por los efectos no aditivos, por lo que es posible utilizar tanto la varianza genética (sentido amplio) o la varianza aditiva (sentido estricto) en la estimación de este parámetro (Leinonen y O'HARA, 2008).

La varianza genética dentro y entre poblaciones ($V_{G\text{ FAM}}$ y $V_{G\text{ POB}}$, respectivamente) se obtuvo mediante un modelo mixto. En este modelo las variables respuesta fueron cada uno de los rasgos florales, los efectos aleatorios fueron la población y la familia (anidada dentro de las poblaciones), el efecto fijo fue el bloque y el tamaño (diámetro del tallo) la covariable.

Los efectos fijos y los componentes de varianza se estimaron mediante el método REML en el programa R 2.14.1. La significancia de los componentes de la varianza se obtuvo mediante

contraste de modelos mediante una prueba de X^2 . Para cada valor de Q_{ST} se calcularon los intervalos de confianza del 95 % mediante *bootstrapping*. Los intervalos de confianza de cada rasgo se calcularon a partir de una distribución de frecuencias de los valores de Q_{ST} obtenidos por 1000 re-muestréos aleatorios (con reemplazo) de las familias de cada población (Lynch y Walsh, 1998; Quinn y Keough, 2002)

Para determinar si la diferenciación poblacional en caracteres florales es consistente con lo esperado por selección natural comparamos los niveles de diferenciación en los ocho caracteres florales cuantitativos (Q_{ST}) con la diferenciación en *loci* neutrales F_{ST} . Para esto, se utilizó el valor promedio de diferenciación para *loci* neutrales (F_{ST}) calculado por Andraca-Gómez (2009) en el que se incluían siete de las poblaciones de nuestro estudio. Si al comparar los estimados de Q_{ST} vs F_{ST} , Q_{ST} es igual que F_{ST} , el rasgo cuantitativo no se distingue de la diferenciación en *loci* neutrales y la diferenciación ha ocurrido por deriva génica. Si Q_{ST} es mayor que F_{ST} , se puede inferir que la selección direccional ha exacerbado la diferenciación en caracteres relevantes (asociados con el *fitness*) para diferentes óptimos locales. Por el contrario, si Q_{ST} es menor F_{ST} entonces se predice selección estabilizadora (O'Hara y Merilä, 2005; Leinonen, *et al.*, 2008; Whitlock, 2008; Leinonen *et al.*, 2013).

Comparación de matrices

Se calcularon las matrices de varianza-covarianza genética (matriz **G**) y fenotípica de los caracteres florales con el programa *R*. Debido a la importancia de la matriz **G** en la divergencia evolutiva, se compararon las matrices de las distintas poblaciones mediante el método de random skewers (Cheverud y Marroig, 2007; Roff *et al.*, 2012). Este método nos permite detectar diferencias biológicamente relevantes (Calsbeek y Goodnight, 2009), en particular si dos matrices seguirán la misma trayectoria evolutiva al aplicar un mismo gradiente selectivo (Roff *et al.*, 2012). Este método

pone a prueba la hipótesis de igualdad en la respuesta a la selección entre dos matrices (Cheverud y Marroig, 2007; Marroig y Cheverud, 2001).

Para comparar las matrices, a cada par se le aplicó un conjunto de vectores de selección aleatorios (*skewers*) y se calculó el vector de correlación promedio como una medida de su respuesta evolutiva (Cheverud, 1996). Si dos matrices son iguales, se espera que la respuesta promedio al vector de selección sea a uno; por el contrario si dos matrices no tienen relación y no comparten estructura alguna, se espera que la respuesta promedio al vector de selección sea igual a cero (Cheverud y Marroig, 2007; Marroig y Cheverud, 2001(Roff *et al.* 2012). La significancia de las correlaciones en la respuesta a la selección entre matrices, se obtuvo comparando el vector de correlación promedio con la distribución obtenida a partir de 10,000 pares de vectores aleatorios (Stinchcombe, *et al.*, 2010), mediante el programa proporcionado por Revell (2007; <http://anolis.oeb.harvard.edu/~liam/programs/>).

Posteriormente las matrices se compararon con el método jerárquico de *Flury* para determinar si aquellas que diferían en su respuesta a la selección diferían así mismo en sus elementos (Roff *et al.* 2012). El método de Flury separa las matrices en sus eigenvectores y eigenvalores constitutivos y los compara de manera jerárquica, comenzando con matrices no relacionadas, seguidas de componentes principales parciales (modelo PCPC), componentes principales iguales (modelo full CPC) proporcionales e iguales (Flury, 1987; Calsbeek y Goodnight, 2009). Para realizar este análisis se usó el programa proporcionado por Phillips (1994-1997; <http://darkwing.uoregon.edu/~pphil/programs/cpc/cpc.htm>).

Correlaciones y Patrones de integración fenotípica

Las correlaciones genéticas entre caracteres florales se cuantificaron mediante coeficientes de correlación de *Pearson*, los cuales fueron obtenidos a partir de los promedios familiares (Via 1984). Posteriormente se estimó la integración fenotípica para cada población mediante los eigenvalores de la matriz de correlaciones, obtenidos mediante un análisis de componentes principales (PCA). La magnitud de la integración fenotípica se obtuvo calculando el índice de integración (INT), el cual es igual a la varianza de los eigenvalores ($\text{Var}[\lambda_i]$). Debido a diferencias en el tamaño de muestra, se usó el índice de integración corregido, el cual se calculó sustrayendo el valor esperado de integración bajo la premisa de co-variación al azar (integración al azar = no. caracteres-1)/no. de plantas (Wagner, 1984; Herrera y Cerdá, 2002; Pérez-Barrales *et al.*, 2007). El índice de integración se expresó como el porcentaje del valor máximo posible, el cual es el número de caracteres considerados. Los errores estándar y los intervalos de confianza del 95% para el INT se calcularon por medio de bootstrapping. INT se consideró significativo si sus intervalos fueron distintos de cero (Herrera, 2002).

Resultados

Variación interpoblacional en caracteres florales de Datura stramonium

El MANCOVA mostró que los caracteres florales en *D. stramonium* difieren significativamente entre poblaciones ($\lambda_{\text{de Wilk's}}=0.29$, $F=13.86$, $GL=90$, $P=0.0001$) y entre familias ($\lambda_{\text{de Wilk's}}=0.30$, $F=1.98$, $GL=603$, $P=0.0001$). También se encontraron diferencias debidas al bloque ($\lambda_{\text{de Wilk's}}=0.97$, $F=1.82$, $GL=18.0$, $P=0.0187$) y al tamaño de la planta ($F\text{-test}=0.14$, $F=13.99$, $GL=9.00$, $P=0.0001$).

Los ANCOVAS univariados mostraron diferencias significativas entre las once poblaciones para los ocho caracteres florales (Tabla 3). Por ejemplo, el largo de corola osciló entre 81.70 mm y 95.82 mm en San Cristóbal de las Casas Chis., y Xochipala Gro., respectivamente. La distancia a la punta de la corola de 17.42 mm y 23.99 en las mismas poblaciones, mientras que el ancho de la corola varió de 33.78 mm hasta 50.47 en Tlaxcala y Ticumán, respectivamente. El largo del estambre osciló entre 64.03 mm y 70.91 mm en San Cristóbal y Ticumán, y el largo del estilo varió desde 60.84 mm hasta 70.83 mm en Tlaxcala y Xochipala, respectivamente. Por otro lado, la hercogamia más negativa (estilo por debajo de las anteras) fue de 4.72 mm en Tzintzuntzan y la más positiva (estilo por arriba de las anteras) fue de 0.88 mm en Xochipala. La longitud de la cámara de néctar osciló de 33.50 mm a 38.86 en San Cristóbal y Atlixco, respectivamente. Finalmente, el largo del pedicelo osciló entre 4.24 y 5.61 en Tlaxcala y Tzintzuntzan respectivamente (Tabla 4) (Fig. 3).

Tabla 3. Significancia de los ANCOVA realizados para los caracteres florales de *Datura stramonium*. El modelo incluye los efectos de la población, la familia (anidada en población) y bloque. El Tamaño de la planta se usó como covariable.

	Población	Familia	Bloque	Tamaño
	<i>P</i>	<i>P</i>	<i>P</i>	<i>P</i>
Largo de la corola	***	***	*	***
Ancho de la corola	***	***	0.76	***
Largo del estambre	***	***	0.16	***
Largo del estilo	***	***	0.19	***
Hercogamia	***	***	0.41	*
Distancia a la punta de la corola	***	***	**	***
Largo cámara néctar	***	***	**	***
Largo Pedicelo	***	**	0.56	***
Proporción gineceo del estilo/del estambre	***	***	0.27	**

*** $P < 0.001$ ** $P < 0.01$ * $P < 0.05$

Tabla 4. Valores promedio (\pm una desviación estándar) de los caracteres florales en 11 poblaciones mexicanas de *Datura stramonium*. Todos los valores están en milímetros.

