



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE ECOLOGÍA

BIOLOGÍA EVOLUTIVA

**VARIACIÓN GENÉTICA Y PLASTICIDAD FENOTÍPICA EN
CARACTERES FLORALES DEL RANGO NATIVO Y NO-NATIVO
DE *Datura stramonium***

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

POR

BIÓLOGA MACARENA MARÍN RODULFO

COMITÉ TUTOR:

DR. JUAN NÚÑEZ FARFÁN, INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

DR. JUAN ARROYO MARÍN, UNIVERSIDAD DE SEVILLA, ESPAÑA

DRA. VANIA JIMÉNEZ LOBATO, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE GUERRERO, MÉXICO

CIUDAD UNIVERSITARIA, CIUDAD DE MÉXICO JUNIO 2022



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.

COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

ENTIDAD INSTITUTO DE ECOLOGÍA

OFICIO CPCB/383/2022

ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C Ivonne Ramírez Wence

Directora General de Administración Escolar, UNAM

Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Subcomité de Ecología y Biología Evolutiva del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **7 de octubre de 2020**, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **Biología Evolutiva** de la alumna **MARÍN RODULFO MACARENA**, con número de cuenta **519494576** con la tesis titulada:

“VARIACIÓN GENÉTICA Y PLASTICIDAD FENOTÍPICA EN CARACTERES FLORALES DEL RANGO NATIVO Y NO-NATIVO DE *Datura stramonium*”, bajo la dirección del **DR. JUAN SERVANDO NÚÑEZ FARFÁN**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DR. JUAN ENRIQUE FORNONI AGNELLI

Vocal: DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA

Secretario: DR. JUAN ARROYO MARÍN

Suplente: DRA. MONTSERRAT ARISTA PALMERO

Suplente: DR. ANTONIO MARCIAL ESCUDERO LIRIO

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

ATENTAMENTE

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 22 de abril de 2022

COORDINADOR DEL PROGRAMA




DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA

COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Unidad de Posgrado, Edificio D, 1º Piso. Circuito de Posgrados, Ciudad Universitaria
Alcaldía Coyoacán. C. P. 04510 CDMX Tel. (+5255)5623 7002 <http://pcbiol.posgrado.unam.mx/>

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 apoyo financiero en el contexto de mi investigación aportado por el Proyecto PAPIIT-DGAPA IN216620 "Evolución de la defensa química de las plantas cuando sus herbívoros están ausentes" y el Proyecto Fronteras de la Ciencia CONACYT No. 1527 "GENÓMICA DE LA DEFENSA EN PLANTAS CONTRA SUS ENEMIGOS NATURALES".

A mi tutor principal el Dr. Juan Núñez Farfán por su fiel compromiso y apoyo incondicional para conseguir este proyecto.

A los miembros del Comité Tutor: Dr Juan Arroyo Marín y Dra. Vania Jiménez Lobato. Gracias por su asesoría y comentarios durante todo el desarrollo de mi proyecto.

Agradecimientos a título personal

Durante todo este tiempo y habiendo cruzado el charco, son muchas las personas que han pasado por esta, corta pero intensa, etapa de mi vida. Hay personas que empezaron esto conmigo y siguieron hasta el final, otras aparecieron por el camino, a mitad y otras han llegado en la etapa final ofreciéndome su apoyo.

Primero, gracias a mi familia, a mi madre y a mi padre, por respetar mis sueños, mi libertad. Gracias por enseñarme la constancia en el trabajo y a no abandonar cuando el mundo saca sus dientes, gracias por enseñarme a ser fuerte y a perseguir lo que deseo sin ver barreras, que solo haya ganas. Gracias por siempre acercarme vuestra mano cuando la necesito.

Tengo que dar las gracias profundamente a quien me acogió con los brazos abiertos en su laboratorio, sin dudar, sin juzgar y confiando en mí, dándome la preciosa oportunidad de aprender de su mano. Era justo lo que necesitaba en aquel momento y me lo brindaste. Gracias de corazón Juan, por toda su confianza, sus enseñanzas, su cariño y todo su cuidado, mientras estuve allí y una vez llegué a España. Gracias, por haber respetado mis tiempos.

Casi me cuesta expresar con palabras el agradecimiento que siento en el pecho a quién fue mi ángel de la guarda cuando puse un pie en México, Vania, gracias por cuidar de mí, tú y tu preciosa familia, tu papá, tu mamá y Orlando. Gracias, por tu hospitalidad, tu paciencia conmigo, gracias por sentarte a mi lado y enseñarme lo que no sabía, gracias por todo tu apoyo siempre. Eres una mujer fuerte, que me inspira.

Mil gracias a Rosalinda Tapia López. ¿Qué hubiese sido de mí sin ti? Gracias por haberme acogido como lo hiciste, por el inmenso cariño que siempre me diste y me das, gracias por tus palabras, por tu confianza, por tus consejos, por tus mensajes de ánimo, tu apoyo... te llevo en mi corazón. Gracias también, por todo el apoyo técnico y logístico para realizar el experimento, gracias por sacrificar tu tiempo para ayudarme.

A mi gran amigo Jorge, quién nunca dudó en ayudarme, horas y horas y horas midiendo flores, sacando néctar en la noche, contando óvulos, sacando granos de polen, contando semillas. Además, de las infinitas explicaciones en bucle para que entendiera las cosas. Gracias por toda tu ayuda, sin ti, todo hubiese sido mucho más difícil, me ayudaste tanto... y siempre con ese buen humor y gracias por todas esas risas infinitas.

Gracias a Hernán, por sacrificar su tiempo por mí y mi proyecto de vida en aquel momento, por apoyarme y respetar mis agobios, mis tiempos, gracias por tu paciencia... Gracias infinitas Hernán, fuiste fundamental.

Gracias, a esos ojos color cielo, a quién me empuja a cruzar océanos, la que me alienta a ir por donde yo siento, la que me da alas desde el corazón, la que me inspira a ser mejor, más justa, a quién se cruzó el Atlántico para ayudarme. Hermana, gracias, te quiero.

Gracias a mi hermano, que me inspira indirectamente mediante sus actos a perseguir lo que uno siente, a cumplir sueños, cueste lo que cueste.

Agradezco a mis compañeros del laboratorio y amigos, quienes me ayudaron cuando pudieron, con su mejor ánimo y voluntad: Edna, Estefanía, Paola, Frasco, Elisa, Julian, Berta, Laura, Alfred. incluso Eunice, Sabina y Jesús. Pero en especial, Ana Lucía, que nadie la veía, pero que se levantaba cada mañana durante sus vacaciones para venir a ayudarme bien temprano en el invernadero, gracias amiga. Gracias en general a todas las personas que forman este laboratorio, por haberme ayudado de una manera u otra.

Gracias también a Sonia, que sin tener por qué, venía todas las noches con Juan para ayudarme a medir.

Gracias a Laura, por todos sus consejos, sus explicaciones, su ayuda, su amable compañía, por compartir desahogos, por darme siempre una perspectiva positiva de las cosas.

Gracias a mi amiga Sara, quien tanto tanto tanto me ha enseñado de este mundo y de la vida. Gracias, por haber confiado siempre en mí y por animarme en cada caída, escuchándome pacientemente. Eres una valiente y una referente para mí.

A mi querida rommie, Berta, gracias por tan buenos momentos, gracias por acogerme en casa, gracias por enseñarme tanto de la vida, menos tensa y quitarme los agobios con limón y sal...y algún tequila.

Gracias a los miembros de mi tribunal Juan Enrique Fornoni Agnelli, Maria del Coro Arizmendi, Marcial Escudero, Montserrat Arista y Juan Arroyo, por todos sus comentarios y correcciones, pero sobre todo a los dos últimos quienes no han dejado de apoyarme y animarme. Gracias.

Finalmente, agradezco al Instituto de Ecología de la UNAM, donde nació este trabajo.

Me gustaría agradecer también a dos personas que no han estado involucradas en este proyecto pero que forman parte de la bióloga que soy yo ahora, mis dos mentores de tiempos anteriores, Manolo García y Ana Teresa Romero, gracias por haber puesto los cimientos de mi carrera profesional y humana, gracias, por haber confiado en mí siempre. Parte de esto, también es vuestro.

ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	4
MATERIAL Y MÉTODOS	8
Especie de estudio y poblaciones	8
Cultivo de plantas y tratamientos experimentales	10
Caracteres florales	10
Medidas de éxito reproductivo	12
Fenología floral	13
Relación polen-óvulos	13
Análisis estadísticos	13
Estimación de varianza genética y heredabilidad de los caracteres florales	13
Estimación de plasticidad	14
Diferencias entre experimentos de polinización y estimación de depresión endogámica	15
Correlaciones y patrones de integración fenotípica	15
Relación polen/óvulos	16
Fenología, apertura de corola y dehiscencia de las anteras	16
RESULTADOS	16
Variación genética de los caracteres florales	17
Heredabilidad	20
Plasticidad fenotípica en caracteres florales	21
<i>Efecto del tratamiento y las familias genéticas en cada población</i>	21
<i>Variación fenotípica de las poblaciones en las condiciones experimentales</i>	21
<i>Estimación de la plasticidad fenotípica en respuesta a dos condiciones de nutrientes</i>	23

Diferencias entre experimentos de polinización y estimación de depresión endogámica	24
.....	24
<i>Contraste de medias entre ambos experimentos de polinización</i>	24
<i>Análisis de la varianza</i>	27
<i>Análisis de la varianza de la masa por semilla de autopolinización</i>	27
<i>Análisis de la varianza de la masa por semilla de polinización cruzada</i>	27
<i>Análisis de la varianza de la variable masa por semilla de ambos experimentos de polinización</i>	27
<i>Trade-off entre número y masa de semillas</i>	29
<i>Determinación y análisis de depresión endogámica</i>	29
Integración fenotípica floral	31
Relación Polen/Óvulos	33
Fenología	34
DISCUSIÓN	35
Ley de Baker, arquitectura floral y hercogamia	36
Integración floral y correlaciones entre pares de caracteres	38
Relación Polen/Óvulos	40
Depresión endogámica	41
Protandria	42
Variación genética	42
Plasticidad fenotípica	44
Conclusiones, consideraciones finales y futuras investigaciones	46
REFERENCIAS	48
APÉNDICE	54

RESUMEN

La evolución de la gran diversidad de flores entomófilas es resultado de la interacción con distintos polinizadores o agentes de selección. Sin embargo, cuando las poblaciones de plantas colonizan nuevas áreas donde éstos no están presentes y/o hay limitación de parejas reproductivas, podrían darse cambios en el fenotipo floral que conducirían a un cambio en el sistema de apareamiento donde se favorecería la autogamia maximizando así el *fitness* (i.e., éxito reproductivo). Además, la variación genética que se esperaría encontrar en el nuevo rango sería menor en contraste con la del rango nativo debido al efecto fundador; sin embargo, las poblaciones de la distribución no-nativa podrían haber evolucionado plasticidad fenotípica en rasgos que promovieran la autofecundación. Para evaluar esto, hemos estudiado cuatro poblaciones, dos de la distribución nativa (México) y dos de la distribución no-nativa (España) de *Datura stramonium*, una planta invasora subcosmopolita, con síndrome de polinización por esfíngidos y un sistema de apareamiento mixto. Se llevó a cabo un experimento en invernadero donde se cultivaron diez familias genéticas de hermanos completos (derivados de autofecundación) de cada población en bajo y alto nivel de nutrientes (cuatro réplicas en cada nivel) para investigar la variación genética y plasticidad fenotípica del tamaño de la corola, la hercogamia (separación espacial entre estigma y anteras), el volumen de néctar, la relación polen/óvulos, el número y masa de las semillas derivadas de autofecundación y fecundación cruzada, la apertura de la corola y la protandria. Los resultados revelaron que: 1. Existe diferenciación entre poblaciones en todos los rasgos florales así como diferenciación significativa entre el rango nativo y no-nativo para la hercogamia. 2. Los caracteres florales presentan mayor heredabilidad (en sentido amplio) en las poblaciones del rango nativo. 3. Los caracteres más plásticos son los relacionados con el *fitness* (número y masa de las semillas) y volumen de néctar, siendo la población del rango nativo la más plástica. 4. No se encontró depresión endogámica en las poblaciones no-nativas y baja en las nativas. 5. El fenotipo floral está integrado significativamente en todas las poblaciones, y las poblaciones no nativas presentan mayor integración fenotípica floral que las nativas. 6. La cantidad de polen producido por flor tiende a ser menor en las poblaciones no-nativas. 7. Existen diferencias significativas entre rangos en la dehiscencia de las anteras. Mis resultados apoyan la idea de evolución del sistema de apareamiento hacia la autogamia en poblaciones del rango no-nativo de *Datura stramonium*, evidenciándose a partir de los rasgos florales atribuibles al síndrome de la autopolinización (que se traduce en “garantía reproductiva”) y a la ausencia de depresión endogámica.

Palabras clave: Caracteres florales, depresión endogámica, garantía reproductiva, hercogamia, hierba invasora, plasticidad fenotípica, síndrome de autopolinización, sistema de apareamiento, variación genética.

ABSTRACT

The evolution of the majority of the entomophilous flowers results from the interaction with different pollinators that act as selection agents. However, when plant populations colonize new areas and/or there is limitation of reproductive mates, the floral phenotype can change, driving a change in the mating system towards autogamy, thus maximizing reproductive fitness (reproductive success). Moreover, the expected genetic variation in the new range would be reduced as compared to the native range, due to the founder effect; yet, populations from the non-native range could evolve phenotypic plasticity of traits that promote autogamy. To assess these expectations, we studied four populations of *Datura stramonium*, two from the native range (Mexico) and two from the non-native range (Spain). *Datura stramonium* displays the moth pollination syndrome and has a mixed mating system. We grew ten full sib genetic families from each population in the greenhouse, in low and high nutrient conditions (four replicates in each level) to assess genetic variation and/or phenotypic plasticity of corolla size, herkogamy, nectar volume, pollen/ovule ratio, seed number and mass by mating type (selfing and cross pollination), corolla width and the timing of anthers' dehiscence. Results indicate that: 1. Population differentiation for all flower traits, and differentiation between ranges. 2. Flower characters had higher broad sense heritability in the native range. 3. The more plastic characters are those related to reproductive fitness (number of seeds and their mass) and nectar volume. Populations from the native range were more plastic. 4. We did not find evidence of inbreeding depression in non-native populations, and very low values in native populations. 5. The floral phenotype is significantly integrated in all populations, but non-native populations are more integrated than native populations. 6. Pollen quantity per flower is lower in non-native populations. 7. There were significant differences in the timing of anther dehiscence between ranges. Overall, my results support the evolution towards selfing in non-native populations of *Datura stramonium*, as shown by floral traits related to the selfing syndrome (showing reproductive assurance) and the absence of inbreeding depression.

Key words: floral characters, genetic variation, herkogamy, inbreeding depression, invasive herb, mating system, phenotypic plasticity, reproductive assurance, selfing-syndrome.

INTRODUCCIÓN

Una especie introducida en un nuevo ambiente (no nativo), se considera exótica y puede convertirse en invasora (Richardson *et al.*, 2000b) si es demográficamente exitosa; es decir, si adquiere grandes abundancias poblacionales a largo plazo y a gran escala (Mitchell *et al.*, 2006). Sin embargo, para colonizar, sobrevivir, regenerar y dispersarse una especie exótica debe superar los mismos “filtros” bióticos y abióticos que operan sobre las especies que interactúan con ella (Mitchell *et al.*, 2006). Esto, sumado al hecho que la introducción de una especie y sus especies mutualistas (polinizadores y dispersores) y antagonistas (depredadores y parásitos y/o patógenos) no ocurre necesariamente de forma simultánea, puede fomentar la evolución fenotípica rápida (Bossdorf *et al.*, 2005), que diferencia a las poblaciones introducidas de sus congéneres en el rango nativo.

En los primeros estadios del evento de colonización, la dinámica de las nuevas poblaciones se encuentra bajo diversas fuerzas selectivas, pues su establecimiento depende de la constitución genética de los colonizadores y de su reproducción efectiva en el nuevo ambiente (Barrett *et al.*, 2008). La nueva población podría sufrir un “cuello de botella” debido a que el número inicial de colonizadores es a menudo pequeño o porque sólo unos pocos individuos llegan a adaptarse. La deriva genética durante la colonización podría conducir a una reducción de la variación genética aumentando la homocigosis dentro de las poblaciones, lo cual tiene dos consecuencias: Primero, la depresión endogámica podría limitar el crecimiento de la población y disminuir la probabilidad de que la población persista. Segundo, una diversidad genética reducida limitará la evolución adaptativa de rasgos bajo nuevas condiciones ecológicas (Sakai *et al.*, 2001). Estas consecuencias serán especialmente fuertes cuando todos los colonizadores derivan de la misma población fuente. Por tanto, una nueva población establecida probablemente será mucho menos diversa genéticamente que la población de la cual proviene (Barrett y Kohn, 1991).

A pesar de todo ello, algunas especies introducidas consiguen establecerse exitosamente en el nuevo rango de distribución, fenómeno conocido como “paradoja de la invasión” (Sax y Brown, 2000). Este fenómeno está determinado por las propiedades de las especies invasoras y las de las especies nativas (por ejemplo, capacidades competitivas, capacidad a resistir alteraciones) (Lonsdale, 1999). Una especie podría ser invasora porque comparte rasgos con especies nativas residentes y compite exitosamente con ellas o, alternativamente, porque posee rasgos diferentes respecto a las especies nativas y por tanto puede ocupar “nichos vacíos”,

tomando ventaja de condiciones ambientales no explotadas por las nativas o de nuevas condiciones ambientales, y así, el éxito de las plantas alóctonas podría diferir de la mayoría de las nativas (van Kleunen *et al.*, 2015). Para entender esta paradoja es necesario analizar los caracteres relacionados con la capacidad de colonización y los cambios provocados por los factores de los nuevos entornos (van Kleunen *et al.*, 2015) en cuanto a la estructura genética de los rasgos de historia de vida que podrían proporcionar especies con gran plasticidad fenotípica o gran potencial para cambios evolutivos rápidos (Sakai *et al.*, 2001). Baker (1974) propuso una lista de atributos reproductivos y ecológicos que debería tener una “maleza” ideal (que invade áreas intensamente perturbadas tales como cultivos). Esta es la llamada “Ley de Baker”, la cual comprende las características que deberían aumentar el éxito de los individuos que las presentan. De los atributos señalados por Baker, Sutherland (2004) confirma la importancia de la polinización generalista, tiempos de generación cortos, mayor producción de semillas, crecimiento rápido y vigoroso, protección contra herbívoros y particularmente, adaptación al estrés ambiental y alta tolerancia a la heterogeneidad ambiental. Aunque el rasgo óptimo dependerá del contexto ambiental de la especie en concreto. Por tanto, son diferentes factores los que podrían determinar el potencial invasor de una planta.

A nivel de rasgos funcionales particulares, la plasticidad fenotípica es la propiedad de un genotipo para producir diferentes fenotipos en respuesta a distintas condiciones ambientales, y es considerada un atributo relevante de las poblaciones colonizadoras en plantas, por ofrecer resistencia al estrés ambiental y tolerancia a la heterogeneidad de recursos (Camargo *et al.*, 2017). Esta idea viene basada en los siguientes supuestos: primero, una planta invasora normalmente llega a una nueva área con pocos individuos (y en general relativamente baja diversidad genética) y se enfrenta a un ambiente que difiere del cual evolucionó, por lo que altos niveles de plasticidad fenotípica deberían permitir a una especie colonizadora hacer frente y establecerse en estas nuevas condiciones (Schlichting y Levin, 1986). De hecho, se ha demostrado que la amplitud ecológica se correlaciona positivamente con la plasticidad en algunas especies (Pohlman *et al.*, 2005). En segundo lugar, es probable que la capacidad de aprovechar las fluctuaciones ambientales a través de la plasticidad fenotípica adaptativa afecte no solo la capacidad de una planta de establecerse en un nuevo entorno, sino también su capacidad de competir con la vegetación existente, es decir, su éxito como invasora (van Kleunen y Richardson, 2007). En general, especies con amplia tolerancia ambiental, y por tanto un amplio nicho potencial, con mayor probabilidad, encontrarán condiciones adecuadas de crecimiento, y así podría surgir el nuevo rango de distribución de una especie (Gianoli, 2004).

Por otro lado, como apuntó Baker (1955), la invasión de una planta está facilitada por la autocompatibilidad reproductiva más que por la autoincompatibilidad. Los componentes reproductivos son una de las características más importantes para definir el potencial invasor de una planta (Drake *et al.*, 1989) ya que determinan su potencial para establecerse y expandirse hacia nuevas localidades (Greenberg *et al.*, 2001). El sistema de reproducción y el sistema de apareamiento no son condiciones estáticas (Ritland y Jain, 1981), por lo que, como consecuencia de los factores del nuevo ambiente, un cambio en el sistema de reproducción puede suceder y tener importantes consecuencias en la estructura genética de las poblaciones (influye en la tasa de expansión de una especie invasora) (Barrett y Eckert, 1990). Por tanto, especies invasoras, especialmente no perennes, cuyos individuos varían en el grado de autocompatibilidad dentro del rango nativo, podrían ser autocompatibles en poblaciones invasoras debido a la acción de la selección natural sobre el sistema de apareamiento (Petanidou *et al.*, 2012). De hecho, el cambio del sistema de apareamiento de fecundación cruzada a autopolinización es una de las transiciones evolutivas más frecuentes en las plantas con flor y está a menudo asociado con una reducción específica de órganos florales (Sicard *et al.*, 2016). Es importante remarcar que el sistema de apareamiento está estrechamente relacionado con los polinizadores, por lo que para las plantas que requieren de animales como vectores de polen, la ausencia de polinizadores eficaces en el nuevo rango podría fomentar un cambio en el sistema de apareamiento hacia la autogamia (Moodley *et al.*, 2016). La transición a la autogamia involucraría cambios fenotípicos en los caracteres reproductivos que median la interacción con polinizadores (Pannell, 2015), debido a un relajamiento de la selección sobre estos rasgos florales (Jiménez-Lobato *et al.*, 2018), y por tanto se esperaría una menor integración fenotípica de estos caracteres (Herrera, 2002), al menos en la transición hacia la autogamia. Además, conforme la tasa de autopolinización aumenta también los caracteres florales de atracción o recompensas a los polinizadores podrían ser seleccionados en contra o estar sujetos a una selección relajada (Jiménez-Lobato y Núñez-Farfán en revisión (“Mating system and flower phenotype of a hawkmoth-pollinated plant”). A este conjunto de cambios de caracteres morfológicos en órganos reproductivos se le llama “síndrome de autogamia” (Sicard *et al.*, 2016), donde las flores estarían caracterizadas por ser más pequeñas y menos conspicuas, hercogamia negativa o de aproximación (Lloyd y Webb, 1986) (también llamada nula) o menores proporciones polen/óvulos (Vallejo-Marín y Barrett, 2009). De esta manera, las especies autocompatibles pueden alcanzar el crecimiento de la población tomando como ventaja la autopolinización. Es decir, en escenarios donde haya una ausencia de parejas potenciales o de limitación de polinizadores, el autopolinizarse puede conferir garantía

reproductiva y, por tanto, serán seleccionadas las plantas que lo hagan frente a las que se crucen (Schoen y Lloyd, 1992). Así, se podría dar explicación a la evolución hacia la autopolinización en poblaciones de plantas invasoras.

