

03058 8



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

UNIDAD DE LOS CICLOS PROFESIONALES
Y DE POSGRADO DEL C.C.H.
INSTITUTO DE ECOLOGIA

**DINAMICA EVOLUTIVA DE LA RESISTENCIA A
INSECTOS HERBIVOROS EN DATURA
STRAMONIUM**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN ECOLOGIA

P R E S E N T A :

PEDRO LUIS VALVERDE PADILLA

MEXICO, D. F.

29/123

2001



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.

A Yolotl y Luis Andrés por iluminarme la vida

Agradecimientos

Después de los casi cinco años que requerí para llevar a cabo este estudio, es complicado el ejercicio de memoria que tengo que hacer para agradecer a todas aquellas personas que me apoyaron y brindaron su esfuerzo.

En principio, quisiera expresar mi enorme gratitud a mi tutor y amigo el Dr. Juan Núñez Farfán por haber conducido de forma espléndida este trabajo. Sin su brillante dirección, entusiasmo y enorme paciencia este estudio no habría concluido exitosamente.

A los miembros de mi comité tutorial, los doctores Luis Eguiarte, José G. Gracia-Franco y Rodolfo Dirzo por su indiscutible disposición a colaborar en todo momento y por las valiosas discusiones que nutrieron este proyecto de investigación. A los miembros de comité evaluador, los doctores Zenón Cano, Carlos Cordero, Cesar Domínguez, Carlos Montaña y Mauricio Quesada por haber revisado puntual y detenidamente este trabajo de tesis doctoral. A cada uno de ustedes, mi sincero agradecimiento. A los revisores externos, los doctores Phyllis Coley, Miguel Franco, Robert Marquis, Carl Schlichting y Stephen Weller por haber contribuido a la revisión de los dos primeros manuscritos de esta tesis.

A mis compañeros, Guadalupe Andraca, María Borbolla, Raúl Cueva, Amaury Díaz, Juan Fornoni, Armando López, Arturo Macías, Eneida Montesinos, Miguel Moreno, Fernando Rosas, Rafael Torres, Jesús Vargas, Fredd Vergara y Judith Zamudio, les agradezco su invaluable ayuda y buen humor para llevar a cabo los duros e intensos trabajos de campo bajo el sol inclemente. Particularmente, quisiera agradecer a Jesús Vargas y Juan Fornoni por hacer más fácil y llevadera la realización de esta tesis. A Raúl Cueva por haberme ayudado en todo lo referente al "jackknife".

Al la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa (UAM-I) por haberme concedido el permiso para realizar estudios de doctorado y brindarme una beca durante el tiempo que duraron. Igualmente le agradezco al CONACyT por apoyarme con una beca crédito a lo largo de mis estudios de posgrado (1996-2000). La realización de esta investigación fue gracias al apoyo económico del proyecto CONACyT No. 25662-N. También quisiera agradecer al Programa de Apoyo a los Estudios de Posgrado de la Dirección General de Estudios de Posgrado por el apoyo económico recibido para los trabajos de campo. A los Jefes del Departamento de Biología de la UAM-I, Carolina Mundespacher (1993-1997) y a mi amigo Marco Aurelio Pérez (1997-2001), por haberme brindado las facilidades y el apoyo necesarios a lo largo de mis estudios. A Esther Morán y Carolina Espinosa por haber estado siempre al pendiente de mis trámites en la UAM-I y el Instituto de Ecología, respectivamente. A Don Toribio Hernández (Ticmán) y Santiago Oliveros (Santo Domingo) por su ayuda y disposición a prestarnos los terrenos para los experimentos de campo. A Eduardo Cuevas y su familia por facilitarnos, en más de una ocasión, su casa en Ticmán.

Finalmente, quisiera expresar mi enorme gratitud a Yolotl, mi adorada esposa. Ella, como de costumbre, me brindó el amor y la paciencia que necesité a lo largo de estos años difíciles en los que duró el proyecto. Gracias.

Contenido

Resumen

Abstract

Introducción general

Capítulo I: Defensive role of leaf trichomes in resistance to herbivorous insects in *Datura stramonium*

Capítulo II: Evolutionary ecology of *Datura stramonium*: local differentiation and contrasting selection on growth and resistance to herbivorous insects

Capítulo III: Adaptación local para la resistencia a insectos herbívoros en *Datura stramonium*: un experimento de trasplantes recíprocos

Discusión general

Resumen

En el presente se estudio abordó el análisis de la dinámica evolutiva de la resistencia a insectos herbívoros entre poblaciones de la hierba anual *Datura stramonium*. El estudio de la dinámica evolutiva del sistema *D. stramonium*-insectos herbívoros requiere una aproximación interpoblacional que considere la variación del valor adaptativo de la resistencia a herbívoros en esta especie. Mediante el uso de metodologías derivadas de la genética cuantitativa y el análisis de la selección natural en condiciones naturales y experimentales se describe el fenómeno de la variación entre y dentro de poblaciones en rasgos de defensa de *D. stramonium* a sus insectos herbívoros. En el Capítulo I se presenta evidencia de variación interpoblacional en la resistencia a insectos herbívoros, densidad de tricomas foliares y adecuación en seis poblaciones naturales de esta especie en el Centro de México. En cinco de seis poblaciones se detectó una asociación entre la densidad de tricomas y la resistencia a insectos herbívoros. Los resultados también indican la existencia de selección contrastante sobre la resistencia entre poblaciones. Además de lo anterior, mediante un experimento de jardín común, se encontró que las diferencias poblacionales en la densidad de tricomas detectada en el campo se mantienen en una ambiente común. En el Capítulo II se muestran los resultados de un experimento de jardín común con la exclusión de insectos herbívoros, cuya finalidad fue determinar si el patrón de variación fenotípica y selección natural sobre la resistencia y la tasa de crecimiento entre poblaciones son consecuencia de variación ambiental o diferenciación local. En presencia de insectos herbívoros (tratamiento control), la selección favoreció a la resistencia sólo en la población de Ticumán (a nivel fenotípico y de medias familiares), que de hecho fue la población que presentó el valor de resistencia promedio más alto. En contraste, la selección para incrementar la tasa de crecimiento sólo se detectó en las poblaciones menos resistentes tanto a nivel fenotípico como genético (Sto. Domingo y Zirahuén). En ausencia de herbívoros (tratamiento con insecticida), la tasa de crecimiento fue favorecida por selección en las tres poblaciones. La manipulación de la presencia de herbívoros reveló que la herbivoría no alteró el patrón de selección sobre la tasa de crecimiento. Este hecho sugiere que la tasa de crecimiento no tiene valor adaptativo contra la herbivoría. Finalmente, en el Capítulo III, por medio de un experimento de trasplantes recíprocos entre dos poblaciones de *D. stramonium* (Ticumán y Santo Domingo, Morelos), se demostró que existe el potencial de evolución por selección natural en la resistencia al detectarse varianza genética aditiva para este rasgo en ambas poblaciones en su sitio de origen. En ambos sitios se detectó selección natural para incrementar la resistencia a insectos herbívoros sólo entre plantas originarias de Ticumán tanto a nivel fenotípico como de valores reproductivos. Por el contrario, en ninguno de los sitios se detectó selección direccional positiva sobre la resistencia a insectos herbívoros entre plantas de Sto. Domingo. En ambos sitios, los análisis revelaron la acción de la selección natural sobre el tamaño de la planta tanto en individuos procedentes de Ticumán como de Sto. Domingo. Además se encontró que la diferenciación entre poblaciones es consecuencia de adaptación local producto de la variación en las presiones selectivas de los herbívoros sobre la resistencia en cada ambiente nativo. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que el estudio de las adaptaciones involucradas en la interacción planta-herbívoro requiere del análisis de la variación adaptativa entre poblaciones.

Abstract

This study evaluate the evolutionary dynamics of resistance to herbivorous insects among populations of the annual herb *Datura stramonium*. In this sense, the evaluation of adaptive variation in the wild was one of the main goals of this thesis. The adaptive component of resistance both within and among populations was determined using quantitative genetic tools combined with natural selection in experimental and natural population of *D. stramonium*. Chapter I show evidence of variation in fitness, resistance and one of its component (*i.e.*, trichome density) among six populations of Central México. In five out of six populations a positive association between resistance and trichome density was detected, as well as diferencial selection on resistance. A common garden experiment using three of the populations surveyed revealed that populations were genetically differentiated in trichome density. Chapter II was aimed to determine in a common garden experiment if natural selection was consistent with field differences in resistance to herbivorous insects. In addition, herbivores where controlled to determine the effect of herbivory on selection in relative growth rate. In the presence of herbivores (control treatment), natural selection both at the phenotypic and family mean level, favored resistance only among plants from the highest resistant population (*i.e.*, Ticumán). In contrast, phenotypic and family mean analyses indicated that plants from the lowest resistant population (*i.e.*, Sto. Domingo and Zirahuén) were selected to increase their relative growth rate. In the absence of herbivores (insecticide treatment) relative growth rate was selected in the three population studied. Manipulation of the presence of natural herbivores indicated that herbivory did not alter the pattern of selection on relative growth rate, indicating the absence of an adaptive value for relative growth rate against herbivory. Finally, Chapter III show the results of a reciprocal transplant experiment that was aimed to evaluate if two of the populations studied (*i.e.*, Sto. Domingo and Ticumán) were locally adapted for resistance to herbivorous insects. Aditive genetic variation on resistance was detected on both populations in their site of origin. In both sites natural selection at the phenotypic and genetic level favored an increase in resistance among plants belonging to Ticumán. Conversely, no selection on resistance was detected among plants from Sto. Domingo. In both sites, natural selection acted on plant size. The results indicated that population differentiation in average resistance to herbivorous insects was consistent with diferencial selection pressures observed between sites. Thus, local adaptation on resistance was responsible for population differences on this trait. Overall, the results of this thesis indicated that the analysis of adaptive variation in traits involved in plant-herbivore interaction needs the evaluation of variation both within and among populations.

Introducción general

El estudio formal de la coevolución entre plantas y sus insectos herbívoros se estableció a partir de la propuesta de Ehrlich y Raven (1964) sobre el origen adaptativo de características que median la interacción (Núñez-Farfán y Dirzo 1994; Rausher 1996). En este sentido, la coevolución constituye el paradigma fundamental de la teoría de la evolución de las defensas en plantas (Mauricio y Rausher 1997). La premisa básica establece que muchas de las características defensivas de las plantas probablemente han evolucionado como una consecuencia de la interacción con sus herbívoros (Marquis 1991, 1992). A la fecha se ha identificado una amplia diversidad de características químicas y físicas de las plantas que se considera han evolucionado como defensas para impedir o reducir el daño causado por herbívoros (Marquis 1991; Fritz y Simms 1992; Núñez-Farfán y Dirzo 1994; Fineblum y Rausher 1995; Rausher 1996).

Durante los últimos 40 años el impacto selectivo de los herbívoros ha sido apoyado por evidencia que documenta su efecto negativo sobre la sobrevivencia, crecimiento y reproducción de las plantas (Núñez-Farfán y Dirzo 1991; Fritz y Simms 1992; Marquis 1992; Rausher 1996). Esta evidencia, aunada a aquella que muestra varianza genética para la resistencia y sus componentes (Fritz y Simms 1992), apoya el potencial de evolución por selección natural de las defensas en plantas. Sin embargo, para proponer cualquier hipótesis sobre el valor adaptativo de la resistencia a insectos herbívoros es necesario diseñar experimentos cuyo protocolo permita demostrar 1) que existe variación genética heredable para la resistencia, 2) que la selección natural a nivel genético esté actuando sobre la resistencia (ver Rausher 1992), y 3) que los insectos herbívoros son el agente selectivo sobre la resistencia (Rausher 1996; Mauricio y Rausher 1997). A pesar de que se cuenta con estudios enfocados a determinar el impacto selectivo

de los insectos herbívoros sobre las plantas (ver Marquis 1991), son pocos los que reúnen estos tres criterios (Rausher 1996; Shonle y Bergelson 2000).

En vista de los efectos nocivos de los herbívoros sobre la adecuación de las plantas, del papel de los herbívoros como agentes de selección sobre los rasgos de defensa, de la larga historia de interacción ecológica entre ambos (Farrell 1998), y de la diversidad en el “arsenal” defensivo de las plantas, cabe preguntarse ¿por qué no ha evolucionado en las plantas la inmunidad absoluta contra los herbívoros? La respuesta surge al considerar la naturaleza variable del proceso coevolutivo (Thompson 1994). Las limitaciones genéticas (*i.e.*, la presencia de variación genética y de correlaciones genéticas antagónicas) y ecológicas (*i.e.*, la variación de las presiones selectivas impuestas por los insectos herbívoros) a las que están expuestas las poblaciones naturales de plantas a nivel local determinan la dinámica del proceso coevolutivo (Marquis 1991; Thompson 1994, 1999). Con pocas excepciones (Edmund y Alstad 1978; Hare y Futuyma 1978; Zangerl y Berenbaum 1990; Sork *et al.* 1993; Gianoli y Hannunen 2000; Gómez y Zamora 2000), el estudio de la variación interpoblacional en la evolución de los rasgos defensivos de las plantas ha sido poco abordado (Thompson 1988; Travis 1996). El reconocer la naturaleza variable de las interacciones planta-herbívoros hace indispensable el estudio de la selección natural actuando en más de una población (Thompson 1994). En este sentido, la divergencia interpoblacional y la adaptación local en rasgos involucrados con la resistencia podrían ser el resultado de la variación espacial en las presiones selectivas ejercidas por los insectos herbívoros (Gómez y Zamora 2000). Con base en lo anterior, en la presente tesis evalúo la dinámica evolutiva de la resistencia a insectos herbívoros entre poblaciones de *Datura stramonium*.

D. stramonium ("toloache") es una hierba anual de la familia de las solanáceas distribuida ampliamente en México. Las plantas de *D. stramonium* son hierbas robustas cuando crecen en suelos fértiles y son comunes en terrenos baldíos, en basureros y a las orillas de los caminos (Núñez-Farfán 1991). Dado que toleran poco la sombra, es frecuente observarlas en zonas denudadas de vegetación. A pesar de poseer varios tipos de alcaloides (defensas químicas; Evans 1979), *D. stramonium* es consumida por varios herbívoros de entre los cuales destacan los que se alimentan exclusivamente de *Datura* o bien de solanáceas: *Lema trilineata* (Kogan y Goeden 1970a, b; Peterson y Dively 1981) y *Epitrix parvula* (Essig 1958) son dos coleópteros de la familia Chrysomelidae. Estos escarabajos consumen las hojas del toloache de manera distintiva y en ocasiones intensa (Núñez-Farfán 1991). Los adultos de *Epitrix* perforan las hojas dejando hoyos pequeños en la lámina foliar (Núñez-Farfán y Dirzo 1994). Este herbívoro es el más frecuente y abundante en las poblaciones de *D. stramonium*. Por el contrario, aunque los adultos de *Lema* se alimentan también de las hojas (produciendo hoyos de mayor tamaño a los dejados por *Epitrix*), son las larvas las que producen mayor daño. La hembra de *Lema* deposita grupos de huevecillos en el envés de las hojas del toloache y las larvas, una vez que emergen, son gregarias y pasan los diferentes estadios en la misma planta. Las plantas pueden ser totalmente defoliadas por las larvas de *Lema* (Núñez-Farfán y Dirzo 1994). Otro folívoro especialista del toloache son las larvas de la palomilla del género *Manduca* (Lepidoptera: Sphingidae) que también es el polinizador de *D. stramonium*, en algunas regiones de México (Núñez-Farfán y Dirzo 1994). Aunque las larvas de *Manduca* son de mayor tamaño y más voraces, generalmente son solitarias (una o rara vez dos por planta). El chapulín, *Sphenarium purpuracens* (Orthoptera: Pyrgomorphidae)

es muy abundante y también consume las hojas del toloache (Núñez-Farfán 1991; Núñez-Farfán y Dirzo 1994). En síntesis, por su amplia distribución geográfica que significa confrontar distintas condiciones ambientales y herbívoros; por su ciclo de vida corto (anual); por flores de gran tamaño que facilitan los experimentos de cruzamiento y por la presencia de rasgos defensivos morfológicos (tricomas foliares) y químicos (alcaloides), *D. stramonium* es un organismo idóneo para realizar estudios sobre la evolución de la defensa contra herbívoros.

A partir de las reflexiones antes expuestas sobre los enfoques necesarios en la investigación de la evolución de las defensas en plantas (*i.e.* Rausher 1996), el estudio de la dinámica evolutiva del sistema *D. stramonium*-insectos herbívoros requiere una aproximación interpoblacional que considere la variación del valor adaptativo de la resistencia a herbívoros en esta especie (*i.e.* Thompson 1994). En el Capítulo I se presenta el análisis de la variación fenotípica en la resistencia y uno de sus componentes (densidad de tricomas) en seis poblaciones naturales de *D. stramonium* en el Centro de México. El proponer hipótesis adaptativas sobre la presencia de un carácter o la cantidad de variación en las poblaciones naturales, nos permite contrastarlas mediante la medición de la selección natural. En el Capítulo II se muestran los resultados de un experimento de jardín común cuya finalidad fue i) eliminar el efecto ambiental de la variación fenotípica interpoblacional en resistencia, ii) evaluar la variación entre poblaciones en el patrón de selección actuando sobre la resistencia y el tamaño bajo la misma carga de herbívoros, y iii) determinar el papel de los herbívoros como agentes selectivos. Si el jardín común implica el sembrar grupos de plantas (familias) aleatoriamente en una parcela cuyas condiciones son homogéneas para todas, es posible determinar si las diferencias entre

poblaciones son consecuencia de variación ambiental o diferenciación local en el valor adaptativo de la resistencia. Por último, en el Capítulo III mediante un experimento de trasplantes recíprocos, se demostró: i) el potencial de evolución por selección natural en la resistencia al detectarse varianza genética aditiva para este rasgo, y ii) que la diferenciación entre poblaciones es consecuencia de adaptación local producto de la variación en las presiones selectivas de los herbívoros sobre la resistencia en cada ambiente nativo.

Finalmente, el presente estudio combinó el uso de metodologías derivadas de la genética cuantitativa (Falconer y Mackay 1996) y análisis de selección natural (Lande y Arnold 1983) con experimentos en poblaciones naturales y experimentales (jardín común y trasplantes recíprocos) con el objetivo de evaluar la dinámica evolutiva de la resistencia entre poblaciones de *D. stramonium*, y pretende ser una contribución original y novedosa a esta apasionante área de la ecología evolutiva.

Literatura Citada

- Edmunds, G. F. y Alstad, D. N. 1978. Coevolution in insect herbivores and conifers. *Science* 199: 941-945.
- Ehrlich, P.R. y Raven, P.H. 1964. Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution* 18:586-608.
- Essig, E.O. 1958. *Insects and Mites of Western North America*. Macmillan, New York.
- Evans, W.S. Tropane alkaloids of the Solanaceae. En: *The Biology and Taxonomy of the Solanaceae* (J. G. Lester y A.D. Skelding, eds.), pp. 241-254. Academic Press, London.
- Falconer, D.S. y Mackay, T.F.C. 1996. *Introduction to Quantitative Genetics*. Longman, Essex.
- Farrell, B. 1998. "Inordinate foudness" explained: why are there so many beetles. *Science* 281: 555-559.

- Fineblum, W. L. y Rausher, M. 1995. Evidence for a trade-off between resistance and tolerance to herbivore damage in a morning glory. *Nature* 377: 517-520.
- Fritz, R. S., y Simms, E. L. 1992. *Plant Resistance to Herbivores. Ecology, Evolution, and Genetics*. University of Chicago Press, Chicago.
- Gianoli, E. y Hannunen, S. 2000. Plasticity of leaf traits and insect herbivory in *Solanum incanum* L. (Solanaceae) in Nguruman, SW Kenya. *African Journal of Ecology* 38: 183- 187.
- Gómez, J.M. y Zamora, R. 2000. Spatial variation in the selective scenarios of *Hormathophylla spinosa* (Cruciferae). *American Naturalist* 155: 657-668.
- Hare, J. D. y Futuyma, D. J. 1978. Different effects of variation in *Xanthium strumarium* L. (Compositae) on two insects seed predators. *Oecologia* 37: 109-112
- Kogan, M. y Goeden, R.D. 1970a. The biology of *Lema trilineata daturaphyla* (Coleoptera: Chrysomelidae) with notes on efficiency of food utilization by larvae. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 63: 537-546.
- Kogan, M. y Goeden, R.D. 1970b. The host-plant range of *Lema trilineata daturaphyla* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 63: 1175-1180.
- Lande, R. y Arnold, S.J. 1983. The measurement of selection on correlated characters. *Evolution* 37: 1210-1226.
- Marquis, R. J. 1991. Evolution of resistance in plants to herbivores. *Evolutionary Trends in Plants* 5: 23-29.
- Marquis, R. J. 1992. The selective impact of herbivory. En: *Plant Resistance to Herbivory and Pathogens. Ecology, Evolution and Genetics* (R.S. Fritz y E.L. Simms, eds.), pp. 301-325. The University of Chicago Press, Chicago.
- Mauricio, R. y Rausher, M.D. 1997. Experimental manipulation of putative selective agents provides evidence for the role of natural enemies in the evolution of plant defense. *Evolution* 51: 1475-1444.
- Núñez-Farfán, J. 1991. Biología evolutiva de *Datura stramonium* L. en el Centro de Mexico: selección natural de la resistencia a los herbívoros, sistema de cruzamiento y variación genética intra e inter-poblacional. Tesis Doctoral, Centro de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- Núñez-Farfán, J. y Dirzo, R. 1991. Effects of defoliation on the saplings of a gap-colonizing neotropical tree. *Journal of Vegetation Science* 2: 459-464.