Localidad	Largo corola	Ancho corola	Largo del estambre	Largo del estilo	Hercogamia	Distancia a la punta de la corola	Cámara de néctar	Pedicelo mm
Atlixco	90.12 ± 4.97	45.39 ± 10.70	68.52 ± 3.70	65.36 ± 4.64	-3.31 ± 2.26	21.42 ± 2.23	38.86 ± 2.77	5.27 ± 0.81
Francisco Villa	87.84 ± 5.30	45.36 ± 9.30	67.35 ± 3.89	65.76 ± 4.22	-1.61 ± 1.58	20.12 ± 2.25	35.66 ± 2.57	4.96 ± 0.95
Patria Nueva	87.17 ± 5.75	43.56 ± 9.81	67.86 ± 3.68	66.52 ± 4.29	-1.43 ± 1.94	19.20 ± 3.03	36.19 ± 2.28	5.44 ± 1.61
San Cristóbal	81.70 ± 4.62	41.65 ± 9.91	64.03 ± 3.27	62.17 ± 4.37	-1.89 ± 2.28	17.42 ± 2.54	33.50 ± 2.22	5.39 ± 1.16
Taxco	87.18 ± 5.31	46.42 ± 8.59	65.99 ± 3.72	60.97 ± 4.34	-4.65 ± 2.48	21.57 ± 2.74	37.60 ± 3.02	5.44 ± 1.00
Teotihuacán	87.27 ± 5.22	46.61 ± 9.76	67.54 ± 4.09	64.54 ± 4.51	-2.71 ± 1.53	19.89 ± 2.66	36.36 ± 2.36	4.75 ± 1.21
Ticumán	94.38 ± 7.71	50.47 ± 9.35	70.91 ± 4.89	70.10 ± 6.14	-0.68 ± 3.13	22.27 ± 3.29	38.46 ± 2.88	5.54 ± 1.54
Tlaxcala	84.12 ± 6.62	33.78 ± 10.44	64.72 ± 5.37	60.54 ± 6.24	-4.18 ± 2.18	19.08 ± 2.89	35.91 ± 2.69	4.24 ± 0.84
Tzintzuntzan	88.18 ± 6.33	44.78 ± 8.15	67.60 ± 4.40	62.85 ± 5.32	-4.72 ± 2.10	21.64 ± 2.86	38.39 ± 3.01	5.61 ± 1.02
Valsequillo	85.76 ± 5.83	40.76 ± 8.65	65.18 ± 4.83	61.71 ± 5.14	-3.46 ± 2.33	20.42 ± 2.65	36.79 ± 3.22	4.78 ± 1.01
Xochipala	95.82 ± 6.95	50.47 ± 9.35	70.91 ± 4.89	4.89 ± 6.99	0.88 ± 3.22	23.99 ± 2.96	38.22 ± 2.79	5.31 ± 1.14

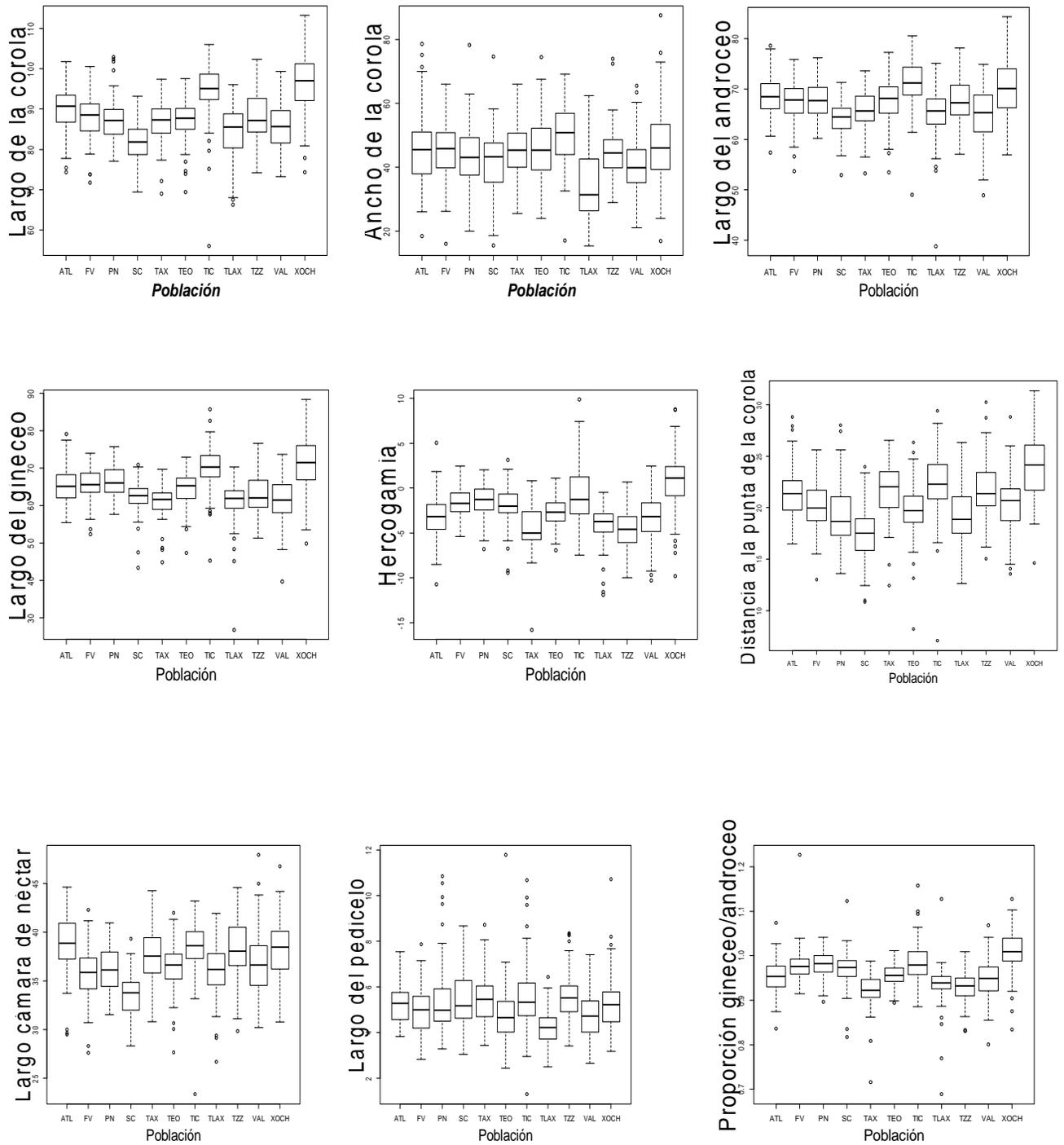


Figura 3. Variación interpoblacional en ocho caracteres florales de *Datura stramonium*. Las gráficas representan el valor mínimo, los cuartiles, la mediana, la media y el valor máximo de cada rasgo. Atlixco (ATL), Francisco Villa (FV), Patria Nueva (PN), San Cristóbal (SC), Taxco (TAX), Teotihuacán (TEO), Ticumán (TIC), Tlaxcala (TLAX), Tzintzuntzan (TZZ), Valsequillo (VAL), Xochipala (XOCH).

Función Discriminante

El análisis de la función discriminante (*DFA*) mostró diferencias significativas en el fenotipo floral de las once poblaciones ($\lambda_{\text{de Wilk's}} = 0,28$, $F = 20.27$, $GL = 70$, $P < 0.0001$; *Pillai's Trace* = 1.02, $F = 17.07$, $GL = 70$, $P < 0.0001$). El primer y el segundo discriminante explicaron el 86% de varianza total (Tabla 5) y estuvieron influenciados principalmente por la cámara de néctar, el largo de la corola, la hercogamia, el largo del estambre y la distancia a la punta de la corola (Tabla 6). Las poblaciones formaron cuatro grupos fenotípicos (Fig. 4).

Tabla 5 Varianza explicada por cada una de las funciones del Análisis Discriminante (*DFA*)

	Eigenvalue	% Varianza	% Varianza acumulada
Función 1	0.96250606	59.8242788	59.8242788
Función 2	0.42866942	26.6438207	86.4680995

Tabla 6. Contribución de las variables florales (coeficientes estandarizados) a cada una de las dos primeras funciones del Análisis Discriminante (*DFA*)

Carácter	Función 1	Función 2
Largo de la corola	0.2186833	-0.0049
Ancho de la corola	-0.00055	0.0095024
largo del estambre	-0.104721	-0.141629
Largo del estambre	0.0841684	-0.024291
Hercogamia	0.1642246	0.024317
Distancia a la punta de la corola	0.0267988	0.183604
Cámara de néctar	-0.368624	0.4011662

Varianza genética, heredabilidad y evolucionabilidad de los caracteres florales

Al descomponer la variación fenotípica en sus partes genética y ambiental, encontramos una varianza genética y heredabilidad significativa para todos los rasgos florales analizados; sin embargo ésta varía entre caracteres y entre poblaciones (Tabla 7) (Fig.5). El rango de heredabilidad para el largo de la corola fue de 0.35 a 0.93, para el ancho de la corola de 0.60 a 1.26, de 0.59 a 0.93 para la distancia a la punta de la corola y de 0.30 a 1.16 para la longitud de la cámara de néctar. La heredabilidad para la hercogamia osciló entre 0.51 y 1.26. La heredabilidad para el largo del estambre y el del estilo varió desde 0.83 a 1.00 y 0.41 a 0.86, respectivamente. Finalmente el rango de heredabilidad para pedicelo, carácter vegetativo estuvo entre 0.93 y 0.95.