Sin embargo, la evolución hacia la autopolinización se encuentra limitada por la depresión endogámica, entendida como la reducción en el éxito reproductivo de la descendencia producida por un apareamiento endógamo (Armbruster y Reed, 2005) debido a que poseen mayor homocigosidad por estar emparentadas, en comparación con la descendencia derivada de alogamia (Lande y Schemske, 1985). A pesar de ello, la autogamia incrementa la homocigosidad y podría promover el mantenimiento de genotipos homocigotos superiores para particulares combinaciones de condiciones ambientales, y además permitiría la expresión de los alelos recesivos deletéreos que pueden ser purgados en las poblaciones colonizadoras, por tanto, reducen rápidamente la magnitud de la depresión endogámica (Pannell *et al.*, 2015). De este modo, en poblaciones que presentan una alta autopolinización se espera una correlación negativa entre la tasa de autopolinización y la depresión endogámica (Stone y Motten, 2002), como se evidenció para dos poblaciones de *Datura stramonium* en Jiménez-Lobato, *et al.*, (2018).

Estudios previos con poblaciones naturales de *Datura stramonium* de ámbitos de distribución México-España indican que el tamaño floral y la hercogamia poseen una amplia variación en ambos rangos, lo que sugiere un potencial cambio evolutivo en el sistema de apareamiento de *Datura stramonium* en España hacia la autogamia (Jiménez-Lobato *et al.*, 2018). Aunque la cantidad de variación fenotípica en rasgos florales podría ser similar en ambos rangos de distribución (por sucesivas reintroducciones en el rango no-nativo, por ejemplo), es probable que contenga cantidades diferentes de plasticidad fenotípica. A pesar de que el papel de factores ambientales en la expresión de rasgos vegetativos en plantas está bien establecido (Pigliucci, 2001), no lo es así en flores, cuyos rasgos han sido tradicionalmente considerados menos plásticos a nivel intraespecífico (Camargo *et al.*, 2017). Por ello, por primera vez se caracteriza la variación fenotípica y genética de los caracteres florales (tamaño de la flor, hercogamia y cantidad de néctar) y el éxito reproductivo de plantas de *Datura stramonium* de dos poblaciones nativas (Ticumán y Teotihuacán, México) y dos introducidas (La Zubia y Valdeflores, España) bajo dos condiciones de recursos (alto y bajo nivel de nutrientes en el suelo), pretendiendo simular un ambiente adverso con baja cantidad de nutrientes. Finalmente se espera, bajo el supuesto de que las poblaciones de *Datura stramonium* introducidas en España se hayan originado a partir de un grupo reducido de genotipos, mayor varianza genética

en los caracteres florales en las poblaciones de México que en las poblaciones introducidas. Esto se espera particularmente en rasgos íntimamente asociados al sistema de apareamiento, como la hercogamia (Camargo *et al.*, 2017). En consecuencia, se espera mayor plasticidad fenotípica en las poblaciones introducidas y evolución de rasgos asociados al síndrome de la autopolinización.

En Jiménez-Lobato *et al.*, (2018) no se excluyeron los efectos maternos ni se controlaron los factores abióticos. Por esto, en la presente investigación se aborda el análisis de la variación genética y plasticidad fenotípica en caracteres florales asociados al sistema de apareamiento, así como valores de adecuación y coeficientes de depresión endogámica de *Datura stramonium* (Solanaceae). *Datura stramonium* es una hierba anual, nativa del Norte de América (Symon y Haegi, 1991) y que fue introducida en España en el siglo XVI donde se encuentra en áreas de cultivo y de deshechos y donde sus polinizadores especializados están ausentes. Nuestro estudio va enfocado a resolver las siguientes preguntas específicas: 1) ¿Difieren las poblaciones del rango de distribución nativo (México) e introducido (España) de *Datura stramonium* en los fenotipos florales promedio ('trait value')? 2) ¿Poseen varianza genética los caracteres florales en poblaciones del rango nativo y no nativo? 3) ¿Existe una respuesta plástica diferencial entre genotipos de poblaciones nativas e introducidas cuando el ambiente varía en recursos? 4) ¿Existe una relación entre la plasticidad fenotípica de los caracteres florales y el éxito reproductivo? 5) ¿Se asocia la variación de caracteres florales (i.e., hercogamia) del rango nativo y no nativo con el éxito reproductivo en ausencia de polinizadores? 6) ¿Hay diferencias en el nivel de integración fenotípica de las flores entre las poblaciones de plantas de ambos rangos de distribución? 7) ¿Existen diferencias en la proporción de polen/óvulos entre ambos rangos de distribución? 8) ¿Difieren las plantas de ambos rangos de distribución en cuanto al momento de apertura de la corola y de dehiscencia de las anteras?

MATERIAL Y MÉTODOS

Especie de estudio y poblaciones

Datura stramonium L. (Solanaceae) es una planta herbácea anual, nativa de América del Norte (México y E.E.U.U.A. Weaver y Warwick, 1984). Sin embargo, se ha distribuido ampliamente en las regiones cálidas y templadas del mundo (van Kleunen *et al.*, 2007), y es considerada una

“mala-hierba” o maleza en algunos países. Se encuentra en todo tipo de suelos, aunque presenta preferencia por suelos ricos (Weaver y Warwick, 1984) asimilando eficazmente nitrógeno en forma de nitrato o amonio (Sakai *et al.*, 2001). En México, es una planta ruderal común en hábitats perturbados (Núñez-Farfán y Dirzo, 1994) y es conocida vulgarmente como “toloache”. En España fue introducida hace aproximadamente 500 años con la llegada de los españoles a América y es considerada una planta invasora (Sanz-Elorza *et al.*, 2004), a pesar de que las penínsulas mediterráneas se consideren poco propensas a la invasión (Hulme *et al.*, 2008).

La planta produce flores hermafroditas con corolas tubulares productoras de néctar, autocompatibles, con un sistema de apareamiento mixto ($0,05 \leq t \leq 0,80$; Cuevas García, 1996). Las corolas pueden ser blancas (fenotipo recesivo) o moradas (fenotipo dominante), de apertura crepuscular y duran solamente esa noche, marchitándose con la salida del sol (Motten y Antonovics, 1992). Los estambres están insertos dentro de la corola, con los filamentos del estambre adheridos al tubo de la corola en la parte media proximal (Motten y Stone, 2000), formándose a su vez las cámaras del néctar entre el surco formado entre cada filamento del estambre. En su rango geográfico nativo, los visitantes florales son principalmente esfíngidos (*Manduca sexta*, *M. quinquemaculata* e *Hyles lineata*) y abejas melíferas (*Apis mellifera*), mientras que en el rango introducido las flores son visitadas principalmente por abejas (*Apis mellifera* y *Anthophora* sp.), abejorros carpinteros (*Xylocopa* sp.) y abejorros del género *Bombus* spp. (Jiménez-Lobato *et al.*, 2018). La época de floración ocurre en los meses de verano, tanto en el rango nativo como en el no nativo, a pesar de diferir en el régimen climático, húmedo y seco, respectivamente (Camargo *et al.*, 2017).

Para el presente estudio fueron escogidas dos poblaciones del rango nativo (México), “Teotihuacán” y “Ticumán”, ambas en la región central del país donde los veranos son lluviosos y los inviernos y primaveras secos (Valverde *et al.*, 2015). En España (rango geográfico no-nativo), las dos poblaciones seleccionadas corresponden a “La Zubia” y “Valdeflores”, ambas situadas en Andalucía, región con típico clima mediterráneo, caracterizado por un invierno suave y un verano seco y caluroso (Tabla 1). Estas poblaciones habitan áreas de cultivos y áreas de deshechos (Jiménez-Lobato *et al.*, 2018).

Tabla 1. Coordenadas Geográficas, Altitud, Precipitación medial anual y Temperatura media anual de las localidades de *Datura stramonium* utilizadas en el presente estudio.

Rango	Localidad (provincia)	Coordenadas geográficas	Altitud (m s.n.m.)	Precipitación media anual (mm)	Temperatura media anual (°C)
Nativo	Teotihuacán	19°40057.78"N 98°50034.50" W	2,294	563,3	14,9
	Ticumán	18°42037.62"N 99°07000.66" W	1,210	850	24,1

No-Nativo	La Zubia	37°08014.532"N 03°3604.73" W	681	462	15,2
	Valdeflores	37°73' N 6°34'W	353	589	16,9

Cultivo de plantas y tratamientos experimentales

Se germinaron semillas hermanas completas (“full-sibs”) de 10 familias genéticas, derivadas de autofecundación (F₁) en cada población (Tabla 2), en macetas de 200 ml con sustrato de turba (peat moss). Una vez que los cotiledones alcanzaron su expansión completa, las plántulas fueron trasplantadas a macetas de 2 l con un suelo artificial compuesto de una mezcla de arena (en su mayoría), perlita y turba.

A los ocho días posteriores al trasplante, ocho réplicas de cada familia fueron asignadas aleatoriamente a un nivel alto (4 g/500 ml 20-20-20 NPK) o bajo (2 g/500 ml 20-20-20 NPK) de fertilizante (Peter’sTM), basando estos niveles en un estudio previo con la misma especie (Carmargo *et al.*, 2017), cuatro plantas por nivel de fertilizante, para un total de 320 plantas. Las macetas fueron distribuidas siguiendo un diseño completamente aleatorizado en el invernadero del Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. Durante todo el experimento las plantas fueron regadas con el riego automático del invernadero.

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

Rango	Población	Familias Genéticas	Réplicas por familia	Individuos totales	Individuos por tratamiento de fertilizante
Nativo	Teotihuacán	10	8	80	40
	Ticumán	10	8	80	40
No-Nativo	Valdeflores	10	8	80	40
	La Zubia	10	8	80	40

Caracteres florales

Con el objetivo de realizar las mediciones en el primer par de flores de la segunda ramificación, se cortó el primer primordio floral, ya que *Datura stramonium* se ramifica una vez que se produce éste (Camargo *et al.*, 2017).

Para evaluar la variación genética y plasticidad fenotípica de los caracteres florales, se midieron tres flores por planta (2ª, 3ª y 4ª flores; Figura 1) a la hora en que la flor presentó su apertura completa (posterior a las 20:30 h). Los caracteres evaluados fueron: diámetro y longitud de la corola, hercogamia (positiva, si el estigma está por encima de las anteras, negativa, si el estigma está por debajo de las anteras o cero si ambas estructuras se solapan) (Lloyd y Schoen, 1992). Se obtuvo la magnitud de la hercogamia (en milímetros), i.e. la diferencia entre la longitud del estilo y la longitud de las anteras, para las tres flores como se describe en la Figura 2. También se evaluó el volumen de néctar de dos flores por individuo (2ª y 3ª en el segundo nivel de ramificación; ver Figura 1). La medición de las características morfológicas de la flor se realizó con un vernier digital (Mitutoyo™) en la propia planta (Kearns y Inouye, 1993). La medición del volumen de néctar se comenzó a evaluar después de las 20:30 h, cuando la corola estaba totalmente abierta. Se utilizaron micropipetas de 20 microlitros para la retirada/absorción de éste de cada una de las 5 cámaras del néctar (Dafni, 1992; Kearns y Inouye, 1993). Posteriormente, para evaluar el volumen se utilizaron jeringas de inyección para HPLC marca Hamilton®, graduadas en microlitros. El néctar fue almacenado en tubos eppendorf de 200 μ L a -4° C.

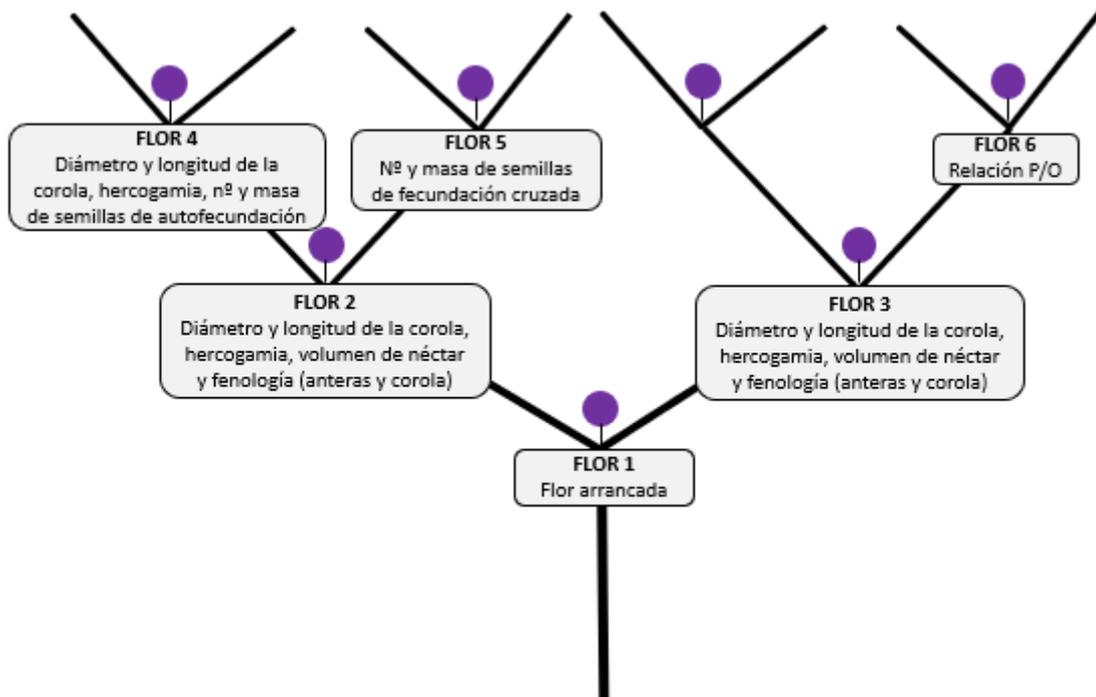


Figura 1. Esquema de una planta de *Datura stramonium*, donde a cada flor se le midieron los caracteres indicados.

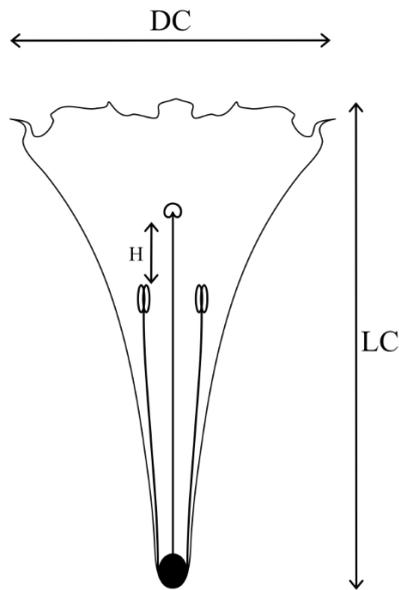


Figura 2. Representación esquemática de un corte longitudinal de la flor de *Datura stramonium* que muestra los caracteres medidos: Diámetro de la corola (DC), Largo de la corola (LC) y Hercogamia (H).

Medidas de éxito reproductivo

Para evaluar la magnitud de la depresión endogámica en las poblaciones de ambos rangos, se llevaron a cabo dos experimentos de polinización controlada por cada individuo: uno de autopolinización (se dejó que la 4ª flor se autopolinizara de manera automática si presentaba hercogamia negativa o cero), y otro de polinización cruzada (la 5ª flor). El método utilizado para la polinización cruzada fue el siguiente: un día antes de la antesis floral, la flor sujeto fue emasculada (mediante una incisión vertical en la corola con un bisturí y se les retiraron las anteras con unas pinzas) y al día siguiente fue polinizada aplicando polen *ad libitum* en el área estigmática de una planta de la misma población, pero de distinta familia genética (funcionando ésta como macho), frotándole las anteras sobre el estigma pegajoso y receptivo de la planta madre/receptora. Los frutos maduros producidos por cada tratamiento fueron recolectados cuando ya presentaban una pequeña ranura para la dehiscencia. Fueron embolsados y almacenados a temperatura ambiente para evaluar el número de semillas por fruto y el peso medio por semilla, como medidas de éxito reproductivo por tipo de y planta.

Para el conteo de las semillas de los frutos de cada experimento, éstos se abrieron y se sacaron las semillas para colocarlas de manera separada en una superficie con el fin de tomar una fotografía. En segundo lugar, estas fotografías fueron analizadas mediante un análisis de partículas con el software ImageJ. El peso medio por semillas fue medido en una balanza analítica a partir del promedio del total de semillas (Adventurer OHAUS).

Fenología floral

Con la intención de evaluar los posibles cambios en la fenología de las flores de las poblaciones españolas (no nativas) y mexicanas, se realizó un seguimiento de la fenología a lo largo del día de dos caracteres, apertura de las anteras y de la corola, en dos flores de todos los individuos de las cuatro poblaciones. Para la medición de la fenología de las anteras, se evaluó su dehiscencia durante el periodo comprendido desde las 9:30h de la mañana a las 12:30h del mediodía, dividido en 4 mediciones (una cada hora). Se realizó una pequeña incisión vertical en la corola de la flor que iba a abrir ese día para la observación de las anteras, considerando anteras dehiscentes cuando éstas presentaban toda su hendidura abierta y el polen era liberado de las mismas (Kearns y Inouye, 1993). Para evaluar la fenología de la apertura de la corola, se tomaron medidas del diámetro de la corola con un vernier digital marca Mitutoyo™ por el periodo comprendido desde las 17:30h a las 20:30h, dividido en 4 medidas (una medida por hora).

Relación polen-óvulos

Se evaluó la relación polen-óvulos (P/O) como un estimador del sistema reproductivo (Cruden, 1977); se utilizaron cuatro individuos de cada familia genética (dos de cada tratamiento de fertilizante en el suelo: bajo y alto) pues es un carácter que se mantiene bastante constante dentro de cada población (Erbar y Langlotz, 2005). Se almacenaron los botones florales (un día antes de su antesis) en etanol al 70%, y posterior a ello, se evaluó el nº de óvulos y de granos de polen. Para ello, en primer lugar, se sacaron los óvulos de la mitad del ovario (incisión longitudinal asimétrica del ovario) en un microscopio estereoscópico, en segundo lugar, se les tomó una fotografía a éstos con el software Zen y, por último, éstos fueron contados con el software de análisis de imágenes ImageJ realizando un análisis de partículas. Para el conteo de polen, se introdujeron dos anteras en un tubo eppendorf con 500 µl de etanol al 70%; éstas fueron abiertas con ayuda de dos agujas entomológicas bajo un microscopio estereoscópico para extraer el polen. De esta solución, se colocaron 3 gotas (réplicas) de 2 µl cada una sobre un portaobjetos. Estas muestras se colocaron en el microscopio Nikon Eclipse Ti y se les tomó fotografías con el software ImageJ, y a partir de estas imágenes se realizó un análisis de partículas con el mismo software. Finalmente, se extrapolaron los datos a las 5 anteras y se calculó la relación P/O (Dafni, 1992; Kearns y Inouye 1993).

Análisis estadísticos

Estimación de varianza genética y heredabilidad de los caracteres florales

Para descomponer la variación fenotípica de cada carácter floral de *Datura stramonium* y evaluar diferencias entre los distintos factores, se realizó un ANOVA anidado donde el

tratamiento y rango son los factores fijos, población (anidada en rango) y familia genética (anidada en población), los efectos aleatorios (Lynch y Walsh, 1998). Los datos de las variables fueron transformados a escala logarítmica en base 10 para aceptar el supuesto de normalidad (Zar, 1999).

Con la intención de calcular las heredabilidades en sentido amplio como un estimado de la variación genética ($h^2 = V_G / V_P$, siendo V_G y V_P las varianzas genotípica y fenotípica respectivamente; Falconer, 1996), se evaluó en cada población cada carácter floral y la masa de las semillas mediante un ANOVA, donde la familia genética era el único efecto aleatorio y el tratamiento de fertilizante el efecto fijo, además de la interacción entre ambas (Lynch y Walsh, 1998). Los datos de las variables fueron transformados a escala logarítmica en base 10 (Zar, 1999).

Debido a nuestra selección de semillas que permite un diseño de hermanos completos, se utilizó la siguiente ecuación:

$$h^2 = (2V_{AF}) / (V_{AF} + V_{AP})$$

$$h^2 = (2(MS_{AF} - MS_{AP})) / (MS_{AF} + (k - 1) MS_{AP}),$$

donde V_{AP} es la varianza dentro de familias = MS_{AP} ; V_{AF} es la varianza entre familias = $MS_{AF} - MS_{AP}/k$, siendo k el número de hijos por familia y MS el cuadrado medio (Roff, 2012).

Estimación de plasticidad

Se empleó un ANOVA mixto para evaluar si los caracteres florales y las medidas de *fitness* son caracteres plásticos en las poblaciones; el tratamiento (nivel de fertilizante) se declaró como efecto fijo, mientras que la familia genética y la interacción familia genética \times tratamiento como efectos aleatorios con el método ECM (error cuadrático medio) (Sánchez-Gómez *et al.*, 2006). Los caracteres evaluados fueron tanto los florales (largo y diámetro de la corola, hercogamia y volumen de néctar), como de *fitness* (nº de semillas por fruto y masa promedio por semilla de ambos experimentos de polinización), todos transformados a escala logarítmica en base 10 (Zar, 1999).

Posteriormente, se estimó la plasticidad fenotípica para cada carácter, en cada población, a través del índice de plasticidad basado en distancias fenotípicas relativas, RDPI, donde cero indica ausencia de plasticidad y uno la máxima plasticidad (Sánchez-Gómez *et al.*, 2006):

$$RDPI = (Abs (a-b))/a+b),$$

donde “Abs”, es la diferencia absoluta, “a”, el valor en el tratamiento uno (fertilidad del suelo baja) y “b”, el valor del carácter en el tratamiento dos (fertilidad del suelo alta).

A partir de los valores promedio de plasticidad por familia de cada población, para cada carácter, se evaluó la existencia de diferencias entre las poblaciones en plasticidad mediante un ANOVA de una vía (población), previa transformación de los datos a logaritmo base 10 (Valladares *et al.*, 2006).