- Núñez-Farfán, J. y Dirzo, R. 1994. Evolutionary ecology of *Datura stramonium* L. in Central Mexico: natural selection for resistance to herbivorous insects. *Evolution* 48: 423-436.
- Peterson, B. L. y Dively, G.P. 1981. Effects of feeding by *Lema trivittata* (Coleoptera: Chrysomelidae) on the growth, reproduction and competitive ability of jimsonweed in soybeans. *Proc. Northeast. Weed Sci. Soc.* 35: 78.
- Rausher, M. D. 1992. The measurement of natural selection on quantitative traits: biased due environmental covariance between trait and fitness. *Evolution* 46: 616-626.
- Rausher, M. D. 1996. Genetic analysis of coevolution between plants and their natural enemies. *Trends in Genetics* 12: 212-217.
- Shonle, I. y Bergelson, J. 2000. Evolutionary ecology of the tropane alkaloids of *Datura stramonium* L. (Solanaceae). *Evolution* 54: 778-788.
- Sork, V. L., Stowe, K. A. y Hochwender, C. 1993. Evidence for local adaptation in closely adjacent subpopulations of northern red oak (*Quercus rubra* L.) expressed as resistance to herbivores. *American Naturalist* 142: 928-936.
- Thompson, J. N. 1988. Variation in intraspecific interactions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 19: 65-87.
- Thompson, J. N. 1994. *The Coevolutionary Process*. The University of Chicago Press, Chicago.
- Thompson, J. N. 1999. The raw material for coevolution. *Oikos* 84: 5-16.
- Travis, J. 1996. The significance of geographical variation in species interactions. *American Naturalist* 148: S1-S8.
- Zangerl, A. R. y Berenbaum, M. R. 1990. Furanocoumarin induction in wild parsnip: genetics and populational variation. *Ecology* 71: 1933-1940.

Capítulo I

Defensive role of leaf trichomes in resistance to herbivorous insects in *Datura stramonium*: patterns within and among populations

(Journal of Evolutionary Biology, aceptado)

Defensive role of leaf trichomes in resistance to herbivorous insects in

Datura stramonium

PEDRO LUIS VALVERDE,^{§*} JUAN FORNONI* & JUAN NÚÑEZ-FARFÁN*[‡]

*Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 70-275, México 04510, Distrito Federal.

E-mails: farfan@servidor.unam.mx ; jfornoni@miranda.ecologia.unam.mx

[§]Departamento de Biología, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, Apartado Postal 55-535, México 09340, Distrito Federal. E-mail:

valverde@miranda.ecologia.unam.mx

[‡]Department of Ecology and Evolutionary Biology, University of Connecticut. Torrey Life Science Building, Storrs CT.

Running headline: Selection on resistance to herbivores

*Address for correspondence

Abstract

This study assessed the role of leaf trichome density as a component of resistance to herbivores, in six populations of *Datura stramonium*. Phenotypic selection on plant resistance was estimated for each population. A common garden experiment was carried out to determine if population differences in leaf trichome density are genetically based. Among population differences in leaf trichome density, relative resistance and fitness were found. Leaf trichome density was strongly positively correlated to resistance across populations. In 5 out of 6 populations, trichome density was related to resistance, and positive directional selection on resistance to herbivores was detected in three populations. Differences among populations in mean leaf trichome density in the common garden suggest genetic differentiation for this character in *Datura stramonium*. The results are considered in the light of the adaptive role of leaf trichomes as a component of defence to herbivores, and variable selection among populations.

Keywords: adaptation, *Datura stramonium*, defence, herbivory, phenotypic selection, leaf trichomes.

Introduction

Leaf trichome density is considered a mechanism of defence in plants to prevent or diminish damage by herbivores (Levin, 1973; Johnson, 1975; Rodriguez *et al.*, 1984; Juniper & Southwood, 1986; Marquis, 1992). Evidence from wild and cultivated species gives support to this ecological role (Duffey, 1986; Jeffree, 1986; David & Easwaramoorthy, 1988; Woodman & Fernandes, 1991; Peter *et al.*, 1995; Bernays & Chapman, 1994; Romeis *et al.*, 1999). However, although many studies have found significant selection on resistance against natural herbivores (Berenbaum *et al.*, 1986; Rausher & Simms, 1989; Marquis, 1992; Núñez-Farfán & Dirzo, 1994; Núñez-Farfán *et al.*, 1996; Mauricio *et al.*, 1997) few, if any, have examined whether patterns of selection on defensive traits vary among populations of the same species. In this study we evaluated natural variation in both the defensive role of leaf trichome density as a component of resistance against natural herbivores, and the importance of resistance as a fitness enhancing character among populations of the annual *Datura stramonium* L. The study of natural variation is important in guiding experiments to assess causality, and to estimate the strength of selection in the wild (Sinervo, 2000).

Besides defence, leaf trichomes may serve other physiological functions, hence selection on the anti-herbivory role of leaf trichome density can either be constrained or synergistically favored by selection imposed by other environmental stresses (Bell, 1997; Roy *et al.*, 1999). For instance, if leaf trichome density is correlated with other leaf characteristics, selection on those traits can produce changes in trichome density (Björkman & Anderson, 1990; Roy *et al.*, 1999) without being the target of selection. In

addition, as for other plant traits, phenotypic variation in leaf trichome density may have both genetic and environmental (and their interaction) causal factors (Falconer & Mackay, 1996). Within-population genetic variation in leaf trichome density will lead to an evolutionary change provided the trait is under selection. However, environmentally determined phenotypic variation in leaf trichomes (i.e. phenotypic plasticity; Ågren & Schemske, 1994; Schlichting & Pigliucci, 1998), may limit response to selection.

Within-population variability in resistance (i.e. the ability of a plant to avoid herbivore attack; Simms & Triplett, 1994; Rausher, 1996) has been documented in *Datura stramonium*, and this variability is related to plant fitness (Núñez-Farfán & Dirzo, 1994; Núñez-Farfán *et al.*, 1996; Fomoni & Núñez-Farfán, 2000). Although trichome density functions as a defensive trait against herbivory in other solanaceous species (Thurston, 1970; Duffey & Isman, 1981; Kennedy & Sorenson, 1985; Goffreda *et al.*, 1988; Wilkens *et al.*, 1996; van Dam & Hare, 1998a, b; Elle *et al.*, 1999), it is not known if leaf trichome density is associated with resistance, or if this relationship varies across populations of *Datura stramonium*.

The present study aimed specifically to address the following questions: 1) Is individual variation in leaf trichome density related to resistance to herbivores? and if so, 2) is resistance selectively favoured within populations? Given that populations of *Datura stramonium* occur in a broad variety of plant communities (Núñez-Farfán, 1991), phenotypic differences among populations in leaf trichome density might be both environmentally and genetically based. Thus, we also asked if 3) the relationship between leaf trichome density and resistance differs across populations of *Datura stramonium*,

and 4) to what extent phenotypic differences are the result of phenotypic plasticity or genetic differentiation among populations. Under the null hypothesis that variation in leaf trichome density in *Datura stramonium* occurs for other reasons (e.g., temperature regulation), it is not expected to be related to resistance to herbivores.

Materials and methods

PLANT SPECIES

Datura stramonium (Solanaceae) is a cosmopolitan annual weed occurring in a wide variety of plant communities in Mexico and North America (Avery *et al.*, 1959; Weaver & Warwick, 1984). Leaves of this species are eaten by at least two specialist herbivorous insects, *Epitrix parvula* (Coleoptera: Chrysomelidae) (Núñez-Farfán & Dirzo, 1994), and *Lema trilineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) (Kogan & Goeden, 1970a; Kogan & Goeden, 1970b; Kirkpatrick & Bazzaz, 1979; Peterson & Dively, 1981; Núñez-Farfán, 1995).

Other herbivores have also been recorded to consume this species: *Sphenarium purpurascens* (Orthoptera: Acrididae), and two lepidopterans (*Manduca* sp., Sphingidae, and one unidentified species of Noctuidae) (Núñez-Farfán & Dirzo, 1994; Núñez-Farfán *et al.*, 1996). Complete description of the plant and insect species can be found elsewhere (Núñez-Farfán, 1991).

DATA COLLECTION

In six populations of *Datura stramonium* from the Central part of Mexico (four States) all natural growing individual plants (16-46) were marked and, at reproduction, foliar

damage produced by herbivorous insects and the number of mature fruits were recorded. The six populations occurred in different plant communities: one in a tropical dry forest, two in pine-oak forests, and three in xerophytic shrub communities (Table 1). Distances between pairs of populations ranged from 20 to 300 km.

In each population the following data were taken for each individual plant: 1) total number of branches, 2) total number of fruits, and 3) average seed number per fruit (seed-set), from a sample of ten fruits per plant.

RELATIVE RESISTANCE, TRICHOME DENSITY AND FITNESS

A large random sample (mean = 31.62 standard error = 0.66) of fully-expanded leaves was collected from each individual plant and measured with a leaf-area meter (Delta-T Devices, Cambridge, England) to obtain standing leaf area (i.e., remnant undamaged leaf area). For each plant, relative damage was obtained by dividing consumed leaf area (CLA_i) by total leaf area (TLA_i). Original total leaf area was estimated using a regression analysis of leaf area as a function of leaf length following Núñez-Farfán & Dirzo (1994). Since leaf shape (hence, leaf area) varied slightly among populations, four different equations were applied to estimate original total leaf area (R^2 ranging from 0.964 - 0.987, $P < 0.001$, $n = 30-120$). Relative resistance to herbivores was estimated for each plant as $1 - (CLA_i/TLA_i)$ following previous studies (Berenbaum *et al.*, 1986; Fritz & Price, 1988; Simms & Rausher, 1989; Núñez Farfán & Dirzo, 1994; Núñez Farfán *et al.*, 1996; Tiffin & Rausher, 1999). For statistical analyses, resistance was arcsine-transformed to normalise its error distribution (Sokal & Rohlf, 1995).

Trichome density was measured as the total number of trichomes within an area of 2.5 mm² on the basal central area of the adaxial side of the leaf (see Mauricio *et al.*, 1997), using a dissecting microscope. This sampled area of the leaf gives a good estimate of the whole-leaf average trichome density: For thirty randomly chosen leaves from 15 different plants, trichome density in 2.5 mm² was highly correlated with the average trichome density of nine other 2.5 mm² areas within the same leaf ($R^2 = 0.81$, $F_{1, 13} = 60.1$, $P < 0.0001$). Thus, in each population, average trichome density of 16-20 plants was calculated on a sample of ten randomly chosen fully expanded mature leaves for each plant. For statistical analyses, trichome density was square root-transformed to normalise its error distribution (Sokal & Rohlf, 1995).

Maternal plant fitness was estimated as the average seed-set per fruit times total fruit number per plant. Because absolute maternal fitness varies with plant size (Núñez-Farfán, 1991), the analysis of fitness as a function of plant resistance to herbivores was made in each population using the residuals from the regression analysis (see Sinervo, 2000) of absolute maternal fitness (total seed number per plant) on plant size, as estimated by the total number of branches. Total number of seeds and branches were square root-transformed before statistical analyses (Sokal & Rohlf, 1995). Hereafter, residuals for maternal fitness will be referred to simply as fitness.

STATISTICAL ANALYSES

The effect of trichome density on plant resistance to herbivores among and within populations was analysed using covariance analysis (ANCOVA), under the null

hypothesis that trichome density, the covariate, is not a plant resistance component. In the same way, the effect of leaf area on trichome density was analysed (see Roy *et al.*, 1999). Differences in average values among populations in plant resistance and trichome density were obtained through Tukey-Kramer HSD tests (Sokal & Rohlf, 1995). The relationship between fitness and plant resistance, within and among populations, was analysed by means of ANCOVA, where plant resistance was the covariate. The relationship between average resistance and average trichome density per population was assessed by means of a Spearman rank correlation (R_s) (Sokal & Rohlf, 1995, p. 598). The analyses were carried out using the JMP[®] statistical package (SAS Institute, 1995).

In order to estimate phenotypic directional selection gradients (β_i) for each population, linear regression analysis of individual fitness (w_i) as a function of the standardized resistance to herbivores ($\bar{x} = 0$ and $s^2 = 1$) were performed (Lande & Arnold, 1983; Mitchell-Olds & Shaw, 1987; Nagy, 1997). Selection coefficients and standard errors were estimated using FREE-STAT (version 1.10; Mitchell-Olds, 1989). Jackknife estimates of the standard errors of the selection coefficients were also obtained (FREE-STAT). The Jackknife procedure permits approximate t-tests of significance which are robust to deviations from normality and to heterogeneity of residual variances (Mitchell-Olds, 1989). We estimated the selection coefficients only on resistance to herbivores following the reasoning that leaf trichome density is a putative component of resistance and correlated with it (Mauricio *et al.*, 1997; van Dam & Hare 1998b; Elle *et al.* 1999). Data of this study indicated no relationship between trichome density and fitness. Then a covariance analysis was performed to assess if trichome density is related to resistance

(see Results). Because trichome density is correlated with resistance in 5 of 6 populations this validates our criterion for not including trichome density in the selection analyses given the lack of independence between both traits (Mitchell-Olds & Shaw, 1987).

POPULATION DIFFERENTIATION IN TRICHOME DENSITY

To determine possible genetic differences among populations in leaf trichome density, natural progenies (*sensu* Lawrence 1984; hereafter families) from three populations were collected and grown in a common garden. Plants of a given family were derived from a single fruit and related as half- or full-sibs. Given the size of individual plants and the number of populations sampled in the field, three randomly selected populations were grown in the common garden due to space limitations. The three populations grown where: Population I, 15 families and 133 plants; Population II, 14 families and 118 plants; Population III, 10 families, and 81 plants (cf. Table 1). Total sample size was 332. The common garden (59 x 13 m) was located in an area within the Pedregal de San Angel Ecological Preserve (National University of Mexico; UNAM) where *Datura stramonium* grows naturally (Núñez-Farfán & Dirzo, 1994). The seeds were germinated in the greenhouse (protocol in Fornoni & Núñez-Farfán, 2000), and then transplanted to the common garden under a complete randomized design once the first pair of true leaves appeared. Plants were spaced 1m apart in a regular grid. When plants reached maturity (reproduction), trichome density was estimated for all plants, following the same methodology employed for field collected plants (see above). A nested-analysis of variance was performed to test differences due to population and family (within

population) (Sokal & Rohlf, 1995), using the JMP[®] statistical package (SAS Institute, 1995).

Results

TRICHOME DENSITY AND RESISTANCE TO HERBIVORES

Populations experienced different average levels of damage (10-50 % of total leaf area) (Table 2). In each population, all individual plants had some degree of foliar damage. In all populations, leaf damage was caused mainly by tobacco flea beetles (*Epitrix* spp., Coleoptera: Chrysomelidae). Trichome density varied from 3.041 to 15.429 trichomes x mm⁻² (Table 2). ANCOVA detected statistically significant differences among populations in plant resistance to herbivores, and a significant effect of trichome density on plant resistance (Tables 2 and 3a). Furthermore, the significant trichome density x population interaction indicated that the slope for the relationship between trichome density and resistance varied among populations (Table 3a). In contrast, differences among populations in trichome density were not related with leaf area (Table 3b). In five out of six populations, a significant relationship between trichome density and plant resistance was detected and the explained variance (R^2) ranged from 0.50 to 0.68. Populations I, II, IV and V showed positive relationships, whereas population VI had a concave downward relationship between leaf trichome density and resistance (Table 2). Multiple comparisons also showed differences in trichome density and resistance among populations (Table 2). Finally, population mean resistance and trichome density were highly positively correlated across populations (Fig. 1, $R_S = 0.83$, $n = 6$, $P = 0.0416$).

PHENOTYPIC SELECTION OF RESISTANCE ACROSS POPULATIONS

ANCOVA revealed significant differences among populations in fitness (Table 3c). Also, resistance to herbivores had a significant effect on plant fitness. The significant interaction between plant resistance and population on fitness indicates that the slope of the relationship between fitness and plant resistance differed among populations (Table 3c and Fig. 2). These results suggest differences among populations in the effectiveness of resistance against herbivorous insects, and imply that a similar amount of damage had different consequences on plant fitness among populations.

Significant directional selection coefficients were detected in three out of six populations. In Populations I, II, and IV, resistance was positively favoured, indicating that higher fitness was attained by those plants with higher levels of resistance (Table 4 and Fig. 2). After Jackknife procedure, selection coefficients for these populations remained significant (Table 4). In contrast, no selection on resistance was detected in populations III, V and VI (Table 4 and Fig. 2).

POPULATION DIFFERENTIATION IN TRICHOME DENSITY

Nested ANOVA revealed significant differences among populations in leaf trichome density, whereas no significant differences among families within population were found (Table 5). Plants from population I had a significant higher mean leaf trichome density than plants from populations II and III, which did not differ from each other (Fig. 3). Thus, differences found in the field were maintained in a common garden suggesting

genetic differentiation between populations for this character. However, the same experiment revealed the plastic nature of trichome density: the novel environment represented by the common garden had distinctive effects on the plants of the different (i. e., they tended to converge phenotypically; cf. Fig. 3).

Discussion

Significant among-population variation in both leaf trichome density and plant resistance to herbivores coupled with the association of trichome density with resistance in most populations of *Datura stramonium*, support the expectation of a defensive role of trichomes within populations. In addition, trichome density affected plant fitness through its association with plant resistance. However, the effectiveness of leaf trichome density varied among populations. Directional selection of phenotypes with higher resistance to herbivores was significantly in only three populations of *Datura stramonium*. Thus, these results support the adaptive hypothesis of trichome density as a defensive trait against herbivory. Even though leaf trichome density is a phenotypically plastic character, our evidence indicated significant population differences in trichome density, highlighting the potential for genetic differences among populations on this defensive trait.

Leaf trichome density is regarded as a component of plant defence against herbivores (Levin, 1973; Johnson, 1975; Marquis, 1991; Kennedy & Barbour, 1992; Marquis, 1992; Ågren & Schemske, 1993; Rausher, 1996; Mauricio & Rausher, 1997; van Dam & Hare, 1998a; van Dam & Hare, 1998b; Elle *et al.*, 1999). However, few studies have estimated phenotypic selection on resistance to herbivores in different populations of the same

species. Relevant to this goal, the present results demonstrated that 1) trichome density is a component of plant resistance to herbivores in most populations of *Datura stramonium* sampled (cf. Table 2, 3a), and 2) selection for higher resistance to herbivores occurred in some populations (Table 4). These results are in agreement with the finding of selection on resistance to herbivores in other population of *Datura stramonium* (Núñez-Farfán & Dirzo, 1994; Núñez-Farfán *et al.*, 1996). Selection is expected to vary spatially and temporally in plant-animal interactions, and this constitutes the raw material of the coevolutionary process (Thompson, 1999). Yet the experimental study of adaptation makes necessary, first, the analysis of natural populations (see Sinervo, 2000) to identify potential coevolutionary hotspots (Thompson, 1999).

The relative effectiveness of trichome density as a defensive trait differed among populations (significant population x trichome density interaction; cf. Table 3a). In addition, the result that resistance may or may not be selectively advantageous in a given population, is reflected in the interaction between population and resistance (Table 3c and Fig. 2). In fact, for three populations no evidence of selection on resistance was detected suggesting that natural levels of damage did not exert significant negative effects on individual plant fitness, and that other factors besides trichome density might determine resistance. Recently, it has been proposed that compensation after damage constitutes an alternative strategy of plant defence besides resistance (Maschinky & Whitham, 1989; Belsky *et al.*, 1993; Simms & Tripplett, 1994; Fineblum & Rausher, 1995; Mauricio *et al.*, 1997). If some populations of *D. stramonium* compensate following damage, selection on resistance might not be expected (Herms & Mattson, 1992). A recent study in *D.*

stramonium indicates that this species can compensate for foliar damage (Fornoni & Núñez-Farfán, 2000), however it is not possible to establish, at present, if those populations do not have selection on resistance.