La evolucionabilidad, estimada como I_A , varió entre caracteres y entre poblaciones. El ancho de la corola tuvo la mayor evolucionabilidad con 6.54 %. Los demás caracteres, exceptuando a la distancia a la punta de la corola, tuvieron evolucionabilidades menores al 1% (Fig. 6).

Tabla 7. Heredabilidad en sentido amplio (promedio de Jackknife) de ocho caracteres florales en once poblaciones mexicanas de *Datura stramonium*. Se muestran el número de familias por población y los valores significativos de heredabilidad en negritas ($P < 0.05$).

Población	Familias	Largo de corola	Ancho de corola	Largo androceo	Largo gineceo	Hercogamia	Distancia punta corola	Longitud cámara de néctar	Pedicelo
Atlixco	19	0.14	0.62	0.47	0.75	0.73	0.13	0.00	0.93
Francisco Villa	14	0.00	0.17	0.00	0.02	0.79	0.00	0.16	0.08
Patria Nueva	13	0.35	0.47	0.10	0.41	1.26	0.93	0.30	0.95
San Cristóbal	12	0.34	0.00	0.12	0.02	0.51	0.93	0.43	0.33
Taxco	14	0.59	0.00	0.34	0.04	0.76	0.65	0.99	0.22
Teotihuacán	18	0.00	0.00	0.28	0.21	0.06	0.12	0.39	0.07
Ticumán	13	0.42	0.05	0.43	0.74	1.16	0.59	0.14	0.00
Tlaxcala	11	0.16	1.26	0.14	0.39	0.50	0.88	0.00	0.24
Tzintzuntzan	14	0.77	0.05	0.83	0.83	0.72	0.70	0.50	0.07
Valsequillo	21	0.93	0.60	1.00	0.87	0.69	0.84	1.16	0.30
Xochipala	19	0.22	0.00	0.47	0.19	0.22	0.82	0.28	0.03

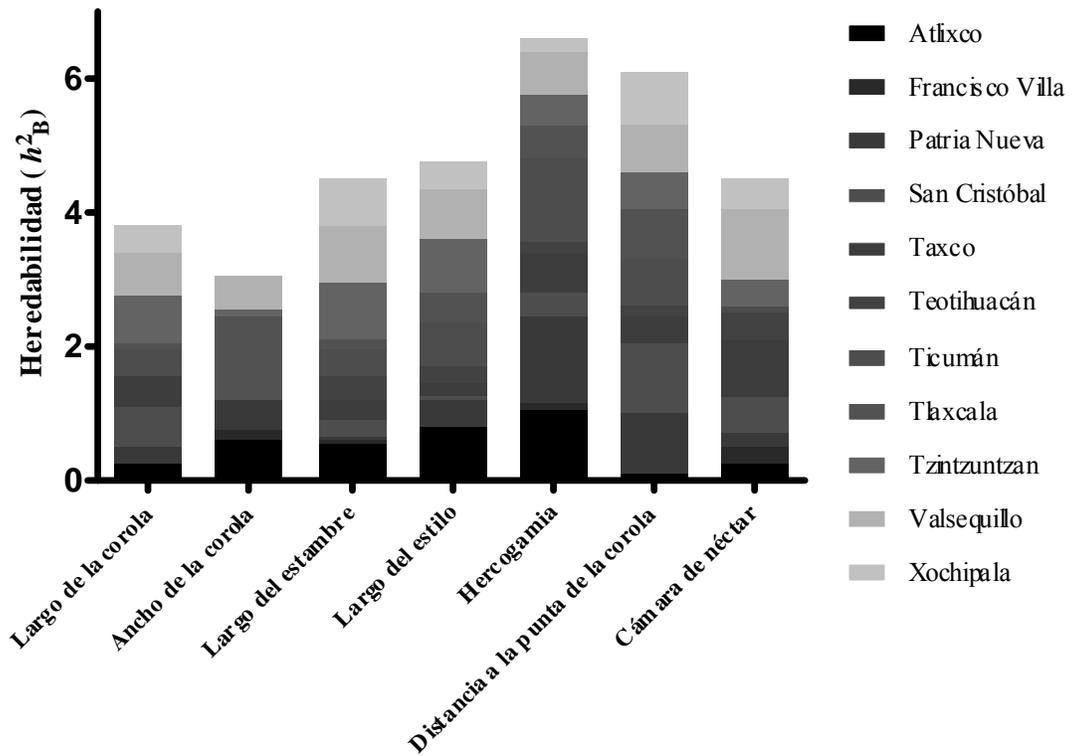


Figura 5. Variación interpoblacional en la heredabilidad de siete caracteres florales medidos en once poblaciones mexicanas de *Datura stramonium*.

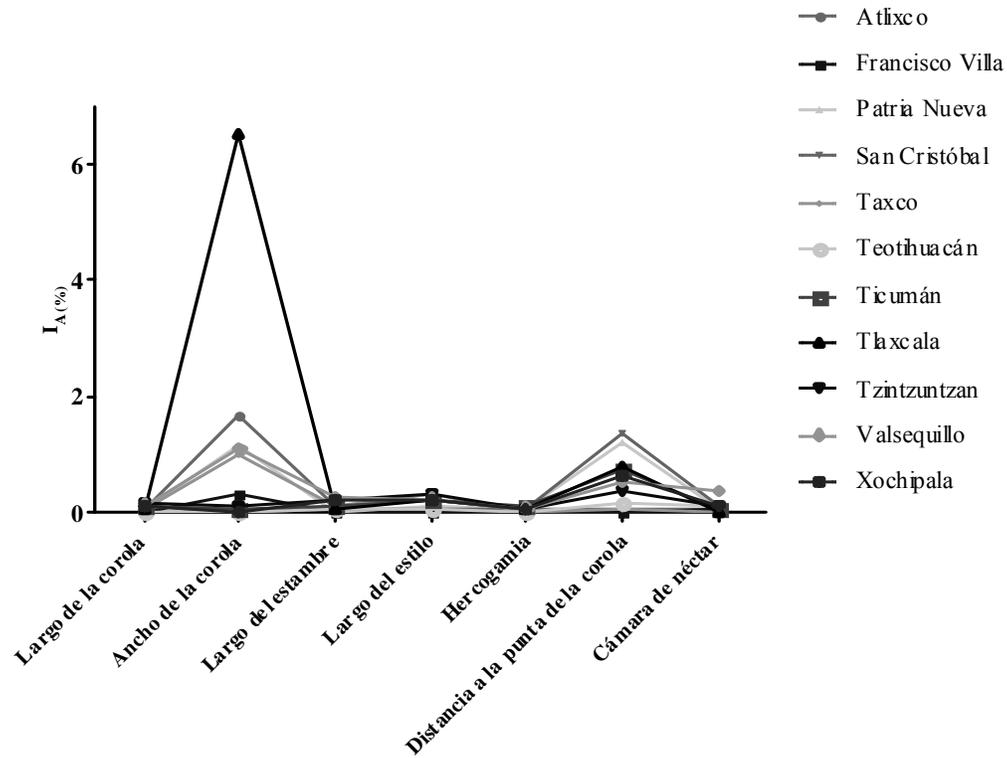


Figura 6. Variación interpoblacional en la evolucionabilidad (I_A) de siete caracteres florales medidos en once poblaciones mexicanas de *Datura stramonium*. La evolucionabilidad se estimó como el cambio porcentual esperado en la media del carácter por una unidad de selección. $I_A = 100 * \frac{V_G}{\bar{m}^2}$ donde V_G es la varianza genética y \bar{m} es la media de cada carácter.

Diferenciación poblacional en caracteres cuantitativos

Se detectó diferenciación genética poblacional en todos los rasgos analizados. Los valores poblacionales de Q_{ST} oscilaron entre 0.30 (largo del estambre) y 0.58 (largo de la corola) (Tabla 8).