Diferencias entre experimentos de polinización y estimación de depresión endogámica

Las posibles diferencias en el número de semillas y la masa promedio por semilla generados entre tratamientos de polinización se evaluaron mediante una prueba de *t* para cada población por separado (previa transformación logarítmica de los datos (Zar, 1999)). Para corroborar si existía un conflicto de recursos en cuanto al fruto de autopolinización y fecundación cruzada para las variables n° de semillas por fruto y masa por semilla, se realizaron correlaciones de Kendall (por no ser normal la distribución de errores de los datos) por población y nivel de fertilizante. Además, también se realizó un ANOVA anidado para evaluar efectos de la población (anidada en rango) y familia genética (anidada en población), como efectos aleatorios y rango como efectos fijos además del tratamiento de fertilizante, y así, obtener la descomposición de la varianza. Se realizó para la variable masa promedio por semilla, en primer lugar, para la procedente de autopolinización, en segundo lugar, para la procedente de polinización cruzada y, por último, para la masa de las semillas teniendo en cuenta el factor tipo de experimento de polinización. Por último, se llevó a cabo un análisis de correlación (Kendall) para evaluar un posible *trade-off* entre el número de semillas y su masa promedio por tipo de polinización y población.

La magnitud de la depresión endogámica relativa (δ) fue evaluada por individuo para cada población con la variable masa promedio por semilla, como $\delta = (1 - (w_s/w_x))$; $\delta > 0$ si $w_s < w_x$, y $\delta < 0$ si $w_s > w_x$, donde w_s corresponde al fitness promedio de autofecundación y w_x el fitness promedio de fecundación cruzada (Agren y Schemske, 1993). Las diferencias entre tratamiento de fertilizante y rango (efectos fijos), poblaciones (anidado en rango) y familias genéticas (anidada en población) (efectos aleatorios), fueron evaluadas por medio de un ANOVA. Finalmente, se llevó a cabo un análisis de correlación de Kendall entre el valor de depresión por endogamia y el grado de hercogamia.

Correlaciones y patrones de integración fenotípica

Las correlaciones entre los caracteres florales se cuantificaron mediante coeficientes de correlación de Kendall (por la no normalidad de las variables). Posteriormente se estimó la integración fenotípica para cada población. Para ello se usó el paquete de R “PHENYX”, creado *ex profeso* (Torices y Muñoz-Pajares, 2015), donde primero calcula los eigenvalores de la matriz de correlaciones, obtenidos mediante un análisis de componentes principales (PCA) y,

la magnitud de la integración fenotípica se obtuvo calculando el índice de integración, el cual es igual a la varianza de los eigenvalores (se usó el índice de integración corregido) (Wagner, 1984). El índice de integración se expresó como el porcentaje del valor máximo posible y los intervalos de confianza del 95% para el índice de integración se calcula por medio de “bootstrapping” integrado en las funciones del paquete. El índice se considera significativo si sus intervalos no se solapan con el valor de cero (Herrera, 2002).

Relación polen/óvulos

Para corroborar si existían diferencias significativas en el número de óvulos y número de granos de polen entre las distintas poblaciones, se realizó un ANOVA anidado, donde el tratamiento y el rango eran los factores fijos, y como factores aleatorios: población (anidada en rango) y familia genética (anidada en población) (Cruden y Lyon, 1985), con la transformación de los datos de la variable número de granos de polen a escala logarítmica en base 10 (Zar 1999).

Fenología, apertura de corola y dehiscencia de las anteras

La fenología de la apertura floral (el diámetro de la corola en mm), se evaluó mediante un análisis de la varianza de medidas repetidas (usando un MANOVA), donde se evaluaron los efectos del rango, la población, la familia genética y el tiempo (los distintos momentos en los que se tomaron las medidas). Los datos de la variable respuesta fueron transformados a logaritmo (Zar, 1999).

En el caso de la dehiscencia de las anteras, se registró la proporción de plantas con las anteras abiertas en los distintos censos de medición. Para encontrar el efecto de algunos de los factores sobre esta variable, se realizó un ANOVA anidado donde el momento de la medición y el rango eran los efectos fijos y como factor aleatorio: población (anidada en rango) ya que estos valores eran promedios por familia genética. Las proporciones fueron transformadas (Arco seno de la proporción) (Zar, 1999).

Todos los análisis estadísticos fueron llevados a cabo mediante el software R (R Development Core Team, 2019), a excepción del ajuste de los modelos mixtos que se desarrollaron mediante el programa estadístico JMP (JMP, Versión 10. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Las gráficas de todo el documento fueron preparadas usando el paquete “ggplot2” de R (Wickham, 2016).

RESULTADOS

Variación genética de los caracteres florales

La población no-nativa Valdeflores tuvo el mayor promedio para el largo de la corola y la población La Zubia, el menor (Tabla 3). En cuanto al diámetro de la corola, encontramos que el mayor valor medio lo posee Teotihuacán, del rango nativo, y La Zubia el más pequeño (rango no-nativo). El mayor valor medio del volumen de néctar lo presenta Teotihuacán (nativo) y el menor Valdeflores (no-nativo), aunque es muy similar al valor medio de La Zubia. Por otro lado, las poblaciones nativas presentaron un valor medio de hercogamia positivo (hercogamia de aproximación), siendo Teotihuacán la población con el valor máximo (igual que para el largo de corola), mientras que las dos poblaciones del rango no-nativo presentaron un valor medio negativo de hercogamia (hercogamia reversa), donde el valor mínimo lo presentó Valdeflores pero La Zubia no presentó ningún valor positivo de hercogamia, su rango se distribuyó de valores negativos a hercogamia nula (0, no hay hercogamia). Un análisis más detallado de la hercogamia nos muestra que el 62,5% de los individuos presenta hercogamia negativa en el rango no-nativo, hercogamia nula el 36,5% y sólo el 1% de los individuos presentó hercogamia positiva, mientras que, en el rango nativo, el 58% corresponde a individuos con hercogamia nula, el 15% son individuos con hercogamia negativa y el 26% presenta hercogamia positiva (Tabla 4).

La fracción de la varianza explicada para el diámetro de la corola por poblaciones dentro de rango es de 23,3%, la de familias genéticas 5,4% y la varianza dentro de plantas 71,3%. Para el largo de la corola, la varianza explicada por la población dentro del rango es 14,2%, de las familias genéticas 12,2% y la variación intraindividual es del 73,5%. Para la hercogamia, la fracción de la varianza explicada por la población dentro de rango es de 0,9%, 41,3% la varianza explicada por las familias genéticas; el 57,8% corresponde a la varianza intraindividual, siendo ésta la fracción menor de varianza del error estimada en todos los caracteres evaluados. Para el volumen de néctar, los componentes de la varianza explicada son: 10,3% para poblaciones, 10,5% para familias genéticas y 79,2% dentro de individuos (Tabla 5).

El análisis de la varianza entre tratamientos, rangos, poblaciones y familias genéticas, para cada carácter indica diferencias significativas para el largo de la corola entre los efectos aleatorios: poblaciones (anidadas dentro de rangos) y familias genéticas (anidadas dentro de poblaciones) ($F= 16,11$, $G.L.= 2$, $P<0,001$ y $F=2,30$, $G.L.= 36$, $P<0,001$), al igual que el diámetro de la corola ($F= 26,64$, $G.L.= 2$, $P<0,001$ y $F=1,59$, $G.L.= 36$, $P=0,02$), revelando diferenciación poblacional fenotípica dentro de cada rango. Para el carácter hercogamia encontramos diferencias significativas entre rangos y familias genéticas (anidadas dentro de poblaciones) ($F= 40,38$, $G.L.= 1$, $P=0,018$ y $F=6,15$, $G.L.= 35$, $P<0,001$), es decir, podemos diferenciar fenotípicamente entre rangos para este carácter y por último, para el volumen de néctar encontramos diferencias significativas en la interacción tratamiento por familia genética

(plasticidad fenotípica, ver apartado de plasticidad), y entre los factores aleatorios: poblaciones (anidado dentro de rangos) y familias genéticas (anidadas dentro de poblaciones) ($F=1,53$, $G.L. = 2$, $P=0,02$; $F= 11,003$, $P<0,001$; y $F= 2,02$, $G.L. = 36$, $P=0,001$), siendo posible así diferenciar fenotípicamente entre las poblaciones dentro de cada rango (Figura 3 y Tabla 1 en apéndice).

Tabla 3. Media \pm SD (desviación estándar) y valor máximo y mínimo de caracteres florales de poblaciones cultivadas del rango nativo y no-nativo de *Datura stramonium*. N= n° de muestras (plantas).

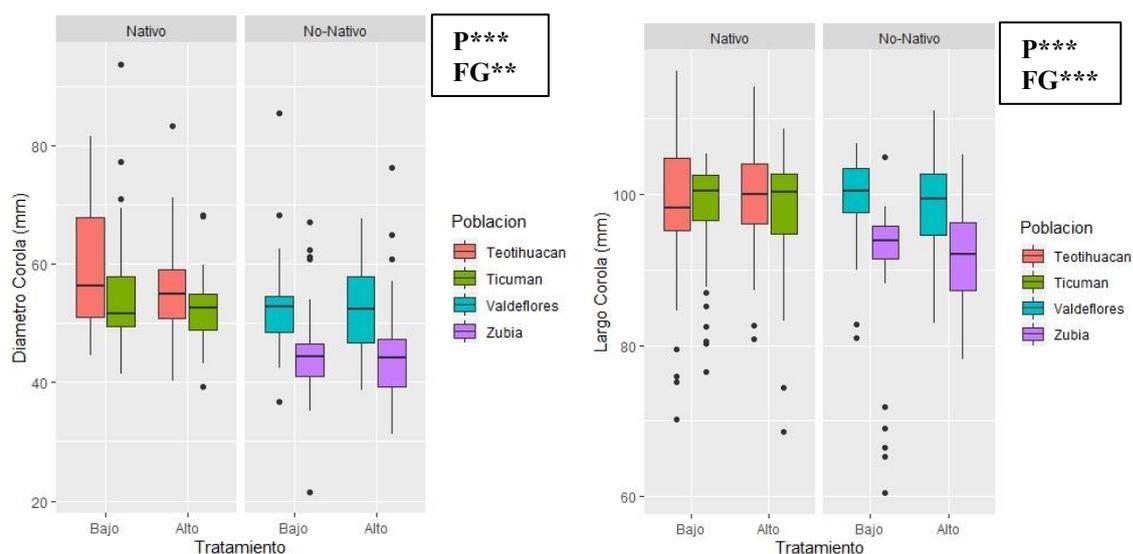
Rango de distribución	Población	N	CARÁCTER (Media \pm SD)	Rango de valores
Largo Corola (mm)				
Nativo	Teotihuacán	77	96,43 \pm 8,812	70,175 - 116,32
	Ticumán	79	97,123 \pm 9,767	48,28 - 108,72
No-Nativo	Valdeflores	80	98,773 \pm 6,158	80,98 - 111,09
	La Zubia	78	91,395 \pm 8,689	60,43 - 105,24
Diámetro Corola (mm)				
Nativo	Teotihuacán	78	57,481 \pm 9,300	40,32 - 83,415
	Ticumán	79	54,116 \pm 8,24	39,25 - 93,715
No-Nativo	Valdeflores	80	52,411 \pm 7,38	36,795 - 85,5
	La Zubia	78	44,872 \pm 8,51	21,57 - 76,33
Hercogamia (mm)				
Nativo	Teotihuacán	77	0,333 \pm 1,15	-2,213 - 4,350
	Ticumán	79	0,038 \pm 0,412	-1,546 - 1,230
No-Nativo	Valdeflores	80	-0,996 \pm 1,503	-6,92 - 3,91
	La Zubia	46	-0,916 \pm 1,025	-3,29 - 0
Volumen Néctar (uL)				
Nativo	Teotihuacán	75	35,284 \pm 11,844	15 - 75
	Ticumán	78	27,617 \pm 9,554	4,75 - 46
No-Nativo	Valdeflores	80	19,062 \pm 7,955	4,25 - 52,75
	La Zubia	77	20,184 \pm 7,838	6,5 - 54,25

Tabla 4. Porcentajes del número de individuos de *Datura stramonium* que presentan los distintos tipos de hercogamia entre los dos rangos, nativo y no-nativo.

	N	Hercogamia +	Hercogamia -	Hercogamia 0
Nativo	156	26,28%	15,00%	58,33%
No-Nativo	127	0,79%	66,14%	33,07%

Tabla 5. Componentes de la varianza de los caracteres florales de poblaciones del rango nativo y no-nativo de *Datura stramonium*.

Efecto	Largo Corola		Diámetro Corola		Hercogamia		Volumen de Néctar	
	Comp Var.	% Total	Comp Var.	% Total	Comp Var.	% Total	Comp Var.	% Total
Población	0,00159	14,211	0,00734	23,360	0,01203	0,895	0,01551	10,275
Fam.	0,00137	12,233	0,00169	5,387	0,55495	41,272	0,01588	10,519
Genética								
Residual	0,00823	73,555	0,02240	71,253	0,77764	57,833	0,11961	79,207
Total	0,011201	100,000	0,03144	100,000	1,34461	100,000	0,15101	100,000



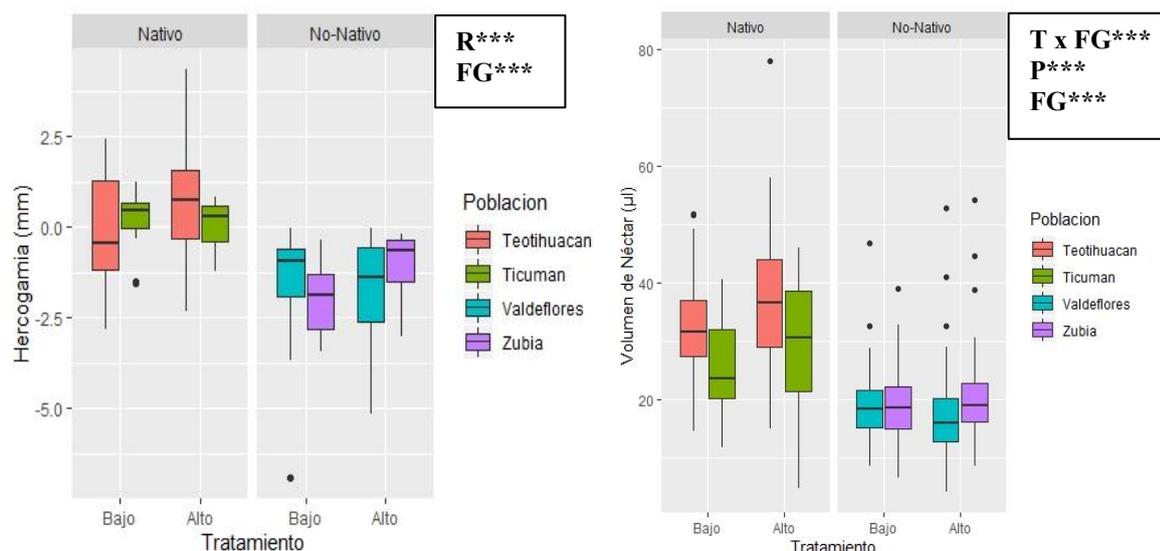


Figura 3. Variación en cuatro caracteres florales de *Datura stramonium*. Las gráficas representan el valor mínimo, los cuartiles, la mediana, los valores atípicos y el valor máximo de cada rasgo, por rango, población y tratamiento. R=Rango, P=Población, FG=Familia Genética, T=Tratamiento, ***= valor de *p* valor es menor a 0,05.

Heredabilidad

A partir de los análisis de la varianza para cada población por separado (Tabla 2 en Apéndice), se obtuvieron las heredabilidades (h^2) (Tabla 6) para cada carácter floral y peso de las semillas de ambos tipos de polinización, que es un reflejo de la cantidad de variación genética presente. Para el carácter largo de la corola, fue la población de Teotihuacán la que presentó un mayor valor de heredabilidad, al igual que para el carácter hercogamia. La población de Ticumán presentó el mayor valor de heredabilidad para el volumen de néctar y peso medio de las semillas derivadas de fecundación cruzada. Los mayores valores de heredabilidad para el diámetro de la corola, los presentó la población Valdeflores. La Zubia presentó la mayor heredabilidad para el peso medio por semilla de autofecundación. En general, Teotihuacán es la población que mayor número de heredabilidades significativas tiene y, por tanto, mayor variación genética, aunque esto sea una característica propia del carácter concreto.

Tabla 6. Valores de las heredabilidades de cada caracter y población de *Datura stramonium*. Se resalta en negritas los valores significativos.

	Teotihuacán	Ticumán	Valdeflores	La Zubia
Largo Corola	0,18	-0,003	0,09	0,12
Diámetro Corola	0,06	-0,0003	0,27	0,05
Hercogamia	0,58	0,1	0,43	0,34
Volumen de Néctar	0,16	0,2	0,08	0,11

Peso Semillas Autofecundación	0,05	0,24	0,12	0,42
Peso Semillas fecundación cruzada	0,26	0,34	0,12	0,06

Plasticidad fenotípica en caracteres florales

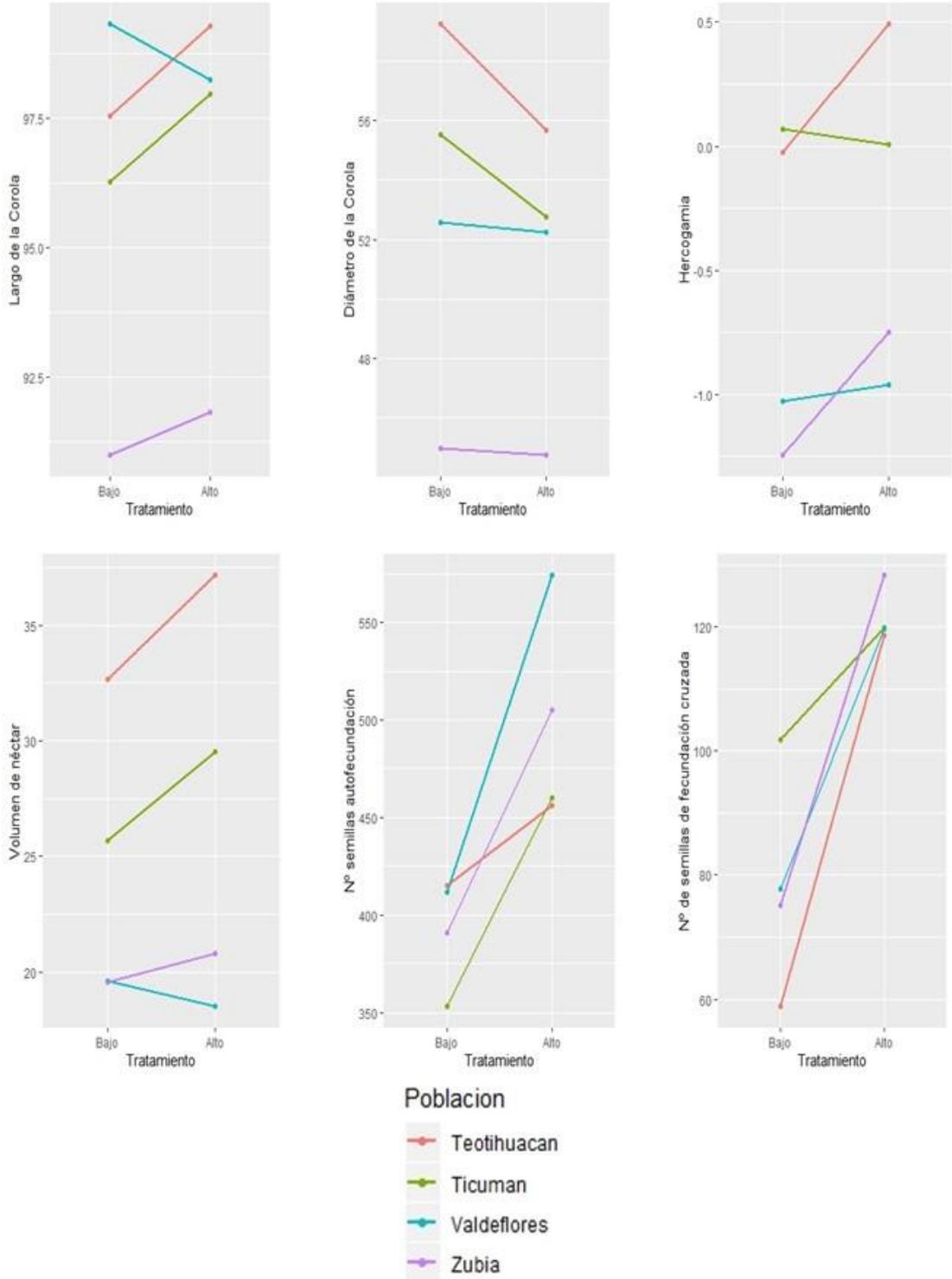
Efecto del tratamiento y las familias genéticas en cada población

Los caracteres florales y de fitness que exhibieron plasticidad en respuesta a la disponibilidad de nutrientes en el suelo son: el número de semillas procedentes de autofecundación en las poblaciones de Ticumán ($F= 17,28$, $G.L. = 1$, $P<0,001$), Valdeflores ($F= 24,05$, $G.L. = 1$, $P<0,001$) y La Zubia ($F= 4,55$, $G.L. = 1$, $P=0,038$); el número de semillas procedentes de fecundación cruzada en Teotihuacán ($F= 10,37$, $G.L. = 1$, $P=0,001$), Ticumán ($F= 14,53$, $G.L. = 1$, $P<0,001$) y La Zubia ($F= 12,31$, $G.L. = 1$, $P=0,001$); la masa de las semillas procedentes de polinización cruzada en las poblaciones de Teotihuacán ($F= 4,78$, $G.L. = 1$, $P=0,035$) y Ticumán ($F= 6,92$, $G.L. = 1$, $P=0,012$); y la hercogamia en la población de Teotihuacán ($F= 6,07$, $G.L. = 1$, $P=0,017$). La interacción entre tratamiento y familia genética, que indica variación genética en la plasticidad (norma de reacción) presentó diferencias significativas para el diámetro de la corola en Valdeflores ($F= 2,12$, $G.L.=9$, $P=0,040$) y para la masa de las semillas por fecundación cruzada y hercogamia en Teotihuacán ($F= 2,22$, $G.L. = 9$, $P=0,041$, ($F= 2,05$, $G.L. = 9$, $P=0,049$, respectivamente). Se encontró variación genética en todos los caracteres a excepción del número de semillas procedentes de fecundación cruzada, aunque en distintas poblaciones para cada carácter (Tabla 3 en Apéndice).