Although resistance could be the best strategy under certain environments, lack of genetic variation brought about by genetic drift (i.e. founder effects) will constrain selection. Similarly, phenotypic plasticity in defensive traits may limit selection despite the presence of genetic variation is present in certain environments (see Núñez-Farfán & Dirzo 1994; Fornoni & Núñez-Farfán, 2000). Also, the capacity of plants to produce inducible defences (see Zangerl & Berenbaum, 1990; Underwood *et al.*, 2000) once damage has occurred may prevent the detection of selection on resistance. We did not examine whether there is inducible defences in *Datura stramonium*, or if genetic variation for induction occurs in natural populations.

It must be stressed that population differences in leaf trichome density may occur even if it is not a component of plant resistance. For instance, trichome number might be positively or negatively selected in different stressful environments because it is correlated with other characters (e.g., leaf size; see Roy *et al.*, 1999). However, if trichome density were not a resistance component in *Datura stramonium*, no relationship between trichomes and resistance would be expected either among or within populations. In this study, the results for *Datura stramonium* show that variation in trichome density is independent of leaf size (cf. Table 3b). Furthermore, no relationship between leaf size and trichome density was found for two populations (I and III) of this species in the greenhouse (P. L. Valverde, unpubl. data). Leaf trichomes have been proposed to reduce

water loss in water limited environments (Turner & Kramer, 1980; Fitter & Hay, 1987). Still, this does not exclude the possibility that leaf trichomes function as a component of plant resistance to herbivores (Woodman & Fernandes, 1991). The present data support leaf trichome density as a component of resistance regardless of selection imposed by other environmental factors.

Response to selection within populations is expected only if part of the phenotypic variation in leaf trichome density is genetic in origin (Falconer & Mackay, 1996). Leaf trichome density is a highly variable plant character (Ågren & Schenkske, 1994; Roy *et al.*, 1999), and evidence of environmental induction (e.g. phenotypic plasticity) has been documented (Sharma & Dunn, 1969; Conklin, 1976; Wilkens *et al.*, 1996; Elle *et al.*, 1999). Several studies have detected heritable variation for leaf trichomes (van Dam & Hare, 1998a; Elle *et al.*, 1999; van Dam *et al.*, 1999). In *Datura stramonium*, the common garden experiment revealed the plastic nature of leaf trichome density since the population averages tended to converge (i.e., their change was in opposite directions; cf. Fig. 3). Yet, the populations analysed maintained their differences, suggesting genetic differentiation. The analysis did not reveal within-population differences among families and thus no potential for selection to change genetic frequencies at loci determining leaf trichomes. However, the common garden experiment involved only a small number of families per population. Thus, genetic variation for trichome density may exist in natural populations of *Datura stramonium* but a quantitative genetics study of this character in natural conditions is needed.

Selection on traits involved in plant-animal interactions is not expected to act in the same magnitude and direction across populations of a species. Due to the relevance of the environment in modulating genetic variation the study of natural variation is important to estimate selection in characters of putative adaptive value and in guiding experiments aimed to establish causality (Mousseau, 2000; Sinervo, 2000). As the present results show, the analysis of variation in defensive traits in only one population might result in misleading conclusions when evolutionary inferences are made above the level of populations (Thompson, 1994; Thompson, 1999).

Acknowledgements

We are very grateful with Phyllis D. Coley, Rodolfo Dirzo, Luis Eguiarte, Miguel Franco, José G. García-Franco, Carl D. Schlichting, and Stephen Weller for valuable comments and suggestions to the manuscript. R. Torres, J. Vargas and J. Zamudio offered valuable technical support during the field and laboratory work. This study is part of the Doctoral dissertation of P. L. Valverde who is grateful to the Dept. of Biology, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa and CONACyT for the scholarship granted. J. F. thanks to the Secretaria de Intercambio Académico, UNAM, and to the UNC, Argentina for the scholarship for graduate studies. This study was supported by the project CONACyT #25662-N granted to J. N-F. Financial support for a sabbatical year (JNF) at the University of Connecticut, Storrs, provided by CONACyT and DGAPA, UNAM, is greatly appreciated.

References

- Ågren, J. & Schemske, D.W. 1993. The cost of defense against herbivores: an experimental study of trichome production in *Brassica rapa*. *Am. Nat.* **141**: 338-350.
- Ågren, J. & Schemske, D.W. 1994. Evolution of trichome number in naturalized population of *Brassica rapa*. *Am. Nat.* **143**: 1-13.
- Avery, A., Satina, S. & Rietsma, J. 1959. *Blakeslee: the genus Datura*. The Ronald Press Company, New York.
- Bernays, E.A. & Chapman, R.F. 1994. *Host-plant selection by phytophagous insects*. Chapman & Hall, New York.
- Bell, G. 1997. *Selection. The mechanism of Evolution*. Chapman & Hall, New York.
- Belsky, A.J., Carson, W.P., Jensen, C.L. & Fox, G.A. 1993. Overcompensation by plants: herbivore optimization or red herring? *Evol. Ecol.* **7**: 109-121.
- Berenbaum, M.R., Zangerl, A.R. & Nitao, J.K. 1986. Constraints on chemical coevolution: wild parsnip and the parsnip webworm. *Evolution* **40**: 1215-1228.
- Björkman, C. & Anderson, D.B. 1990. Trade-off among antiherbivore defences in South American blackberry (*Rubus bogotensis*). *Oecologia* **85**: 247-249.
- Conklin, M.E. 1976. *Genetics and biochemical aspects of the development of Datura*. S. Karger, Baset.
- David, H. & Easwaramoorthy, S. 1988. Physical resistance mechanisms in insect plant interaction. In: *Dynamics of insects-plant interactions: Recent advances and future trends* (T.N. Ananthakrishnan & A. Raman, eds), pp. 45-70. Oxford & IBH Publishers, New Delhi.

- Duffey, S.S. & Isman, M.B. 1981. Inhibition of insect larval growth by phenolics in glandular trichomes of tomato leaves. *Experientia* 37: 574-576.
- Duffey, S.S. 1986. Plant glandular trichomes: their partial role in defense against insects. In: *Insects and the plant surface* (B. Juniper & T.R.E. Southwood, eds), pp. 151-172. Edward Arnold, London.
- Elle, E.E., van Dam, N.M. & Hare, J.D. 1999. Cost of glandular trichomes, a "resistance" character in *Datura wrightii* Regel (Solanaceae). *Evolution* 53: 22-75.
- Falconer, D.S. & Mackay, T.F.C. 1996. *Introduction to Quantitative Genetics*, 4th ed. Longman Scientific and Technical, Essex.
- Fineblum, W.L. & Rausher, M.D. 1995. Tradeoff between resistance and tolerance to herbivore damage in a morning glory. *Nature* 377: 517-520.
- Fitter, A.H. & Hay, R.K.M. 1987. *Environmental Physiology of Plants*, 2nd ed, Academic Press, London.
- Fornoni, J. & Núñez-Farfán, J. 2000. Evolutionary ecology of *Datura stramonium*: Genetic variation and costs for tolerance to defoliation. *Evolution* 54: 789-797.
- Fritz, R.A. & Price, P.W. 1988. Genetic variation among plants and insect community structure: willows and sawflies. *Ecology* 69: 845-856.
- García, E. 1988. *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen*. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F.
- Goffreda, J.C., Mustchler, M.A. & Tingey, W.M. 1988 Feeding behaviour of potato aphid affected by glandular trichomes of wild tomato. *Entomol. Exp. Appl.* 48: 101-107.

- Herns, D.A. & Mattson, W.J. 1992. The dilemma of plants: to grow or defend. *Quart. Rev. Biol.* 67: 283-335.
- Jeffree, C.E. 1986. The cuticle, epicuticular waxes and trichomes of plants, with reference to their structure, function and evolution. In: *Insects and the plant surface* (B. Juniper & T.R.E. Southwood, eds), pp. 23-64. Edward Arnold, London.
- Johnson, B. 1975. Plant pubescence: an ecological perspective. *Bot. Rev.* 41: 233-258.
- Juniper, B. & Southwood, T.R.E. 1986. *Insects and the plant surface*. Edward Arnold, London.
- Kennedy, G.G. & Sorenson, C.F. 1985. Role of glandular trichomes in the resistance of *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* to Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *J. Econ. Entomol.* 78: 547-551.
- Kennedy, G.G. & Barbour, J.D. 1992. Resistance variation in natural and managed systems. In: *Plant resistance to herbivory and pathogens. Ecology, evolution and genetics* (R.S. Fritz & E.L. Simms, eds), pp 13-41. The University of Chicago Press, Chicago.
- Kirkpatrick, B.L. & Bazzaz, F.A. 1979. The influence of certain fungi on seed germination and seedling survival of four colonizing annuals. *J. Appl. Ecol.* 16: 515-527.
- Kogan, M. & Goeden, R.D. 1970a. The biology of *Lema trilineata daturaphyla* (Coleoptera: Chrysomelidae) with notes on efficiency of food utilization by larvae. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 63: 537-546.
- Kogan, M. & Goeden, R.D. 1970b. The host-plant range of *Lema trilineata daturaphyla* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 63: 1175-1180.

- Lande, R. & Arnold, S.J. 1983. The measurement of selection on correlated characters. *Evolution* 37: 1210-1226.
- Lawrence, M.J. 1984. The genetical analysis of ecological traits. In: *Evolutionary Ecology* (B. Shorrocks, ed), pp. 27-63. Blackwell Scientific, Oxford.
- Levin, D.A. 1973. The role of trichomes in plant defence. *Quart. Rev. Biol.* 48: 3-15.
- Marquis, R.J. 1991. Evolution of resistance in plants to herbivores. *Evol. Trends Plants* 5: 23-29.
- Marquis, R. J. 1992. The selective impact of herbivory. In: *Plant resistance to herbivory and pathogens. Ecology, evolution and genetics* (R.S. Fritz & E.L. Simms, eds), pp 301-325. The University of Chicago Press, Chicago.
- Maschinski, J. & Whitham, T.G. 1989. The continuum of plant responses to herbivory: the influence of plant association, nutrient availability, and timing. *Am. Nat.* 134: 1-19.
- Mauricio, R., Rausher, M.D. & Burdick, D.S. 1997. Variation in the defense strategies of plants: are resistance and tolerance mutually exclusive? *Ecology* 78: 1301-1311.
- Mauricio, R. & Rausher, M.D. 1997. Experimental manipulation of putative selective agents provides evidence for the role of natural enemies in the evolution of plant defense. *Evolution* 51: 1475-1444.
- Mitchell-Olds, T. & Shaw, R.G. 1987. Regression analysis of natural selection: statistical inference and biological interpretation. *Evolution* 41: 1149-1161.
- Mitchell-Olds, T. 1989. *FREE-STAT version 1.10 user manual*. Technical Bulletin No. 101. Division of Biological Sciences, University of Montana, Missoula.

- Mosseau, T.A. 2000. Intra- and interpopulation variation: explaining the past and predicting the future. In: *Adaptive Genetic Variation in the Wild* (T. A. Mosseau., B. Sinervo & J. Endler, eds), pp. 219-250, Oxford University Press, Oxford.
- Nagy, E.S. 1997. Selection for native characters in hybrids between two locally adapted plant subspecies. *Evolution* **51**: 1469-1480.
- Núñez-Farfán, J 1991. *Biología evolutiva de Datura stramonium L. en el Centro de México: selección natural de la resistencia a los herbívoros, sistema de cruzamiento y variación genética intra e inter-poblacional*. Ph D Diss, Centro de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- Núñez-Farfán, J. 1995. Ecología evolutiva de *Datura stramonium* (toloache) en México. *Ciencia (México)* **46**: 197-214.
- Núñez-Farfán, J. & Dirzo, R. 1994. Evolutionary ecology of *Datura stramonium* L. in Central Mexico: natural selection for resistance to herbivorous insects. *Evolution* **48**: 423-436.
- Núñez-Farfán, J., Cabrales-Vargas, R.A. & Dirzo, R. 1996. Mating system consequences on resistance to herbivory and life history traits in *Datura stramonium*. *Am. J. Bot.* **83**: 1041-1049.
- Peter, A.J., Shanower, T.G. & Romcis, J. 1995. The role of plant trichomes in insects resistance: A selective review. *Phytophaga* (Madras) **7**: 41-64.
- Peterson, B.L. & Dively, G.P. 1981. Effects of feeding by *Lema trivittata* (Coleoptera: Chrysomelidae) on the growth, reproduction and competitive ability of jimsonweed in soybeans. *Proc. Northeast. Weed Sci. Soc.* **35**: 78.

- Rausher, M.D. & Simms, E.L. 1989. The evolution of resistance to herbivory in *Ipomoea purpurea*. I. Attempts to detect selection. *Evolution* **43**: 563-572.
- Rausher, M.D. 1996. Genetic analysis of coevolution between plants and their natural enemies. *Trends Genet.* **12**: 212-217.
- Rodriguez, E., Healy, P.L. & Mehta I. (eds) (1984) *Biology and chemistry of plant trichomes*. Plenum, New York.
- Romeis, J., Shanower, T.G. & Peter, A.J. 1999. Trichomes on Pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] and two wild *Cajanus* spp. *Crop Sci.* **39**: 564-569.
- Roy, B.A., Stanton, M.L. & Eppley, S.M. 1999. Effects of environmental stress on leaf hair density and consequences for selection. *J. Evol. Biol.* **12**: 1089-1103.
- SAS institute. 1995. JMP[®] *Statistics and Graphics Guide, Version 3.1*. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.
- Schlichting C.D. & Pigliucci, M. 1998. *Phenotypic Evolution. A Reaction Norm Perspective*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland.
- Sharma, G.K. & Dunn, D.B. 1969. Environmental modifications of leaf surface traits in *Datura stramonium*. *Can. J. Bot.* **47**: 1211-1216.
- Simms, E.L. & Rausher, M.D. 1989. The evolution of resistance to herbivory in *Ipomoea purpurea*. II. Natural selection by insects and costs of resistance. *Evolution* **43**: 573-585.
- Simms, E.L. & Triplett, J. 1994. Cost and benefits of plant response to disease: resistance and tolerance. *Evolution* **48**: 1973-1985.

- Sinervo, B. 2000. Adaptation, natural selection, and optimal life-history allocation in the face of genetically based trade-offs. In: *Adaptive Genetic Variation in the Wild* (T. A. Mousseau, B. Sinervo, & J. Endler, eds), pp. 241- 64. Oxford University Press, Oxford
- Sokal, R.R. & Rohlf, F.J. 1995. *Biometry*, 3rd. ed. W. H. Freeman and Co, New York.
- Thompson, J.N. 1994. *The coevolutionary Process*. The University of Chicago Press, Chicago.
- Thompson, J.N. 1999. The raw material for coevolution. *Oikos* **84**: 5-16.
- Thurston, R. 1970. Toxicity of trichome exudates of *Nicotiana* and *Petunia* species to tobacco hornworm larvae. *J. Econ. Entomol.* **63**: 272-274.
- Tiffin, P. & Rausher, M.D. 1999. Genetics constraints and selection acting on tolerance to herbivory in the common morning glory *Ipomoea purpurea*. *Am. Nat.* **154**: 700-716.
- Turner, N.C. & Kramer, P.J. 1980. *Adaptations of Plants to Water and High Temperature Stress*. Wiley-Interscience Publication, New York.
- Underwood, N., Morris, W., Gross, K. & Lookwood III, J. R. 2000. Induced resistance to Mexican bean beetles in soybean: variation among genotypes and lack of correlation with constitutive resistance. *Oecologia* **122**: 83-89.
- van Dam, N.M. & Hare, J.D. 1998a. Differences in distribution and performance of two sap-sucking herbivores on glandular and non-glandular *Datura wrightii*. *Ecol. Entomol.* **23**: 22-32.

- van Dam, N.M. & Hare, J.D. 1998b. Biological activity of *Datura wrightii* (Solanaceae) glandular trichome exudate against *Manduca sexta* (Lepidoptera: Sphingidae) larvae. *J. Chem. Ecol.* **24**: 1529-1549.
- van Dam, N. M., Hare, J.D. & Elle, E. 1999. Inheritance and distribution of trichome phenotypes in *Datura wrightii*. *J. Hered.* **91**: 220-227.
- Weaver, S.E. & Warwick, S.I. 1984. The biology of Canadian weeds. 64. *Datura stramonium* L. *Can. J. Plant Sci.* **64**: 979-991.
- Wilkens, R.T., Shea, G.O., Halbreich, S. & Stamp, N.E. 1996. Resource availability and the trichomes defenses of tomato plants. *Oecologia* **106**: 181-191.
- Woodman, R.L. & Fernandes, G.W. 1991. Differential mechanical defense: herbivory, evapotranspiration, and leaf hairs. *Oikos* **60**: 11-19.
- Zangerl, A. R. & Berenbaum, M. R. 1990. Furanocoumarin induction in wild parsnip: genetics and populational variation. *Ecology* **71**: 1933-1940.

Table 1. Environmental characteristics of six populations of *Datura stramonium* in Central Mexico.

| Number and locality of each population (State) | Habitat | Geographic coordinates* | Altitude above sea level (m a.s.l.)* | Mean annual precipitation (mm)* | Mean annual temperature (°C)* |
|---|------------------------|----------------------------|---|---------------------------------------|-------------------------------------|
| I. Ticumán (Morelos) | tropical dry forest | 18° N, 99° W | 961 | 802.1 | 23.1 |
| II. Santo Domingo (Morelos) | pine-oak forest | 18° N, 99° W | 2050 | 1463.2 | 19.9 |
| III. Zirahuén (Michoacán) | pine-oak forest | 19° N, 101° W | 2174 | 1400.6 | 16.4 |
| IV. Teotihuacan (State of México) | xerophytic shrub | 19° N, 98° W | 2294 | 559.6 | 14.8 |
| V. Patria Nueva (Hidalgo) | xerophytic shrub | 20° N, 99° W | 1745 | 360.5 | 18.4 |
| VI. Actopan (Hidalgo) | xerophytic shrub | 20° N, 98° W | 1990 | 458.5 | 16.9 |

* Data taken from García (1988). Means were calculated from 9 to 53 years of climatic records.

Table 2. Mean leaf trichome density (trichomes x mm⁻²) per plant (SE), plant resistance to herbivores (1-relative damage) (± 1 SE) and regression analysis of relative resistance (y) on trichome density (x) in six populations of *Datura stramonium* from Central Mexico. Different letters for each character indicate significant among population differences at $P < 0.01$ (see Materials and methods).

| Population | Trichome density | n | Relative resistance | n | Model | | | |
|------------|------------------|-----|---------------------|-----|---------------------------------|-------|-------|----------|
| | | | | | Regression model | R^2 | df | F |
| I | 8.911 (0.517) b | 24 | 0.891 (0.004) d | 30 | $y = 0.849 + 0.004x$ | 0.24 | 1, 22 | 7.298* |
| II | 3.348 (0.346) a | 20 | 0.559 (0.014) a | 30 | $y = 0.446 + 0.028x$ | 0.34 | 1, 18 | 9.290** |
| III | 3.041 (0.262) a | 20 | 0.515 (0.014) a | 46 | $y = 0.433 - 0.034x$ | 0.02 | 1, 18 | 0.372ns |
| IV | 6.929 (0.674) b | 19 | 0.635 (0.029) b | 30 | $y = 0.433 + 0.034x$ | 0.42 | 1, 17 | 12.747** |
| V | 15.429 (0.503) c | 18 | 0.816 (0.013) c | 18 | $y = 0.612 + 0.013x$ | 0.25 | 1, 16 | 5.491* |
| VI | 12.376 (0.550) c | 16 | 0.797 (0.006) c | 16 | $y = 0.495 + 0.057x - 0.002x^2$ | 0.56 | 2, 13 | 8.329** |

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; ns, not significant.