Por otra lado, el nivel de diferenciación en *loci* adaptativamente neutros (F_{ST}) fue de 0.291 (0.213, 0.36) (Andraca-Gómez, 2009). Al comparar los estimados de Q_{ST} y F_{ST} encontramos que el primero fue significativamente mayor para todos los rasgos analizados (Fig. 7)

Tabla 8. Valores de Q_{ST} para ocho caracteres florales medidos en once poblaciones mexicanas de *Datura stramonium*. Todos los valores significativos fueron significativos ($P < 0.05$)

Carácter	Q_{ST}	I C del 95%
Largo de la corola	0.58	(0.35,0.52)
Ancho de la corola	0.37	(0.16, 0.27)
largo del estambre	0.30	(0.14,0.27)
Largo del estambre	0.47	(0.28,0.43)
Hercogamia	0.44	(0.31,0.43)
Distancia a la punta de la corola	0.42	(0.28,0.40)
Cámara de néctar	0.58	(0.25,0.38)
Pedicelo	0.30	(0.10, 0.26)

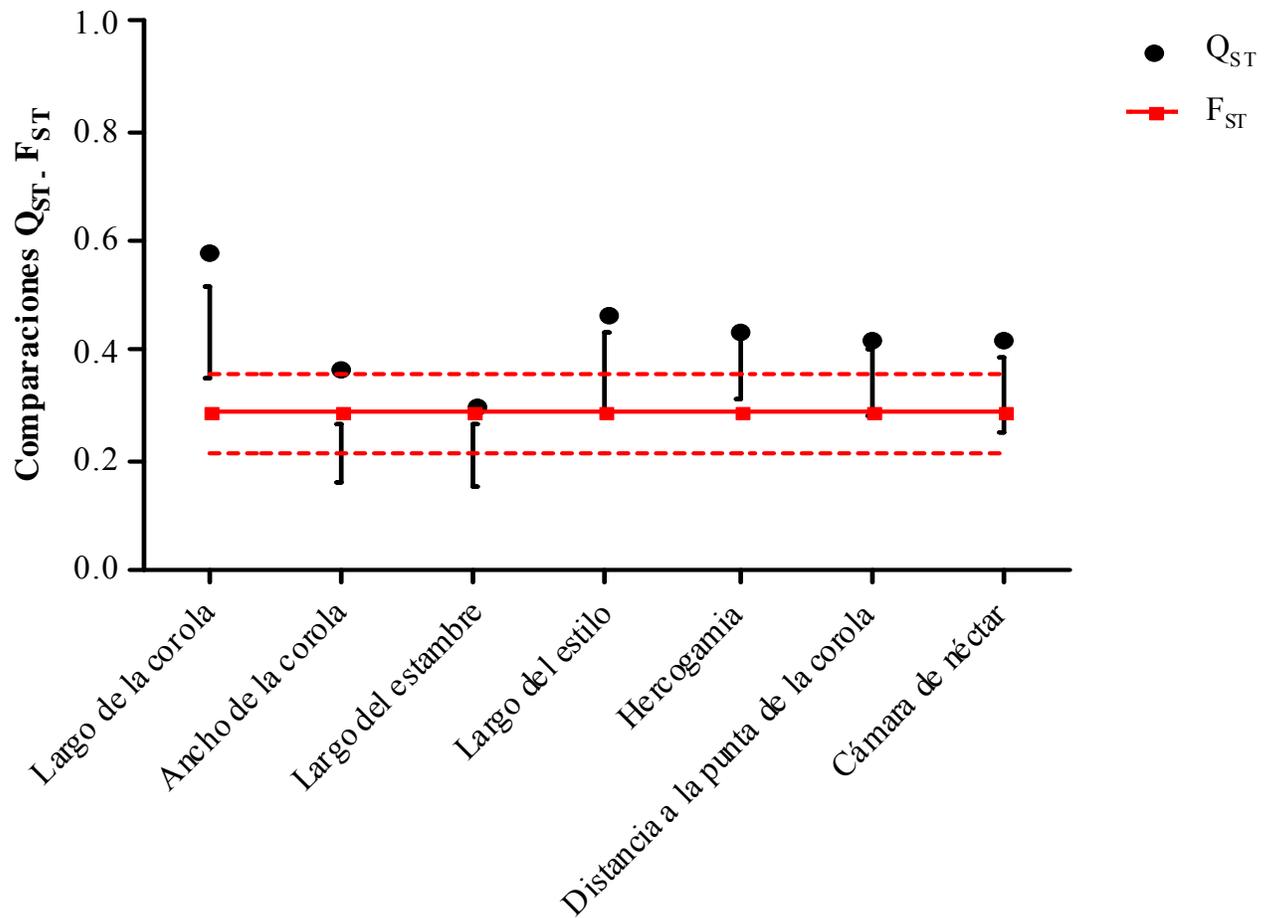


Figura 7. Comparación entre los estimados de F_{ST} y Q_{ST} entre once poblaciones mexicanas de *D. stramonium*. La línea horizontal representa el valor promedio de F_{ST} calculado a partir de microsatélites por Andraca-Gómez (2009.), Las líneas punteadas son sus intervalos de confianza del 95%. Las barras de error sobre los estimados Q_{ST} para cada carácter son los intervalos de confianza al 95%, determinados a partir de 1000 bootstrapps.

Comparación de matrices

El análisis “*random skewers*” mostró que la respuesta de las once matrices **G** a los vector de selección (*skewers*) fueron distintas de 1. El vector de correlación para las matrices genéticas fue de 0.68-0.91 y de de 0.87-0.99 para las matrices fenotípicas, ambas significativas ($p < 0.001$; Tabla 9).

El análisis de *Flury* mostró que las poblaciones Francisco Villa y Ticumán comparten los dos primeros componentes principales, lo que concuerda con un modelo de componentes principales parciales (PCCP). Mientras que Taxco-Tzintzuntzan no estuvieron relacionadas de ninguna manera. (Tabla 10).

Tabla 10. Comparaciones de las matrices de varianza-covarianza fenotípicas entre dos pares de poblaciones de *Datura stramonium* usando el procedimiento “jump-up” del Análisis de Flury.

Comparación	Jerarquía	Aceptado	χ^2	df	P
Francisco Villa-Ticumán	CPC(3)	Unrelated	43.199	18	0.0008
Taxco-Tzintzuntzán	CPC(1)	Unrelated	28.682	7	0.0002

Tabla 9. Correlación entre matrices de varianza-covarianza entre once poblaciones mexicanas de *Datura stramonium* obtenidas por el método “*random skewers*”. Las correlaciones entre matrices genéticas se localizan debajo de la diagonal y las correlaciones entre matrices fenotípicas por arriba de la diagonal. Todas las comparaciones fueron significativas con una $P = > 0.001$ en 10,000 repeticiones.

	Atlixco	Francisco Villa	Patria Nueva	San Cristóbal	Taxco	Teotihuacán	Ticumán	Tlaxcala	Tzintzuntán	Valsequillo	Xochipala
Atlixco	1.000	0.98	0.97	0.99	0.96	0.98	0.87	0.92	0.93	0.92	0.95
Francisco Villa	0.866	1.000	0.98	0.97	0.98	0.99	0.93	0.95	0.96	0.96	0.96
Patria Nueva	0.816	0.787	1.000	0.97	0.97	0.98	0.92	0.95	0.96	0.95	0.95
San Cristóbal	0.841	0.894	0.812	1.000	0.96	0.98	0.87	0.92	0.93	0.92	0.95
Taxco	0.791	0.840	0.747	0.806	1.000	0.98	0.93	0.95	0.96	0.97	0.95
Teotihuacán	0.780	0.800	0.769	0.907	0.768	1.000	0.93	0.96	0.96	0.97	0.97
Ticumán	0.787	0.915	0.765	0.878	0.830	0.848	1.000	0.96	0.94	0.96	0.95
Tlaxcala	0.849	0.904	0.838	0.875	0.792	0.785	0.835	1.000	0.95	0.98	0.96
Tzintzuntán	0.727	0.741	0.749	0.847	0.679	0.863	0.805	0.729	1.000	0.96	0.96
Valsequillo	0.699	0.803	0.736	0.824	0.772	0.808	0.828	0.872	0.676	1.000	0.97
Xochipala	0.775	0.781	0.804	0.801	0.815	0.846	0.839	0.786	0.686	0.813	1.000

Correlaciones y Patrones de integración fenotípica

Las matrices de correlación fenotípica entre caracteres florales de las once poblaciones se resumieron en la Figura 8. La magnitud de las correlaciones varió ampliamente entre pares de caracteres y poblaciones. Las correlaciones fueron en su mayoría positivas. Los pares de caracteres que estuvieron más ampliamente correlacionados en la mayoría de las poblaciones fueron el largo de la corola-largo del estambre (LC-LEST) ($r=0.88$), largo de la corola-largo del estilo (LC-LESTI) ($r=0.85$), largo de la corola-largo de la cámara de néctar (LC-NECT) ($r=0.92$), largo del estambre-largo del estilo (LEST-LESTI) ($r=0.94$) y largo del estambre-cámara de néctar (LEST-NECT) (0.86).

Las poblaciones de *Datura stramonium* estuvieron integradas significativamente (INT varió de 1.32 a 1.99); San Cristóbal tuvo la integración menor con 0.188 y Francisco Villa la mayor con 0.284 del máximo posible.