Variación fenotípica de las poblaciones en las condiciones experimentales

Las normas de reacción promedio muestran que Teotihuacán y Ticumán presentaron valores promedio mayores en los caracteres florales, salvo para el largo de la corola que lo presentan Teotihuacán y Valdeflores, ante la variación de la disponibilidad de nutrientes. Sin embargo, los valores promedio mayores en cuanto al fitness los presentaron Valdeflores y La Zubia, para el número de semillas de autofecundación, Valdeflores para la masa de semillas por autofecundación. Para el número de semillas por fecundación cruzada, los valores promedio son muy similares en todas las poblaciones, aunque para el peso de las semillas procedentes de fecundación cruzada Teotihuacán presenta el mayor promedio en bajas condiciones de nutrientes, pero en altas Valdeflores le supera. Pendientes negativas encontramos en la población de Valdeflores en el volumen de néctar y el largo de la corola, en Teotihuacán y

Ticumán en el diámetro de la corola (a pesar de ello, sus promedios siguen siendo mayores), y la población de La Zubia y Teotihuacán para el peso de las semillas de fecundación cruzada (Figura 4).



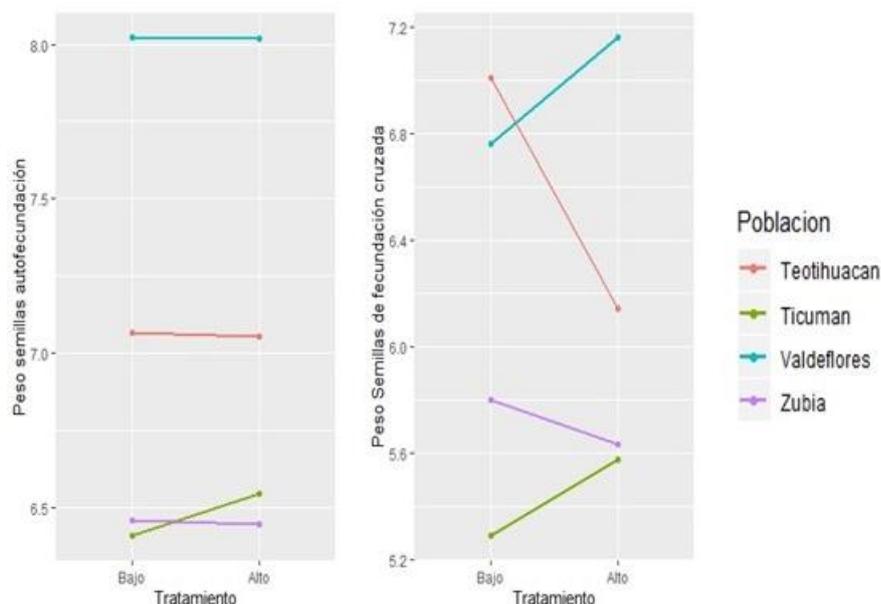


Figura 4. Normas de reacción promedio de los caracteres florales y de componentes del fitness de las cuatro poblaciones de *Datura stramonium* con disponibilidad de nutrientes baja y alta.

Estimación de la plasticidad fenotípica en respuesta a dos condiciones de nutrientes

La estimación del índice de plasticidad de distancias relativas (RDPI) (0 nada de plasticidad y 1 plasticidad máxima) para cada población y carácter, no presentó diferencias significativas en ningún carácter ni población mediante el análisis ANOVA (véanse valores de p en la Figura 5). Aun así, los valores más altos del índice los encontramos en los caracteres relacionados con el fitness. El carácter número de semillas de fecundación cruzada fue el más plástico, siendo la población de La Zubia la que presentó mayor plasticidad, al igual que para el número de semillas de autofecundación. Los dos siguientes caracteres con mayores valores de plasticidad son peso de semillas por autofecundación y fecundación cruzada, donde Teotihuacán y Ticumán presentan los valores más altos, respectivamente (Tabla 7).

Considerando a estos caracteres, de media, la población Teotihuacán presentó el mayor índice de plasticidad en respuesta a la disponibilidad de nutrientes, seguido de La Zubia (Figura 5).

Tabla 7. Media y desviación estándar de los índices de plasticidad para cada caracter en poblaciones de *Datura stramonium* (LC (largo de la corola), DC (diámetro de la corola), VN (volumen de néctar), NSA (número de semillas de autofecundación), NSC (número de semillas de fecundación cruzada), PSA (peso de semillas de autofecundación), PSC (peso de semillas de fecundación cruzada)).

		N	RDPI LC	N	RDPI DC	N	RDPI VN	N	RDPI NSA
Nativo	Teotihuacán	80	0,025 ± 0,018	80	0,056 ± 0,042	80	0,14 ± 0,1	80	0,099 ± 0,0622
	Ticumán	80	0,020 ± 0,016	80	0,042 ± 0,028	80	0,089 ± 0,092	80	0,14 ± 0,10
No-Nativo	Valdeflores	80	0,020 ± 0,0083	80	0,045 ± 0,037	80	0,13 ± 0,094	80	0,142 ± 0,093

	La Zubia	80	0,022 ± 0,013	80	0,056 ± 0,049	80	0,12 ± 0,095	80	0,20 ± 0,17
		N	RDPI NSC	N	RDPI PSA	N	RDPI PSC		
Nativo	Teotihuacán	80	0,41 ± 0,23	80	0,23 ± 0,16	80	0,18 ± 0,14		
	Ticumán	80	0,41 ± 0,23	80	0,13 ± 0,10	80	0,25 ± 0,22		
No-Nativo	Valdeflores	80	0,36 ± 0,15	80	0,12 ± 0,12	80	0,137 ± 0,15		
	La Zubia	80	0,42 ± 0,22	80	0,12 ± 0,13	80	0,18 ± 0,16		

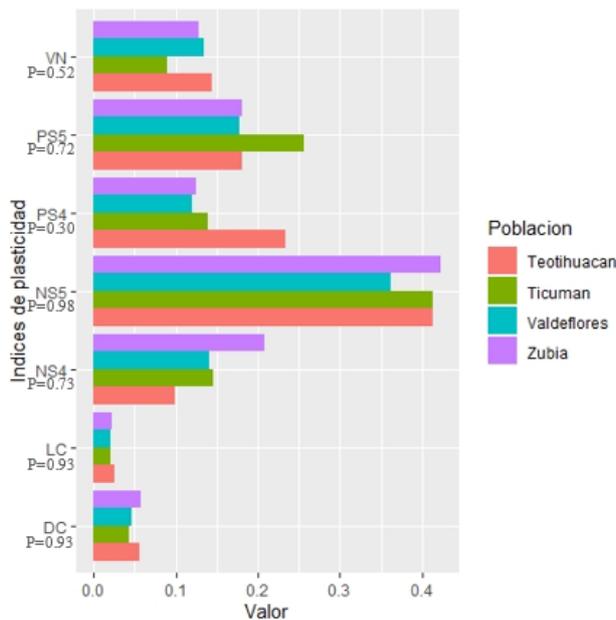


Figura 5. Índice de plasticidad basado en distancias fenotípicas relativas para cuatro poblaciones de *Datura stramonium*. Se muestran los valores de plasticidad fenotípica para cada población mediante el índice RDPI de cada carácter: LC (largo de la corola), DC (diámetro de la corola), VN (volumen de néctar), NS4 (número de semillas de autofecundación), NS5 (número de semillas de fecundación cruzada), PS4 (peso de semillas de fecundación cruzada), PS5 (peso de semillas de fecundación cruzada).

Diferencias entre experimentos de polinización y estimación de depresión endogámica

En este apartado, se utilizaron dos variables distintas como medidas de fitness, número de semillas y masa promedio por semilla (como una mejor medida de adecuación).

Contraste de medias entre ambos experimentos de polinización

En primer lugar, los resultados de la *t de Student* para la variable número de semillas procedentes de los dos tratamientos de polinización llevados a cabo en cada una de las poblaciones de los dos rangos, muestran que sus medias se diferencian de manera significativa (Teotihuacán: $t = -38,877$, $P < 0,0001$, Ticumán: $t = -19,89$, $P < 0,0001$, Valdeflores: $t = -27,054$, $P < 0,001$, La Zubia: $t = -27,993$, $P < 0,001$), siendo mayores las medias del número de semillas procedentes de autopolinización en todas las poblaciones (Tabla 8). Para la variable masa promedio de semilla, los resultados de la *t de Student* muestran que en todas las poblaciones hay diferencias significativas en la masa promedio de las semillas entre ambos tipos de

polinización (Teotihuacán: $t= 2,588$, $P=0,005$, Ticumán: $t= 5,236$, $P<0,0001$, Valdeflores: $t= 5,901$, $P<0,0001$, La Zubia: $t= 6,169$, $P<0,0001$, Tabla), y que las medias de la masa de las semillas procedentes de autopolinización, son mayores con respecto a las de polinización cruzada (Tabla 9).

Tabla 8. Número de semillas (Media \pm SD) por fruto bajo dos tratamientos de polinización en poblaciones del rango nativo y no-nativo de *Datura stramonium*. Los análisis se realizaron usando datos transformados: $\log(y)$. N_f = número de muestras.

		N_f	Autopolinización	N_f	Polinización cruzada	$\%w_s > w_o$	t	P
Nativo	Teotihuacán	66	426,149 \pm 135,573	60	322,217 \pm 173,011	25%	8,82	<0,0001***
	Ticumán	75	400,04 \pm 106,01	63	297,047 \pm 159,134	26%	43,16	<0,0001***
No-Nativo	Valdeflores	76	489,105 \pm 142,341	61	299,590 \pm 168,323	39%	-	<0,0001***
	La Zubia	73	448,931 \pm 135,579	67	284,611 \pm 172,093	37%	10,86	<0,0001***

Tabla 9. Masa media de una semilla (Media \pm SD) por fruto bajo dos tratamientos de polinización en poblaciones del rango nativo y no-nativo de *Datura stramonium*. Los análisis se realizaron usando datos transformados: $\log(y_i+1)$. N_f = tamaño de muestra.

		N_f	Autopolinización (mg)	N_f	Polinización cruzada (mg)	t	P
Nativo	Teotihuacán	67	7,191 \pm 1,086	59	6,608 \pm 1,330	2,588	0,005*
	Ticumán	73	6,510 \pm 1,214	62	5,450 \pm 1,056	5,236	<0,0001***
No-Nativo	Valdeflores	74	8,006 \pm 1,106	61	6,986 \pm 0,97	5,901	<0,0001***
	La Zubia	73	6,453 \pm 0,648	66	5,707 \pm 0,839	6,169	<0,0001***

Debido a estos resultados y sospechando que pudieran darse por un conflicto de recursos al haberse generado primero el fruto de autopolinización, se evaluó la posible e hipotética correlación negativa entre el n° de semillas de ambos experimentos de polinización por población y nivel de fertilizante (alto y bajo concentración de nutrientes). Sin embargo, no se encontró ninguna correlación significativa para esta variable en ninguno de los dos niveles de tratamiento de fertilizante (véase Tabla 10 y Figura 6). Para la variable masa por semilla de ambos experimentos de polinización, sólo se encontraron correlaciones significativas en Ticumán para ambos niveles de fertilizante y Valdeflores con nivel de fertilizante bajo (véase Tabla 10 y Figura 6).

Tabla 10. Valores de las correlaciones de Kendall (*tau* y *P*) entre el N° de semillas de autofecundación y fecundación cruzada y masa por semilla de autofecundación y fecundación cruzada para cada población de *Datura stramonium* y nivel de fertilizante.

Población	Nivel de Fertilizante	N° Semillas		Masa Semilla	
		<i>tau</i>	<i>P</i>	<i>tau</i>	<i>P</i>
Teotihuacán	Bajo	0,27	0,056	0,25	0,087
	Alto	0,047	0,75	0,13	0,37
Ticumán	Bajo	0,1	0,49	0,42	0,0047
	Alto	0,08	0,52	0,53	<0,0001
Valdeflores	Bajo	0,16	0,21	0,29	0,03
	Alto	0,055	0,66	0,18	0,17
Zubia	Bajo	0,045	0,73	0,17	0,21
	Alto	0,22	0,06	0,2	0,091

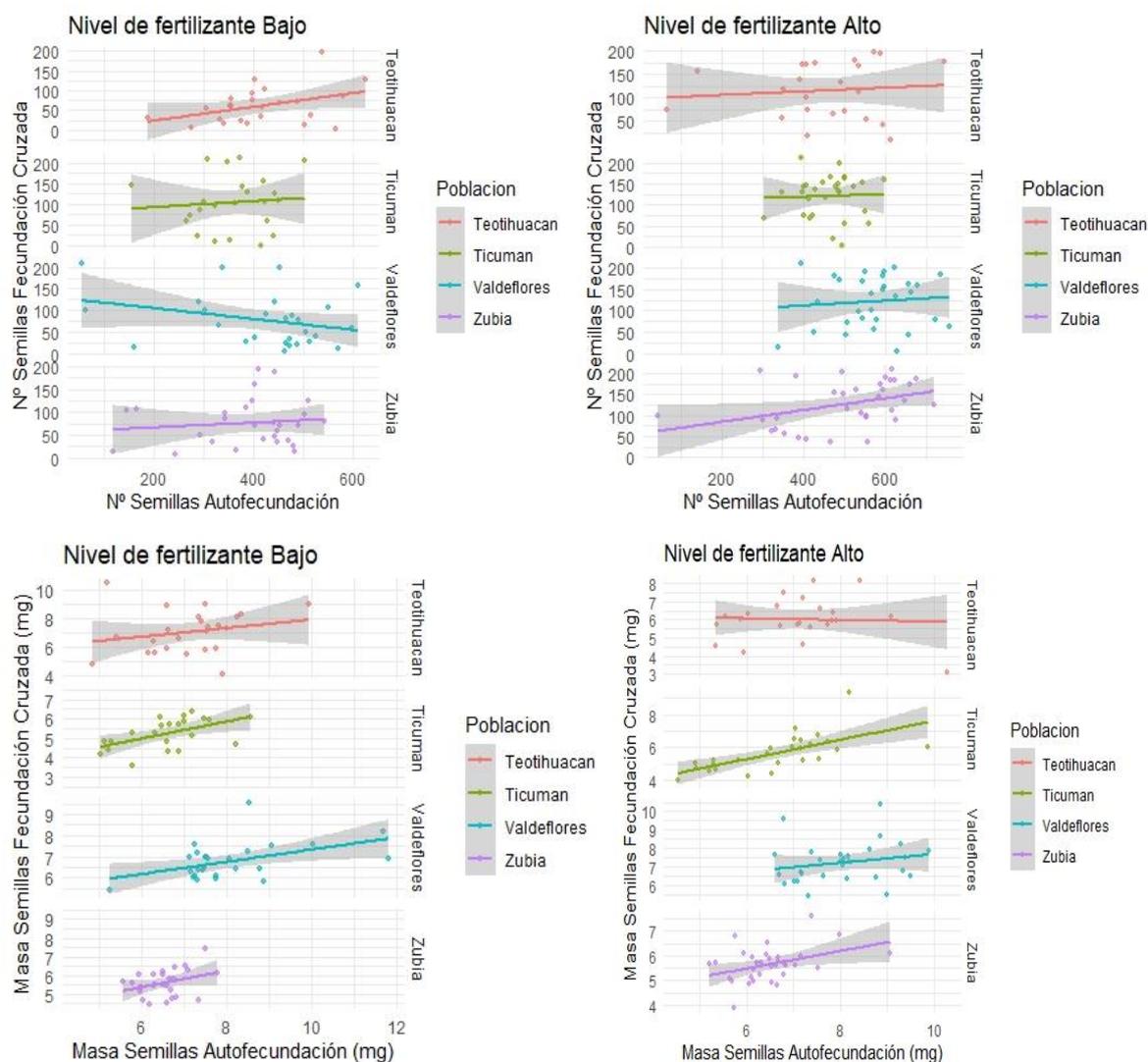


Figura 6. Relación entre para la variable n° de semillas de autofecundación y fecundación cruzada y para la variable masa por semilla de autofecundación y fecundación cruzada para los dos niveles de fertilizante en cuatro poblaciones de *Datura stramonium* (ver Tabla 10).

Análisis de la varianza

Análisis de la varianza de la masa por semilla de autopolinización

El análisis de la varianza para la variable masa por semilla procedentes de autopolinización, muestra los siguientes resultados: la varianza explicada por la población, obtenemos un valor de 40,84% y la explicada por la familia genética anidada en población es de 15,75%; la variación intraindividual es de 43,40% (Tabla 11).

En el análisis del modelo se observaron diferencias significativas en los siguientes factores evaluados (poblaciones dentro de rango: ANOVA: $F=61,44$, $G.L.=2$, $P<0,0001$ y familias genéticas dentro de poblaciones: ANOVA: $F=3,37$, $G.L.=36$, $P<0,0001$) (Figura 7 y Tabla 4 en apéndice).

Análisis de la varianza de la masa por semilla de polinización cruzada

El análisis de la varianza para la variable masa por semilla procedentes de fecundación cruzada muestra los siguientes resultados: la varianza explicada por la población anidada en rango, obtenemos un valor de 34,98% y la explicada por la familia genética anidada en población es de 12,12%; la variación intraindividual es de 52,88% (Tabla 11).

En el análisis del modelo se observaron diferencias significativas entre los siguientes factores evaluados (poblaciones dentro de rango: ANOVA: $F=39,94$, $G.L.=2$, $P<0,0001$ y familias genéticas dentro de poblaciones: ANOVA: $F=2,41$, $G.L.=36$, $P<0,0001$) (Figura 7 y Tabla 4 en apéndice).

Análisis de la varianza de la variable masa por semilla de ambos experimentos de polinización

Por último, el análisis de la varianza muestra para la variable número de semillas los componentes de ésta; así, la varianza explicada por la población anidada en rango para el carácter número de semillas procedentes de ambos tipos de polinización, obtenemos un valor de 34,17% y la explicada por la familia genética anidada en población es de 1,63%; la variación intraindividual es de 63,59% (Tabla 11).

Por otro lado, en el análisis del modelo se observaron diferencias significativas en la masa promedio de semilla por fruto provenientes de los dos tipos de polinización (ANOVA: $F=95,94$, $G.L.=1$, $P<0,0001$), además también se encontraron diferencias significativas entre las poblaciones dentro de rango (ANOVA: $F=72,85$, $G.L.=2$, $P<0,0001$) (Figura 7 y Tabla 4 en apéndice).

Tabla 11. Componentes de la varianza del número y peso de semillas por fruto de *Datura stramonium*.

Efecto	Masa Semillas Autopolinización		Masa Semilla Polinización Cruzada		Masa semillas	
	Com. Var	% Total	Com. Var	% Total	Com. Var	% Total
Población	0,014003991	40,844	0,017020093	34,983	0,014025435	34,771
Fam. Genética	0,005400038	15,75	0,005900167	12,127	0,000659165	1,634
Residual	0,014882412	43,406	0,025731633	52,889	0,025652204	63,595
Total	0,034286441	100	0,048651892	100	0,040336804	100

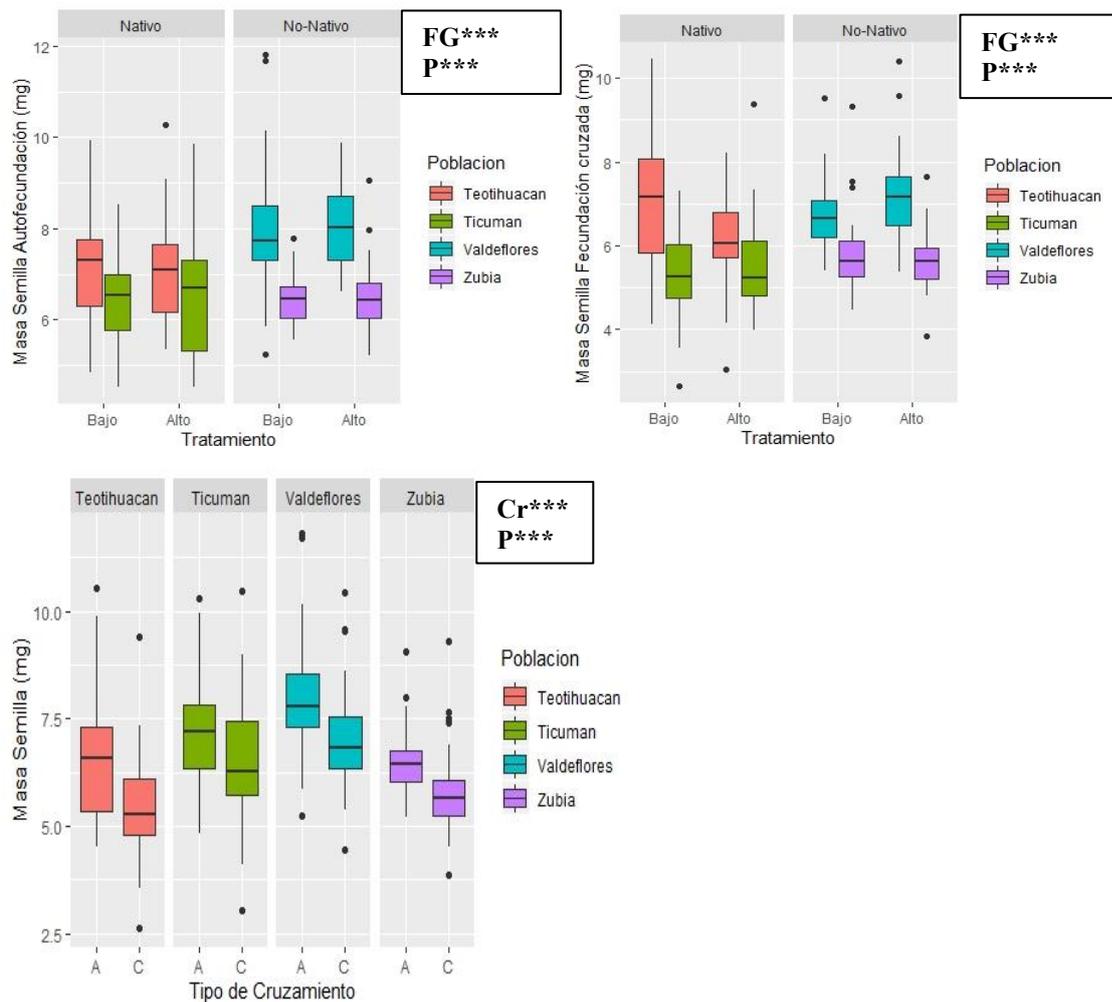


Figura 7. Variación en la masa promedio de semillas (mg) procedentes de autopolinización y polinización cruzada en *Datura stramonium*. Las gráficas representan el valor mínimo, los cuartiles, la mediana, los valores atípicos y el valor máximo de cada variable, por rango, población y tratamiento. A=Autopolinización; C=Cruzamiento; FG=Familia Genética; P=Población; Cr=Experimento de polinización.