Table 3. Analyses of covariance for plant resistance to (a) herbivores, (b) trichome density (trichome x mm²) and (c) fitness in *Datura stramonium*. All *F*-ratios were based on type-III sums of squares.

| Trait | Source of Variation | d.f. | SS | <i>F</i> |
|---------------------|-----------------------|------|-----------|----------|
| a) Resistance | Population | 5 | 0.208 | 7.67*** |
| | Trichome density | 1 | 0.062 | 11.57** |
| | Pop. x Trichom. | 5 | 0.166 | 6.14*** |
| | Error | 105 | 0.570 | |
| | <i>R</i> ² | | 0.868 | *** |
| b) Trichome density | Population | 5 | 9.319 | 12.61*** |
| | Leaf area | 1 | 0.006 | 0.04ns |
| | Pop. x Leaf area | 5 | 1.630 | 2.20ns |
| | Error | 105 | 15.512 | |
| | <i>R</i> ² | | 0.832 | *** |
| c) Fitness | Population | 5 | 9823.375 | 4.90*** |
| | Resistance | 1 | 2979.598 | 7.44** |
| | Pop. x Resist. | 5 | 7575.756 | 3.78** |
| | Error | 123 | 49219.970 | |
| | <i>R</i> ² | | 0.490 | *** |

* *P* < 0.05; ***P* < 0.01; ****P* < 0.001; ns, not significant.

Table 4. Directional selection coefficients (β) and standard errors (SE) of resistance to insect damage of six populations of *Datura stramonium*. R^2 for the lineal models and Jackknife estimates for the significant selection coefficients are provided. Sample sizes correspond to those of Table 2.

| Population | β (SE) | R^2 | Jackknife estimates | |
|------------|------------------|-------|---------------------|---------|
| | | | SE | $ t $ |
| I | 0.553 (0.222)* | 0.213 | 0.261 | 2.121* |
| II | 0.564 (0.185)** | 0.328 | 0.163 | 3.470** |
| III | -0.229 (0.051)ns | 0.051 | ----- | ----- |
| IV | 0.529 (0.229)* | 0.211 | 0.221 | 2.390* |
| V | -0.201 (0.270)ns | 0.036 | ----- | ----- |
| VI | 0.081 (0.267)ns | 0.007 | ----- | ----- |

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; ns, not significant.

Table 5. Nested ANOVA of leaf trichome density (trichome x mm⁻²) for families of three populations of *Datura stramonium* in a common garden (see Materials and methods).

| Source of Variation | d.f. | SS | F |
|-----------------------|------|--------|---------|
| Population | 2 | 2.483 | 9.02*** |
| Families (Population) | 36 | 4.954 | 1.21ns |
| Error | 293 | 33.134 | |

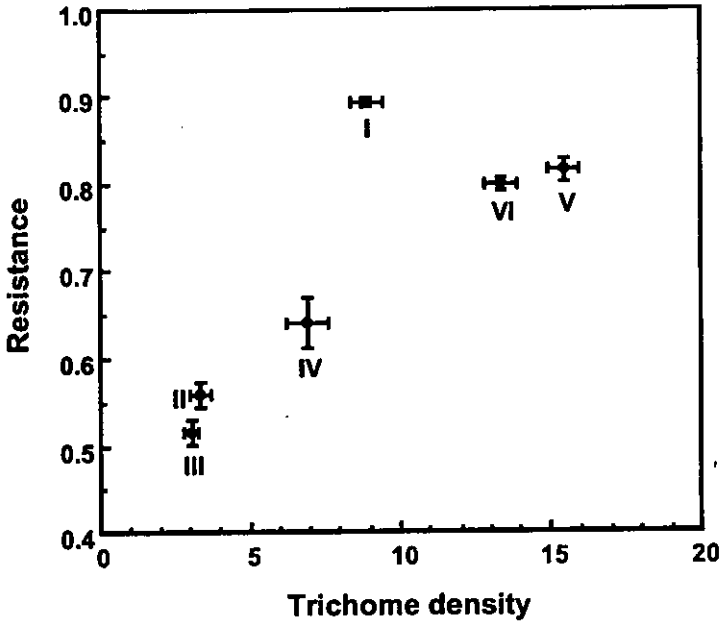
*** $P < 0.001$; ns, not significant.

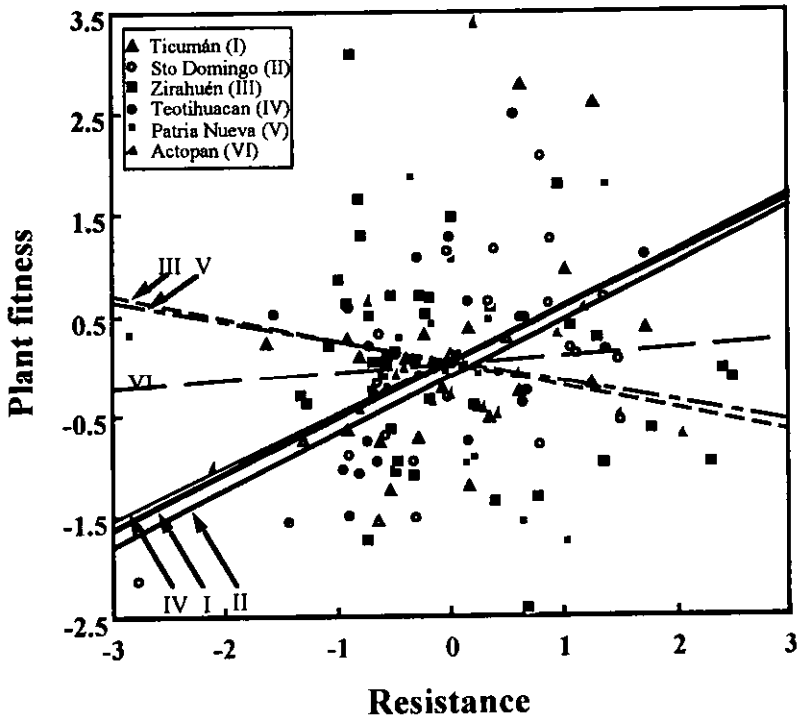
Figure legends

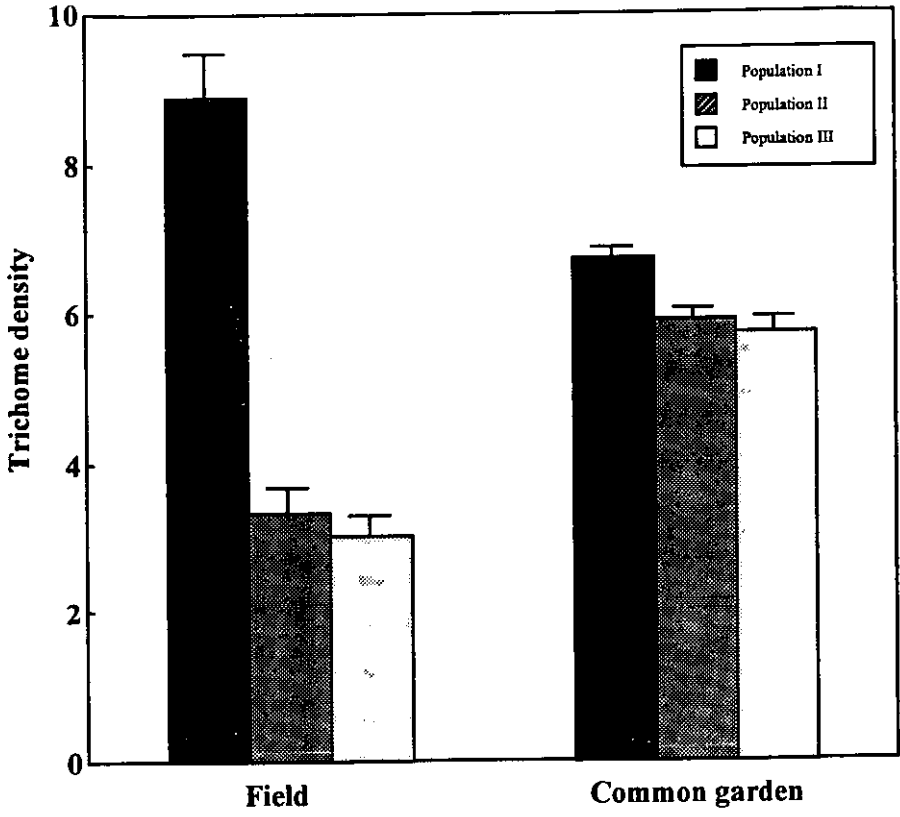
Figure 1. Relationship between population mean resistance to herbivorous insects (1-relative damage) and mean trichome density (trichome \times mm⁻²) in *Datura stramonium* ($R_s = 0.83$, $n = 6$, $P < 0.041$). Labels correspond to populations listed in Table 1. Bars indicate (\pm 1 SE).

Figure 2. Relationship between plant fitness and resistance to herbivores (standardized) in six populations of *Datura stramonium* (see Materials and methods, and Table 3). Significant selection (continuous line) and non significant selection (dashed line) linear fit are indicated. Arrows indicate population number.

Figure 3. Average values of leaf trichome density (trichome \times mm⁻²) in the field and in the common garden of three populations of *Datura stramonium*. Bars represent mean (\pm 1SE).







Capítulo II

Evolutionary ecology of *Datura stramonium*: local differentiation and contrasting selection on growth and resistance to herbivorous insects

(*Oikos*, en revisión)

Evolutionary ecology of *Datura stramonium*: local differentiation and contrasting selection on growth and resistance to herbivorous insects

Pedro Luis Valverde, Juan Fornoni and Juan Núñez-Farfán

P. L. Valverde, J. Fornoni and J. Núñez-Farfán, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 70-275, 04510 México, Distrito Federal, MEXICO (farfan@servidor.unam.mx) (present address of PLV: Departamento de Biología, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, Apartado Postal 55-535, C.P. 09340, México, Distrito Federal, MEXICO)

Abstract

Patterns of variation among plant populations on average levels of resistance have strongly stimulated theoretical and experimental research to understand the evolution of plant resistance in plants. However, few studies have evaluated the adaptive value of population differentiation in resistance against herbivory. In this study the adaptive value of population differentiation in plant traits involved in the interaction with natural herbivores is evaluated. A common garden experiment using genetic material from three populations of the annual *Datura stramonium* was performed to determine whether patterns of variation and selection (phenotypic and genetic) among populations in resistance to herbivorous insects and relative growth rate, is in agreement with an adaptive differentiation hypothesis. The presence of natural herbivores was manipulated in order to evaluate the selective impact of herbivory on plant performance. In the presence and absence of herbivorous insects, relative growth rate (RGR) was recorded to determine its role in the response against leaf damage. In the presence of natural herbivores, selection only favored high average resistance at the phenotypic and genetic level in the population with the higher value of resistance. In contrast, relative growth rate was positively selected in the populations with lower average resistance. Manipulation of the presence of natural herbivores revealed that herbivory did not alter the pattern of selection on relative growth rate indicating no adaptive value of RGR against herbivory. The results indicated that contrasting selection on resistance explained the patterns of differentiation in resistance to herbivorous insects according to an adaptive hypothesis. Finally, this study shows that alternative strategies to cope with herbivory can potentially evolve among plant populations as a consequence of natural selection. In *Datura stramonium*, this might lead to a geographic selection mosaic in plant traits involved in the interaction with herbivores.

Introduction

The analysis of adaptive variation among populations has been a major issue in evolutionary biology (Clausen and Hiesey 1958, Endler 1977, 1986, Bell 1997, Jonas and Geber 1999, Mosseau et al. 2000). In plants, evidence of genetic and phenotypic variation among populations has been widely detected for several morphological, physiological and phenological traits (Schwaegerle et al. 1986, Levin 1988, Fritz and Simms 1992, Ågren and Schemske 1996, Kercher and Conner 1996, Weber and Schimid 1998, Jonas and Geber 1999), and provides the potential for natural selection to produce adaptive change. Contrasting selective pressures in different environments may favor different phenotypes among populations, thus promoting local differentiation (Benkman 1999, Gómez and Zamora 2000). Many studies indicate that the phenomenon of local adaptation is common (Bradshaw 1984, Schmitt and Gamble 1990, Jordan 1992, Dudley 1996, Nagy 1997). Although, genetic drift and/or restricted gene flow can also potentially lead to nonadaptive population differentiation (Scheiner and Teeri 1986, Schmitt and Gamble 1990, Thompson 1994, 1999).

Although the fact that several studies have evaluated the adaptive component of population divergence in plant-pathogen interaction (Jarosz and Burdon 1991, Carlsson 1997, Mutikainen et al. 2000), few studies have detected significant adaptive variation among plant populations in traits related to resistance to herbivores (Edmund and Alstad 1978, Hare and Futuyma 1978, Hägele and Rowell-Rahier 1999). In this study, we evaluated the adaptive value of population differences in plant traits involved in the

interaction with herbivores (i.e. growth rate and defense sensu van der Meijden et al. 1988).

Ecological studies indicate that the impact of herbivores on plant performance vary among populations (Dolinger et al. 1973, Cates 1975, Levin 1976, McGraw et al. 1990, Fritz and Simms 1992, Marquis 1992, Clement 1994, Crawley 1996, Rand 1999). Consequently, it is expected that the mode and intensity of natural selection on defensive plant characteristics vary among populations (Thompson 1994, for a review). However, at least three factors can generate differences among populations in apparent levels of resistance not necessarily accounted by observed patterns and intensity of selection (Conover and Schultz 1995). First, spatial and temporal variation among localities in abundance of herbivores can produce interpopulation variation in average levels of damage (Coley and Aide 1990, Fritz and Simms 1992, Crawley 1996). However, this source of variation may not be related with differential selection pressures across environments. Second, the expression of resistance can be environmentally modified, producing variation among populations resulting from an environmental-mediated covariation (Waring et al. 1985, Fritz 1990, Marquis 1992, Stowe et al. 1994, Conover and Schultz 1995, Wilkens et al. 1996). Finally, although population differences in resistance may be detected, this does not necessarily mean that resistance is locally selected. Within plant populations, resistance might not be associated with fitness if plants differ in their ability to compensate for tissue damage through a response related to growth rate (van der Meijden et al. 1988). The physiological trade-off that plants face between growth and defense suggests that different levels of resistance among populations can also be associated with

differences in intrinsic relative growth rate (Coley et al. 1985, Fagerström et al. 1987, van der Meijden et al. 1988, Herms and Mattson 1992, Trumble et al. 1993, Abrahamson and Weis 1997, Hockwender et al. 2000). In order to determine the adaptive value of population differences on resistance it is necessary to expose plant populations to the same levels of herbivore pressure under the same environmental conditions.

Despite the development of evolutionary models of plant defense allocation (Coley et al. 1985), few studies, if any, have examined the joint selection pattern on growth and defense. Analyses of natural selection on plant growth and resistance are necessary to evaluate the adaptive value of these traits in the context of plant-herbivore interactions.

In the annual weed *Datura stramonium* significant variation in quantitative characters has been detected (Weaver and Warwick 1984, Weaver et al. 1985, Núñez-Farfán 1991, Fornoni and Núñez-Farfán 2000). Fitness costs of leaf damage has been also found (Fornoni and Nuñez-Farfán 200, Shonle and Bergelson 2000), as well as significant selection on resistance to herbivorous insects in natural and experimental populations (Núñez-Farfán and Dirzo 1994, Núñez-Farfán et al. 1996). Given that a previous study detected the existence of phenotypic differentiation and contrasting selection on resistance among populations of *D. stramonium* in the field (Valverde et al. submitted data), in this study we specifically asked: 1) Is population differentiation for plant resistance found in the field maintained under the same herbivory regime and homogeneous environmental conditions? 2) Do populations differ in relative growth rate in a common garden experiment? If so, 3) How does natural selection act upon resistance

and relative growth rate when plants are grown under the same herbivory load? Finally, 4) To what extent is the pattern of selection on plant growth altered when herbivores are absent?

Materials and Methods

Plant-Herbivore System

The annual weed *Datura stramonium* (Solanaceae) occurs in a wide variety of plant communities in North America (Avery et al. 1959, Weaver and Warwick 1984). In Mexico, this species is commonly encountered inhabiting open, cultivated and disturbed sites (Núñez-Farfán 1991). Some species of specialist and generalist herbivorous insects are closely associated with *D. stramonium*. The most important herbivorous insects are *Lema trilineata* and *Epitrix* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae) (Kogan and Goeden 1970a, b, Peterson and Dively 1981). Both specialist insects are present throughout most of its host geographic range and they can remove up to 90% of the plant total leaf area (Núñez-Farfán and Dirzo 1994). The leaf damage produced by *Epitrix* spp. is present in most populations of *D. stramonium* and consists of small holes on the leaf blade. Also, generalist insects feed upon *D. stramonium* in Central Mexico, including *Sphenarium purpurascens* (Orthoptera: Acrididae) and two lepidopterans (*Manduca* spp.: Sphingidae, and one unidentified species of Noctuidae) (Núñez-Farfán and Dirzo 1994). *S. purpurascens* is very abundant in Central Mexico (including the Pedregal de San Angel, our study site) and it may cause severe damage on leaf tissue in plants of this species.

Study Site

The study was carried out at the Pedregal de San Angel Ecological Preserve (19°20'02"N and 99°08'26"W), located within the campus of the National Autonomous University of Mexico (UNAM) in southern Mexico City. The site is seasonal with an annual mean precipitation of 800 mm, and annual mean temperature of 15.5° C. The rainy season occurs during the summer (May-September). *D. stramonium* grows naturally in the study site and almost all herbivorous insects associated to this species are present. The vegetation is a xerophytic shrubland on rocky volcanic hills (Rzedowsky 1954). Pre-hispanic records indicates that natural populations of *D. stramonium* have been present for more than 500 years in the Central Valley of Mexico (de la Cruz-Badiano 1991).

Plant Material

Seeds of *D. stramonium* for the common garden experiment were obtained from three populations from different plant communities in Central Mexico. Populations from Sto. Domingo (19°00'N and 99°03'W) and Zirahuén (19°27'N and 101°44'W) with an average annual precipitation (temperature) 1463.2 (19.9°C) and 1400.6 mm (16.4°C), respectively, were from pine-oak forests. The Ticumán population (18°45'N and 99°07'W) belongs to a tropical dry forest with an average annual precipitation and temperature of 802.1 mm and 23.1°C, respectively. The populations of Sto. Domingo and Zirahuén are geographically isolated (\approx 400 km apart), while Sto. Domingo and Ticumán are very close (\approx 30 km), although the latter sites differ in altitude by about 900 m (Valverde et al. submitted data). In a previous study in these natural populations,

significant positive selection on resistance to herbivores was found for Ticumán and Sto. Domingo, while no selection was detected for Zirahuén. Natural levels of resistance were higher in Ticumán than in Sto. Domingo and Zirahuén (Valverde et al. submitted data).

Experimental Design

From each population, 20 randomly selected individuals were chosen. From each individual, 50 seeds of a single fruit were selected. *D. stramonium* is a hermaphroditic species with a high level self-compatibility (91.8%: Núñez-Farfán et al. 1996) and low rates of outcrossing (1.3 to 18.7%: Motten and Antonovics 1992, Cuevas 1996). Thus, seeds within a fruit are more likely related as full-sibs (hereafter families).

The selected seeds were sown in plastic pots (4 liters) filled with a commercial homogenized soil, and the emerged seedlings were maintained for 20 days within the greenhouse. A total of 684 seedlings were transplanted to a common garden (59 × 13 m) within the area of the Pedregal de San Angel Ecological Preserve. Because some families failed to germinate, 39 maternal families (Sto. Domingo, $n = 14$; Ticumán, $n = 15$; Zirahuén, $n = 10$) were introduced to the field. For each family, an average of 17.7 individual plants were planted (range 11-20). Seedlings within plastic pots (10 liters) were transplanted to the common garden following a completely randomized design and sunken into the soil to maintain homogeneous growing conditions. Plants were spaced 1 m apart in a regular grid. Periodically, natural weeds were removed to eliminate interference from others plants. Half of the sample size of each family was allocated randomly to the control treatment with free access for the natural herbivores, and the other half was

treated with two applications of a systemic carbofuran insecticide (FURADAN[®], FMC) at one month interval at a concentration of 1.25 ml l⁻¹ (insecticide treatment). The first application of insecticide occurred five days after transplanting. Control plants were sprayed with the same amount of water (500 ml). In a parallel experiment in the greenhouse, no significant differences were found between plants treated with insecticide and untreated plants of *D. stramonium* for relative growth rate ($F_{1,46} = 0.409$, $P = 0.5255$), number of fruits ($F_{1,46} = 0.007$, $P = 0.9322$) and total number of seeds ($F_{1,46} = 0.061$, $P = 0.8056$).

For each plant, two estimates of total leaf area were taken (40 days interval from t_0 to t_1 ; t_0 was taken 10 days after transplanting) in order to obtain a measure of relative growth rate (RGR); which was calculated as $(\ln \text{leaf area}_1 - \ln \text{leaf area}_0) / (t_1 - t_0)$ (Pearcy et al. 1989). Leaf area for each leaf was estimated measuring leaf length and using a regression model [leaf area = $0.329 \cdot (\text{leaf length})^2$, $r^2 = 0.987$, $n = 120$, $P < 0.001$] (Núñez-Farfán and Dirzo 1994). Leaf length was measured using a digital caliper to the nearest 0.01 mm (Mitutoyo Corp., Tokyo, Japan).