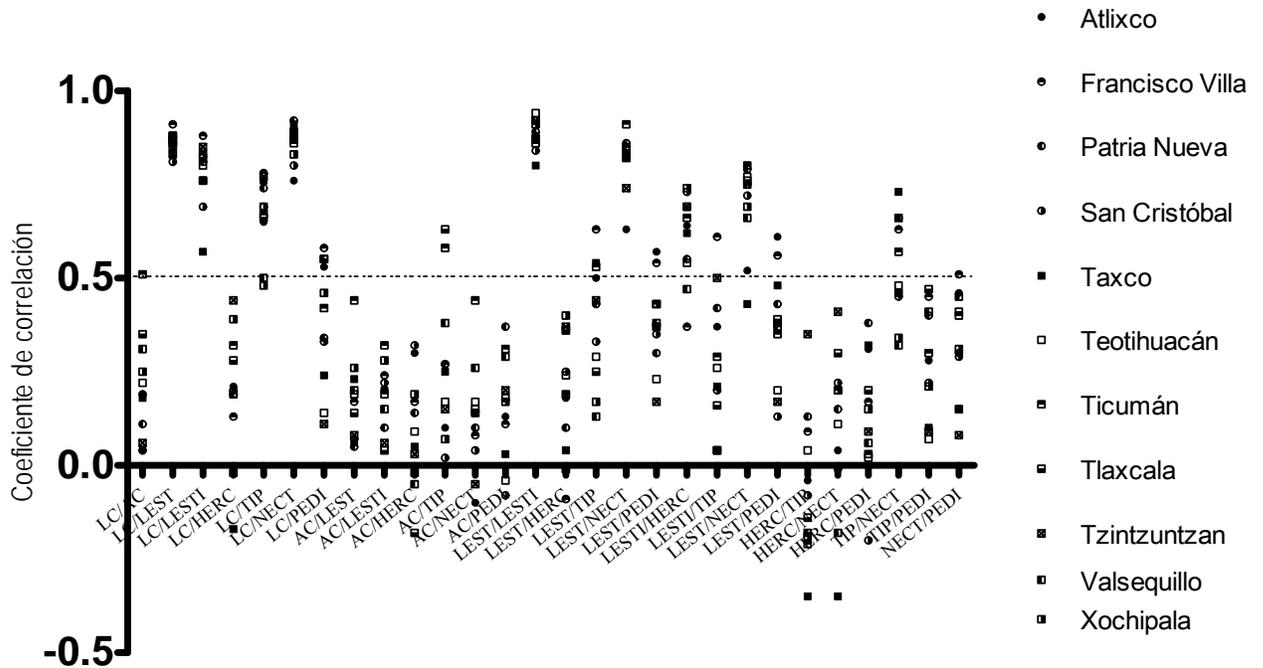


Figura 8. Signo y magnitud de la correlación fenotípica (r de Pearson) entre caracteres florales medidos en once poblaciones mexicanas de *Datura stramonium*. Los puntos, para cada par de caracteres, corresponden a cada una de las localidades estudiadas. LC=Largo de la corola, AC=ancho de la corola, LEST= largo del estambre, LESTI=largo del estambre, HERC=Hercogamia, TIP=Distancia punta de la corola, NECT=longitud de la cámara de néctar.

Tabla 8. Variación interpoblacional en el grado de integración fenotípica entre rasgos florales medidos en once poblaciones mexicanas de *Datura stramonium*. Se muestran también los intervalos de confianza del 95%, obtenidos mediante la técnica de *bootstrapping* (1000).

Población	INT	INTMAX	I C del 95%	
San Cristóbal	1.32	0.188	0.95	1.62
Teotihuacán	1.42	0.203	1.17	1.63
Taxco	1.49	0.213	1.16	1.88
Valsequillo	1.51	0.216	1.27	1.79
Atlixco	1.55	0.222	1.20	1.91
Xochipala	1.60	0.229	1.34	1.91
Tzintzuntzan	1.64	0.235	1.25	1.91
Tlaxcala	1.72	0.246	1.31	2.04
Patria Nueva	1.75	0.250	1.33	2.13
Ticumán	1.97	0.282	1.37	3.27
Francisco Villa	1.99	0.284	1.53	2.36

Discusión

En esta investigación, detectamos la presencia de varianza genética y diferenciación poblacional en caracteres de atracción y recompensa hacia los polinizadores. Los análisis de Q_{ST} son congruentes con una hipótesis de diferenciación adaptativa. Además, detectamos la existencia de un fenotipo floral significativamente integrado y presencia de correlaciones importantes en la evolución de flores tubulares. Se hipotetiza que la diferenciación se debe entre otras causas a diferencias en el tipo y abundancia de polinizadores. A continuación discuto las implicaciones de estos resultados.

La diferenciación poblacional en caracteres florales de Datura stramonium es de naturaleza adaptativa

La diferenciación fenotípica interpoblacional detectada en los ocho rasgos florales analizados de *D. stramonium* es congruente con otros estudios. Se ha reportado variación interpoblacional en condiciones experimentales en 10 poblaciones de *D. stramonium* en el largo de la corola y la hercogamia (López-Velázquez, 2003; Sosensky, 2004). Así como variación fenotípica en rasgos florales en otras especies de la familia Solanaceae, por ejemplo en *Datura wrightii* (Elle y Hare, 2010) y *Nicotiana glauca* (Nattero, et al., 2011). Los caracteres más importantes para la diferenciación poblacional fueron de atracción y la recompensa hacia polinizadores, así como aquellos relacionados con el sistema de apareamiento (i.e. hercogamia). Según los resultados de este análisis las poblaciones formarían cuatro grupos fenotípicos. El primer lo representa Ticumán, el segundo Xochipala, el tercero Teotihuacán, Patria Nueva, Francisco Villa y San Cristóbal; y el cuarto grupo Tzintzuntzán, Taxco, Valsequillo, Atlixco y Tlaxcala.

La diferenciación poblacional en caracteres florales de *D. stramonium* se debe a diferencias genéticas entre las poblaciones, sugiriendo la acción de distintas fuerzas evolutivas. Los caracteres más diferenciados fueron el largo de la corola, el largo de la cámara de néctar ($Q_{ST}=0.58$ para

ambos) y la hercogamia ($Q_{ST} = 0.44$), rasgos asociados con la atracción y recompensa de polinizadores. En otra especie, *Datura inoxia* se encontró diferenciación genética en seis poblaciones para siete rasgos florales (Jiménez-Lobato y Núñez-Farfán, 2012). En comparación con *D. inoxia*, la diferenciación en el largo de la corola y la cámara de néctar en *D. stramonium* es significativamente superior. Teóricamente, se ha establecido que el grado de diferenciación poblacional dependerá de la fuerza relativa de la selección natural, la deriva génica, la mutación y/o la migración (Leinonen *et al.* 2013). En particular en este estudio se exploró el papel de la selección natural vs la deriva génica en la diferenciación poblacional en caracteres florales. Las comparaciones entre Q_{ST} y F_{ST} sugieren que la selección direccional ha exacerbado las diferencias en todos los caracteres florales analizados; Q_{ST} fue mayor a F_{ST} en el largo y ancho de la corola, el largo del estambre y estilo, la hercogamia, la distancia a la punta de la corola y el largo de la cámara de néctar, sugiriendo diferenciación adaptativa ejercida por polinizadores en rasgos asociados con la atracción, la recompensa y el sistema de apareamiento en *D. stramonium*. Diferenciación genética adaptativa en caracteres florales relacionados con la atracción de polinizadores y la exportación/depositación de polen también se ha detectado también en *D. inoxia* (Jiménez-Lobato y Núñez-Farfán, 2012). Nuestros resultados son congruentes con la extensa literatura que demuestra que los polinizadores son los principales agentes de selección que han promovido la evolución de las flores (Fenster y Armbruster, 2004; Strauss y Whittall, 2006; Kay y Sargent, 2009; Bartkowska y Johnston, 2012), ya sea a través de su preferencia por ciertos rasgos individuales o combinaciones entre ellos (correlaciones) o por sus variaciones espacio-temporales (Fenster y Armbruster, 2004; Parachnowitsch y Kessler, 2010; Gómez *et al.*, 2009; Mitchell *et al.* 2009; Schemske y Horvitz, 1989). En este estudio las altas correlaciones detectadas entre el largo de la corola y el largo del estambre, así como con la cámara de néctar concuerdan con el patrón esperado de evolución adaptativa de corolas tubulares por selección por parte de mariposas nocturnas (esfingidos) (Conner y Sterling, 1995; Nilsson, 1988). Por lo tanto, aunque en este estudio no se realizaron experimentos de selección, la alta diferenciación detectada en rasgos de atracción y recompensa (el largo de la

corola y la cámara de néctar) y las altas correlaciones entre el largo de la corola y el estambre sugieren la acción de polinizadores en la diferenciación poblacional, en lugar de la deriva génica la cual se esperaría que redujera la variación fenotípica de los caracteres florales (Pérez-Barrales *et al.* 2007) y que los valores de Q_{ST} fueran iguales a los de F_{ST} (Tuomas Leinonen *et al.*, 2013; O’Hara y Merilä, 2005; Whitlock y Guillaume, 2009; Whitlock, 2008). Por otro lado se esperaría que afectara de manera proporcional la estructura de la covariaciones entre caracteres (Flury, 1988), que no fue el caso en *D. stramonium* donde al comparar las matrices con el método de Fluty las poblaciones no compartieron ningún componente principal como en el caso de las poblaciones de Taxco-Tzintzuntzan o sólo alguno de los elementos como en Francisco Villa-Ticumán, lo cual es congruente con un patrón de selección natural (Phillips y Arnold, 1999; Ashman, 2003).