Trade-off entre número y masa de semillas

Por último, se realizó un análisis sobre un posible *trade-off* entre nº de semillas por fruto y su peso en cada uno de los experimentos de polinización, sin embargo, esta correlación fue significativa y positiva sólo en la población Valdeflores para nº y masa de semillas procedentes de fecundación cruzada ($\tau = 0,24$, $P = 0,005$), no existiendo ese compromiso entre número y masa de las semillas en el resto.

Determinación y análisis de depresión endogámica

No se detectó depresión endogámica como promedio de la familia genética de las poblaciones, por lo que la masa por semilla procedente de autofecundación supera a la derivada por fecundación cruzada (Tabla 12). La distribución de δ a nivel de población muestra una mayoría de valores negativos en todas las poblaciones de ambos rangos (Figura 8). Sin embargo, en las poblaciones del rango nativo hubo mayor frecuencia de plantas con δ positiva, siendo Teotihuacán la población con mayores valores positivos, indicando depresión endogámica para algunas familias genéticas (Tabla 12).

El análisis de la varianza mostró en primer lugar los componentes de ésta, siendo nula la varianza explicada por todos los factores (Tabla 5 en apéndice), indicando una gran varianza dentro de las familias genéticas (100%). En cuanto al análisis del modelo encontramos sólo diferencias significativas entre los tratamientos de fertilizante (ANOVA: $F = 14,18$, $G.L. = 1$, $P < 0,0001$) (Figura 9 y Tabla 6 en apéndice).

Tabla 12. Media y desviación estándar de la depresión endogámica/exogámica (δ) calculada a partir de los valores de masa por semilla de poblaciones del rango nativo y no-nativo de *Datura stramonium*. N= número de muestras.

		N	δ	%individuos con δ positiva
Nativo	Teotihuacán	48	$-0,078 \pm 0,198$	34%
	Ticumán	47	$-0,16 \pm 0,118$	6%
No-Nativo	Valdeflores	55	$-0,123 \pm 0,133$	12%
	La Zubia	60	$-0,337 \pm 0,109$	13%

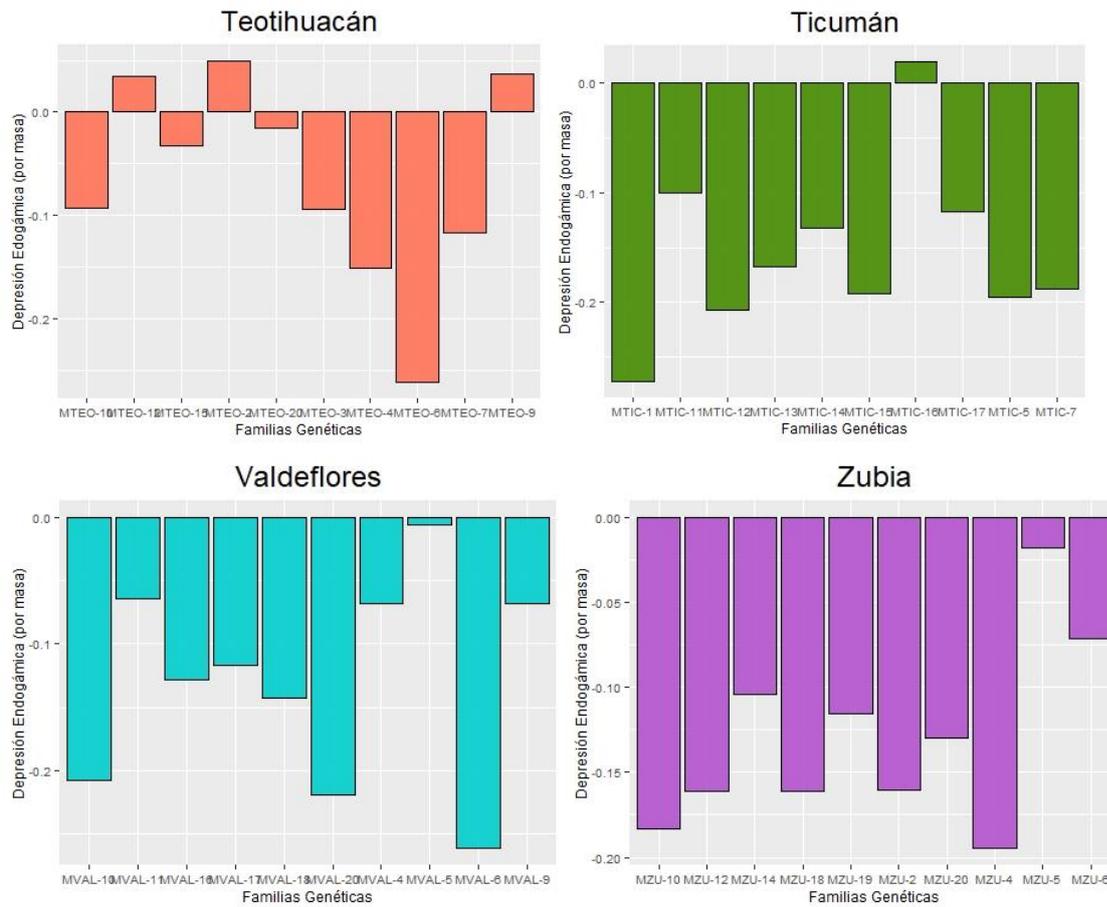


Figura 8. Coeficientes de depresión por endogamia (δ) en términos de la masa promedio por semilla, en cada una de las poblaciones cultivadas de *Datura stramonium*. Cada barra corresponde a la depresión endogámica para cada una de las 10 familias genéticas por población. La magnitud de los ejes indica la magnitud de la depresión endogámica. Valores positivos indican que el valor de fitness de la progenie de la polinización cruzada superó a la de la progenie autofecundada; valores negativos indican lo contrario.

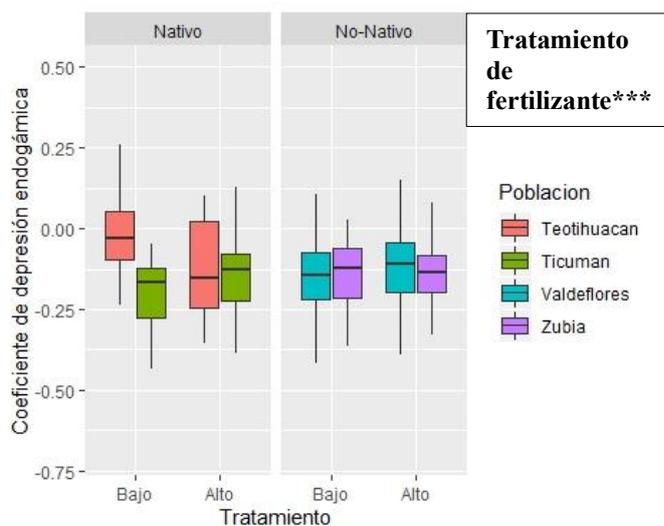


Figura 9. Variación del coeficiente de depresión endogamia en las poblaciones cultivadas de *Datura stramonium*.

El análisis de correlación entre el valor de depresión endogámica y el valor de hercogamia (como representante del sistema de apareamiento), muestra sólo correlaciones significativas para Teotihuacán, en el rango nativo. Concretamente, para Teotihuacán muestra una correlación positiva ($r = 0,22$ con $P=0,044$), Ticumán ($r = -0,13$ con $P=0,25$), Valdeflores ($r = 0,18$ con $P=0,06$ (marginamente significativa)) y Zubia ($r = -0,62$ con $P=0,62$) (Figura 10).

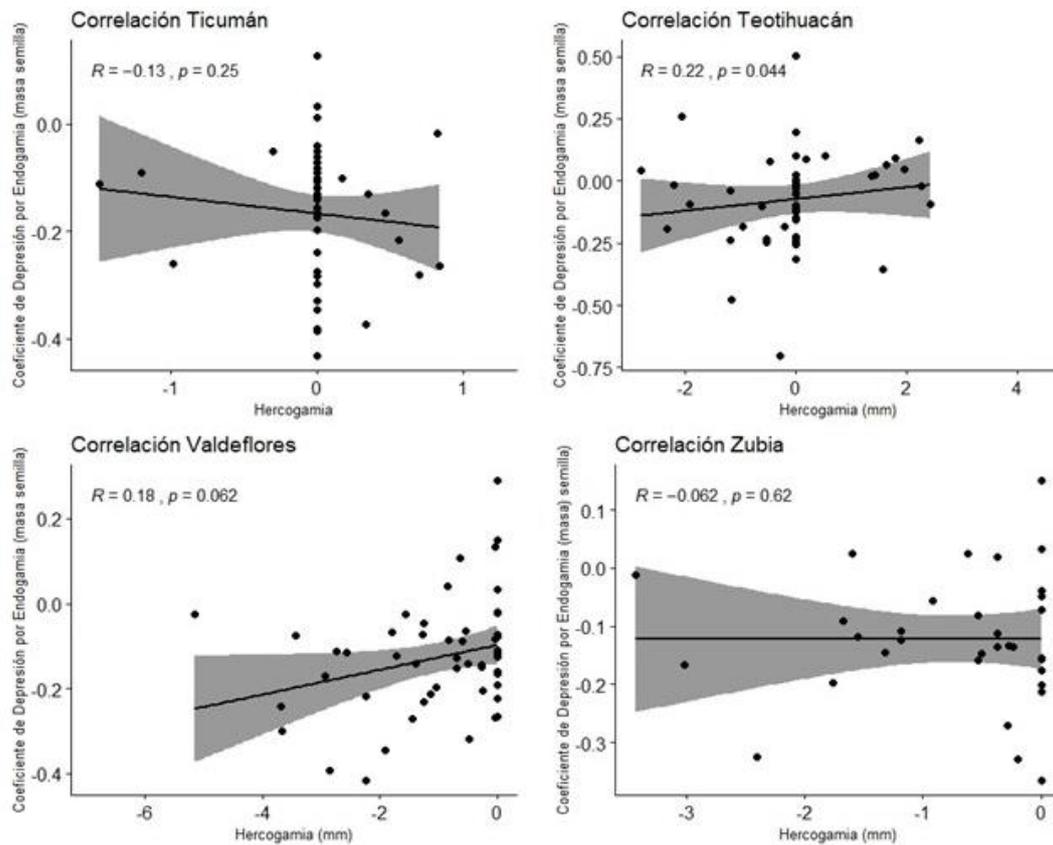


Figura 10. Correlación por Kendall entre el coeficiente de endogamia para el peso medio de semillas y el grado de hercogamia en *Datura stramonium*.

Integración fenotípica floral

La magnitud de las correlaciones entre caracteres varió muy poco en cada población, aunque el rango del coeficiente de correlación en Valdeflores es el mayor, de 0,17 a 0,43. Las correlaciones fueron positivas en su mayoría, pero en La Zubia encontramos un valor de τ de -0,24 para la correlación entre largo de la corola y hercogamia (la población con las flores más pequeñas y hercogamia negativa). Los pares de caracteres que estuvieron más ampliamente correlacionados en la mayoría de las poblaciones fueron: largo de la corola con diámetro de la corola, largo de la corola con volumen de néctar, largo de la corola con hercogamia y

hercogamia con volumen de néctar (Tabla 13). En la Figura 11, se pueden ver los valores de *tau* para cada par de variables y población.

Las poblaciones de *Datura stramonium* estuvieron integradas significativamente (la integración fenotípica varió de 0,109 a 0,272); Teotihuacán tuvo la integración menor del máximo posible (4,97%), seguido de Ticumán (5,98%), La Zubia (7,41%) y Valdeflores con la mayor del máximo posible (10,32%) (Tabla 14).

Tabla 13. Valores de *tau* y p-valores procedentes de las correlaciones de Kendall entre las siguientes variables: largo de la corola (LC), diámetro de la corola (DC), volumen de néctar (VN) y hercogamia (H) en cada población de *Datura stramonium*. Las que están en negrita significa que los $P < 0,05$.

Rango	Nativo				No-Nativo			
	Teotihuacán		Ticumán		Valdeflores		La Zubia	
Población	<i>tau</i>	<i>p-value</i>	<i>tau</i>	<i>p-value</i>	<i>tau</i>	<i>p-value</i>	<i>tau</i>	<i>p-value</i>
Correlación de pares de variables								
LC-DC	0,2	<0,0001***	0,03	0,66	0,43	<0,0001***	0,35	<0,0001***
LC-VN	0,218	0,005*	-0,001	0,97	0,17	0,02*	0,012	0,8
LC-H	-0,05	0,53	0,21	0,01*	0,23	0,003*	-0,24	0,02*
DC-H	0,24	0,003*	0,07	0,37	0,17	0,021*	-0,064	0,53
DC-VN	0,227	0,004*	0,07	0,34	0,13	0,089	-0,008	0,9
H-VN	0,244	0,003*	0,05	0,56	0,32	<0,001***	0,15	0,14

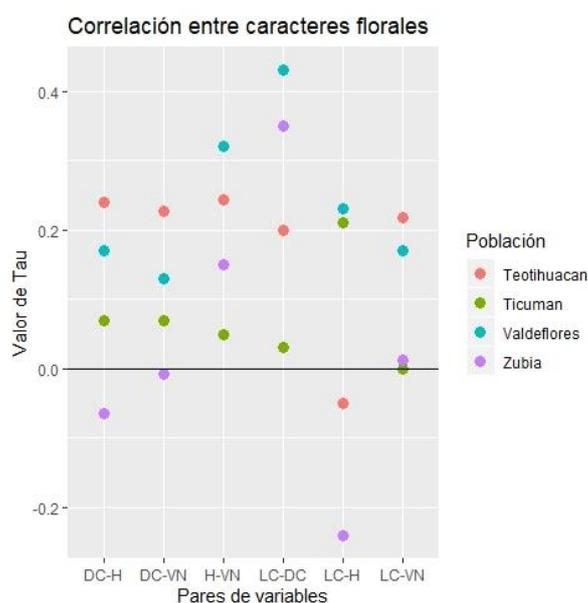


Figura 11. El signo y magnitud de las correlaciones entre caracteres florales (*tau* Kendall) varían entre poblaciones y entre pares de caracteres. Para cada par de caracteres, los puntos de diferente color representan en valor de correlación para cada población estudiada.

Tabla 14. Variación interpoblacional en el grado de integración fenotípica entre rasgos florales medidos en las cuatro poblaciones cultivadas de *Datura stramonium*. Se muestran también los intervalos de confianza del 95%, obtenidos mediante la técnica de Bootstrap (1000). INT= índice de integración fenotípica. IC= intervalos de confianza.

Rango	Población	INT	% INTMAX	IC del 95%
Nativo	Teotihuacán	0,109	4,97	0,048-0,280
	Ticumán	0,142	5,986	0,049-0,349
No-Nativo	Valdeflores	0,272	10,326	0,146-0,628
	La Zubia	0,157	7,419	0,046-0,466

Relación Polen/Óvulos

El índice P/O obtenido para cada población es: 313 para Teotihuacán; 284 para Ticumán; 296 para Valdeflores; 275 para La Zubia (Tabla 15). Como se ve también en la Figura 12, las poblaciones del rango no-nativo presentan valores menores en la relación P/O que las del rango nativo.

El análisis del ANOVA no llegó a mostrar diferencias significativas entre ninguno de los factores del modelo para la variable n° de óvulos. Sin embargo, para el n° de granos de polen, los resultados del ANOVA mostraron diferencias significativas entre ambos niveles del tratamiento de fertilizante (ANOVA: $F=7,75$, $G.L.=1$, $P=0,0064$), entre las poblaciones (ANOVA: $F=3,76$, $G.L.=2$, $P=0,026$) y entre las familias genéticas (ANOVA: $F=1,61$, $G.L.=36$, $P=0,03$) (Figura 12 y Tabla 7 en apéndice).

Tabla 15. Relación Polen:Óvulos en flores de *Datura stramonium* .

Rango	Población	N	P/O	Rango P/O
Nativo	Teotihuacán	35	313,1 ± 148,02	117,8 - 723,3
	Ticumán	39	284,3 ± 146,8	93,75 - 667,7
No-Nativo	Valdeflores	40	296,92 ± 156,2	56,81 - 824,8
	La Zubia	32	275,2 ± 109,6	105,4 - 630,1

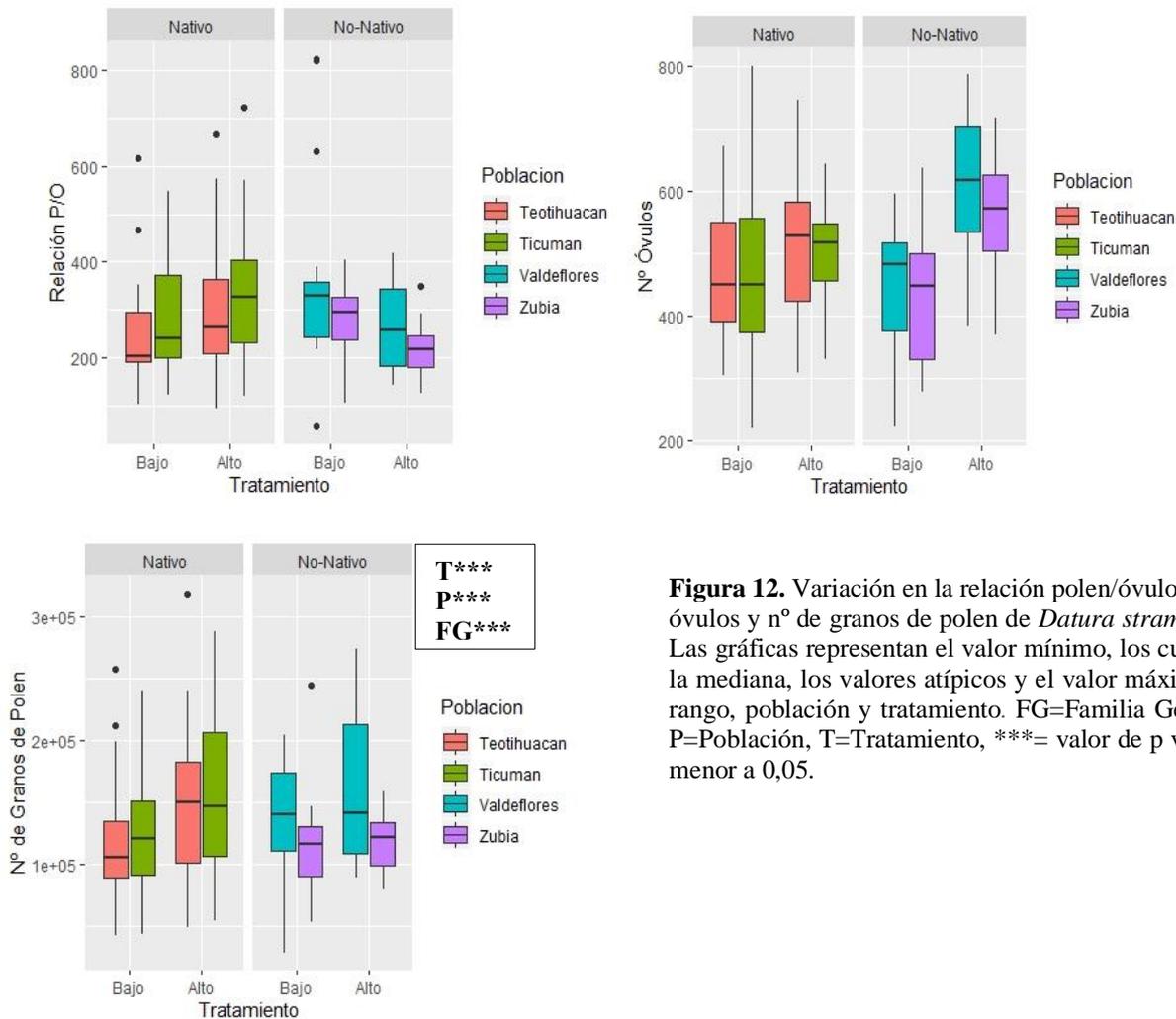


Figura 12. Variación en la relación polen/óvulos, nº de óvulos y nº de granos de polen de *Datura stramonium*. Las gráficas representan el valor mínimo, los cuartiles, la mediana, los valores atípicos y el valor máximo por rango, población y tratamiento. FG=Familia Genética, P=Población, T=Tratamiento, ***= valor de p valor es menor a 0,05.

Fenología

En primer lugar, el análisis para la variable apertura de la corola mostró diferencias significativas entre los siguientes factores: tiempo (MANOVA: $F=3,77$, $G.L.=2$, $P<0,001$), población (MANOVA: $F=0,094$, $G.L.=2$, $P<0,001$), familia genética (MANOVA: $F=0,0535$, $G.L.=36$, $P=0,001$) y la interacción tiempo por rango (MANOVA: $F=0,23$, $G.L.=2$, $P<0,001$), tiempo por población (MANOVA: λ de Wilk's =0,91, $G.L.=4$, $P=0,006$) y tiempo por familia genética (MANOVA: λ de Wilk's =0,53, $G.L.=72$, $P<0,001$) (Figura 13 y Tabla 8 en apéndice).

Por otro lado, se analizó el porcentaje de plantas que presentaban las anteras abiertas en los diferentes momentos de medición. Previamente al análisis del modelo, se observa que los porcentajes de plantas con anteras abiertas en la primera hora de medición para las poblaciones del rango no-nativo muestran valores más altos que las poblaciones nativas, las cuales aumenta su porcentaje en las mediciones posteriores (Figura 14). El análisis del modelo mostró diferencias significativas para el tiempo (ANOVA: $F=10,96$, $G.L.=4$, $P=0,0025$) y su interacción con el rango (ANOVA: $F=6,58$, $G.L.=4$, $P=0,012$) (Figura 14 y Tabla 9 en apéndice).

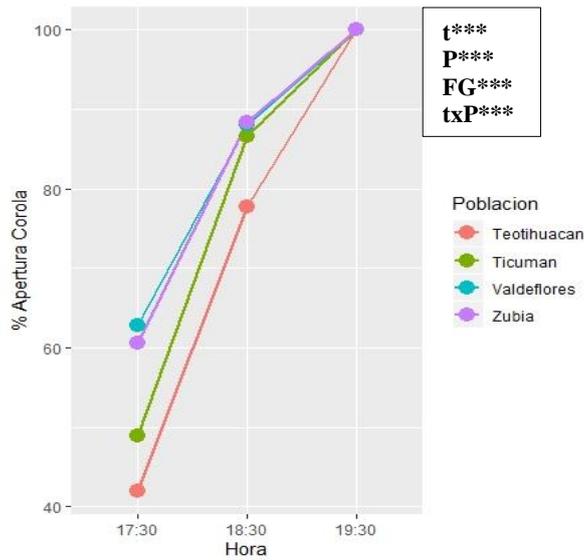


Figura 13. Variación del porcentaje de apertura en los distintos tiempos evaluados en las poblaciones cultivadas de *Datura stramonium*. P=Población, t=Tiempo, FG=Familia Genética. *** = $P < 0,05$.