In order to obtain leaf damage, all leaves were harvested for each plant at the end of the experiment (early November). For each plant, relative leaf damage for all leaves was measured directly with a Color Windows Image Analysis System (WinDIAS-Basic, Delta-T Devices Ltd., Cambridge, England). For a given plant, relative resistance was defined as $(1 - \text{relative damage})$, following previous studies (Berenbaum et al. 1986, Fritz and Price 1988, Simms and Rausher 1989, Simms 1992, Núñez-Farfán and Dirzo 1994, Núñez-Farfán et al. 1996, Tiffin and Rausher 1999, Valverde et al. submitted data). All

fruits were collected for each plant. Individual plant fitness was obtained by counting the total number of seeds per plant.

Data analysis

Resistance and relative growth rate were standardized to a mean of 0 and a standard deviation of 1. Relative fitness (w_i) of a given plant was estimated as $w_i = W_i / \bar{W}$, where W_i is the total number of seeds per plant i , and \bar{W} is the population average for this character. Thus, $\bar{w} = 1$ (Lande and Arnold 1983). Relative fitness and standardized independent variables were used for all subsequent analyses. In each treatment, differences among populations in resistance, relative growth rate and fitness were determined using a one-way analysis of variance (ANOVA).

In the control treatment, the intensity and direction of natural selection on resistance and relative growth rate were estimated for each population using multiple regression analysis as suggested by Lande and Arnold (1983). In order to estimate directional (β_i), curvilinear (stabilizing and disruptive: γ_{ii}), and correlational (γ_{ij}) selection gradients, partial multiple linear regression and multivariate quadratic regression were conducted, respectively, on relative fitness (w_i) as a function of the two standardized independent variables (Lande and Arnold 1983, Mitchell-Olds and Shaw 1987, Rausher and Simms 1989, Núñez Farfán and Dirzo 1994, Núñez Farfán et al. 1996). Because the two independent variables were standardized, selection gradient estimates are comparable in units of standard deviations of untransformed variables (Lande and Arnold 1983, Nagy 1997). Selection analysis in the insecticide treatment (herbivores absent) was performed

only on relative growth rate. Selection gradients and their standard errors were estimated using FREE-STAT (version 1.10, Mitchell-Olds 1989). Jackknife estimates of the standard errors of the significant selection gradients were also obtained. The Jackknife procedure permits to approximate t-tests of significance, which are robust to deviations from normality and to heterogeneity of residual variances (Mitchell-Olds 1989). All selection analyses were performed for both individual phenotypes (Lande and Arnold 1983) and family means (Rausher 1992).

Analyses of covariance (ANCOVA) between treatments were performed to determine if the pattern of selection on relative growth rate was altered by the presence or absence of natural enemies. In this case, a significant Treatment \times RGR interaction will indicate that natural herbivory exerts significant selection on plant growth (Mauricio and Rausher 1997). The same analysis was performed for each population. All analyses were performed using the JMP[®] statistical package (SAS Institute 1995).

Results

Population differentiation

In the control treatment, when herbivores were present, significant population differentiation for resistance to herbivorous insects was detected ($F_{2,338} = 8.40$, $P = 0.0003$). The Ticumán population had higher average resistance than the two other populations (Table 1). In contrast, no differences in average resistance were detected between the Sto. Domingo and Zirahuén populations (Table 1). This pattern of differentiation is in agreement with previous results found in the field (Valverde et al.

submitted data). No differences among populations for relative growth rate (RGR) ($F_{2,332} = 0.64, P = 0.5256$) and fitness ($F_{2,331} = 0.01, P = 0.9938$) were detected in the control treatment (herbivores present). *Lema trilineata*, *Epitrix parvula*, *Sphenarium purpurascens* and lepidopterans were the main herbivores responsible for leaf damage in our experiment (see *Plant-Herbivore System*).

In the absence of herbivores (insecticide treatment), significant differences among populations on RGR were detected ($F_{2,348} = 3.75, P = 0.0244$). Plants from Ticumán had higher RGR than plants from Zirahuén (Table 1). No other comparison of average values were significant (Table 1). Marginally significant differences for relative fitness among populations were observed ($F_{2,348} = 3.00, P = 0.0509$).

Natural selection on resistance and RGR

Selection analysis on both phenotypic (individual) and genetic (family mean) levels revealed contrasting selection patterns among populations in the control treatment. For the Ticumán population, significant directional selection for higher resistance was detected in the phenotypic- and family-level analyses (Table 2, Fig. 1C). In contrast, no selection on resistance to herbivores was detected at any level, phenotypic and genetic, for Sto. Domingo and Zirahuén (Table 2, Fig. 1A, B).

Selection analysis of RGR was performed in both treatments. In the presence of herbivores, phenotypic and genetic selection for higher RGR was found for Sto Domingo and Zirahuén but not for Ticumán (Table 2, Fig. 2). An ANCOVA revealed no significant differences between the phenotypic and family level selection gradients (β_i) on RGR

(phenotypic level: population \times RGR: $F_{1,194} = 0.07$, $P = 0.7799$; family level: population \times RGR: $F_{1,20} = 0.77$, $P = 0.3890$), between Sto. Domingo and Zirahuén.

In the absence of herbivores, positive phenotypic selection on RGR was detected for the three populations (Fig. 2), but positive directional selection on family means was detected only for Ticumán and Zirahuén (Table 2). A comparison of the magnitude of the phenotypic selection gradients among populations indicated that Ticumán had a higher slope and differed significantly from Sto. Domingo ($F_{1,255} = 7.33$, $P = 0.0072$) and Zirahuén ($F_{1,226} = 5.76$, $P = 0.0171$) (Table 2, Fig. 2). No significant differences were found in the magnitude of the selection gradients between Sto. Domingo and Zirahuén ($F_{1,209} = 0.01$, $P = 0.9362$) (Fig. 2). At the family level, a comparison among the two significant selection gradients on RGR indicated no differences between Ticumán and Zirahuén ($F_{1,21} = 0.37$, $P = 0.5458$).

In the presence of herbivores, phenotypic stabilizing selection on RGR ($\gamma = -0.089$, $P = 0.0093$) and positive correlative selection ($\gamma_{\text{RGR} \times \text{resistance}} = 0.267$, $P = 0.0013$) were detected only in the population of Sto. Domingo. The presence of positive correlational selection between RGR and resistance in the population of Sto. Domingo suggests a synergistic effect of both traits on fitness, implying that plants with high values of RGR and resistance had higher fitness than plants with either high RGR or high resistance values.

Effect of herbivory on RGR

In both phenotypic and family levels, an ANCOVA revealed significant differences in plant fitness between treatments (control vs. insecticide). Higher average plant fitness was attained in the absence of herbivores than in their presence (Table 3). However, a comparison of each population in both treatments revealed that only the Ticumán population showed significant differences in plant fitness (phenotypic level: $F_{1, 271} = 4.44$, $P = 0.0360$; family level: $F_{1, 28} = 4.26$, $P = 0.0483$) (Table 1). This population achieved higher fitness in the insecticide than in the control treatment.

The comparison of RGR between treatments at the phenotypic level, indicated that RGR was higher in the control than in the insecticide treatment ($F_{2, 683} = 3.50$, $P = 0.0306$). In this case, only Sto. Domingo showed significant differences between treatments for RGR ($F_{1, 239} = 4.31$, $P = 0.0389$) (Table 1). For this population, plants in the control treatment had higher RGR than those of the insecticide treatment. The comparison of RGR between treatments at the family level did not detect significant differences ($F_{1, 76} = 3.83$, $P = 0.0537$).

At the phenotypic level, the presence/absence of natural herbivores altered the pattern of selection on RGR as indicated by the significant Treatment \times RGR interaction (Table 3). Analyses of the effects of natural herbivorous in each of the populations indicated that herbivory altered the pattern of selection on RGR for plants from Ticumán, as showed by the significant Treatment \times RGR interaction ($F_{1, 267} = 14.00$, $P = 0.0002$) for this population. This analysis is in agreement with the lack of evidence for selection on RGR for Ticumán in the presence of herbivores. In contrast, there was no evidence of

contrasting selection on RGR between treatments for Sto. Domingo ($F_{1,233} = 0.26$, $P = 0.6055$) and Zirahuén ($F_{1,170} = 0.01$, $P = 0.9252$).

Discussion

The results of this study indicate that populations of *D. stramonium* are locally differentiated in resistance to herbivorous insects. This pattern of population differentiation is consistent with the results found in the field (Valverde et al. submitted data). Contrasting selection on resistance and RGR in the common garden support the adaptive significance of these traits in their native environment. Only in the population with the highest average resistance (i.e. Ticumán), phenotypic and genotypic selection to increase resistance to herbivorous insects was detected. Furthermore, besides a reduction of plant fitness due to herbivory in Ticumán, the pattern of selection on RGR was altered in the presence of herbivores (see Rausher 1996). Overall, differences on average levels of resistance among populations was consistent with observed patterns of selection, invoking local adaptation (Conover and Schultz 1995).

Local differentiation to herbivory

Local variation in plant populations for resistance to herbivory has been supported in ecological studies comparing the levels of defense, growth and/or reproductive success of plants in common garden or reciprocal transplant experiments (Cates 1975, Zangerl and Berenbaum 1990, Sork et al. 1993, Stowe et al. 1994, Wainhouse and Ashburner 1996, Daehler and Strong 1997). Nevertheless, it is difficult to be certain that variation in

resistance to herbivory is adaptive (Scheiner and Teeri 1986, van Tienderen and van der Toorn 1991a, b, Jordan 1992, Dudley 1996, Schmitt 1999, Mosseau et al. 2000). Studies of natural selection on resistance provide a direct assessment of whether variation is adaptive.

In *D. stramonium*, two lines of evidence support local adaptation for resistance to herbivores. First, we found that differences in resistance among populations are maintained in an environment where potential differences in herbivory load characteristics of native habitats have been removed. Second, resistance was selected both in the common garden and in natural conditions (Valverde et al. submitted data) for the Ticumán population, underscoring the adaptive significance of variability in plant resistance to herbivores. Thus, differences in resistance found in the field were unrelated to non-adaptive phenotypic plasticity. These results indicate that the different responses of populations of *D. stramonium* to selection imposed by natural herbivores is the result of local adaptation.

Growth and defense as alternatives against herbivory

Although growth and defense are considered alternative strategies of plants against herbivory (Coley et al. 1985, van der Meijden et al. 1988, Herms and Mattson 1992, Belsky et al. 1993, de Jong 1995, Fineblum and Rausher 1995, Strauss and Agrawal 1999, de Jong and van der Meijden 2000), little empirical evidence has actually confirmed such contention in natural systems (van der Meijden et al. 1988). Our results suggest that the existence of alternative defensive strategies can result from different selection patterns on

growth and resistance. For instance, selection analyses indicated that both relative growth rate and resistance to herbivorous insects were not equally favored in our experiment. Specifically, when herbivores were present, analyses revealed that RGR was positively selected in plants from Sto. Domingo and Zirahuén, whereas resistance was selected in plants from Ticumán. The fact that average maternal fitness values did not differ among populations supports the argument that both traits (i.e. growth rate and resistance) can offer equivalent fitness benefits against damage by herbivores (van der Meijden et al. 1988, Simms and Triplett 1994, Fineblum and Rausher 1995, Mauricio et al. 1997). Thus, if contrasting selection on growth and resistance were detected under the same biotic and abiotic environmental conditions, this suggests that the costs of growth and defense would vary among populations (Herms and Mattson 1992, Belsky et al. 1993, Hockwender et al. 2000, Tiffin 2000).

Effects of herbivory on plant growth

Empirical and theoretical evidence indicates that plant growth can be associated with a compensatory response following damage (Crawley 1983, Belsky et al. 1993, Rosenthal and Kotanen 1994, Strauss and Agrawal 1999). Some studies have shown that fast growing plants are better able to compensate leaf damage than slower growing plants (van der Meijden et al. 1988, Jing and Coley 1990, Rosenthal and Kotanen 1994, de Jong 1995). In natural systems, the ability to compensate leaf damage due to herbivory has direct advantages (Herms and Mattson 1992, Trumble et al. 1993, Strauss and Agrawal 1999), although the adaptive role of compensation as a selective response against

herbivory has been debated extensively (Aarssen and Irwin 1991, Belsky et al. 1993, Aarssen 1995, de Jong and van der Meijden 2000). If apparent compensation for leaf damage were selectively favored by factors other than herbivory, only the comparison of selection patterns between damaged and undamaged plants can reveal whether the traits are part of an adaptive response against herbivory (Rausher 1996, Mauricio and Rausher 1998).

The results of the present study revealed no differences in selection on RGR in the presence or absence of herbivores. For instance, in Sto. Domingo and Zirahuén, the pattern and intensity of selection of RGR did not differ between damaged and undamaged plants. Although contrasting selection on RGR and fitness costs of herbivory were detected for Ticumán between treatments, a non adaptive role of RGR against herbivory can be argued since higher RGR was not selected in the presence of herbivores (Rausher 1996). Nevertheless, the absence of differences in average fitness and the similar pattern of selection on RGR between damaged and undamaged of plants from Sto. Domingo and Zirahuén suggest a compensatory response. The occurrence of a significant increase in RGR in the control treatment for Sto. Domingo, and the absence of difference in Zirahuén suggests that compensation of plants from Zirahuén might be expressed in other physiological traits (Herms and Mattson 1992, Trumble et al. 1993, Fornoni and Núñez-Farfán 2000). Thus, the results of our study suggest that different levels of compensation may be encountered among populations of *D. stramonium* (cf. Paige 1999).

Final considerations

The results of this study suggest that the assessment of the adaptive component of variation in traits involved in plant-herbivore interactions is a useful approach to test theoretical expectations for the evolution of plant defense. The use of a common garden approach, the exclusion of herbivores, and the analysis of natural selection, allow us to further evaluate the adaptive process of population differentiation in *D. stramonium*. Although differences in the levels of defense have been observed in other plant populations (Zangerl and Berenbaum 1990, Sork et al. 1993, Dachler and Strong 1997), few, if any, studies have shown that these differences are the result of different selection patterns. The expression of plant defenses can be environment-dependent (Fritz 1990, Marquis 1992, Zangerl and Bazzaz 1992, Sork et al. 1993, Stowe et al. 1994, Thompson 1994, Rand 1999), but the occurrence of the differences in selection patterns on growth and resistance found within a homogeneous environment suggest that population differences resulted from local adaptation. A previous study in *D. stramonium* indicated differences among maternal families in their susceptibility to a specialist folivore (*Epitrix* spp.), suggesting genetic variation for this trait (Shonle and Bergelson 2000). In this study, the detection of phenotypic differences among populations and selection on family means suggest that natural selection may be affecting genetic variance for resistance to herbivores at least for the population from Ticumán. Thus, future studies are needed to evaluate whether there is a significant additive genetic component to the broad-sense genetic variation in resistance to herbivores detected in *D. stramonium*. Finally, this study shows that alternative strategies to cope with herbivory can potentially evolve among plant populations as a consequence of natural selection (van der Meijden et al. 1988, de

Jong 1995, Tiffin 2000). In *D. stramonium*, this might lead to a geographic selection mosaic in plant traits involved in the interaction with herbivores (Thompson 1999).

Acknowledgements – We are very grateful to Rodolfo Dirzo, Luis Eguiarte, José García-Franco, Robert Marquis and Stephen Weller for valuable comments and suggestions to the manuscript. Thanks to R. Torres, J. Vargas, R. Cueva, F. Rosas, A. Díaz, R. Parra and J. Zamudio, for their help in the field and laboratory work. This study is part of the Doctoral dissertation of P.L.V. who is grateful to the Dept. of Biology, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa and CONACyT. A scholarship from DGEP (UNAM) to J. F. is acknowledged. This study was supported by a CONACyT grant (Project No. 25662-N) to J. N-F.

References

- Aarssen, L. W. and Irwin, D. L. 1991. What selection: herbivory or competition? – *Oikos* 60: 261-262.
- Aarssen, L. W. 1995. Hypotheses for the evolution of apical dominance in plants: implications for the interpretation of overcompensation. – *Oikos* 74: 149-156.
- Ågren, J. and Schemske, D. W. 1994. Evolution of trichome number in a naturalized population of *Brassica rapa*. – *Evolution* 48: 1-13.
- Avery, A., Satina, S. and Rietsema, J. 1959. *Blakeslee: the genus Datura*. – The Ronald Press Company.
- Abrahamson, W. G. and Weis, A. E. 1997. Evolutionary ecology across three trophic levels: goldenrods, gall-makers, and natural enemies. – *Monographs in Population Biology*, Princeton University Press.
- Bell, G. 1997. Selection. *The mechanism of Evolution*. – Chapman & Hall.
- Belsky, A. J., Carson, W. P., Jensen, C. L. and Fox, G. A. 1993. Overcompensation by plants: herbivore optimization or red herring? – *Evolutionary Ecology* 7: 109-121.
- Benkman, C. W. 1999. The selection mosaic and diversifying coevolution between crossbills and lodgepole pine. – *American Naturalist* 153: S75-S91.
- Berenbaum, M. R., Zangerl, A. R. and Nitao, J. K. 1986. Constraints on chemical coevolution: wild parsnip and the parsnip webworm. – *Evolution* 40: 1215-1228.
- Bradshaw, A. D. 1984. The importance of evolutionary ideas in ecology and vice versa. – In: Shorrocks, B. (ed.), *Evolutionary Ecology*. Blackwell Scientific Publications, pp.1-24.

- Carlsson, U. 1997. Anther-smut disease in *Silene dioica*: variation in susceptibility among genotypes and populations, and patterns of disease within population. – *Evolution* 51: 1416-1426.
- Cates, R. G. 1975. The interfase between slugs and wild ginger: some evolutionary aspects. – *Ecology* 46: 391-400.
- Clausen, J. and Hiesey, W. N. 1958. Experimental Studies on the Nature of Species. IV. Genetic structure of ecological races. – Publication 615, Carnegie Institution of Washington.
- Clement, S. L. 1994. Resistance among populations of yellow starthistle to thistle-head insects: results from garden plots in Italy. – *Biological Control* 4: 149-156.
- Coley, P. D., Bryant, J. P. and Chapin III, F. S. 1985. Resource availability and plant antiherbivory defense. – *Science* 230: 895-899.
- Coley, P.D. and Aide, T.M. 1990. Comparisons of herbivory and plant defense in temperate and tropical broad-leaved forest. – In: Price, P. W., Lewinsohn, T. M., Fernandes, T. W. and Benson, W. W. (eds.), *Plant-animal interactions: evolutionary ecology in tropical and temperate regions*. Wiley. pp. 25-49.
- Crawley, M. J. 1983. *Herbivory: The Dynamics of Animal-Plant Interactions*. – Blackwell Scientific Publications.
- Crawley, M. J. 1996. *Plant Ecology*. – Blackwell Science.
- Conover, D. O. and E. T. Schultz. 1995. Phenotypic similarity and the evolutionary significance of countergradient variation. – *Trends in Ecology and Evolution* 10: 248-252.