Las comparaciones entre Q_{ST} y F_{ST} han sido muy utilizadas para inferir “huellas de selección” en varios caracteres fenotípicos. Sin embargo, se han detectado algunos factores que pueden estar promoviendo sesgos en la estimación de los parámetros y por tanto dando una señal errónea de selección (Leinonen *et al.*, 2013; O’Hara y Merilä, 2005; Edelaar y Björklund, 2011). Por ejemplo Q_{ST} se ve influenciado por el tamaño de muestra (10-20 poblaciones), el método de estimación (campo o invernadero), el diseño genético (half-sibs, fullsibs) y la existencia de selección correlativa. En este estudio calculamos los valores de Q_{ST} utilizando once poblaciones y familias de hermanos completos crecidos en invernadero. Siguiendo esta metodología reducimos la variación ambiental en las estimaciones de los Q_{ST} lo que apoya la evidencia de diferenciación genética interpoblacional en caracteres florales. En cuanto a F_{ST} , se ha discutido ampliamente los factores que pueden generar error en la estimación de este parámetro (Edelaar, 2011). Por ejemplo, se ha sugerido que la presencia de *outliers* (*loci* sujetos a selección) y la tasa de mutación del marcador pueden estar sesgando los estimados de F_{ST} . Esto ha generado la necesidad establecer un modelo nulo preciso con el cual poder realizar las comparaciones. Para lo cual es necesario realizar una prueba de neutralidad del marcador, para detectar los *outliers* sujetos a selección. En el caso de los

marcadores, los microsatélites han sido muy criticados por ser altamente variables, incrementando la variación dentro de grupos y disminuyendo el valor de F_{ST} . Esto podría estar generando un marco de comparación neutral muy laxo y por tanto sesgando las inferencias en favor de los efectos de la selección direccional. Sin embargo, algunas simulaciones sugieren que el sesgo por el marcador no sería muy importante a menos que la tasa de migración sea realmente baja en relación a la tasa de mutación (Leinonen *et al.*, 2013). Dadas las posibles fuentes de error en el cálculo F_{ST} y por tanto el sesgo implicado en las comparaciones entre Q_{ST} y F_{ST} sería importante construir una distribución esperada de valores de F_{ST} más robusta con la cual comparar los valores de Q_{ST} . (Whitlock y Guillaume, 2009; Whitlock, 2008). En resumen, a pesar de las debilidades de la comparación entre Q_{ST} vs F_{ST} , la existencia de valores de Q_{ST} mucho mayores que el valor de F_{ST} promedio sugiere que la selección direccional ha promovido la diferenciación poblacional en rasgos de atracción, recompensa de polinizadores, así como rasgos del sistema de apareamiento (hercogamia) de *D. stramonium*. Por tanto, genera la necesidad de confirmación con un método de comparación más robusto y con experimentos de campo.

Evolución del fenotipo floral: respuesta a la selección

En general, todos los caracteres florales de *D. stramonium* analizados poseen varianza genética significativa y heredabilidad en sentido amplio, aunque con variación entre poblaciones. La heredabilidad más baja detectada fue para el largo de la cámara de néctar ($h^2_B=0.30$) y la más alta para el ancho de la corola y la hercogamia ($h^2_B=1.26$). Heredabilidad para estos caracteres se ha detectado también en otras poblaciones de *D. stramonium* (Motten y Stone, 2000; Sosensky, 2004). Nuestros resultados concuerdan con las revisiones que confirman la presencia de variación genética en rasgos florales, en particular en caracteres sexuales primarios (largo del estambre y estilo), de atracción (largo y ancho de la corola, cámara de néctar) y del sistema de apareamiento (hercogamia) (Ashman y Majetic, 2006).

et al. 2007)(Mitchell-olds et al. 2007); Willis, y Goldstein, 2007; Mitchell-olds *et al.*,2007). Algunos estudios muestran que la heredabilidad obtenida en invernadero está sobreestimada y que probablemente no represente con precisión el potencial de responder a selección natural en el campo (Conner *et al.*, 2003). Esto es debido a que las poblaciones en ambientes naturales están sujetas a una mayor varianza ambiental (V_E), la cual contribuye en mayor medida a la varianza fenotípica total (V_P) reduciendo el valor de la heredabilidad en relación a la obtenida en el invernadero. Es muy difícil extrapolar los valores de heredabilidad entre campo e invernadero puesto que este parámetro es específico del tipo de carácter, la población y ambientes cambiando drásticamente de uno a otro. Por lo que sería importante realizar experimentos genéticos en distintos ambientes, para tener una idea más clara del papel de éstos en la expresión fenotípica, así como para detectar una posible interacción del genotipo x ambiente (Pigliucci 2005).

Los valores heredabilidad mayores a uno detectados en ciertas poblaciones para el ancho de la corola, la hercogamia y la longitud de la cámara de néctar podrían explicarse como resultado de violaciones a alguno de los supuestos del modelo de estimación de los componentes de la varianza fenotípica (Falconer y Mackay 1996 Visscher *et al.*, 2006; Hallsson y Björklund, 2012;) ($V_P = V_G + V_E$). Se ha visto que la interacción entre el genotipo x ambiente (i. e. mayor sensibilidad a la varianza ambiental) podría incrementar la varianza genética debida un efecto diferencial sobre los genotipos. Por ejemplo para el ancho de la corola en la población de Tlaxcala se detectó una interacción, aunque no significativa, entre el tamaño de la planta y el bloque que cuando se adicionaba al modelo explicaba una fracción de la varianza fenotípica; aunque no significativa esta interacción podría estar explicando. También interacciones entre los componentes genéticos podrían aumentar el valor de la heredabilidad. Por ejemplo se encontraron valores de heredabilidad mayores

a uno en rasgos morfológicos y fisiológicos en un escarabajo como resultado de interacciones aditiva x aditiva incrementando niveles de varianza genética (Hallsson y Björklund, 2012).

Debido a los efectos anteriores se estimó paralelamente la evolucionabilidad (I_{A_s}) como medida alternativa de potencial evolutivo, la cual facilita la visualización de la respuesta a la selección. La mayor evolucionabilidad se detectó para el ancho de la corola cuyos valores fueron de 1.10, 1.68 y 6.54 % en las poblaciones de Valsequillo, Atlixco y Tlaxcala. En estas poblaciones se esperaría un cambio rápido a la siguiente generación de 1.1, 1.6 y 6.8 mm respectivamente. Esto concuerda con estudios realizados en *Polemonium*, donde se comprobó que posterior a la selección por parte de abejorros, el ancho de la corola sería 9% mayor que en la generación parental (Galen 1996). En contraste, en el resto de los caracteres, el cambio esperado en el valor promedio por unidad de selección, sería menor al 1%, indicando que sólo podrán cambiar una pequeña fracción por generación, aun con una heredabilidad alta, a menos que aumente la intensidad de la selección. Por ejemplo, el largo de la corola tuvo evolucionabilidad de 0.05, 0.11 y 0.12 % en las poblaciones de Patria Nueva, Valsequillo y Ticumán, por tanto el cambio en la media a la siguiente generación sería de 0.47, 0.96 y 1.14 milímetros, respectivamente, si la varianza genética y la intensidad de la selección se mantienen constantes. Estos porcentajes se encuentran dentro del rango detectado por Houle (1992) para caracteres morfológicos. De manera similar, en las flores de *Dalechampia scandens* (Armbruster *et al.* , 2003) se observó que las evolucionabilidades de la hercogamia, el largo del pedúnculo y el largo del estilo, entre otros, fueron menores al 1%, lo que indica que aunque exista varianza genética la respuesta a la selección sería lenta (Hansen y Armbruster, 2003).

Correlaciones genéticas, integración fenotípica y Matriz G

Las poblaciones de *Datura stramonium* estuvieron significativamente integradas con un rango de integración de 0.188 a 0.284 del máximo posible (INTMAX).. Un patrón similar de integración se detectó en *D. innoxia* (Jiménez-lobato y Núñez-farfán, 2012). Estos niveles de integración máxima se distribuyeron alrededor de la media registrada para angiospermas (21.5%) (Ordano *et al.*, 2008), lo que nos sugiere que eventualmente pueden ocurrir respuestas a la selección de los caracteres independientemente de otros (Sánchez-Lafuente y Parra, 2009) o que la selección está favoreciendo asociaciones específicas entre caracteres (Ordano, *et al.*, 2008), por ejemplo entre aquellos caracteres que interactúan funcionalmente en el proceso de la polinización (Conner y Via, 1993). En *D. stramonium* parece la hipótesis de integración funcional podría explicar mejor el bajo nivel de integración floral.