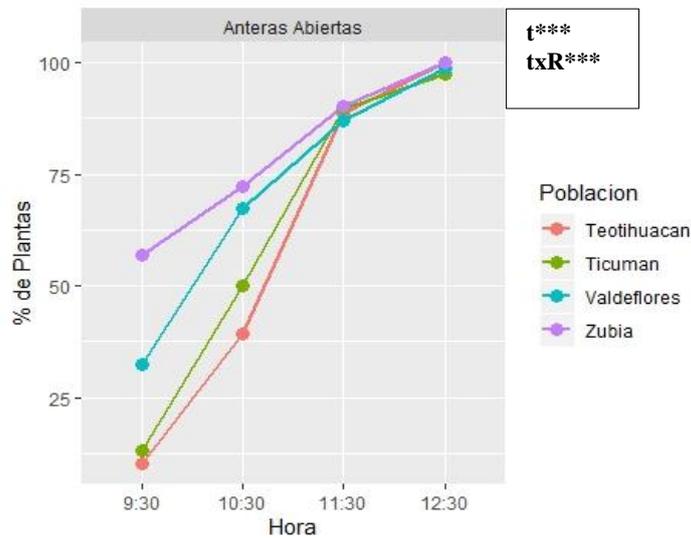


Figura 14. Variación del porcentaje de plantas con anteras abiertas y cerradas en cada uno de los tiempos de las distintas poblaciones de *Datura stramonium*. t= tiempo; R= rango. *** = $P < 0,05$.

DISCUSIÓN

La adaptación de las poblaciones de plantas a un nuevo rango puede alcanzarse mediante la selección de un óptimo fenotípico o mediante una elevada plasticidad fenotípica, dada la variación en los factores del ambiente (bióticos y abióticos) (Baker 1974; Sakai *et al.*, 2001), y la cantidad de variación genética presente en las poblaciones nativas e introducidas en un rango

nuevo. La arquitectura floral (rasgos florales), en ausencia de polinizadores especialistas en el nuevo rango, puede estar bajo una selección relajada, lo que tiene consecuencias en la reproducción de las plantas, pudiendo derivar en la producción de fenotipos florales que maximicen el fitness por vía materna (cambios en el sistema de apareamiento hacia la autogamia) (Schlumpberger et al., 2009).

En primer lugar, con base en los resultados, los análisis de variación genética y heredabilidad muestran diferencias poblacionales para la mayoría de los caracteres e incluso diferencias entre rangos, para la hercogamia, mostrando congruencia con la hipótesis de mayor variación genética en el rango nativo. En segundo lugar, la plasticidad para los valores de fitness por autofecundación en el rango no-nativo, concuerdan con la evolución hacia la autogamia, sumado al hecho de no encontrar depresión endogámica, indicando la eliminación de la carga génica deletérea. Por otro lado, se ha detectado la existencia de un fenotipo floral significativamente más integrado en las poblaciones de España con respecto a las poblaciones de México, favoreciendo la autofecundación. Por último, los resultados fenológicos, tanto para la apertura de la corola como de las anteras, ponen en evidencia un patrón diferente dependiendo del rango, mostrando una fenología más temprana (diurna) en las poblaciones españolas, lo que podría estar acorde con la ausencia o cambio de polinizadores. A continuación, se discuten las implicaciones de estos resultados.

Ley de Baker, arquitectura floral y hercogamia

La ley de Baker se refiere a que poblaciones de plantas establecidas en un nuevo rango tienden a mostrar un incremento en la capacidad de autofecundación debido a la ventaja que confiere la autocompatibilidad cuando se coloniza un nuevo hábitat (Baker, 1955), lo que implica que el sistema de apareamiento de las plantas es un importante determinante del potencial de invasividad de las especies (Kleunen, *et al.*, 2007). Además, la evolución de fecundación cruzada a autofecundación es una de las transiciones evolutivas más comunes en las angiospermas (Sicard y Lenhard, 2011) y el escenario ecológico más ampliamente aceptado que favorecería la evolución a la autofecundación es una condición de disponibilidad limitada de polinizadores o baja densidad de plantas consortes (como ya se indicó más arriba), ya que el hecho de autofecundarse proporcionaría *garantía reproductiva* (Sicard y Lenhard, 2011). Es bajo este escenario en el que se podrían encontrar las poblaciones del rango no-nativo de nuestro estudio. De hecho, nuestros resultados apuntan a ello pues para optimizar la asignación de

recursos a la función reproductiva (“sex allocation theory” (Brunet, 1992)), la transición del sistema de apareamiento promueve cambios en rasgos aislados y en rasgos correlacionados como flores pequeñas y baja razón P/O, reducción en la producción del néctar y reducción en los niveles de hercogamia (Jiménez-Lobato y Núñez-Farfán, 2012). Este conjunto característico de rasgos morfológicos y funcionales en las flores se denomina *síndrome de la autopolinización* (Richards, 1986), manifestándose en las poblaciones no-nativas de este estudio o en poblaciones nativas cuyo tamaño poblacional ha sido reducido, así como en poblaciones donde los vectores de polen (animales) se han extinguido o sus poblaciones han sido diezmadas. Analizando los rasgos por separado, se espera que tanto los caracteres de atracción como los de recompensa para polinizadores, evolucionen diferencialmente en el rango nativo y no-nativo; de hecho, nuestros análisis de variación genética muestran diferenciación poblacional significativa para todos los caracteres evaluados. Como rasgo más evidente de la transición del sistema de apareamiento, encontramos que la hercogamia se encuentra reducida en las poblaciones del rango no-nativo. Una reducción en la distancia entre las anteras y el estigma podría aumentar la oportunidad para la autofecundación autónoma (Motten y Antonovics, 1992) proporcionando *garantía reproductiva* en una especie autocompatible como es *Datura stramonium* y representando una ventaja selectiva que explicaría la invasión de la especie en España. Varios estudios apoyan que la hercogamia puede ser el determinante primario de la producción autónoma de semillas y las tasas de autofecundación y esto puede ocurrir de manera independiente a la modificación de otros rasgos florales (Vallejo-Marín y Barrett, 2009). Es así como se muestra en nuestros análisis, donde es mucho más evidente la modificación de la hercogamia en las poblaciones no-nativas pero no tanto para el resto de caracteres florales como es el largo o el diámetro de la corola. Sin embargo, una vez que se ha establecido la autofecundación como vía principal de reproducción, podría ocurrir selección para reducir en tamaño floral (Vallejo-Marín y Barrett, 2009), ya que esta reducción contribuye a mejorar la autopolinización (Sicard, *et al.*, 2016) y es interpretada como una adaptación que optimiza la reasignación de los recursos después de evolucionar la autofecundación (Goodwillie, *et al.*, 2010). Es decir, puede ser que la reducción en el tamaño floral no sea imprescindible para la autofecundación pero es una consecuencia de la reasignación de los recursos (Bodbyl Roels y Kelly, 2011). Aun así, en la población de La Zubia sí se aprecia una fuerte reducción del diámetro de la corola, y en general, son flores más pequeñas que el resto de las poblaciones. Por el contrario, en las poblaciones nativas encontramos que los rasgos de atracción no se han reducido, ya que la arquitectura floral influye fuertemente en la frecuencia de visitas del polinizador y la transferencia de polen (Sicard y Lenhard, 2011). Otro de los rasgos más

evidentes encontrados en nuestros análisis en relación con el síndrome de la autopolinización, es la fuerte reducción en la producción de la recompensa floral, el néctar. Las poblaciones de España han reducido fuertemente este recurso para los polinizadores, y podrían estar evolucionando una reasignación de los recursos, probablemente hacia la reproducción (ver más abajo), como se espera bajo la hipótesis de la garantía reproductiva. De este modo, es la población de La Zubia la que manifiesta de una manera más visible un fenotipo de autopolinización.

Una última consideración es que Sicard y Lenhard (2011) propusieron cuatro posibles escenarios, no mutuamente excluyentes, en los que puede evolucionar la autofecundación. En este estudio, se muestra mayor evidencia para los dos primeros que tienen que ver con la teoría de la asignación de recursos (menor inversión en caracteres de atracción y recompensa a polinizadores y mayor inversión sobre caracteres puramente reproductivos), por ello selección de flores más pequeñas tras la transición a la autofecundación y el cambio de la morfología floral para mejorar la eficiencia de la autopolinización. Estos dos escenarios estarían bajo el contexto ecológico de ausencia de polinizadores (o de su menor eficiencia) y/o limitación de parejas. Sin embargo, cabría la posibilidad de que un aumento en la autofecundación pudiera resultar de una separación reducida entre anteras y estigma, así como una reducción de atracción de flores más pequeñas por parte de los polinizadores, basándose en la observación de que especies que se autofecundan ocupan ambientes ecológicos más adversos que las que se reproducen por fecundación cruzada.

Integración floral y correlaciones entre pares de caracteres

Partiendo de la premisa de que las flores polinizadas por animales están diseñadas a partir de rasgos correlacionados que funcionan de manera integrada y están bajo selección como un todo para promover la polinización y el apareamiento (Armbruster *et al.*, 1999), se evaluó la integración fenotípica de las flores de las poblaciones de nuestro estudio. Sin embargo y como se comentó al inicio, la evolución de la autofecundación lleva consigo una serie de cambios en el fenotipo floral y evaluando estos cambios de una manera integrada en los caracteres, y más allá de la covarianza de caracteres impuesta por efectos alométricos durante el desarrollo (Herrera 2001), encontramos una mayor integración en el fenotipo floral en las poblaciones del rango no-nativo en comparación con las del rango nativo. ¿Cómo es posible explicar esto si se espera que las flores que se fecundan por polinizadores especializados presenten fenotipos

florales altamente específicos en comparación con poblaciones de plantas que no presentan polinizadores especializados? Es posible encontrar un patrón de evolución diferente entre poblaciones de plantas que presentan sus polinizadores especializados y las que no. Pérez, Arroyo y Armbruster (2007), evidenciaron cómo diferentes especies de polinizadores generaban diferencias geográficas en la morfología floral. También, Pérez, Arroyo y Medel (2007) mostraron que especies dependientes de polinizadores exhibían menor integración en la corola que sus congéneres autógamos, así como un desacoplamiento de rasgos funcionales y el resto de los rasgos de la corola. Estos autores, sugirieron que especies que no experimentan una fuerte selección por polinizadores (autógamas), deberían mostrar una alta integración entre todos los rasgos florales debido tanto a limitaciones genéticas y de desarrollo como a una relajada selección por polinizadores sobre rasgos no funcionales. Es esto, lo que puede explicar nuestro resultado de una mayor integración en las poblaciones del rango no-nativo que presentan un escenario de ausencia de polinizadores; además, estos resultados se suman de manera congruente con la manifestación del síndrome de autopolinización, al menos, en la población de La Zubia. Para las poblaciones del rango nativo, nuestros resultados apoyarían la hipótesis de que corolas tubulares polinizadas por esfíngidos necesitarían mantener la integración de los caracteres florales (funcionales y no funcionales) para asegurar la eficiencia en la polinización debido a la selección mediada por polinizadores (Nilsson, 1988).

Por otro lado, Ushimaru y Nakata (2002) predijeron que correlaciones entre las posiciones del estigma y las anteras deberían ser mayores en las plantas que se autofecundan que en las que presentan xenogamia. Esto no se ha comprobado en nuestro estudio al haber medido directamente la hercogamia y además, las correlaciones entre pares de rasgos no muestran una conclusión clara que apoyase la integración encontrada, en general las correlaciones entre pares de caracteres son muy bajas. En efecto, permanece poco claro si los rasgos que contribuyen al síndrome de la autofecundación evolucionan simultáneamente o de manera independiente rasgo por rasgo durante la transición de la xenogamia a la autogamia (Bodbyl Roels y Kelly, 2011) o como propone la hipótesis de correlación selectiva, donde la evolución de fenotipos integrados podría darse cuando la selección favorece una dirección de asociaciones fenotípicas y genéticas entre rasgos y esto podría ser explicado por una base genética común como resultado de efectos pleiotrópicos o de ligamiento en los loci responsables (Sicard y Lenhard, 2011). Quizás esta última visión sería la que explicaría nuestros patrones encontrados sobre una gran integración fenotípica pero no sustentada por las correlaciones entre pares de caracteres. Lo que sí es esperable es que, en ausencia de depresión por endogamia o descuento de polen, las plantas

capaces de autopolinizarse (polinización automática), tienen ventajas selectivas (Fisher, 1941), respecto de la que requieren vectores de polen (animales). Esto favorece la reducción de la hercogamia.

Relación Polen/Óvulos

Como se ha discutido más arriba, en la transición de fecundación cruzada a autofecundación se predice una disminución en la asignación de recursos a estructuras para atraer a polinizadores (Goodwillie *et al.*, 2010) y, por el contrario, se espera una mayor inversión en caracteres puramente reproductivos (y una reducción en polen dado que la ganancia en fitness por la vía masculina es nula). El primer estudio empírico a gran escala de cómo la cantidad de granos de polen y número de óvulos difería con el sistema de apareamiento fue reportado por Cruden (1977), quién clasificó cinco grupos según su modo de reproducción, desde una xenogamia obligada, a la cleistogamia, y la razón polen/óvulos por flor decrecía bruscamente con un incremento en la tendencia a autofecundarse. Así, en general, los modelos predicen que conforme las tasas de autofecundación incrementan, la inversión en la función masculina disminuye (Goodwillie *et al.*, 2010). En nuestras poblaciones de estudio, es posible observar cómo la relación P/O es menor en las poblaciones españolas en comparación con las de México, aunque éstas no hayan sido significativamente diferentes, pero esto nos evidencia, al menos, que hay una tendencia a disminuir esta relación en poblaciones que reúnen además un fenotipo atribuible a la autofecundación. Esta tendencia a disminuir la relación P/O se explica a partir de que en plantas autocompatibles adaptadas a la autofecundación la cantidad de granos de polen que alcanzan el estigma es mucho mayor que en las que se reproducen por fecundación cruzada, donde menos granos de polen llegan a un estigma compatible (Sicard y Lenhard, 2011). Sin embargo, en este contexto se da una inversión distinta en la función masculina y femenina. En este estudio sí se ha podido diferenciar de manera significativa (estadísticamente) la cantidad de granos de polen por tratamiento de fertilizante, que explicaría la inversión en este rasgo según los recursos disponibles de la planta. Por otro lado, nuestros resultados muestran cómo el número de óvulos se mantiene más constante en todas las poblaciones, mientras que el número de granos de polen, al menos en La Zubia es menor. Esto indica que la inversión en la función masculina en las poblaciones xenógamas sería innecesaria en las autógamias, donde el número máximo de semillas puede ser alcanzado con un número mucho menor de granos de polen, siendo los recursos asignados a la función femenina.

Como conclusión, nuestros resultados de la relación P/O entre las poblaciones de estudio son atribuibles según el criterio de Cruden (1977) a autógamias facultativas. En especies que presentan un sistema de apareamiento mixto (como lo es el de *Datura stramonium*), diversos estudios han mostrado que los granos de polen propios y los de otros individuos depositados sobre el estigma compiten por una fecundación exitosa, y que la proporción de polen que es usada para la autofecundación es independiente de la cantidad total de granos de polen producidos (Sicard y Lenhard, 2011), de manera que esto podría explicar los patrones encontrados en las poblaciones mexicanas y españolas, aunque La Zubia sí muestre una tendencia a la reducción en la inversión masculina.

Depresión endogámica

Como se ha mostrado a lo largo de la discusión, las poblaciones del rango no-nativo muestran una aparente evolución hacia la autogamia. Sin embargo, el beneficio de la autofecundación sobre la fecundación cruzada dependerá de la oportunidad de que se lleve a cabo (a partir de las estructuras funcionales) y de la cantidad de depresión endogámica (Kleunen, Fischer y Johnson, 2007). Nuestros resultados en este ámbito apoyan sin lugar a duda tanto a que la transición a la autogamia se está dando en las poblaciones no-nativas como que, a partir de ello, se ha conseguido “purgar” los genes deletéreos que imposibilitarían que así se diera. Es decir, no se ha encontrado depresión endogámica en las poblaciones no-nativas, aunque sí para algunos genotipos. La purga de genes deletéreos crea una fuerte retroalimentación positiva sobre la evolución de la autogamia: un aumento en las tasas de autogamia disminuye la depresión endogámica favoreciendo fuertemente la evolución de un incremento en la autofecundación (Devaux, Lepers y Porcher, 2014). Además, esto apoya la hipótesis de partida, la garantía reproductiva por autofecundación juega un importante papel en la reproducción de *Datura stramonium* en las poblaciones españolas (su rango no-nativo), como también se vio que ocurría en un estudio en su rango invadido de Sudáfrica (van Kleunen, Fischer y Johnson, 2007). También es cierto que, para las poblaciones del rango nativo, no se ha encontrado una fuerte depresión endogámica, aunque en general es más positiva que en las poblaciones no-nativas, esto indica que la fecundación cruzada se sigue manteniendo y sigue siendo viable (más que la autogamia) en las poblaciones de México, pero al no presentar tampoco depresión endogámica muy alta, también indica que la autofecundación ocurre, a pesar de que este hecho pueda ser evolutivamente un “callejón sin salida” (Simón-Porcar, Abdelaziz y Arroyo, 2018). Todo esto no está sólo apoyado por el hecho de no haber encontrado depresión endogámica, sino también

porque los resultados tanto del número de semillas como de su masa en las que experimentaron autofecundación se diferenciaban significativamente de las que experimentaron fecundación cruzada. En definitiva, esto indica que la oportunidad de fecundación cruzada y el grado de depresión endogámica en las poblaciones no-nativas es tan bajo, que imposibilitaría imponer selección sobre rasgos que impiden la autofecundación.

En relación con el síndrome de la autofecundación (discutido anteriormente) y con el patrón de relación entre el tamaño floral y la depresión endogámica de otros estudios en el género (Núñez-Farfán et al., 1996, Zamudio 1999, Cruz-Escalante 1998, Elle y Hare 2002, Sosenski, 2004), podemos aquí concluir que en nuestras poblaciones también se sigue dicho patrón, flores más pequeñas con niveles bajos de depresión endogámica, mientras que especies con flores grandes tienen niveles de depresión endogámica positivos, atribuyéndose a las poblaciones del rango no-nativo y nativo respectivamente.

Protandria

Nuestros resultados han mostrado que las anteras están dehiscentes antes de que las flores abran, pero además el hecho de haber encontrado que hay diferencias significativas en el tiempo de apertura de las anteras entre los dos rangos y que las poblaciones del rango no-nativo sean las que muestren sus anteras abiertas con anticipación, sugiere que el polen de éstas podría ser depositado sobre el estigma antes de que la flor abra (como mostró Stebbins 1957). La propia elongación de los estambres durante el proceso de apertura de la flor podría hacer que el polen fuera extrudido y depositado sobre el estigma porque como ya se ha discutido antes, siempre que se encuentra el estigma o en contacto con las anteras o por debajo de ellas, asegura una autofecundación automática. Además, esto podría evitar que fuera robado por abejas melíferas que no llevan a cabo una polinización cruzada eficiente, sugiriendo que una autofecundación anticipada podría haber evolucionado en *Datura stramonium* en respuesta al robo de néctar por abejas melíferas como también fue encontrado en el trabajo de van Kleunen, Fischer y Johnson (2007), o que incluso éstas facilitarían la autopolinización por su movimiento (van Kleunen, Fischer y Johnson, 2007).

Variación genética

Un prerrequisito importante para la evolución de los sistemas de apareamiento es la variación genética heredable de los rasgos implicados, así que a pesar de que se hayan encontrado rasgos

característicos del síndrome de la autogamia, nuestra hipótesis del efecto fundador (que pondría de manifiesto una menor variación genética en las poblaciones del nuevo rango en comparación con las del rango nativo), es corroborada por los resultados de heredabilidad (como reflejo de la variación genética). La heredabilidad es propia del carácter y de la población y nuestros resultados muestran una mayor variación genética en las poblaciones nativas para la mayoría de caracteres florales. El largo de la corola en el rango nativo, refleja en parte, la selección y adaptación de las flores a la polinización por esfíngidos. Los valores de hercogamia en este mismo rango de distribución, muestra la diversidad fenotípica de este carácter en una planta con sistema de apareamiento mixto. En cuanto al volumen de néctar, es un carácter costoso energéticamente y que sólo se mantendría si estuviera seleccionado mediante los polinizadores. También en Ticumán se encuentra la mayor variabilidad genética en cuanto al peso de las semillas por fecundación cruzada. Por el contrario, la mayor variabilidad genética encontrada para el peso de las semillas por autofecundación la muestra la población de La Zubia del rango no-nativo (“sex allocation theory” discutida anteriormente). A pesar de que no sean totalmente determinantes estos resultados, por no encontrar valores muy altos, sí que encajan con la idea que aquí se defiende. Además, también cabe mencionar que en poblaciones donde hay selección por polinizadores, se espera una menor varianza genética (porque se están seleccionando fenotipos a partir de ellos), apoyando esto a la varianza genética encontrada en las poblaciones nativas, aunque esta sea mayor, obviamente, que la de las poblaciones introducidas, pues entran en juego fuerzas evolutivas distintas que caracterizan cada escenario biológico. Por tanto, los procesos evolutivos, que han dado lugar a la varianza genética encontrada en las poblaciones no-nativas tienden a ser explicados mediante el proceso de deriva génica (cambio aleatorio en la frecuencia de alelos de una generación a otra) que se manifiesta sobre los valores de los caracteres florales pudiendo disminuir la variabilidad de éstos en las poblaciones establecidas por efecto fundador, estando sujetas las poblaciones en los primeros años de la colonización a una fuerte presión de selección negativa sobre todo en los caracteres que no beneficiasen la autofecundación, y por tanto disminuyendo la variación genética de los mismos. No obstante, desconocemos aún si las poblaciones no-nativas de *Datura stramonium* en España son el resultado de un evento de colonización único o de distintas fuentes, lo que introduciría más varianza genética.