- Cuevas, E. 1996. Tasa de entrecruzamiento, vecindario genético y tamaño efectivo de la población en *Datura stramonium* L. (Solanaceae). – Bachelor's thesis, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Dachler, C. C., and D. R. Strong. 1997. Reduced herbivory resistance in introduced smooth cordgrass (*Spartina alterniflora*) after a century of herbivory-free growth. – *Oecologia* 110: 99-108.
- de Jong, T. J. 1995. Why fast growing plants do not bother about defence. – *Oikos* 74: 545-548.
- de Jong, T. J. and van der Meijden, E. 2000. On the correlation to defence and regrowth in plants. – *Oikos* 88: 503-508.
- De la Cruz, M. and Badiano, J. 1991. *Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis*. Spanish Facsimile (1552). – Fondo de Cultura Económica, México.
- Dolinger, P. M., Ehrlich, P. R., Fitch, W. L. and Breedlove, D. E. 1973. Alkaloid and predation patterns in Colorado lupine populations. – *Oecologia* 13: 191-201.
- Dudley, S. A. 1996. Differing selection on plant physiological traits in response to environmental water availability: a test of adaptative hypothesis. – *Evolution* 50: 92-102.
- Edmunds, G. F. and Alstad, D. N. 1978. Coevolution in insect herbivores and conifers. – *Science* 199: 941-945.
- Endler, J. A. 1977. *Geographic variation, speciation, and clines*. – Princeton University Press.
- Fagerström, T., Larsson, S. and Tenow, O. 1987. On optimal defence in plants. –

- Functional Ecology 1: 73-81.
- Fineblum, W. L., and Rausher, M. D. 1995. Evidence for a trade-off between resistance and tolerance to herbivore damage in a morning glory. – *Nature* 377: 517-520.
- Fornoni, J. and Núñez-Farfán, J. 2000. Evolutionary ecology of *Datura stramonium*: Genetic variation and costs for tolerance to defoliation. – *Evolution* 54: 789-797.
- Fritz, R. S. and Price, P. W. 1988. Genetic variation among plants and insect community structure: willows and sawflies. – *Ecology* 69: 845-856.
- Fritz, R. S. 1990. Effects of genetic and environmental variation on resistance of willows to sawflies. – *Oecologia* 82: 325-332.
- Fritz, R. S. and Simms, E. L. 1992. Plant resistance to herbivores. Ecology, evolution, and genetics. – University of Chicago Press.
- Gómez, J.M. and Zamora, R. 2000. Spatial variation in the selective scenarios of *Hormathophylla spinosa* (Cruciferae). – *American Naturalist* 155: 657-668.
- Hägele, B. F. and Rowell-Rahier, M. 1999. Genetic and environmental-based variability in secondary metabolic leaf content of *Adenostyles alliariae* and *A. alpina* (Asteraceae). A test of resource availability hypothesis. – *Oikos* 85: 234-246.
- Hare, J. D. and Futuyma, D. J. 1978. Different effects of variation in *Xanthium strumarium* L. (Compositae) on two insects seed predators. – *Oecologia* 37: 109-112.
- Herms, D. A. and Mattson, W. J. 1992. The dilemma of plants: to grow or defend. – *Quarterly Review of Biology* 67: 283-335.
- Hockwender, C. G., Marquis, R. J. and Stowe, K. A. 2000. The potential for and

- constraints on the evolution of compensatory ability in *Asclepias syriaca*. – *Oecologia* 122: 361-370.
- Jarosz, A. M. and Burdon, J. J. 1991. Host-pathogen interaction in natural populations of *Linum marginale* and *Melampsora lini*. II. Local and regional variation in patterns of resistance and racial structure. – *Evolution* 45: 1618-1627.
- Jing, S. W. and Coley, P. D. 1990. Dioecy and herbivory: the effect of growth rate on plant defense in *Acer negundo*. – *Oikos* 58: 369-377.
- Jonas, C. S. and Geber, M. A. 1999. Variation among populations of *Clarkia unguiculata* (Onagraceae) along altitudinal and latitudinal gradients. – *American Journal of Botany* 86: 333-343.
- Jordan, N. 1992. Path analysis of local adaptation in two ecotypes of the annual plant *Diodia teres* Walt. (Rubiaceae). – *American Naturalist* 140: 149-165.
- Kennedy, G.G. and Barbour, J.D. 1992. Resistance variation in natural and managed systems. – In: Fritz, R. S and Simms, E. L. (eds.), *Plant resistance to herbivory and pathogens. Ecology, evolution and genetics*. The University of Chicago Press, pp. 13-41.
- Kercher, S. and Conner, J. K. 1996. Patterns of genetic variability within and among populations of wild radish, *Raphanus raphanistrum* (Brassicaceae). – *American Journal of Botany* 83: 416-421.
- Kogan, M. and Goeden, R.D. 1970a. The biology of *Lema trilineata daturaphyla* (Coleoptera: Chrysomelidae) with notes on efficiency of food utilization by larvae. – *Annals of the Entomological Society of America* 63: 537-546.

- Kogan, M. and Goeden, R.D. 1970b. The host-plant range of *Lema trilineata daturaphyla* (Coleoptera: Chrysomelidae). – *Annals of the Entomological Society of America*. 63: 1175-1180.
- Lande, R. and Arnold, S.J. 1983. The measurement of selection on correlated characters. – *Evolution* 37: 1210-1226.
- Levin, D. A. 1976. Alkaloid-bearing plants: an ecogeographic perspective. – *American Naturalist* 110: 261-284.
- Levin, D. A. 1988. Local differentiation and the breeding structure of plant populations. In: – Gottleib, L. D. and Jain, S. K. (eds.), *Plant Evolutionary Biology*. Chapman and Hall, pp. 305-329.
- Marquis, R. J. 1992. The selective impact of herbivory. – In: Fritz, R. S and Simms, E. L. (eds.), *Plant resistance to herbivory and pathogens. Ecology, evolution and genetics*. The University of Chicago Press, pp. 301-325.
- Mauricio, R. and Rausher, M.D. 1997. Experimental manipulation of putative selective agents provides evidence for the role of natural enemies in the evolution of plant defense. – *Evolution* 51: 1475-1444.
- Mauricio, R., Rausher, M. D. and Burdick, D. S. 1997. Variation in the defense strategies of plants: are resistance and tolerance mutually exclusive? – *Ecology* 78:1301-1311.
- McGraw, J.B, Gottschalk, K.W., Vavrek, M.C. and Chester, A.L. 1990. Interactive effects of resource availabilities and defoliation on photosynthesis, growth, and mortality of red oak seedlings. – *Tree Physiology* 7:247-254.
- Mitchell-Olds, T. and Shaw, R.G. 1987. Regression analysis of natural selection:

- statistical inference and biological interpretation. – *Evolution* 41: 1149-1161.
- Mitchell-Olds, T. 1989. FREE-STAT version 1.10 user manual. – Technical Bulletin No. 101. Division of Biological Sciences, University of Montana.
- Mosseau, T.A., Sinervo, B. and Endler, J. A. 2000. Adaptive Genetic Variation in the Wild. – Oxford University Press.
- Motten, A. F. and Antonovics, J. 1992. Determinants of outcrossing rate in a predominantly self-fertilizing weed, *Datura stramonium* (Solanaceae). – *American Journal Botany* 79: 419-427.
- Mutikainen, P., Salonen, V., Puustinen, S. and Koskela, T. 2000. Local adaptation, resistance, and virulence in a hemiparasitic plant-host plant interaction. – *Evolution* 54: 433-440.
- Nagy, E.S. 1997. Selection for native characters in hybrids between two locally adapted plant subspecies. – *Evolution* 51: 1469-1480.
- Núñez-Farfán, J. 1991. Biología evolutiva de *Datura stramonium* L. en el Centro de México: selección natural de la resistencia a los herbívoros, sistema de cruzamiento y variación genética intra e inter-poblacional. – Ph. D. Dissertation, Centro de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Núñez-Farfán, J. and Dirzo, R. 1994. Evolutionary ecology of *Datura stramonium* L. in Central Mexico: natural selection for resistance to herbivorous insects. – *Evolution* 48: 423-436.
- Núñez-Farfán, J., Cabrales-Vargas, R. A. and Dirzo, R. 1996. Mating system consequences on resistance to herbivory and life history traits in *Datura stramonium*.

- American Journal of Botany 83: 1041-1049.
- Paige, K. N. 1999. Regrowth following ungulate herbivory in *Ipomopsis aggregata*: geographic evidence for overcompensation. – *Oecologia* 118: 316-323.
- Peterson, B.L. and Dively, G. P. 1981. Effects of feeding by *Lema trivittata* (Coleoptera: Chrysomelidae) on the growth, reproduction and competitive ability of jimsonweed in soybeans. – *Proceedings of Northeastern Weed Science Society* 35: 78.
- Rand, T. A. 1999. Effects of environmental context on the susceptibility of *Atriplex patula* to attack by herbivorous beetles. – *Oecologia* 121: 39-46.
- Rausher, M. D. and Simms, E. L. 1989. The evolution of resistance to herbivory in *Ipomoea purpurea*. I. Attempts to detect selection. – *Evolution* 43: 563-572.
- Rausher, M. D. 1992. The measurement of natural selection on quantitative traits: biased due environmental covariance between trait and fitness. – *Evolution* 46: 616-626.
- Rausher, M. D. 1996. Genetic analysis of coevolution between plants and their natural enemies. – *Trends in Genetics* 12: 212-217.
- Rosenthal, J. P. and Kotanen, P.M. 1994. Terrestrial plant tolerance to herbivory. – *Trends in Ecology and Evolution* 9:145-148.
- SAS. 1995. JMP Statistics and Graphics Guide, Version 3.1. – SAS Institute Inc.
- Scheiner, S. M. and Teeri, J. A. 1986. Phenotypic flexibility and genetic adaptation along a gradient of secondary forest succession in the grass *Danthonia spicata*. – *Canadian Journal of Botany* 64: 739-747.
- Schmitt, J. and Gamble, S. E. 1990. The effect of distance from the parental site on offspring performance and inbreeding depression in *Impatiens capensis*: a test of local

- adaptation hypothesis. – *Evolution* 44: 2022-2030.
- Schmitt, J. 1999. Introduction: experimental approaches to testing adaptation. – *American Naturalist* 154: S1-S3.
- Schwaegerle, K. E., Garbutt, K. and Bazzaz, F. A. 1986. Differentiation among nine populations of *Phlox*. 1. Electrophoretic and quantitative variation. – *Evolution* 40: 506-517.
- Shonle, I. and Bergelson, J. 2000. Evolutionary ecology of the tropane alkaloids of *Datura stramonium* L. (Solanaceae). – *Evolution* 54: 778-788.
- Simms, E. L. 1992. Cost of plant resistance to herbivory. In: – Fritz, R. S. and Simms, E. L. (eds.), *Plant Resistance to Herbivory and Pathogens. Ecology, Evolution and Genetics*. The University of Chicago Press. pp 392-425.
- Simms, E.L. and Rausher, M.D. 1989. The evolution of resistance to herbivory in *Ipomoea purpurea*. II. Natural selection by insects and costs of resistance. – *Evolution* 43: 573-585.
- Simms, E. L., and Triplett, J. 1994. Costs and benefits of plant responses to disease: resistance and tolerance. – *Evolution* 48:1973-1985.
- Sork, V. L., Stowe, K. A. and Hochwender, C. 1993. Evidence for local adaptation in closely adjacent subpopulations of northern red oak (*Quercus rubra* L.) expressed as resistance to herbivores. – *American Naturalist* 142: 928-936.
- Stowe, K. A., Sork, V. L. and Farrell, A. W. 1994. Effects of water availability on the phenotypic expression of herbivory resistance in northern red oak (*Quercus rubra* L.). – *Oecologia* 100: 309-315.

- Stowc, K. A. 1998. Experimental evolution of resistance in *Brassica rapa*: correlated response of tolerance in lines selected for glucosinolate content. – *Evolution* 52: 703-712.
- Strauss, S. and Agrawal, A. 1999. The ecology and evolution of plant tolerance to herbivory. – *Trends in Ecology and Evolution* 14: 179-185.
- Rzedowski, J. 1954. Vegetación del Pedregal de San Angel (D.F. México). – *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional* 8: 59-129.
- Tiffin, P. and Rausher, M. D. 1999. Genetic constraints and selection acting on tolerance to herbivory in the common morning glory *Ipomea purpurea*. – *American Naturalist* 154: 700-716.
- Tiffin, P. 2000. Are tolerance, avoidance, and antibiosis evolutionary and ecologically equivalent responses of plants to herbivores? – *American Naturalist* 155: 128-138.
- Thompson, J. N. 1994. *The coevolutionary Process*. – The University of Chicago Press.
- Thompson, J. N. 1999. The raw material for coevolution. – *Oikos* 84: 5-16.
- Trumble, J. T., Kolodny-Hirsch, D. M. and Ting, I. P. 1993. Plant compensatory for arthropod herbivory. – *Annual Review of Ecology and Systematics* 39:93-119.
- van der Meijden, E., Wijn, M. and Verkaar, H. J. 1988. Defence and regrowth, alternative plant strategies in the struggle against herbivores. – *Oikos* 51: 355-363.
- van Tienderen, E. and van der Toorn, J. 1991a. Genetic differentiation between populations of *Plantago lanceolata*. I. Local adaptation in three contrasting habitats. – *Journal of Ecology* 79: 27-42.

- van Tienderen, E. and van der Toorn, J. 1991b. Genetic differentiation between populations of *Plantago lanceolata*. II. Phenotypic selection in transplant experiment in three contrasting habitats. – *Journal of Ecology* 79: 43-59.
- Wainhouse, D. and Ashburner, R. 1996. The influence of genetic and environmental factors on defensive traits in Spruce. – *Functional Ecology* 10: 137-143.
- Waring, R. H., McDonald, A. J. S., Jarsson, S., Ericsson, T., Wiren, A., Arwindsson, E., Ericsson, A. and Lohammar, T. 1985. Differences in chemical composition of plants grown at constant relative growth rates with stable mineral nutrition. – *Oecologia* 66: 157-160.
- Weaver, S. E. and Warwick, S. I. 1984. The biology of Canadian weeds. 64. *Datura stramonium* L. – *Canadian Journal of Plant Science* 64: 979-991.
- Weaver, S. E., Dirks, V. A. and Warwick, S. I. 1985. Variation and climatic adaptation in northern populations of *Datura stramonium*. – *Canadian Journal of Botany* 63: 1303-1308.
- Weber, E. and Schimid, B. 1998. Latitudinal population differentiation in two species of *Solidago* (Asteraceae) introduced into Europe. – *American Journal of Botany* 85: 637-643.
- Wilkens, R. T., Shea, G. O., Halbreich, S. and Stamp, N. E. 1996. Resource availability and the trichome defenses of tomato plant. – *Oecologia* 106: 181-191.
- Zangerl, A. R. and Berenbaum, M. R. 1990. Furanocoumarin induction in wild parsnip: genetics and populational variation. – *Ecology* 71: 1933-1940.

Zangerl, A. and Bazzaz, F. A. 1992. Theory and pattern in plant defense allocation. – In:
Fritz, R. S. and Simms, E. L. (eds.), Plant resistance to herbivory and pathogens.
Ecology, evolution and genetics. The University of Chicago Press, pp. 363-391

Table 1. Means (standard error) for relative growth rate (RGR), resistance and fitness in the control and insecticide treatment for three populations of *Datura stramonium* (see Materials and Methods). Different letters indicate significant differences between pairs of populations within treatments for each character following a one-way analysis of variance ($P < 0.05$).

| Populations | Control treatment (Herbivores present) | | | Insecticide treatment (Herbivores absent) | |
|--------------|---|-------------------------------|----------------------------------|--|----------------------------------|
| | RGR ¹ | Resistance ² | Fitness ³ | RGR ¹ | Fitness ³ |
| Sto. Domingo | 0.061 ^a (0.001) | 0.863 ^a (0.005) | 540.583 ^a (39.135) | 0.056 ^{ab} (0.001) | 562.015 ^a (45.49) |
| Zirahuén | 0.059 ^a (0.002) | 0.877 ^a (0.006) | 538.418 ^a (45.91) | 0.053 ^a (0.002) | 526.505 ^a (55.38) |
| Ticumán | 0.061 ^a (0.001) | 0.895 ^b (0.005) | 544.463 ^a (33.468) | 0.060 ^b (0.001) | 775.124 ^a (103.17) |
| Average | 0.061 (0.001) | 0.879 (0.003) | 541.613 (22.245) | 0.057 (0.001) | 637.775 (46.24) |

¹ [(ln leaf area₁ - ln leaf area₀) / (40 days)]

² [1 - (relative damage)]

³ (total seeds × plant)

Table 2. Directional (β) selection gradients of selection analyses for each population of *Datura stramonium* in the control (herbivores present) and insecticide treatment (herbivores absent). Standard errors are given in parentheses. After jackknife analyses, selection estimates remained significant (see *Data analysis*). For the population of Sto. Domingo, significant stabilizing and correlational selection gradients were detected (see Results). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, ^{n.s} $P > 0.05$.

| Populations | Characters | Control treatment | | Insecticide treatment | |
|--------------|------------|---------------------------------|----------------------------------|-----------------------|---------------------------------|
| | | β phenotypic | β family means | β phenotypic | β family means |
| Sto. Domingo | RGR | 0.265*** (0.057) | 0.166*** (0.045) | 0.355*** (0.069) | 0.014 ^{n.s} (0.173) |
| | Resistance | 0.068 ^{n.s} (0.051) | -0.173 ^{n.s} (0.103) | ----- | ----- |
| Zirahuén | RGR | 0.310** (0.075) | 0.341* (0.196) | 0.317** (0.088) | 1.666** (0.469) |
| | Resistance | 0.048 ^{n.s} (0.071) | 0.255 ^{n.s} (0.179) | ----- | ----- |
| Ticumán | RGR | 0.108 ^{n.s} (0.061) | -0.141 ^{n.s} (0.099) | 0.668** (0.175) | 0.983* (0.390) |
| | Resistance | 0.219** (0.069) | 0.290* (0.114) | ----- | ----- |

Table 3. Analysis of covariance for relative fitness of *Datura stramonium* grown in the common garden . Type III sums of squares are provided. All effects are considered fixed.

| Source of variation | Phenotypic analysis | | | | Family means analysis | | | |
|------------------------|---------------------|---------|-------|--------|-----------------------|-------|-------|--------|
| | df | SS | F | P | df | SS | F | P |
| Population | 2 | 2.886 | 1.26 | 0.2835 | 2 | 0.283 | 1.36 | 0.2616 |
| Treatment | 1 | 5.123 | 4.48 | 0.0346 | 1 | 0.509 | 4.92 | 0.0299 |
| Population × Treatment | 2 | 2.813 | 1.23 | 0.2927 | 2 | 0.206 | 0.99 | 0.3752 |
| RGR | 1 | 84.821 | 74.22 | 0.0001 | 1 | 1.263 | 12.19 | 0.0009 |
| Population × RGR | 2 | 4.710 | 2.06 | 0.1281 | 2 | 0.511 | 2.46 | 0.0925 |
| Treatment × RGR | 1 | 10.096 | 8.83 | 0.0031 | 1 | 0.381 | 3.67 | 0.0594 |
| Pop. × Treatment × RGR | 2 | 16.798 | 7.35 | 0.0007 | 2 | 0.881 | 4.25 | 0.0182 |
| Error | 670 | 765.615 | | | 66 | 6.845 | | |

Figure Legends

Fig. 1. Relationship between relative fitness and resistance to herbivorous insects for three populations of *Datura stramonium* in the control treatment (herbivores present) at the phenotypic level (see Table 2). (A) Sto. Domingo, (B) Zirahuén, (C) Ticumán. Significant selection (—) and non significant selection (---) linear fits are indicated. Values of resistance are standardized (see *Data analysis*)

Fig. 2. Linear relationship between relative fitness and relative growth rate for three populations of *Datura stramonium* in the control (herbivores present: see Table 2) and the insecticide (herbivores absent: see Table 2) treatment at the phenotypic level: Sto. Domingo (A), Zirahuén (B), and Ticumán (C). Significant selection (—) and non significant selection (---) linear fits are indicated. Values of RGR are standardized (see *Data analysis*).