Las correlaciones entre caracteres que se mantuvieron en la mayoría de las poblaciones fueron el largo de la corola-largo del estambre ($r=0.88$), largo de la corola-largo del estilo ($r=0.85$), largo de la corola-largo de la cámara de néctar ($r=0.92$), largo del estambre-largo del estilo ($r=0.94$) y largo del estambre-cámara de néctar ($r=0.86$). En *D. innoxia* se encontraron altas correlaciones entre los filamentos y la corola, caracteres participantes en la deposición/exportación de polen y en la atracción de polinizadores (Jiménez-Lobato y Núñez-Farfán, 2013). Este patrón de correlación entre el tubo de la corola, el del estambre y el del estilo se ha detectado en varias especies; en *Raphanus raphanistrum* (Brassicaceae) y en *Nicotiana alata* y *N. forgetiana* (Solanaceae) se ha sugerido como una característica general de las flores con corolas tubulares (Bissell y Diggle, 2010). Además se han sugerido una base común durante el desarrollo y una relación funcional entre estos caracteres. Por ejemplo el tubo de la corola determina la correcta posición (y profundidad) del polinizador en relación a la recompensa, mientras que la adecuada posición del estigma y las anteras, en relación a la boca de la corola, promueve la eficacia en la transferencia de polen (Bissell y Diggle, 2010; Bissell y Diggle, 2008; Conner y Scott, 1995; Conner y Via, 1993; Nilsson, 1988). Por otro lado,

las correlaciones entre el largo de la corola y el largo de la cámara de néctar son comunes en varios sistemas (Kaczorowski, *et al* 2008) por ser indicadores de la cantidad y concentración de azúcar en el néctar (Duffield, *et al.* 2008). Estas correlaciones sugieren que los caracteres florales de *D. stramonium* comparten un control genético y por otro que la selección natural podría mantener las correlaciones por participar en funciones importantes relacionadas con la atracción de polinizadores así como en la correcta exportación y depositación de polen, constituyéndose como un módulo intrafloral.

El análisis de *random skewers* sugiere diferencias en la respuesta a la selección entre matrices **G** puesto que los vectores de correlación fueron menores que uno. Aunque el rango de correlación fue alto (0.679-0.915) se esperarían respuestas correlativas y univariadas distintas entre sí provocando que las poblaciones difieran en su trayectoria evolutiva. Un patrón similar fue detectado en *Impatiens capensis* donde la correlación en la respuesta a la selección de 0.70 produjeron diferencias fenotípicas del doble aún cuando se simuló el mismo gradiente y frecuencia de selección (Stinchcombe, *et. al.* 2010). Esto indica que las poblaciones no comparten ni tamaño, ni forma; es decir, que son distintas en la cantidad de variación genética aditiva presente en la población sobre la cual podría actuar la selección natural (Calsbeek y Goodnight, 2009)

Para explorar cuáles factores podrían estar generando diferencias en la respuesta a la selección entre las poblaciones, analizamos con el método de Flury a los pares de poblaciones más contrastantes en cuanto a su respuesta a la selección. Francisco Villa-Ticumán con la correlación más alta (0.915) y Tzintzuntzan –Taxco con la más baja (0.679). Francisco Villa y Ticumán compartieron el componente principal 2 que explicó ~3% de la varianza, mientras que Tzintzuntzan y Taxco no estuvieron relacionados de ninguna manera. En el primer, caso las poblaciones no compartieron ningún componente principal y en el segundo se diferenciaron en orientación, forma y tamaño. Finalmente ambos análisis sugieren diferencias en la estructura de la matriz **G** entre las poblaciones debidas a los efectos de la selección natural.

Conclusión

Los resultados sugieren que la diferenciación poblacional en caracteres florales en *D. stramonium* es congruente con una interpretación de naturaleza adaptativa. Encontramos que los rasgos importantes para la evolución por selección ejercida por polinizadores como los de atracción, recompensa y sistema de apareamiento mantienen variación genética, por lo que podrían responder a futuras presiones de selección; a la vez muestran valores de Q_{ST} significativamente mayores a los de F_{ST} . Sin embargo, la baja evolucionabilidad ($>1\%$) detectada para la mayoría de los caracteres sugiere la existencia de restricciones, posiblemente debido a las correlaciones entre los caracteres. Los niveles de integración floral son similares al promedio de las angiospermas, sugiriendo que las flores de *D. stramonium* están poco integradas, lo cual sugiere que la selección ha favorecido la existencia de módulos funcionales altamente correlacionados. Por ejemplo, las altas correlaciones entre el largo del estambre y la cámara de néctar, sugieren que los polinizadores han ejerciendo presiones selectivas muy fuertes, debido a su relación con la deposición de polen y recompensa de polinizadores. Las matrices **G** difieren en su respuesta a la selección y sugieren que las poblaciones podrían seguir trayectorias evolutivas distintas en cada población de *D. stramonium*. Determinar cuál es el papel de los polinizadores en la variación de los caracteres florales es fundamental para entender mejor los mecanismo en la evolución floral adaptativa y su relación con el sistema de apareamiento de *Datura stramonium*.

Literatura citada

- Armbruster, W. S., T. F. Hansen, C. Pe, and M. L. Carlson. 2003. Evolvability and genetic constraint in *Dalechampia* blossoms : components of variance and measures of evolvability 16:754–766.
- Ashman, T.-L., and C. J. Majetic. 2006. Genetic constraints on floral evolution: a review and evaluation of patterns. *Heredity* 96:343–52.
- Bartkowska, M. P., and M. O. Johnston. 2012. Pollinators cause stronger selection than herbivores on floral traits in *Lobelia cardinalis* (Lobeliaceae). *The New phytologist* 193:1039–48.
- Bissell, E. K., and P. K. Diggle. 2008. Floral Morphology in *Nicotiana* : Architectural and Temporal Effects on Phenotypic Integration. *International Journal of Plant Sciences* 169:225–240.
- Bissell, E. K., and P. K. Diggle. 2010. Modular genetic architecture of floral morphology in *Nicotiana* : quantitative genetic and comparative phenotypic approaches to floral integration 23:1744–1758.
- Calsbeek, B., and C. J. Goodnight. 2009. Empirical comparison of G matrix test statistics: finding biologically relevant change. *Evolution; international journal of organic evolution* 63:2627–35.
- Cheverud, J. M., and G. Marroig. 2007. Research Article Comparing covariance matrices: random skewers method compared to the common principal components model. *Genetics and Molecular Biology* 30:461–469.
- Conner, J. 2002. Genetic mechanisms of floral trait correlations in a natural population. *Nature* 420:407–410.
- Conner, J. 2006. Ecological genetics of floral evolution. *Ecology and evolution of flowers*:260–277.
- Conner, J. K., R. Franks, and C. Stewart. 2003. Expression of additive genetic variances and covariances for wild radish floral traits: comparison between field and greenhouse environments. *Evolution; international journal of organic evolution* 57:487–95.
- Conner, J. K., and R. D.- Scott. 1995. The effect of wild radish floral morphology on pollination efficiency by four taxa of pollinators. *Oecologia* 104:234–245.
- Conner, J. K., and A. STERLING. 1995. TESTING HYPOTHESES OF FUNCTIONAL RELATIONSHIPS! A COMPARATIVE SURVEY OF CORRELATION PATTERNS AMONG FLORAL TRAITS IN FIVE. *American Journal of Botany* 82:1399–1406.
- Conner, J. K., and S. Via. 1993. Patterns of Phenotypic and Genetic Correlations among Morphological and Life-History Traits in Wild Radish , *Raphanus raphanistrum*. *Evolution* 47:704–711.