Plasticidad fenotípica

Como última cuestión, se ha hipotetizado que la capacidad para la plasticidad en general es un factor importante en la capacidad invasora de especies no-nativas (Alpert y Simms, 2002). A pesar de que aún existe debate sobre si efectivamente la plasticidad fenotípica es un carácter y puede evolucionar como tal o es sólo un subproducto de la selección en ambientes diferentes (Gianoli, 2004), nuestro diseño de hermanos completos nos ha permitido evaluar la plasticidad a nivel de poblaciones. Bajo el escenario de que la plasticidad fenotípica se ha considerado como alternativa que entra en juego cuando existe poca variabilidad genética en las poblaciones (aunque esta sea parte de la variabilidad pero no necesariamente está relacionada con la variabilidad fenotípica, Valladares, Sanchez-Gomez, y Zavala, 2006), muestra congruencia parcial con los resultados de este estudio. Las poblaciones nativas como las no-nativas mostraron plasticidad para ciertos rasgos, relacionados éstos fuertemente con el fitness (número y masa de las semillas). Sin embargo, ya que la plasticidad lleva implícito en la definición que es específica del rasgo (Alpert y Simms, 2002), el hecho de haber encontrado plasticidad para el rasgo número de semillas por autofecundación, tanto Valdeflores como La Zubia, y para el número de semillas por fecundación cruzada Teotihuacán y Ticumán (aunque La Zubia también lo es para este rasgo), nos lleva a considerar que cada población dentro de su rango muestran plasticidad para rasgos que están fuertemente relacionados con su modo de fecundación mayoritaria o única en cada población. Por otro lado, el hecho de que el carácter hercógamo sea plástico en la población de Teotihuacán (y además presenta variación genética en la plasticidad), nos conduce a pensar que dependiendo de los recursos (ambiente) se puede propiciar que se dé un tipo u otro de fecundación (Camargo *et al.*, 2017), además, la población de Teotihuacán no presenta polinizadores, por lo que la autogamia también es una vía de perpetuar esa población. Esto, quizás pueda estar apoyado por varios estudios que han mostrado que la hercogamia se reduce en hábitat cálidos y secos (Elle y Hare, 2002), y aunque esto no se ha evaluado en este estudio, sí que pudiera extrapolarse al nivel de nutrientes (más recursos implican un medio menos hostil) como sí se ha tenido en cuenta en el presente estudio.

Lo que cabe concluir en cuanto a las normas de reacción, que muestran una correlación genética a través de ambientes (alto y bajo nivel de nutrientes, en este estudio) para un rasgo dado, es que la pendiente se presenta más pronunciada para aquellos que son más costosos de producir energéticamente, como es el volumen de néctar, o el número de semillas (mayor cantidad de recursos, mayor descendencia), sin embargo el peso de las semillas parece mostrarse más constante entre ambos tratamientos, al menos para las semillas por

autofecundación, mostrando que es un carácter menos influenciado por la variación ambiental, pero no para las semillas por fecundación cruzada.

El índice de plasticidad de distancias relativas calculado en este trabajo nos lleva a mostrar de una manera cuantitativa la plasticidad de los caracteres evaluados pero, aun así, las conclusiones son las mismas que para las normas de reacción. Los caracteres más plásticos son los que más relacionados están con el fitness (número y masa de semillas). Siendo el número de semillas por fecundación cruzada el que mayor RDPI presenta. Esto es interesante, pues es un carácter que lleva consigo variabilidad genética, el soporte que se requiere en cualquier ser vivo para que ocurra selección y evolución. Sin embargo, cuando se intentó encontrar diferencias entre los valores de RDPI para cada población y carácter, éste no pudo encontrarse de manera significativa, por lo que todas las poblaciones responden (cuantitativamente) de manera similar en plasticidad para cada rasgo evaluado.

De una manera general y siendo conscientes de que los genotipos no son plásticos como tal, sino que presentan caracteres plásticos, la población de Teotihuacán sería la más plástica (además presenta variación en la plasticidad) seguido de La Zubia y Valdeflores.

Cabe mencionar, que la plasticidad no necesariamente evoluciona como una adaptación pero puede evolucionar debido a correlaciones genéticas con otros rasgos que están bajo selección o debido a deriva génica (Kleunen y Fischer, 2004) y puesto que, como se indicó en el inicio, la plasticidad no es posible atribuirle a un genotipo como tal, sino que un genotipo puede mostrar un conjunto de rasgos plásticos y si estos conforman o afectan al sistema de apareamiento (los rasgos florales estudiados en este trabajo), estaríamos ante la plasticidad del sistema de apareamiento de *Datura stramonium* en su rango nativo e introducido.

Por otro lado, el hecho de no haber podido encontrar plasticidad fenotípica sólo en las poblaciones no-nativas y sobre todos en los rasgos evaluados como esperábamos con base en nuestra hipótesis de partida, proponemos la siguiente explicación: En primer lugar porque para que ocurra evolución adaptativa de la plasticidad fenotípica es necesario que haya variación genética (aunque este puede que no sea el caso, al menos para las poblaciones no-nativas) y, en segundo lugar, podría explicarse porque la evolución adaptativa de la plasticidad fenotípica se encuentra limitada por costes y limitaciones (Kleunen y Fischer, 2004), aunque se desconoce si los costes observados de la plasticidad son costes de tener la maquinaria genética o fisiológica para respuestas plásticas o es más una consecuencia de correlaciones genéticas con otros rasgos que afectan el fitness.

Conclusiones, consideraciones finales y futuras investigaciones

Nuestros resultados están a favor de un modelo secuencial para la evolución el síndrome de la autogamia, donde los rasgos esenciales para incrementar la eficiencia de ésta evolucionan primero, seguido por la evolución de otros caracteres subsecuentes al cambio en el sistema de apareamiento. Así, la autogamia en las poblaciones no-nativas de *Datura stramonium* de este estudio han evolucionado hacia el síndrome de la autogamia en algunos rasgos, pero no en otros. Se ha encontrado una reducción en el tamaño de la corola, en la distancia entre las anteras y el estigma, una reducción del número de granos de polen, mayor integración floral, mayor número y masa de semillas por autofecundación y ausencia de depresión endogámica.

El escenario ecológico que encuadra los patrones encontrados en las poblaciones no-nativas se ajustan, parcialmente, a las expectativas de la ley de Baker a distintos niveles. La transición observada de una estrategia de reproducción mixta a una completa autogamia puede ser posible en las poblaciones del rango no-nativo de *Datura stramonium* tras las colonización del nuevo rango, si la fijación de una tendencia sistemática de variación dentro de la planta brinda garantía reproductiva en ambientes donde las condiciones bióticas (limitación de polinizadores o potenciales parejas) o condiciones abióticas (baja disponibilidad de nutrientes o de agua) (Camargo *et al.*, 2017) son adversas. Además, los análisis de plasticidad podrían ser parcialmente explicados por la teoría de que una mayor plasticidad evoluciona en poblaciones de especies invasoras tras la colonización de un nuevo hábitat más que ser una característica que preseleccione a una especie como potencial invasor.

Los procesos encontrados en este estudio tienen aún más sentido sabiendo que *Datura stramonium* es una planta anual, que depende completamente de la reproducción sexual, lo cual incrementa la rapidez del cambio evolutivo en el área invadida. Sin embargo, la planta lleva más de 500 años en el ambiente no -nativo del Sur de España, lo que equivale aproximadamente a 500 generaciones. Esto puede haber dado a una oportunidad para la evolución *in situ* encontrando los patrones actuales de este estudio, pero el proceso inicial de la colonización, como puede ser el efecto fundador, puede haberse difuminado. Por otro lado, la planta ha cambiado su acoplamiento al clima en el área invadida: crece y florece en la época menos adecuada para una planta anual, a finales de verano. Los veranos son secos y muy variables por lo que debe haber podido incrementar los posibles efectos de la deriva, por la estocasticidad demográfica. Además, el sistema de dispersión (epizoochoria) no parece ser muy efectivo por lo que el flujo génico entre poblaciones debe ser limitado (al igual que ocurre con la falta de polinizadores con largo rango de vuelo en el área invadido, que debe limitar el flujo génico vía

polen), y esto también debe favorecer los efectos de la posible deriva. Los estudios de genética de poblaciones y de filogeografía deberían aclarar algunas de estas cuestiones.

Por tanto, hay algunos aspectos más concretos que no han sido abordados en este estudio como, por ejemplo, conocer si se reduce la emisión de fragancias para atraer a esfíngidos, ya que éstas son el primer atrayente antes que el visual para polinizar una flor; o si varía la composición de azúcares en el néctar ya que pueden existir relaciones funcionales coadaptadas con el tipo de polinizador (por su aparato bucal) (Tiedge y Lohaus, 2017). También convendría realizar estudios genómicos funcionales que evidenciaran de una manera más contundente la variación genética.

Por último y desde un punto de vista más amplio, para que una planta introducida llegue a ser invasora, debe de hacer frente a multitud de adversidades, como por ejemplo la herbivoría o el estrés hídrico, dos ejemplos que no se han puesto a prueba en este estudio pero que complementarían mejor nuestro entendimiento de la evolución de *Datura stramonium* en su distribución no-nativo, y que hay consenso en la noción de que la cantidad de cambio fenotípico observado depende del tipo de ambiente considerado, y por ejemplo en diversos estudios se ha visto cómo ocurre una reducción de la hercogamia y/o un aumento de la autogamia en hábitats xéricos posiblemente seleccionando en contra la expansión completa de la flor cuando el agua es limitante (Alpert y Simms, 2002), siendo este escenario muy interesante de investigar.

REFERENCIAS

- Agren, J., & Schemske, D. W. (1993). Outcrossing rate and inbreeding depression in two annual monoecious herbs, *Begonia hirsuta* and *B. semiovata*. *Evolution*, 47(1), 125-135.
- Alpert, P., & Simms, E. L. (2002). The relative advantages of plasticity and fixity in different environments: when is it good for a plant to adjust. *Evolutionary ecology*, 16(3), 285-297.
- Armbruster, W. S., Di Stilio, V. N. S., Tuxill, J. D., Flores, T. C., & Velásquez Runk, J. L. (1999). Covariance and decoupling of floral and vegetative traits in nine Neotropical plants: a re-evaluation of Berg's correlation-pleiades concept. *American Journal of botany*, 86(1), 39-55.
- Brunet, J. (1992). Sex allocation in hermaphroditic plants. *Trends in Ecology & Evolution*, 7(3), 79-84.
- Cruz, A.L. (2000). Evolución del sistema de apareamiento en *Datura*. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México.
- Armbruster, P., & Reed, D. H. (2005). Inbreeding depression in benign and stressful environments. *Heredity*, 95(3), 235-242.
- Baker, H. G. (1955). Self-compatibility and establishment after 'long-distance' dispersal. *Evolution*, 9(3), 347-349.
- Baker, H. G. (1974). The evolution of weeds. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 5(1), 1-24.
- Barrett, R. D., & Schluter, D. (2008). Adaptation from standing genetic variation. *Trends in Ecology & Evolution*, 23(1), 38-44.
- Barrett, S. C., & Eckert, C. G. (1990). Current issues in plant reproductive ecology. *Israel Journal of Plant Sciences*, 39(1-2), 5-12.
- Bodbyl Roels, S. A., & Kelly, J. K. (2011). Rapid evolution caused by pollinator loss in *Mimulus guttatus*. *Evolution: International Journal of Organic Evolution*, 65(9), 2541-2552.
- Bossdorf, O., Auge, H., Lafuma, L., Rogers, W. E., Siemann, E., & Prati, D. (2005). Phenotypic and genetic differentiation between native and introduced plant populations. *Oecologia*, 144(1), 1-11
- Camargo, I. D., Nattero, J., Careaga, S. A., & Núñez-Farfán, J. (2017). Flower-level developmental plasticity to nutrient availability in *Datura stramonium*: implications for the mating system. *Annals of Botany*, 120(4), 603-615.
- Cocucci, A. A., Moré, M., y Sérsic, N. A. (2009). Restricciones mecánicas en las interacciones planta-polinizador: estudio de casos en plantas polinizadas por esfíngidos. En Medel, R., y Zamora, R. (Ed.), *Ecología y evolución de interacciones planta-animal* (43-61). Santiago de Chile, Chile: Editorial Universitaria.
- Cruden, R. W. (1977). Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution*, (31), 32-46.
- Cruden, R. W., & Lyon, D. L. (1985). Patterns of biomass allocation to male and female functions in plants with different mating systems. *Oecologia*, 66(2), 299-306.

- Cuevas García, Eduardo. 1996. Tasa de entrecruzamiento, vecindario genético y tamaño efectivo de la población en *Datura stramonium*. Tesis Profesional, Biología, Facultad de Ciencias, UNAM, México, Distrito Federal.
- Dafni, A. (1992). *Pollination ecology: a practical approach*. Oxford University Press.
- Devaux, C., Lepers, C., & Porcher, E. (2014). Constraints imposed by pollinator behaviour on the ecology and evolution of plant mating systems. *Journal of Evolutionary Biology*, 27(7), 1413-1430.
- Noble, I.R. (1989) Attributes of invaders and the invading Bazzaz, process: terrestrial and vascular plants. *Biological invasions* (eds J. A. Drake, H. A. Mooney, F. di Castri, R. H. Groves, F. J. Kruger, M. Rejmanek & M. Williamson), 301-313. John Wiley and Sons, Chichester.
- Elle, E., & Hare, J. D. (2002). Environmentally induced variation in floral traits affects the mating system in *Datura wrightii*. *Functional Ecology*, 79-88.
- Elorza, M. S., Sánchez, E. D. D., & Vesperinas, E. S. (2004). *Atlas de las plantas alóctonas invasoras en España*. Dirección General de la Biodiversidad. Ministerio de Medio Ambiente.
- Erbar, C., & Langlotz, M. (2005). Pollen to ovule ratios: standard or variation a compilation. *Botanische Jahrbücher*, 126(1), 71-132.
- Falconer, D. S. (1996). *Introduction to quantitative genetics*. Pearson Education India.
- Fisher R. (1941) Average excess and average effect of a gene substitution. *Annals of Eugenics* 11, 53–63.
- Gianoli, E. (2004). Plasticidad fenotípica adaptativa en plantas. *Fisiología Ecológica en plantas. Mecanismos y Respuestas a Estrés en los ecosistemas*, 13-25.
- Goodwillie, C., Sargent, R. D., Eckert, C. G., Elle, E., Geber, M. A., Johnston, M. O., & Winn, A. A. (2010). Correlated evolution of mating system and floral display traits in flowering plants and its implications for the distribution of mating system variation. *New Phytologist*, 185(1), 311-321.
- Greenberg, C. H., Smith, L. M., & Levey, D. J. (2001). Fruit fate, seed germination and growth of an invasive vine—an experimental test of ‘sit and wait’ strategy. *Biological Invasions*, 3(4), 363-372.
- Herrera, C. M. 2001. Deconstructing a floral phenotype: do pollinators select for corolla integration in *Lavandula latifolia*? *Journal of Evolution Biology*, 14, 574-584.
- Herrera, C. M. et al. 2002. Floral integration, phenotypic covariance structure and pollinator variation in bumble-bee-pollinated *Helleborus foetidus*. *Journal Evolutionary Biology* 15, 108-121.
- Herrera, J. (2009). Visibility vs. biomass in flowers: exploring corolla allocation in Mediterranean entomophilous plants. *Annals of Botany*, 103(7), 1119-1127.
- Hulme P.E., Brundu G., Camarda I., Dalias P., Lamb-don P., Lloret F., Medail F., Moragues E., Suehs C., Traveset A., Troumbis A., Vila M. (2008) Assessing the risks to Mediterranean islands ecosystems from alien plant introductions. In: Tokarska-Guzik B., Brock J.H., Brundu G., Child L, Daehler C.C., Pysék P. (Eds), *Plant Invasions: human perception, ecological impacts and management*. Backhuys, Leiden, the Netherlands, pp 39–56.

- Jiménez-Lobato, V., & Núñez-Farfán, J. (2012). Population differentiation in floral characters of *Datura innoxia* Mill. *Evolutionary Ecology Research*, 14(8), 1015-1038.
- Jiménez-Lobato, V., Martínez-Borda, E., Núñez-Farfán, J., Valverde, P. L., Cruz, L. L., López-Velázquez, A., ... & Arroyo, J. (2018). Changes in floral biology and inbreeding depression in native and invaded regions of *Datura stramonium*. *Plant Biology*, 20, 214-223.
- Karron, J. D. (1991). Patterns of genetic variation and breeding systems in rare plant species. En: Holsinger, D. A. F. K. E. *Genetics and conservation of rare plants*. Oxford University Press on Demand, pp 87.
- Kearns, C. A., & Inouye, D. W. (1993). *Techniques for pollination biologists*. University press of Colorado.
- Kleunen, M. V., Fischer, M., & Johnson, S. D. (2007). Reproductive assurance through self-fertilization does not vary with population size in the alien invasive plant *Datura stramonium*. *Oikos*, 116(8), 1400-1412.
- Lande, R., & Schamske, D. W. (1985). The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. I. Genetic models. *Evolution*, 39(1), 24-40.
- Webb, C. J., & Lloyd, D. G. (1986). The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms II. Herkogamy. *New Zealand journal of botany*, 24(1), 163-178.
- Lloyd, D. G., and D. J. Schoen. 1992. Self- and cross-fertilization in plants. I. Functional dimensions. *International Journal of Plant Science*, 153, 358–369.
- Lonsdale, W. M. (1999). Global patterns of plant invasions and the concept of invasibility. *Ecology*, 80(5), 1522-1536.
- Lynch, M. & Walsh, B. 1997. *The Genetic Analysis of Quantitative Traits*. Sinauer Associates, London, UK.
- Mitchell, C. E., Agrawal, A. A., Bever, J. D., Gilbert, G. S., Hufbauer, R. A., Klironomos, J. N., & Seabloom, E. W. (2006). Biotic interactions and plant invasions. *Ecology letters*, 9(6), 726-740.
- Moodley D., Geerts S., Richardson D.M., Wilson J.R.U. (2016) The importance of pollinators and autonomous self-fertilisation in the early stages of plant invasions: *Banksia* and *Hakea* (Proteaceae) as case studies. *Plant Biology*, 18, 124–131.
- Motten, A. F., & Antonovics, J. (1992). Determinants of outcrossing rate in a predominantly self-fertilizing weed, *Datura stramonium* (Solanaceae). *American Journal of Botany*, 79(4), 419-427.
- Motten, A. F., & Stone, J. L. (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(3), 339-347.
- Nattero, J., Sérsic, A. N., & Cocucci, A. A. (2011). Geographic variation of floral traits in *Nicotiana glauca*: relationships with biotic and abiotic factors. *Acta oecologica*, 37(5), 503-511.
- Nilsson, L. A. (1988). The evolution of flowers with deep corolla tubes. *Nature*, 334(6178), 147-149.
- Núñez-Farfán, J., Cabrales-Vargas, R. A., & Dirzo, R. (1996). Mating system consequences on resistance to herbivory and life history traits in *Datura stramonium*. *American Journal of Botany*, 83(8), 1041-1049.

- Núñez-Farfán, J., & Dirzo, R. (1994). Evolutionary ecology of *Datura stramonium* L. in central Mexico: natural selection for resistance to herbivorous insects. *Evolution*, 48(2), 423-436.
- Pannell, J. R., Auld, J. R., Brandvain, Y., Burd, M., Busch, J. W., Cheptou, P. O., & Hovick, S. M. (2015). The scope of Baker's law. *New Phytologist*, 208(3), 656-667.
- Pérez-Barrales, Rocío, Juan 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(11), 1904-1918.
- Pérez, F., Arroyo, M. T., & Medel, R. (2007). Phylogenetic analysis of floral integration in *Schizanthus* (Solanaceae): does pollination truly integrate corolla traits? *Journal of evolutionary biology*, 20(5), 1730-1738.
- Petanidou, T., Godfree, R. C., Song, D. S., Kantsa, A., Dupont, Y. L., & Waser, N. M. (2012). Self-compatibility and plant invasiveness: comparing species in native and invasive ranges. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 14(1), 3-12.
- Pigliucci, M. (2001) *Phenotypic Plasticity: Beyond Nature and Nurture*. Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- Pigliucci, M. (2005). Evolution of phenotypic plasticity: where are we going now? *Trends in ecology & evolution*, 20(9), 481-486.
- Pohlman, C. L., Nicotra, A. B., & Murray, B. R. (2005). Geographic range size, seedling ecophysiology and phenotypic plasticity in Australian *Acacia* species. *Journal of Biogeography*, 32(2), 341-351.
- R CORE TEAM . 2019 . R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Website <http://www.R-project.org/>
- Richards, A. J. 1986. Plant breeding systems. London: George Allen and Unwin (Publishers) Ltd.
- Richardson, D.M., Allsopp, N., D'Antonio, C.M., Milton, S.J. & Rejmánek, M. (2000b) Plant invasions — the role of mutualisms. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 75, 65–93.
- Ritland, K., & Jain, S. (1981). A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using independent loci. *Heredity*, 47(1), 35-52.
- Roff, D. A. (2012). *Evolutionary quantitative genetics*. Springer Science & Business Media.
- Sakai, A. K., Allendorf, F. W., Holt, J. S., Lodge, D. M., Molofsky, J., With, K. A., & McCauley, D. E. (2001). The population biology of invasive species. *Annual review of ecology and systematics*, 32(1), 305-332.
- Sanchez-Gomez, D., Valladares, F., & Zavala, M. A. (2006). Functional traits and plasticity in response to light in seedlings of four Iberian forest tree species. *Tree physiology*, 26(11), 1425-1433.
- Sánchez-Gómez, D., Valladares, F., & Zavala, M. A. (2006). Performance of seedlings of Mediterranean woody species under experimental gradients of irradiance and water availability: trade-offs and evidence for niche differentiation. *New phytologist*, 170(4), 795-806.
- Sax, D. F., & Brown, J. H. (2000). The paradox of invasion. *Global Ecology and Biogeography*, 9(5), 363-371.