Figure 1

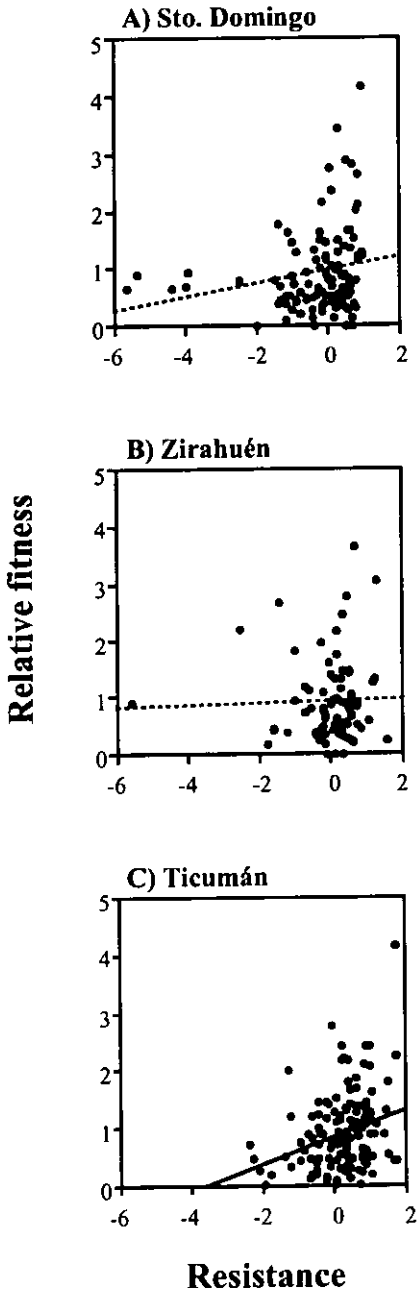
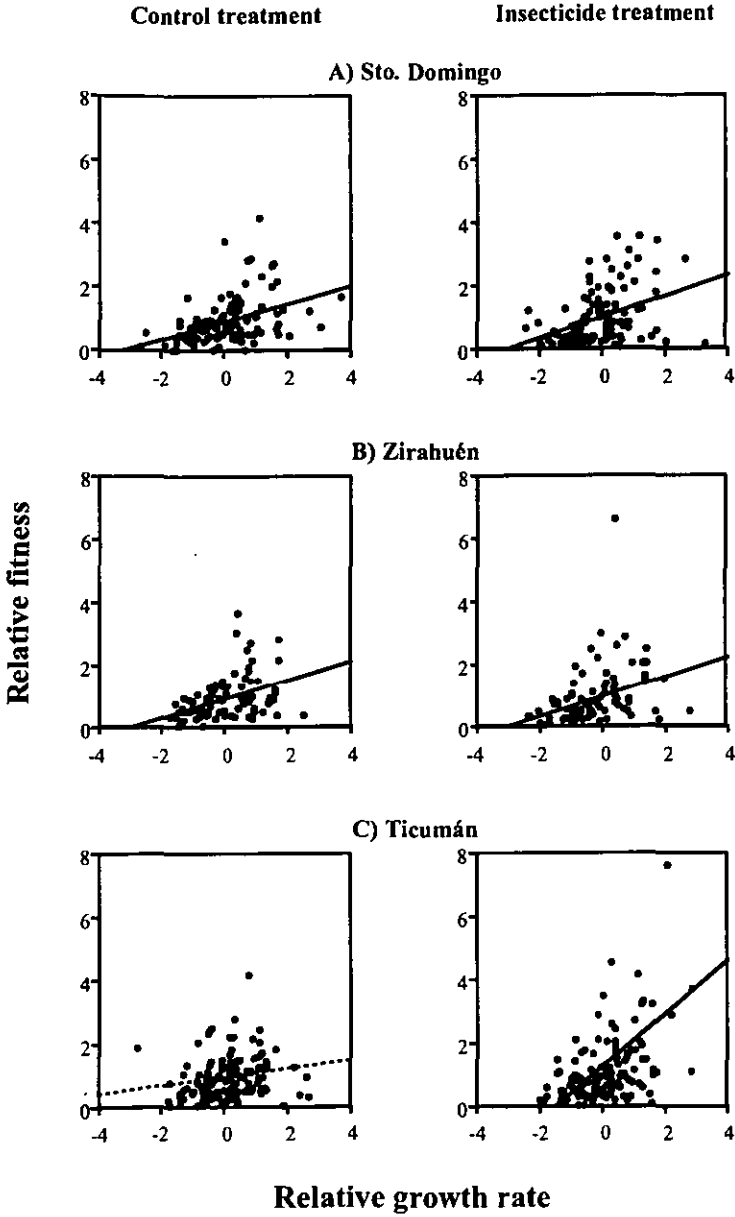


Figure 2



Capítulo III

**Adaptación local para la resistencia a insectos herbívoros en
Datura stramonium: un experimento de trasplantes recíprocos**

Resumen

El presente estudio combina el enfoque experimental tradicional de trasplantes recíprocos con los análisis de selección natural y variación genética para probar la hipótesis de adaptación local en la resistencia a insectos herbívoros entre dos poblaciones de *Datura stramonium* (Ticumán y Santo Domingo, Morclos). Por medio de un experimento de trasplantes recíprocos entre dos poblaciones de *D. stramonium*, utilizando familias de medios hermanos paternos (diseño de cruza North Carolina I), se demostró que existe el potencial de evolución por selección natural en la resistencia al detectarse varianza genética aditiva para este rasgo en ambas poblaciones en su sitio de origen. En ambos sitios se detectó selección natural para incrementar la resistencia a insectos herbívoros sólo en las plantas originarias de Ticumán tanto a nivel fenotípico como de valores reproductivos. Por el contrario, en ninguno de los sitios se detectó selección direccional positiva sobre la resistencia a insectos herbívoros entre plantas de Sto. Domingo. En ambos sitios, los análisis revelaron la acción de la selección natural sobre el tamaño de la planta tanto en individuos procedentes de Ticumán como de Sto. Domingo. Estos resultados revelan que la diferenciación entre poblaciones es consecuencia de adaptación local producto de la variación en las presiones selectivas de los herbívoros sobre la resistencia en cada ambiente nativo. El presente estudio demostró experimentalmente la existencia de variación adaptativa entre poblaciones en la resistencia a insectos herbívoros en la hierba *Datura stramonium* y pone de manifiesto que el estudio de las adaptaciones involucradas en la interacción planta-herbívoro requiere del análisis de la variación adaptativa entre poblaciones.

Introducción

El paradigma central de la teoría de la coevolución predice que los rasgos defensivos de las plantas han evolucionado en respuesta a las presiones selectivas ejercidas por herbívoros (Ehrlich y Raven 1964; Marquis 1992; Thompson 1994). Sin embargo, a pesar de reconocerse que el proceso coevolutivo es más complejo y dinámico si se considera la variación espacial en el efecto selectivo de los herbívoros en la evolución de adaptaciones que median la interacción (Thompson 1994; Rausher 1996; Nuismer *et al.* 1999), la mayoría de los estudios han analizado el modo e intensidad de la selección sobre las defensas intrapoblacionalmente (Berenbaum *et al.* 1986; Rausher y Simms 1989; Núñez-Farfán y Dirzo 1994; Thompson 1999a, 1999b).

La característica sésil de las plantas impone límites a la dispersión de semillas y polen, de manera que la variación genética adaptativa dentro y entre poblaciones promueve la adaptación a un ambiente local (Bradshaw 1972; Schemske 1984; Schmitt y Gamble 1990; Sork *et al.* 1993; Galloway y Fenster 2000). El estudio de la variación interpoblacional del valor adaptativo de los rasgos defensivos en plantas ha sido poco atendido (Edmund y Alstad 1978; Hare y Futuyma 1978; Thompson 1988; Zangerl y Berenbaum 1990; Travis 1996; Gianoli y Hannunen 2000; Gómez y Zamora 2000), no obstante, la evidencia disponible indica que el valor adaptativo de la defensa varía entre poblaciones de plantas (ver Gómez y Zamora 2000). Específicamente en relación a la resistencia a insectos herbívoros, se ha reportado diferenciación poblacional (Cates 1976; Marquis 1992; Linhart y Grant 1996), aunque en pocos casos se ha sugerido que es resultado de adaptación local entre poblaciones (i.e., selección favoreciendo distintos fenotipos en cada ambiente; Zangerl y Berenbaum 1990; Mopper *et al.* 1991; Sork *et al.*

1993; Gómez y Zamora 2000). El presente estudio pretende demostrar experimentalmente la existencia de variación adaptativa entre poblaciones en la resistencia a insectos herbívoros en la hierba *Datura stramonium*.

El estudio de la evolución de las defensas antiherbívoro en plantas se ha abocado al análisis del impacto negativo de los herbívoros en la adecuación de las plantas (Marquis 1991, 1992; Fritz y Simms 1992; Rausher 1996). Sin embargo, la evolución de la resistencia en las poblaciones de plantas hace necesario la conjunción de tres condiciones (Simms y Rausher 1989; Rausher y Simms 1989; Rausher 1996; Mauricio y Rausher 1997): 1) existencia de variación genética para la resistencia, 2) que individuos o genotipos con diferentes valores de resistencia difieran en adecuación (es decir, selección actuando sobre los fenotipos y/o valores reproductivos), y 3) que la manipulación en la abundancia o ausencia de los herbívoros naturales genere cambios en los patrones de selección sobre la resistencia. A la fecha, existen evidencias que reúnen los primeros dos criterios pero muy pocas que cumplen con todos (ver Mauricio y Rausher 1997).

Los experimentos de jardín común y transplantes recíprocos han sido usados tradicionalmente para poner a prueba hipótesis de adaptación de las poblaciones a su ambiente local (Clausen y Hinsey 1958; Schmitt y Gamble 1990; van Tienderen y van der Toorn 1991a, 1991b; Schmitt 1999; Robinson y Schluter 2000; Mousseau 2000; Núñez-Farfán y Schlichting, manuscrito). La hipótesis fundamental sostiene que si la diferenciación es consecuencia de adaptación local, se espera que los individuos nativos superen en desempeño a los introducidos en el ambiente de los primeros y viceversa. Debido a que el desempeño es medido en componentes de adecuación, frecuentemente se

desconoce el rasgo o rasgos sujetos de la selección en el ambiente local (Schmitt 1999). Por lo tanto, si se desconoce el carácter responsable de la adaptación local entonces tampoco sabemos de las causas que determinan las diferencias en adecuación entre las poblaciones adaptadas localmente (Nagy 1997). Por el contrario, si se determina el papel de la selección natural en la reducción, incremento o mantenimiento de la variación en un rasgo que muestra diferencias entre poblaciones, permitirá plantear hipótesis referentes a las diferencias en adecuación entre ambientes. El presente estudio combina el enfoque experimental tradicional de trasplantes recíprocos, con los análisis de selección natural y variación genética para probar la hipótesis de adaptación local en la resistencia a insectos herbívoros entre dos poblaciones de *Datura stramonium*.

En *D. stramonium* se han detectado niveles significativos de variación entre poblaciones para distintos rasgos (Weaver y Warwick 1984; Weaver *et al.* 1985; Núñez-Farfán 1991). Estudios previos, tanto en poblaciones naturales como en jardín común, revelaron evidencias de variación adaptativa en la resistencia a insectos herbívoros y en un componente defensivo (*i.e.*, densidad de tricomas) (ver Cap. I y II). Además, al menos para una población (*i.e.*, Ticumán), el experimento de jardín común reveló una reducción en la adecuación individual cuando las plantas se encuentran en presencia de herbívoros. Mediante el empleo de trasplantes recíprocos entre dos poblaciones se pretende poner a prueba la hipótesis de que la selección sobre la resistencia a los herbívoros es responsable de las diferencias en adecuación y de la diferenciación interpoblacional en *D. stramonium*. Específicamente, en este estudio me planteé las siguientes preguntas: 1) ¿Existe variación genética aditiva para resistencia a insectos herbívoros en dos poblaciones de *D. stramonium*?, 2) ¿Es la variación fenotípica en resistencia sujeto de

selección?, y 3) ¿Existen diferencias en el patrón de selección natural entre ambientes en las poblaciones nativas y foráneas que apoyen la hipótesis de diferenciación poblacional adaptativa?

Materiales y Métodos

Sitios de estudio

El experimento de trasplantes recíprocos se realizó en las poblaciones de Ticumán y Sto. Domingo en el estado de Morelos, México, donde *D. stramonium* crece naturalmente. En ambas localidades imperan condiciones bióticas y abióticas muy diferentes (ver Cap. I y II). Los individuos de *D. stramonium* en la localidad de Ticumán se desarrollan en un clima tropical (temperatura promedio anual = 23.1° C) y seco (precipitación media anual = 802.1 mm) a una altitud de 961 m s.n.m. En esta localidad el tipo de vegetación es la selva baja caducifolia. En contraste, la localidad de Sto. Domingo a 1840 m s.n.m. es de clima templado (temperatura promedio anual = 19.9° C) y húmedo (precipitación media anual = 1463.2 mm), con una comunidad vegetal dominada por pinos y encinos. Estudios previos revelaron que ambas poblaciones difieren tanto en la resistencia promedio, como en su respuesta a la selección natural en condiciones naturales y experimentales (Cap. I y II).

Material genético y diseño de cruzas

Con el objeto de determinar la presencia de varianza genética aditiva en la resistencia a insectos herbívoros y el tamaño de la planta, se produjeron familias genéticas de medios hermanos paternos mediante cruzas controladas, siguiendo un diseño North Carolina I

(Lawrence 1984; Núñez-Farfán y Dirzo 1994; Roff 1997). A principios de noviembre de 1998 fueron seleccionados para las cruzas frutos de diferentes individuos de *D. stramonium* procedentes de las poblaciones de Ticumán ($n = 94$ inds.) y Sto. Domingo ($n = 74$ inds.). Aproximadamente 50 semillas de cada fruto fueron sembradas en macetas de plástico (6 litros) en el invernadero del Instituto de Ecología, UNAM. Para mediados de diciembre, la gran mayoría de las macetas se logró la germinación (Ticumán, $n = 93$ macetas; Sto. Domingo, $n = 72$ macetas).

Desde el inicio de la floración (enero de 1999) se realizaron las cruzas controladas. Dependiendo de la disponibilidad de flores y ya que *D. stramonium* es hermafrodita, los individuos de cada población fueron asignados aleatoriamente a la función 'macho'. Cada uno de estos individuos 'macho' fue cruzado con dos plantas que funcionaron como 'hembras'. Las cruzas controladas consistieron en la transferencia de polen de las anteras de la planta macho sobre el estigma de la planta 'hembra', *ad libitum*. Las plantas 'hembra' fueron emasculadas previamente para evitar la auto-fecundación. Todos los individuos que funcionaron como macho fueron marcados con alambres de color para distinguirlos de las hembras. De la misma forma, en las plantas hembra cada flor fecundada artificialmente fue marcada con alambres de color. Una planta asignada a la función hembra solo fue cruzada con un macho.

Al finales de mayo de 1999 se obtuvieron 35 familias de medios hermanos paternos (70 de hermanos completos) para Ticumán y 33 (66 de hermanos completos) para Sto. Domingo. De cada familia de hermanos completos, se eligieron aproximadamente 100 semillas de un fruto y se almacenaron a 5° C durante tres semanas. Posteriormente, con el objeto de romper la latencia, las semillas fueron sumergidas en

agua hirviendo hasta que se alcanzó la temperatura ambiente. Finalmente, todas las semillas fueron lavadas en una solución de hipoclorito de sodio al 6%, alcohol al 70%, y agua, durante 5 minutos para evitar la proliferación de hongos. A principios de junio, las semillas fueron sembradas en macetas de plástico de 0.5 litros usando suelo comercial y colocadas en el invernadero.

Experimento de trasplantes recíprocos

Las plántulas germinadas fueron trasplantadas a dos parcelas ubicadas en Ticumán (22 × 50 m) y Sto. Domingo (15 × 75 m). Ambas parcelas experimentales fueron preparadas con anterioridad (limpieza, arado, barbecho, etc.). Las plántulas fueron introducidas a cada una de las parcelas experimentales a finales de julio de 1999 siguiendo un diseño de bloques al azar con dos réplicas en cada parcela experimental. Para cada familia paterna, de 8 a 16 individuos (de 4 a 8 por cada familia materna) fueron sembrados en cada uno de los bloques. La ubicación de cada plántula dentro de los bloques fue asignada al azar mediante un sistema de coordenadas definido por las dimensiones de cada parcela (hileras y columnas). Para evitar la interferencia entre individuos, la distancia entre cada plántula fue de 1 m. Todas las plantas fueron marcadas con etiquetas indicando su procedencia, familia paterna, materna, número de réplica y bloque. Para evitar la interferencia de otras especies silvestres, se realizaron labores de limpieza (eliminación de malezas) en las parcelas experimentales.

Debido al bajo porcentaje en la germinación y a mortalidad posterior al trasplante en algunas familias, la cantidad de material genético se redujo en el experimento de trasplantes recíprocos. En el Sitio Ticumán, el número de individuos al

final del experimento fue de 721 ($n = 430$ de la población nativa y $n = 291$ de Sto. Domingo). En la población de Ticumán, hubo 28 familias de medios hermanos paternos (56 familias maternas con 3.42 réplicas promedio por bloque = 384), y 46 individuos de 7 familias maternas de cruza no completas (3.28 réplicas promedio por bloque). Para el caso de la población de Sto. Domingo, 231 individuos corresponden a 19 familias de medios hermanos paternos (38 familias maternas con 3.83 réplicas promedio por bloque), mientras que 60 individuos proceden de 9 familias incompletas (3.33 réplicas promedio por bloque).

En el Sitio Sto. Domingo, el número total de individuos fue de 641 ($n = 368$ de la población de Sto. Domingo y $n = 273$ de Ticumán). Hubo 335 plantas de la población nativa correspondientes a 28 familias paternas (56 familias maternas con 2.99 réplicas promedio por bloque) y el resto procede de cruza incompletas (5 familias maternas con 3.3 réplicas promedio por bloque = 33). Para la población foránea (Ticumán) hubo 17 familias paternas (34 familias maternas con un promedio de 2.95 réplicas por bloque = 201) más 72 individuos de cruza incompletas (11 familias con un promedio de 3.27 réplicas por bloque).

Mediciones

El experimento concluyó cuatro meses después del trasplante, una vez que las plantas se reprodujeron. Los últimos frutos se encontraban en la maduración de semillas. En cada planta, se contó el número total de hojas como un estimador del tamaño, y se colectaron todos los frutos. Para determinar el daño foliar relativo en el laboratorio, se colectó una muestra aleatoria de 60 hojas en promedio, para cada planta.

Adecuación. — Para obtener una medida de la adecuación individual se estimó el número total de semillas a partir del volumen de cada uno de los frutos producidos por cada planta. Existe una alta correlación entre el volumen del fruto y número total de semillas que contiene (número de semillas = $0.026 \cdot (\text{volumen})$; $r^2 = 0.984$, $P < 0.0001$, $n = 35$). Para ello, en cada uno de los frutos colectados se midió la altura, diámetro mayor y diámetro menor con un vernier digital (precisión = 0.01 mm) (Mitutoyo Corp., Tokio, Japón). El volumen es el producto de la multiplicación de las tres medidas.

Resistencia a insectos herbívoros. — Para cada planta, el daño foliar relativo de cada hoja colectada en la muestra fue obtenido directamente con un Sistema Analizador de Imágenes de Video (WinDIAS-Basic, Delta-T Devices Ltd., Cambridge, Inglaterra). El Analizador de Imágenes mide el total de área foliar consumida (AFC) y el total de área remanente (AFR). El daño relativo de un individuo es igual a $(\text{AFC} / [\text{AFC} + \text{AFR}])$. Así, la resistencia relativa para cada planta fue definida como $1 - \text{daño relativo}$ (Berenbaum et al. 1986; Fritz y Price 1988; Rausher y Simms 1989; Simms y Rausher 1989; Simms 1992; Núñez-Farfán y Dirzo 1994; Núñez-Farfán et al. 1996; Tiffin y Rausher 1999)

Análisis estadístico

Variación fenotípica. — Para determinar el efecto del origen de las poblaciones (Población), sitio de transplante (Sitio) y bloque dentro de sitio sobre las diferencias fenotípicas en resistencia a insectos herbívoros, tamaño de la planta y adecuación, fueron utilizados análisis de varianza mixtos (Sokal y Rohlf 1995). Los términos Población y

Sitio fueron considerados como efectos fijos, mientras que el término bloque[Sitio] fue considerado aleatorio. Los análisis finales no consideraron los efectos de los términos bloque[Sitio] y Población \times bloque[Sitio] dado que no tuvieron efectos significativo ($P > 0.1$) sobre la variación en resistencia, tamaño de la planta y adecuación. Todas las variables fueron transformadas antes del análisis para mejorar su normalidad. Dado que la resistencia es una proporción, se usó la transformación seno inverso ($\arcsen \sqrt{\text{resistencia}}$) (Sokal y Rohlf 1995). El tamaño de la planta (número de hojas totales) y la adecuación individual (número de semillas totales) fueron transformados a logaritmo base 10 ($\log_{10} [x + 1]$) (Sokal y Rohlf 1995).

Variación genética y heredabilidad. — Se emplearon análisis de varianza anidados (Modelo II, Sokal y Rohlf 1995) para estimar los componentes esperados de varianza debidos a la familia paterna, materna y del error, y estimar la heredabilidad de la resistencia y el tamaño de la planta para cada población, en cada sitio (Falconer 1981). El análisis permite obtener la varianza genética aditiva (σ^2_A), que en el caso de medios hermanos paternos se estima como la covarianza entre ellos es $1/4\sigma^2_A$. Esta fracción es un estimado de la varianza fenotípica atribuible a los machos (Lynch y Walsh 1998). En todos los análisis, los efectos debidos a machos, y hembras dentro de machos fueron considerados efectos aleatorios. En caso de existir efecto del bloque (tercer nivel), los análisis se realizaron con los residuales, una vez removido el efecto del mismo (es decir, se analizó la variación no explicada por el término bloque).

Las heredabilidad en el sentido estricto (h^2_n ; fracción de la varianza fenotípica total de un carácter determinada por la varianza genética aditiva, Falconer 1981; Roff

1997; Lynch y Walsh 1998), se obtuvo a partir de los componentes de varianza genéticos como: $h^2_n = 4 (\sigma^2_p / \sigma^2_i)$, donde σ^2_p es el componente de varianza esperado debido a los padres, σ^2_i es la varianza fenotípica total ($\sigma^2_i = \sigma^2_p + \sigma^2_m + \sigma^2_e$), σ^2_m es el componente de varianza esperado debido a las hembras anidadas dentro de machos, y σ^2_e es el componente de varianza esperado del error (aquel atribuido a la variación de la progenie dentro de hembras, anidadas dentro de machos).