- Crane, P. R., E. M. Friis, and W. G. Chaloner. 2010. Darwin and the evolution of flowers. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 365:347–50.
- Edelaar, P. 2011. Comparisons between QST and FST—how wrong have we been? *Molecular ecology*:4830–4839.
- Edelaar, P., and M. Björklund. 2011. If F(ST) does not measure neutral genetic differentiation, then comparing it with Q(ST) is misleading. Or is it? *Molecular ecology* 20:1805–12.
- Elle, E., and J. D. Hare. 2010. Environmental induced variation in floral traits affects Environmentally the mating system in *Datura wrightii*. *Functional Ecology* 16:79–88.
- Fenster, C., and W. Armbruster. 2004. Pollination syndromes and floral specialization. *Annual Review of ...* 35:375–403.
- Galen, C. 1996. RATES OF FLORAL EVOLUTION : ADAPTATION TO BUMBLEBEE POLLINATION IN AN ALPINE WILDFLOWER , *POLEMONIUM VISCOSUM*. *Evolution* 50:120–125.
- Hallsson, L. R., and M. Björklund. 2012. Sex-specific genetic variances in life-history and morphological traits of the seed beetle *Callosobruchus maculatus*. *Ecology and evolution* 2:128–38.
- Hansen, T. F., and W. S. Armbruster. 2003. Evolvability and Genetic Constraint in *Dalechampia Blossoms* : Genetic Correlations and Conditional Evolvability. *Journal of experimental zoology. Part B, Molecular and developmental evolution* 39:23–39.
- Hansen, T. F., C. Pélabon, and D. Houle. 2011. Heritability is not Evolvability. *Evolutionary Biology* 38:258–277.
- Herrera, C., and X. Cerdá. 2002. Floral integration, phenotypic covariance structure and pollinator variation in bumblebee-pollinated *Helleborus foetidus*. *Journal of ...* 15:108–121.
- Houle, D. 1992. Comparing evolvability and variability of quantitative traits. *Genetics* 130:195–204.
- Jiménez-lobato, V., and J. Núñez-farfán. 2012. Population differentiation in floral characters of *Datura inoxia* Mill . *Evolutionary Ecology Research*:1015–1038.
- Jolivet, C., and G. Bernasconi. 2007. Molecular and quantitative genetic differentiation in European populations of *Silene latifolia* (Caryophyllaceae). *Annals of botany* 100:119–27.
- Juárez Ramírez Jorge Octavio. 2008. DIFERENCIACIÓN ADAPTATIVA DEL FENOTIPO FLORAL DE *Datura stramonium*: VARIANZA GENÉTICA DEL NÉCTAR. . Universidad Nacional Autónoma de México.

- Kaczorowski, R. L., T. E. Juenger, and T. P. Holtsford. 2008. Heritability and correlation structure of nectar and floral morphology traits in *Nicotiana glauca*. *Evolution; international journal of organic evolution* 62:1738–50.
- Kleunen, M., and K. Ritland. 2004. Predicting evolution of floral traits associated with mating system in a natural plant population. *Journal of evolutionary biology* 17:1389–99.
- Knapp, S. J., W. C. Bridges-Jr, and M. H. Yang. 1989. Nonparametric confidence interval estimators for heritability and expected selection response. *Genetics* 121:891–8.
- Leinonen, T., R. J. S. McCairns, R. B. O’Hara, and J. Merilä. 2013. QST–FST comparisons: evolutionary and ecological insights from genomic heterogeneity. *Nature Reviews Genetics* 14:179–190.
- Leinonen, T., and R. O’HARA. 2008. Comparative studies of quantitative trait and neutral marker divergence: a meta-analysis. *Journal of evolutionary ...*:1–17.
- Leinonen, T., R. B. O’Hara, J. M. Cano, and J. Merilä. 2008. Comparative studies of quantitative trait and neutral marker divergence: a meta-analysis. *Journal of evolutionary biology* 21:1–17.
- Marroig, G., and J. M. Cheverud. 2001. A comparison of phenotypic variation and covariation patterns and the role of phylogeny, ecology, and ontogeny during cranial evolution of new world monkeys. *Evolution; international journal of organic evolution* 55:2576–600.
- Mitchell, R. 2004. Heritability of nectar traits: why do we know so little? *Ecology* 85:1527–1533.
- Mitchell-Olds, T., J. H. Willis, and D. B. Goldstein. 2007. Which evolutionary processes influence natural genetic variation for phenotypic traits? 8.
- Motten, A. F., and J. Antonovics. 1992. Determinants of outcrossing rates in a predominantly self-fertilizing weed *Datura stramonium* (Solanaceae). *American journal of botany* 74:419–427.
- Motten, A., and J. Stone. 2000. Heritability of stigma position and the effect of stigma-anther separation on outcrossing in a predominantly self-fertilizing weed, *Datura stramonium* (Solanaceae). *American Journal of Botany* 87:339–347.
- Murren, C. 2002. Phenotypic integration in plants. *Plant Species Biology*:89–99.
- Nattero, J., A. N. Sérsic, and A. A. Cocucci. 2011. Geographic variation of floral traits in *Nicotiana glauca*: Relationships with biotic and abiotic factors. *Acta Oecologica*:1–9.
- Nilsson, A. L. 1988. The evolution of deep corolla tubes. *Nature*.
- Nunez-Farfan, J., and R. Dirzo. 1994. Evolutionary ecology of *Datura stramonium* L. in central Mexico: natural selection for resistance to herbivorous insects. *Evolution* 48:423–436.
- O’Hara, R. B., and J. Merilä. 2005. Bias and precision in QST estimates: problems and some solutions. *Genetics* 171:1331–9.

- Ordano, M., J. Fornoni, K. Boege, and C. a Domínguez. 2008. The adaptive value of phenotypic floral integration. *The New phytologist* 179:1183–92.
- Parachnowitsch, A., and A. Kessler. 2010. Pollinators exert natural selection on flower size and floral display in *Penstemon digitalis*. *New Phytologist*:393–402.
- Pérez-Barrales, R., J. Arroyo, and W. Scott Armbruster. 2007. Differences in pollinator faunas may generate geographic differences in floral morphology and integration in *Narcissus papyraceus* (Amaryllidaceae). *Oikos* 116:1904–1918.
- Pigliucci, M. 2005. Evolution of phenotypic plasticity: where are we going now? *Trends in ecology & evolution* 20:481–6.
- Revell, L. J. 2007. THE G MATRIX UNDER FLUCTUATING CORRELATIONAL MUTATION AND SELECTION. *Evolution* 61:1857–1872.
- Roff, D. A., J. M. Prokko, I. Krams, and M. J. Rantala. 2012. There is more than one way to skin a G matrix 25:1113–1126.
- Sánchez-Lafuente, A. M., and R. Parra. 2009. Implications of a long-term, pollinator-mediated selection on floral traits in a generalist herb. *Annals of botany* 104:689–701.
- Sapir, Y., and W. S. Armbruster. 2010. Selection and floral evolution : from pollination ecology to macroevolution. *New Phytologist* 188:303–306.
- Schemske, D. W., and C. C. Horvitz. 1989. Temporal Variation in Selection on a Floral Character. *Evolution* 43:461–465.
- Spitze, K. 1993. Population Structure in *Daphnia obtusa*: Quantitative Genetic and Allozyme variation. *Genetics* 135:367–364.
- Stinchcombe, J. R., R. Izem, M. S. Heschel, B. V McGoey, and J. Schmitt. 2010. Across-environment genetic correlations and the frequency of selective environments shape the evolutionary dynamics of growth rate in *Impatiens capensis*. *Evolution; international journal of organic evolution* 64:2887–903.
- Strauss, S., and J. Whittall. 2006. Non-pollinator agents of selection on floral traits. *Ecology and evolution of flowers*.
- Streisfeld, M. A., and J. R. Kohn. 2010. Contrasting Patterns of Floral and Molecular Variation across a Cline in *Mimulus aurantiacus*. *Evolution* 59:2548–2559.
- Url, S., and D. Roff. 2002. Comparing G Matrices : A Manova Approach Author (s): Derek Roff Reviewed work (s): COMPARING G MATRICES : A MANOVA APPROACH 56:1286–1291.
- Via, S. 1984. The Quantitative Genetics of Polyphagy in an Insect Herbivore. II. Genetic Correlations in Larval Performance Within and Among Host Plants. *Evolution* 38:896–905.

- Visscher, P. M., W. G. Hill, and N. R. Wray. 2008. Heritability in the genomics era--concepts and misconceptions. *Nature reviews. Genetics* 9:255–66.
- Visscher, P. M., S. E. Medland, M. a R. Ferreira, K. I. Morley, G. Zhu, B. K. Cornes, G. W. Montgomery, and N. G. Martin. 2006. Assumption-free estimation of heritability from genome-wide identity-by-descent sharing between full siblings. *PLoS genetics* 2:e41.
- Wagner, G. P. 1984. On the eigenvalue distribution of the genetica and phenotypic dispersion matrices: Evidence for a nonrandom organization of quantitative character variation. *Journal of Mathematical Biology* 21:77–95.
- Whitlock, M. C. 2008. Evolutionary inference from QST. *Molecular ecology* 17:1885–96.
- Whitlock, M. C., and F. Guillaume. 2009. Testing for spatially divergent selection: comparing QST to FST. *Genetics* 183:1055–63.
- Williams, J., and J. K. Conner. 2001. Source of phenotypic variation in floral traits in wild radish, *Raphanus raphanistrum* (Brassicaceae). *American journal of botany* 88:1577–1581.
- Yoshida, Y., M. Honjo, N. Kitamoto, and R. Ohsawa. 2008. Genetic variation and differentiation of floral morphology in wild *Primula sieboldii* evaluated by image analysis data and SSR markers. *Breeding Science* 58:301–307.