- Schlichting, C. D., & Levin, D. A. (1986). Phenotypic plasticity: an evolving plant character. *Biological Journal of the Linnean Society*, 29(1), 37-47.
- Schlumpberger, B. O., Cocucci, A. A., Moré, M., Sérsic, A. N., & Raguso, R. A. (2009). Extreme variation in floral characters and its consequences for pollinator attraction among populations of an Andean cactus. *Annals of Botany*, 103(9), 1489-1500.
- Schoen, D. J., & Lloyd, D. G. (1992). Self-and cross-fertilization in plants. III. Methods for studying modes and functional aspects of self-fertilization. *International Journal of Plant Sciences*, 153(3, Part 1), 381-393.
- Sicard, A., & Lenhard, M. (2011). The selfing syndrome: a model for studying the genetic and evolutionary basis of morphological adaptation in plants. *Annals of botany*, 107(9), 1433-1443.
- Sicard, A., Kappel, C., Lee, Y. W., Woźniak, N. J., Marona, C., Stinchcombe, J. R., & Lenhard, M. (2016). Standing genetic variation in a tissue-specific enhancer underlies selfing-syndrome evolution in *Capsella*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(48), 13911-13916.
- Simón-Porcar, V. I., Abdelaziz, M., & Arroyo, J. (2018). El papel de los polinizadores en la evolución floral: una perspectiva mediterránea. *Revista Ecosistemas*, 27(2), 70-80.
- Sosenski P. , *Variación geográfica del sistema de apareamiento en Datura stramonium en el centro de México*, 2004. BSc thesis, Universidad Nacional Autónoma de México, México
- Stebbins, G. L. (1957). Self fertilization and population variability in the higher plants. *The American Naturalist*, 91(861), 337-354.
- Stone, J. L., & Motten, A. F. (2002). Anther-stigma separation is associated with inbreeding depression in *Datura stramonium*, a predominantly self-fertilizing annual. *Evolution*, 56(11), 2187-2195.
- Sutherland, S. (2004). What makes a weed a weed: life history traits of native and exotic plants in the USA. *Oecologia*, 141(1), 24-39.
- Symon, D. A. V. I. D., & Haegi, L. (1991). *Datura* (Solanaceae) is a new world genus. *Publication of the Royal Botanic Gardens, Kew, UK for the Linnaean Society of London*, 197-210.
- Tiedge, K., & Lohaus, G. (2017). Nectar sugars and amino acids in day-and night-flowering *Nicotiana* species are more strongly shaped by pollinators' preferences than organic acids and inorganic ions. *PLoS One*, 12(5), e0176865.
- Torices, R., & Muñoz-Pajares, A. J. (2015). PHENIX: An R package to estimate a size-controlled phenotypic integration index. *Applications in plant sciences*, 3(5), 1400104.
- Ushimaru, A., & Nakata, K. (2002). The evolution of flower allometry in selfing species. *Evolutionary Ecology Research*, 4(8), 1217-1227.
- Valladares, F., SANCHEZ-GOMEZ, D. A. V. I. D., & Zavala, M. A. (2006). Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of ecology*, 94(6), 1103-1116.
- Vallejo-Marín, M., & Barrett, S. C. (2009). Modification of flower architecture during early stages in the evolution of self-fertilization. *Annals of Botany*, 103(6), 951-962.

- VALLEJO-MARÍN, M., Manson, J. S., Thomson, J. D., & Barrett, S. C. H. (2009). Division of labour within flowers: heteranthery, a floral strategy to reconcile contrasting pollen fates. *Journal of evolutionary biology*, 22(4), 828-839.
- Valverde, P. L., Arroyo, J., Núñez-Farfán, J., Castillo, G., Calahorra, A., Pérez-Barrales, R., & Tapia-López, R. (2015). Natural selection on plant resistance to herbivores in the native and introduced range. *Annals of Botany Plants*, 7.
- Van Kleunen, M., & Fischer, M. (2005). Constraints on the evolution of adaptive phenotypic plasticity in plants. *New Phytologist*, 166(1), 49-60.
- Van Kleunen, M., & Johnson, S. D. (2007). South African Iridaceae with rapid and profuse seedling emergence are more likely to become naturalized in other regions. *Journal of Ecology* 95, 674-681.
- van Kleunen, M., & Richardson, D. M. (2007). Invasion biology and conservation biology: time to join forces to explore the links between species traits and extinction risk and invasiveness. *Progress in Physical Geography*, 31(4), 447-450.
- van Kleunen, M., & Ritland, K. (2004). Predicting evolution of floral traits associated with mating system in a natural plant population. *Journal of Evolutionary Biology*, 17(6), 1389-1399.
- van Kleunen, M., Dawson, W., & Maurel, N. (2015). Characteristics of successful alien plants. *Molecular Ecology*, 24(9), 1954-1968.
- Venables, W. N. & Ripley, B. D. (2002) Modern Applied Statistics with S. Fourth Edition.
- Wagner, G. P. (1984). On the eigenvalue distribution of genetic and phenotypic dispersion matrices: evidence for a nonrandom organization of quantitative character variation. *Journal of Mathematical Biology*, 21(1), 77-95.
- WEAVER, S. E., & WARWICK, S. I. (1984). The biology of canadian weeds.: 64. *Datura stramonium* L. *Canadian Journal of Plant Science*, 64(4), 979-991.
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: elegant graphics for data analysis*. springer.
- Zamudio, P.J. 1999. Morfología floral y sistema de apareamiento de cuatro especies del género *Datura* (Solanaceae). México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Zar, J. H. (1999). *Biostatistical analysis*. Pearson Education India.

APÉNDICE

Tabla 1. ANOVA anidado de los caracteres florales en poblaciones del rango nativo y no- nativo de *Datura stramonium*.

Fuente de variación	SC	CM Num	GL	F	Prob>F
Largo Corola					
Tratamiento	0,01022	0,0102	1	1,2406	0,2663
Rango	0,05322	0,05324	1	0,401	0,5913
Población	0,26554	0,13277	2	16,1138	<0,0001***
Fam. Genética	0,68375	0,01899	36	2,3051	<0,0001***
Diámetro Corola					
Tratamiento	0,05922	0,05922	1	2,6431	0,1052
Rango	1,58632	1,58634	1	2,6568	0,2447
Población	1,19421	0,59710	2	26,6463	<0,0001***
Fam. Genética	1,28535	0,03570	36	1,5933	0,0212*
Hercogamia					
Tratamiento	2,64891	2,64891	1	3,4063	0,0662
Rango	57,56557	57,56557	1	40,3862	0,0183*
Población	2,984707	1,492353	2	1,9191	0,1490
Fam. Genética	167,4357	4,783877	35	6,1518	<0,0001***
Volumen de Néctar					
Tratamiento	0,09275	0,092753	1	0,7754	0,3795
Tratamiento*Fam.Gen.	7,18114	0,184131	39	1,5393	0,0283*
Rango	16,8006	16,80065	1	12,7657	0,0702
Población	2,63250	1,316250	2	11,0038	<0,0001***
Fam. Genética	8,73630	0,242675	36	2,0288	<0,0010*

Tabla 2. ANOVA de los caracteres florales de diferentes familias genéticas de hermanos completos de las distintas poblaciones de *Datura stramonium*.

Teotihuacán							
	Factor	GL	SC	CM	F	P	R2 ajustada
Largo Corola	Modelo	19	0,05084823	0,002676	1,9675	0,0258*	0,19
	Error	57	0,07753357	0,00136			
	C. Total	76	0,1283818				
Diámetro Corola	Modelo	19	0,10666645	0,005614	1,328	0,2029	0,075
	Error	57	0,24097031	0,004228			
	C. Total	76	0,34763676				
Hercogamia	Modelo	19	71,90594	3,78452	5,0461	<0,0001***	0,5
	Error	57	42,74954	0,74999			
	C. Total	76	114,65548				
Volumen de Néctar	Modelo	19	0,7159062	0,037679	1,8663	0,0374*	0,18

	Error	55	1,1103999	0,020189			
	C. Total	74	1,8263061				
Peso Semillas Autofecundación	Modelo	19	0,10097252	0,005314	1,2679	0,2586	0,08
	Error	39	0,16346482	0,004191			
	C. Total	58	0,26443733				
Peso Semillas fecundación cruzada	Modelo	19	0,29538424	0,015547	2,4657	0,0084*	0,32
	Error	39	0,24589833	0,006305			
	C. Total	58	0,54128257				

Ticumán

	Factor	GL	SC	CM	F	P	R2 ajustada
Largo Corola	Modelo	19	0,04979449	0,002621	0,9823	0,4934	-0,004
	Error	59	0,15741767	0,002668			
	C. Total	78	0,20721215				
Diámetro Corola	Modelo	19	0,06882675	0,003622	0,9984	0,4761	-0,0001
	Error	59	0,2140587	0,003628			
	C. Total	78	0,28288545				
Hercogamia	Modelo	19	4,389076	0,231004	1,5421	0,1044	0,11
	Error	59	8,83788	0,149795			
	C. Total	78	13,226956				
Volumen de Néctar	Modelo	19	0,9471329	0,049849	2,1311	0,0141*	0,21
	Error	59	1,3801098	0,023392			
	C. Total	78	2,3272427				
Peso Semillas Autofecundación	Modelo	19	0,17858791	0,009399	2,4185	0,0097*	0,31
	Error	39	0,15157198	0,003886			
	C. Total	58	0,3301599				
Peso Semillas fecundación cruzada	Modelo	19	0,26087463	0,01373	3,1051	0,0011*	0,39
	Error	42	0,18571913	0,004422			
	C. Total	61	0,44659376				

Valdeflores

	Factor	GL	SC	CM	F	P	R2 ajustada
Largo Corola	Modelo	19	0,01976029	0,00104	1,479	0,1267	0,1
	Error	60	0,04219235	0,000703			
	C. Total	79	0,06195263				
Diámetro Corola	Modelo	19	0,12403305	0,006528	2,5766	0,0028*	0,27
	Error	60	0,15201571	0,002534			
	C. Total	79	0,27604876				
Hercogamia	Modelo	19	96,87979	5,09894	3,7499	<0,0001***	0,39
	Error	60	81,58451	1,35974			
	C. Total	79	178,4643				

Volumen de Néctar	Modelo	19	0,7180249	0,037791	1,4613	0,134	0,09
	Error	60	1,5517165	0,025862			
	C. Total	79	2,2697414				
Peso Semillas Autofecundación	Modelo	19	0,09152859	0,004817	1,6678	0,0741	0,15
	Error	52	0,15019336	0,002888			
	C. Total	71	0,24172194				
Peso Semillas fecundación cruzada	Modelo	19	0,08732577	0,004596	1,6519	0,0886	0,17
	Error	41	0,11407516	0,002782			
	C. Total	60	0,20140094				

La Zubia							
	Factor	GL	SC	CM	F	P	R2 ajustada
Largo Corola	Modelo	19	0,05544899	0,002918	1,6602	0,0717*	0,14
	Error	58	0,10195783	0,001758			
	C. Total	77	0,15740681				
Diámetro Corola	Modelo	19	0,14769263	0,007773	1,2764	0,2345	0,06
	Error	58	0,3532309	0,00609			
	C. Total	77	0,50092353				
Hercogamia	Modelo	14	30,759546	2,19711	3,0844	0,0041*	0,38
	Error	32	22,794756	0,71234			
	C. Total	46	53,554302				
Volumen de Néctar	Modelo	19	0,6205364	0,03266	1,5919	0,0903	0,12
	Error	57	1,1694363	0,020516			
	C. Total	76	1,7899727				
Peso Semillas Autofecundación	Modelo	19	0,07324458	0,003855	3,7063	<0,0001*	0,41
	Error	53	0,05512654	0,00104			
	C. Total	72	0,12837112				
Peso Semillas fecundación cruzada	Modelo	19	0,0854466	0,004497	1,3562	0,1969	0,09
	Error	46	0,15253639	0,003316			
	C. Total	65	0,23798298				

Tabla 3. ANOVA en cada una de las poblaciones de *Datura stramonium* del estudio. Se muestran los efectos de las familias genéticas, (FG) el tratamiento (T) y su interacción sobre caracteres florales y de fitness.

Teotihuacán											
Factor	Largo de la Corola					Factor	Diámetro de la corola				
	SC	CM	GL	F	Prob>F		SC	CM	GL	F	Prob>F
T	0,002	0,002	1	1,403	0,241	T	0,010	0,010	1	2,432	0,124
T*FG	0,015	0,002	9	1,196	0,316	T*FG	0,045	0,005	9	1,191	0,319
FG	0,035	0,004	9	2,885	0,007*	FG	0,051	0,006	9	1,351	0,232
	volumen de néctar						Hercogamia				

Factor	SC	CM Num	GL	F	Prob>F	Factor	SC	CM Num	GL	F	Prob>F
T	0,041	0,041	1	2,018	0,161	T	4,558	4,558	1	6,077	0,017*
T*FG	0,300	0,033	9	1,653	0,123	T*FG	13,870	1,541	9	2,055	0,049*
FG	0,393	0,044	9	2,162	0,039*	FG	52,914	5,879	9	7,839	<0,0001***
N° semillas autopolinización						N° semillas polinización cruzada					
Factor	SC	CM Num	GL	F	Prob>F	Factor	SC	CM Num	GL	F	Prob>F
T	0,03	0,03	1	1,03	0,32	T	1,03	1,03	1	10,37	0,001*
T*FG	0,17	0,02	9	0,65	0,74	T*FG	0,54	0,06	9	0,60	0,79
FG	0,32	0,04	9	1,25	0,29	FG	1,19	0,13	9	1,33	0,25
Masa semillas autopolinización						Masa semillas polinización cruzada					
Factor	SC	CM Num	GL	F	Prob>F	Factor	SC	CM Num	GL	F	Prob>F
T	4,89E-04	0,0005	1	0,117	0,734	T	0,030	0,030	1	4,787	0,035*
T*FG	0,029	0,003	9	0,772	0,642	T*FG	0,126	0,014	9	2,223	0,041*
FG	0,060	0,007	9	1,579	0,156	FG	0,135	0,015	9	2,379	0,030*

Ticumán

Largo de la Corola						Diámetro de la corola					
Factor	SC	CM Num	GL	F	Prob>F	Factor	SC	CM Num	GL	F	Prob>F
T	0,002	0,002	1	0,728	0,397	T	0,007	0,007	1	1,925	0,171
T*FG	0,011	0,001	9	0,452	0,901	T*FG	0,024	0,003	9	0,723	0,686
FG	0,037	0,004	9	1,541	0,155	FG	0,038	0,004	9	1,169	0,331
volumen de néctar						Hercogamia					
Factor	SC	CM Num	GL	F	Prob>F	Factor	SC	CM Num	GL	F	Prob>F
T	0,032	0,032	1	1,367	0,247	T	0,076	0,076	1	0,506	0,480
T*FG	0,225	0,025	9	1,071	0,398	T*FG	1,393	0,155	9	1,033	0,425
FG	0,689	0,077	9	3,272	0,003*	FG	2,881	0,320	9	2,137	0,040*
N° semillas autopolinización						N° semillas polinización cruzada					
Factor	SC	CM Num	GL	F	Prob>F	Factor	SC	CM Num	GL	F	Prob>F
T	0,195	0,195	1	17,289	0,0001***	T	1,726	1,726	1	14,538	0,0001***
T*FG	0,032	0,004	9	0,316	0,965	T*FG	1,027	0,114	9	0,961	0,485
FG	0,047	0,005	9	0,461	0,892	FG	1,851	0,206	9	1,732	0,111
Masa semillas autopolinización						Masa semillas polinización cruzada					
Factor	SC	CM Num	GL	F	Prob>F	Factor	SC	CM Num	GL	F	Prob>F
T	0,001	0,001	1	0,294	0,591	T	0,031	0,031	1	6,925	0,012*
T*FG	0,019	0,002	9	0,539	0,837	T*FG	0,055	0,006	9	1,386	0,225
FG	0,164	0,018	9	4,681	0,0001***	FG	0,190	0,021	9	4,778	0,0001***

Valdeflores

Largo de la Corola						Diámetro de la corola					
Factor	SC	CM	GL	F	Prob>F	Factor	SC	CM	GL	F	Prob>F
volumen de néctar						Hercogamia					
Factor	SC	CM	GL	F	Prob>F	Factor	SC	CM	GL	F	Prob>F
Nº semillas autopolinización						Nº semillas polinización cruzada					
Factor	SC	CM	GL	F	Prob>F	Factor	SC	CM	GL	F	Prob>F
Masa semillas autopolinización						Masa semillas polinización cruzada					
Factor	SC	CM	GL	F	Prob>F	Factor	SC	CM	GL	F	Prob>F
T	0,0005	0,0005	1	0,6664	0,4175	T	0,0001	0,0001	1	0,0351	0,8520
T*FG	0,0073	0,0008	9	1,1537	0,3409	T*FG	0,0485	0,0054	9	2,1271	0,0408*
FG	0,0120	0,0013	9	1,8945	0,0701	FG	0,0754	0,0084	9	3,3084	0,0024*
T	0,048	0,048	1	1,856	0,178	T	0,088	0,088	1	0,065	0,800
T*FG	0,392	0,044	9	1,685	0,113	T*FG	6,349	0,705	9	0,519	0,855
FG	0,278	0,031	9	1,193	0,316	FG	90,442	10,049	9	7,391	<0,0001***
T	0,573	0,573	1	24,058	<0,0001***	T	0,344	0,344	1	3,490	0,069
T*FG	0,261	0,029	9	1,218	0,304	T*FG	0,743	0,083	9	0,838	0,586
FG	0,646	0,072	9	3,013	0,006*	FG	1,300	0,144	9	1,466	0,193
T	4,45E-04	0,0004	1	0,154	0,6962	T	0,006	0,006	1	2,101	0,155
T*FG	0,045	0,005	9	1,726	0,107	T*FG	0,032	0,004	9	1,295	0,269
FG	0,031	0,003	9	1,193	0,319	FG	0,040	0,004	9	1,578	0,154

La Zubia

Largo de la Corola						Diámetro de la corola					
Factor	SC	CM	GL	F	Prob>F	Factor	SC	CM	GL	F	Prob>F
volumen de néctar						Hercogamia					
Factor	SC	CM	GL	F	Prob>F	Factor	SC	CM	GL	F	Prob>F
Nº semillas autopolinización						Nº semillas polinización cruzada					
Factor	SC	CM	GL	F	Prob>F	Factor	SC	CM	GL	F	Prob>F
Masa semillas autopolinización						Masa semillas polinización cruzada					
T	0,001	0,001	1	0,304	0,583	T	0,000	0,000	1	0,067	0,797
T*FG	0,010	0,001	9	0,603	0,790	T*FG	0,069	0,008	9	1,265	0,275
FG	0,045	0,005	9	2,818	0,008*	FG	0,078	0,009	9	1,423	0,200
T	0,009	0,009	1	0,447	0,506	T	0,000	0,000	0	0,000	-
T*FG	0,327	0,036	9	1,770	0,094	T*FG	7,635	1,527	5	2,144	0,086
FG	0,288	0,032	9	1,561	0,149	FG	18,737	3,747	5	5,261	0,001*
T	0,133	0,133	1	4,553	0,038*	T	1,367	1,367	1	12,312	0,001*
T*FG	0,288	0,032	9	1,094	0,383	T*FG	0,543	0,060	9	0,544	0,835
FG	0,474	0,053	9	1,801	0,090	FG	0,646	0,072	9	0,647	0,751

Factor	SC	CM Num	GL	F	Prob>F	Factor	SC	CM Num	GL	F	Prob>F
T	4,60E-04	0,000	1	0,442	0,509	T	0,003	0,003	1	0,782	0,381
T*FG	0,007	0,001	9	0,712	0,695	T*FG	0,033	0,004	9	1,107	0,377
FG	0,064	0,007	9	6,885	<0,0001***	FG	0,046	0,005	9	1,550	0,159

Tabla 4. Análisis de la varianza del número de semillas y masa por semilla con relación al tipo de polinización, al rango, población y familia genética en *Datura stramonium*.

Masa por semilla autofecundación					
Factor	SC	CM Num	GL	F	Prob>F
Rango	0,361320017	0,361320017	1	0,3999	0,5918
Tratamiento	0,001167764	0,001167764	1	0,0785	0,7796
Población	1,828818977	0,914409489	2	61,4423	<0,0001
Familia Genética	1,810199988	0,050283333	36	3,3787	<,0001
Masa por semilla fecundación cruzada					
Rango	0,297099756	0,297099756	1	0,2893	0,6445
Tratamiento	4,51730E-06	4,52E-06	1	0,0002	0,9894
Población	2,055494191	1,027747095	2	39,941	<0,0001
Familia Genética	2,235990332	0,062110843	36	2,4138	<0,0001
Masa por semilla (ambos experimentos)					
Rango	0,521313806	0,521313806	1	0,2788	0,6502
Tratamiento	0,00629304	0,00629304	1	0,2453	0,6206
Tipo de cruzamiento	2,443274866	2,443274866	1	95,2462	<0,0001
Población	3,737913351	1,868956675	2	72,8575	<0,0001
Familia Genética	1,2379705	0,034388069	36	1,3406	0,0934

Tabla 3. Componentes de la varianza del coeficiente de depresión por endogamia en poblaciones del rango nativo y no-nativo de *Datura stramonium*.

Coeficiente de depresión por endogamia		
Efecto	Com. Var	% Total
Población	-0,001959177	-1,690
Código-FG	-0,004416281	-3,810
Residual	0,1222873903	105,500
Total	0,1159119315	100,000

Tabla 4. Análisis de la varianza del coeficiente de endogamia con relación al nivel de fertilizante, al rango, población y familia genética en *Datura stramonium*.

Coeficiente de depresión por endogamia					
Factor	SC	CM Num	GL	F	Prob>F
Tratamiento de fertilizante	1,7343	1,7343	1	14,182	0,0002*
Rango	0,0905	0,0905	1	3,712	0,1828
Población	0,0470	0,0235	2	0,192	0,8251
Código-FG	3,5546	0,0987	36	0,807	0,7726

Tabla 5. Análisis de la varianza del número de granos de polen y número de óvulos en las distintas poblaciones cultivadas de *Datura stramonium*.

Nº Granos de Polen					
Fuente de variación	SC	CM Num	GL	F	Prob>F
Tratamiento	1506,1584974	1506,1584974	1	0,0885	0,7941
Rango	35183,357338	35183,357338	1	7,7545	0,0064
Población	34195,107191	17097,553596	2	3,7684	0,0263
Fam. Genética	263866,27278	7329,6186884	36	1,6155	0,0319
Nº de Óvulos					
Fuente de variación	SC	CM Num	GL	F	Prob>F
Tratamiento	589,7653088	589,7653088	1	0,0418	0,8384
Rango	16372,07646	16372,07646	1	1,2347	0,3823
Población	26521,30452	13260,65226	2	0,9394	0,394
Fam. Genética	590635,5139	16406,54205	36	1,1623	0,2731

Tabla 6. Análisis de la varianza de la apertura de la corola y del porcentaje de plantas con presencia de anteras abiertas en los distintos momentos de medición, en las distintas poblaciones de *Datura stramonium*.

Fuente de variación	SC	CM Num	GL	F	Prob>F
Apertura Corola					
Tiempo	3,733383015	399,472	2	214	<0,0001
Rango	0,01175579	2,5275	1	215	0,1133
Población	0,094759642	10,1867	2	215	<0,0001
Familia Genética	0,535448134	3,1978	36	215	<0,0001
Tiempo*Rango	0,233770439	25,0134	2	214	<0,0001
	<i>Lambda de Wilks</i>	<i>Aprox. F</i>	<i>FD</i>	<i>DenDF</i>	<i>Prob>F</i>
Tiempo*Población	0,912012251	5,0427	4	428	0,0006
Tiempo*Familia Genética	0,530367026	2,2181	72	428	<0,0001

	Apertura Anteras				
Rango	0,000000597	0,00000597	1	0,0287	0,881
Tiempo	0,355589184	0,088897296	4	10,962	0,0025
Rango*Tiempo	0,21365793	0,053414483	4	6,5866	0,012
Población	0,000415296	0,000207648	2	0,0256	0,9748