La significancia y los errores estándar de la heredabilidad de la resistencia a insectos herbívoros y del tamaño de la planta, fueron estimados usando la técnica paramétrica de re-muestreo conocida como "Jackknife" (Sokal y Rohlf 1995). Esta técnica permite obtener pruebas de *t*-Student e intervalos de confianza de un parámetro estadístico (es decir, h^2_n) cuya distribución se desconoce (ver aplicación en Núñez-Fárfan 1991). El procedimiento implica el cálculo de la heredabilidad eliminando cada vez una familia paterna (macho). Este procedimiento se realiza $(n - 1)$ veces, donde n es el número de familias paternas (machos). De esta manera, se obtienen los pseudovalores (ϕ_i , pseudo-heredabilidad), como $\phi_{i-1} = (h^2_v \cdot n) - [(n - 1) \cdot h^2_{i-1}]$, donde h^2_{i-1} es la heredabilidad estimada eliminando cada vez una familia paterna, y h^2_v es la heredabilidad verdadera (es decir, la estimada con n familias). El estadístico de las ϕ se obtiene a partir de su media como $\bar{\phi} = [(\sum \phi) / n]$. El error estándar aproximado de $\bar{\phi}$ se define como $S_{\bar{\phi}} = \sqrt{\sum (\phi_i - \bar{\phi})^2 / (n \cdot n - 1)}$. Para determinar si las heredabilidades son significativamente diferentes de cero fueron aplicadas pruebas de *t* ($\alpha = 0.05$, g.l. = $n - 1$). Finalmente, con $\bar{\phi}$ y $S_{\bar{\phi}}$, se pueden construir los intervalos de confianza como (Arvesen y Schmitz 1979; Sokal y Rohlf 1995):

$$\bar{\phi} \pm (t_{\alpha, 0.05, g.l. = (n-1)} \cdot S\bar{\phi})$$

Correlaciones fenotípicas y genéticas. — Las correlaciones fenotípicas entre resistencia a insectos herbívoros y tamaño de la planta fueron estimadas usando el coeficiente de correlación de Pearson, mientras que las correlaciones genéticas fueron estimadas con el mismo estadístico pero con los valores reproductivos de ambos caracteres (Via 1984; Rausher y Simms 1989). Las correlaciones fueron estimadas para cada población en ambos ambientes.

Análisis de selección natural. — Previo a los análisis de selección, la resistencia y el tamaño de la planta fueron estandarizados con media igual a 0 y desviación estándar igual a 1 (Lande y Arnold 1983). La adecuación relativa (w_i) para un individuo fue estimada como $w_i = W_i / \bar{W}$, donde W_i es el número total de semillas de la planta i , y \bar{W} es la media poblacional para este carácter. Por lo tanto, $\bar{w} = 1$ (Lande y Arnold 1983). La adecuación relativa y variables estandarizadas fueron utilizadas en todos los análisis de selección subsecuentes. La estandarización de ambas variables permite que los gradientes de selección estimados sean comparables en unidades de desviación estándar de las variables sin transformar (Lande y Arnold 1983; Núñez-Farfán 1991; Nagy 1997).

La intensidad, el modo y la dirección de la selección natural sobre la resistencia y el tamaño de la planta fueron estimados en cada población en ambos sitios usando análisis de regresión múltiple (Lande y Arnold 1983). Mediante análisis de regresión múltiple lineal y cuadrática de la adecuación relativa como una función de las dos variables estandarizadas, se estimaron los gradientes de selección direccional

(coeficientes de regresión parcial; β_i), estabilizadora/disruptiva (γ_{ii}) y correlativa (γ_{ij}) (Lande y Arnold 1983; Mitchell-Olds y Shaw 1987; Rausher y Simms 1989; Núñez-Farfán y Dirzo 1994; Núñez-Farfán *et al.* 1996). Los análisis de regresión múltiple lineal y cuadrática fueron realizados por separado para evitar la correlación entre los coeficientes lineales (β) y cuadráticos (γ) (Lande y Arnold 1983).

Los análisis de regresión se realizaron sobre los valores fenotípicos (Lande y Arnold 1983) y valores reproductivos (Rausher y Simms 1989; Rausher 1992). El valor reproductivo de un progenitor macho es igual a dos veces la diferencia entre el promedio del carácter en su progenie respecto al promedio de la población de machos, y es una propiedad del individuo (i.e., progenitor) (Falconer 1981). Los análisis a nivel fenotípico, al incluir a total de individuos de una población, tienen la ventaja de brindar mayor poder estadístico (Shonle y Bergelson 2000). Sin embargo, los gradientes de selección estimados a este nivel son imprecisos, ya que no se elimina el sesgo producido por las posibles correlaciones ambientales entre los caracteres y la adecuación (Rausher 1992; Núñez-Farfán y Dirzo 1994). El análisis de selección con valores reproductivos elimina este sesgo al medir la acción de la selección natural sobre la varianza genética aditiva (Rausher y Simms 1989; Núñez-Farfán 1991; Núñez-Farfán y Dirzo 1994).

Los gradientes de selección fueron estimados usando el programa FREE-STAT (versión 1.10; Michell-Olds 1989). Las pruebas de significancia (pruebas de t) y errores estándar de los gradientes de selección fueron obtenidos con el procedimiento de "Jackknife" también en FREE-STAT (Dudley 1996). Los estimados derivados del "Jackknife" son robustos a las desviaciones de normalidad de los residuales (Michell-

Olds 1989). El procedimiento de "Jackknife" se aplicó únicamente para los gradientes de selección significativos a nivel fenotípico y genético.

Diferencias en los patrones de selección. — Para determinar si los patrones de selección (modo, intensidad y dirección) en la resistencia y/o el tamaño de la planta difieren entre sitios de transplante (Sitio) y origen de las poblaciones (Población), se utilizaron análisis de covarianza (Dudley 1996; Caruso 2000). La detección de una interacción significativa Sitio \times carácter indicaría que la selección actúa de forma distinta entre sitios de transplante (Sitio). Por otro lado, de resultar significativa la interacción Población \times carácter sería evidencia de que la selección no actúa de la misma forma entre poblaciones. Finalmente, de existir una interacción significativa Sitio \times Población \times carácter indicaría que los gradientes de selección difieren entre poblaciones al menos en uno de los sitios. Los análisis se realizaron para cada carácter tanto a nivel fenotípico como de valores reproductivos

Resultados

Herbívoros

Durante el transcurso del experimento dos hechos importantes resaltaron respecto a la fauna de insectos herbívoros en *Datura*. Primero, sólo los escarabajos especialistas *Epitrix parvula* fueron detectados consumiendo hojas de *D. stramonium*. Segundo, las especies de insectos herbívoros causantes del daño entre los individuos transplantados fue claramente diferentes entre sitios. En el Sitio Ticumán la gran mayoría del daño detectado fue producido por *E. parvula*, mientras que en Sto. Domingo el daño fue infringido

principalmente por herbívoros generalistas, destacando el daño por chapulines del género *Sphenarium* (ver Núñez-Farfán y Dirzo 1994). De hecho, en este sitio no se detectó ninguna de las especies de insectos herbívoros especialistas asociadas a *D. stramonium*.

Variación fenotípica

Se detectaron diferencias entre los Sitios Ticumán y Sto. Domingo para los tres caracteres medidos. Los individuos de *D. stramonium* de ambas poblaciones tuvieron significativamente menos daño en Ticumán que en Sto. Domingo ($F_{1,1348} = 4.14$, $P = 0.0420$). El valor promedio de resistencia (media \pm error estándar) observado en Ticumán fue de 0.77 ± 0.007 , mientras que en Sto. Domingo fue 0.72 ± 0.007 . En ambos sitio, los valores de resistencia a insectos herbívoros muestran una amplia variación entre individuos (Tabla 1). Tanto en Ticumán como en Sto. Domingo, se registraron individuos totalmente dañados por insectos herbívoros (resistencia = 0), hasta individuos con daños mínimos (resistencia \equiv 1) (Tabla 1). Las plantas sembradas en Ticumán produjeron significativamente más semillas (7498 ± 396 semillas) ($F_{1,1297} = 923.52$, $P < 0.0001$) y fueron significativamente más grandes (206 ± 7.54 hojas por planta) ($F_{1,1350} = 1506.46$, $P < 0.0001$), que aquellas sembradas en Sto. Domingo (154 ± 301 y 8.55 ± 7.95 , respectivamente). Los coeficientes de variación revelan que la variabilidad para resistencia es menor que la detectada para la adecuación y el tamaño de la planta (Tabla 1).

El análisis de varianza también reveló que independientemente de dónde fueron sembradas, las plantas de ambas poblaciones difieren significativamente en la resistencia a insectos herbívoros ($F_{1,1348} = 16.42$, $P = 0.0001$), la adecuación ($F_{1,1297} = 923.52$, $P <$

0.0001) y el tamaño de la planta ($F_{1,1350} = 104.67, P < 0.0001$). Las plantas de la población de Ticumán fueron en promedio más resistentes a insectos herbívoros que las de Sto. Domingo (0.78 ± 0.007 y 0.72 ± 0.007 , respectivamente), tuvieron una mayor producción de semillas (6051.2 ± 283.3 y 1836.9 ± 201.1 , respectivamente), y alcanzaron mayor tamaño que las plantas de la población de Sto. Domingo (161.2 ± 7.61 y 61.4 ± 7.70 , respectivamente).

El término de interacción Población \times Sitio en los análisis de la adecuación y el tamaño de la planta resultó significativo ($F_{1,1297} = 65.48, P < 0.0001$ y $F_{1,1350} = 12.72, P = 0.0004$, respectivamente), indicando que la respuesta de las poblaciones para ambos caracteres fue diferente entre sitios. En el Sitio Ticumán, las plantas nativas fueron 50% más grandes y tuvieron aproximadamente 60% más semillas que las de Sto. Domingo (Figura 1B, C y Tabla 1). En Sto. Domingo las plantas nativas fueron igualmente más pequeñas que las procedentes de Ticumán pero produjeron la misma cantidad de semillas que las plantas de la población introducida (Figura 1B, C y Tabla 1). Dado que la población de Ticumán en ambos sitios fue más resistente que la población de Sto. Domingo (Figura 1A y Tabla 1), la interacción Población \times Sitio para la resistencia no resultó significativa ($F_{1,1348} = 0.07, P = 0.7847$).

Variación genética

Sitio Ticumán. — Se detectó varianza genética aditiva para la resistencia a insectos herbívoros y el tamaño de la planta en la población de Ticumán (Tabla 2). Mediante el análisis de varianza anidado se detectaron diferencias significativas entre familias de medios hermanos paternos (Tabla 2). De hecho, después del aplicar el procedimiento de

Jackknife, las heredabilidades de ambos caracteres fueron significativamente diferentes de cero (Tabla 2). En las plantas de la población de Sto. Domingo sólo se detectó variación genética aditiva significativa en el tamaño de las plantas (Tabla 2). La heredabilidad estimada para el tamaño fue significativa y de similar magnitud a la detectada en la población nativa (Tabla 2).

Sitio Sto. Domingo. — Los resultados del análisis de varianza anidado de las plantas de la población de Sto. Domingo revelaron la existencia de variación genética en la resistencia a insectos herbívoros y el tamaño de la planta (Tabla 3). La heredabilidad estimada para cada carácter fueron significativas (Tabla 3). El análisis de la resistencia reveló un efecto significativo del término bloque, por lo tanto, el análisis para detectar variación genética en este carácter se realizó después de haber removido el efecto del bloque. En las plantas de la población de Ticumán no se detectó variación genética aditiva para ninguno de los caracteres (Tabla 3). Los valores de la heredabilidad estimados fueron muy pequeños y no significativos (Tabla 3).

Correlaciones fenotípicas y genéticas

Sitio Ticumán. — Las correlaciones entre resistencia a insectos herbívoros y tamaño de las plantas fueron significativas en la población nativa tanto a nivel fenotípico como de los valores reproductivos. La correlación a nivel fenotípico fue de menor magnitud ($r = 0.17$, $P = 0.0002$, $n = 422$) que la estimada a nivel de valores reproductivos (genética) ($r = 0.61$, $P = 0.0005$, $n = 28$). En el caso de la población de Sto. Domingo sembrada en este sitio se detectó una débil correlación fenotípica entre resistencia y tamaño ($r = 0.12$, $P =$

0.0307, $n = 284$), mientras que esta relación no fue significativa a nivel de valores reproductivos ($r = 0.34$, $P = 0.1501$, $n = 19$). El análisis del poder de la prueba indica que una correlación de esa magnitud ($r = 0.34$) requeriría un tamaño de muestra mayor a 35 familias para ser significativa ($\alpha = 0.05$).

Sitio Sto. Domingo. — Al igual que en el caso del Sitio Ticumán, las correlaciones entre resistencia y tamaño en la población nativa fueron significativas a nivel fenotípico ($r = 0.22$, $P < 0.0001$, $n = 358$) y genético (valores reproductivos: $r = 0.38$, $P = 0.0401$, $n = 28$). En el caso de la población de Ticumán, las correlaciones entre resistencia y tamaño fueron cercanas a cero y no significativas (nivel fenotípico: $r = 0.09$, $P = 0.1194$, $n = 271$; valores reproductivos: $r = 0.08$, $P = 0.7515$, $n = 17$).

Selección natural fenotípica y en los valores reproductivos

Sitio Ticumán. — A nivel fenotípico y genético, se detectó selección direccional positiva sobre la resistencia (Figura 2A y 3A) y el tamaño en las plantas de la población de Ticumán (Tabla 4A). La variación fenotípica de ambos caracteres explicó el 41% de la variación en adecuación ($r^2 = 0.41$, $F_{2,396} = 194.70$, $P < 0.0001$), mientras que los valores reproductivos explicaron casi el 60% ($r^2 = 0.58$, $F_{2,25} = 17.68$, $P < 0.0001$). Además, se detectó selección estabilizadora sobre el tamaño de la planta tanto a nivel fenotípico como a nivel genético (Tabla 4B).

Por el contrario, no se detectó selección natural sobre la resistencia en la población procedente de Sto. Domingo (Tabla 4A, Figura 2A y 3A). Sin embargo, sí se detectó selección direccional positiva sobre el tamaño, tanto a nivel fenotípico como

genético (Tabla 4A). Una gran proporción de la variación en la adecuación para esta población es explicada por la variación en el tamaño de la planta ($r^2 = 0.46$, $F_{2,274} = 119.71$, $P < 0.0001$; $r^2 = 0.79$, $F_{2,16} = 31.95$, $P < 0.0001$, a nivel fenotípico y genético, respectivamente). Se detectó además selección fenotípica estabilizadora sobre el tamaño, y selección correlativa positiva (tamaño \times resistencia) en las plantas de la población de Sto. Domingo (Tabla 4B). Sin embargo, el gradiente de selección correlativa resultó no ser significativo después de aplicar el procedimiento de re-muestreo ("Jackknife") ($t = 0.071$, g.l. = 276, $P = 0.9434$; Tabla 4B).

Sitio Sto. Domingo. — No se detectó selección natural direccional sobre la resistencia a insectos herbívoros en las plantas de la población de Sto. Domingo (Tabla 5A, Figura 2B y 3B). En contraste, se detectó selección direccional positiva sobre el tamaño de la planta, tanto nivel fenotípico como genético (valores reproductivos) (Tabla 5A). De ambos análisis de selección direccional, sólo el modelo a nivel fenotípico fue significativo y explicó el 11% de la variación en adecuación en la población nativa ($r^2 = 0.11$, $F_{2,347} = 21.52$, $P < 0.0001$). El modelo a nivel genético a pesar de tener mayor poder predictor, no fue significativo ($r^2 = 0.19$, $F_{2,25} = 2.97$, $P = 0.0696$). De hecho, la prueba del "Jackknife" reveló que el gradiente de selección direccional positivo sobre el tamaño a nivel genético no difiere de cero ($t = 1.919$, g.l. = 27, $P = 0.0656$; Tabla 5A). Las plantas de la población de Sto. Domingo fueron las únicas que experimentaron selección fenotípica estabilizadora en la resistencia a los herbívoros (Tabla 5B, Figura 3B).

En las plantas procedentes de Ticumán se detectó selección direccional positiva en la resistencia (Figura 2B y 3B) y en el tamaño tanto a nivel fenotípico como en los

valores reproductivos (Tabla 5A). El modelo de selección direccional a nivel genético explicó más del 50% de la variación en adecuación ($r^2 = 0.63$, $F_{2,14} = 11.99$, $P = 0.0009$), muy superior a lo explicado por el modelo a nivel fenotípico ($r^2 = 0.24$, $F_{2,266} = 43.28$, $P < 0.0001$). Los análisis revelaron gradientes de selección estabilizadora sobre el tamaño a nivel fenotípico y correlativa sólo a nivel genético (resistencia \times tamaño) (Tabla 5B).

Diferencias en los patrones de selección

Los análisis de covarianza revelaron que la selección direccional sobre la resistencia y el tamaño difiere entre sitios a nivel fenotípico y de valores reproductivo (interacción Sitio \times carácter, Tabla 6, Figura 2 y 3). En términos generales, en el sitio Ticumán los gradientes de selección lineales fueron más elevados que en el sitio Sto. Domingo (Tabla 4A y 5A). La interacción Población \times resistencia resultó significativa a nivel fenotípico (Tabla 6), indicando que la selección sobre la resistencia es diferente entre poblaciones, actuando con mayor intensidad entre las plantas de la población procedente de Ticumán que sobre las de Sto. Domingo (Tabla 4A y 5A). Los resultados también muestran que entre sitios los gradientes de selección lineales sobre la resistencia difieren entre poblaciones a nivel fenotípico (interacción Sitio \times Población \times resistencia; Tabla 6). Esto se debió a que entre sitios la selección direccional fenotípica actuó de manera más intensa sobre la población de Ticumán sembrada en su sitio de origen ($F_{1,656} = 4.28$, $P = 0.0387$) (Tabla 4A y Figura 2).

Los análisis de covarianza revelaron diferencias únicamente a nivel fenotípico en el patrón de selección estabilizadora sobre el tamaño (Tabla 6). No se detectaron

diferencias en los patrones de selección curvilínea para la resistencia y correlativa para el tamaño y la resistencia (Tabla 6).

Discusión

Los resultados del presente estudio apoyan la hipótesis de que el patrón de diferenciación en resistencia a insectos herbívoros entre poblaciones de *D. stramonium* es producto de adaptación local. La existencia de variación genética aditiva (heredable) sobre la cual se detectó selección natural contrastante entre sitios y poblaciones, revela el potencial de diferenciación adaptativa en la resistencia de *D. stramonium* a sus herbívoros. La evidencia de diferencias en los patrones de selección sobre la resistencia sugiere que el valor adaptativo de este rasgo en *D. stramonium* varía entre sitios y poblaciones.

En plantas, son pocos los estudios que han reportado varianza genética para la resistencia a insectos herbívoros y sus componentes (Simms y Rausher 1989; Zangerl y Berenbaum 1990; Fritz y Simms 1992; Simms y Triplett 1994; Mauricio y Rausher 1997; Mauricio *et al.* 1997; Tiffin y Rausher 1999). En el caso de *D. stramonium* se ha reportado evidencia de variación genética en rasgos involucrados en la defensa contra herbívoros (Fomoni y Núñez-Farfán 1999; Shonle y Bergelson 2000; ver Cap. I). En el presente estudio, además de la diferenciación genética entre poblaciones en la resistencia a insectos herbívoros y el tamaño de la planta, se detectó varianza genética aditiva significativa para estos caracteres en ambas poblaciones de *D. stramonium*. La detección de diferenciación intra e interpoblacional en la resistencia de esta especie, indica el potencial de evolución de la resistencia por selección natural, debido a que la presencia de varianza genética aditiva en la resistencia es condición necesaria para que opere la

selección (Rausher 1996; Mauricio y Rausher 1997), y genere divergencia adaptativa entre poblaciones.

Aún cuando algunos estudios sobre las interacciones planta-herbívoro han mostrado evidencias de diferenciación poblacional en resistencia y caracteres defensivos (Mopper *et al.* 1991; Marquis 1992; Johansson 1994; Wainhouse y Ashburner 1996; Dachler y Strong 1997; Hägele y Rowell-Rahier 1999), otros han interpretado dicha evidencia como adaptación local (Sork *et al.* 1993; Roy 1998). Sin embargo, son pocos los estudios que muestran que la diferenciación entre poblaciones es consecuencia de las diferencias en los patrones de selección a nivel local (ver Gómez y Zamora 2000).

El experimento de trasplantes recíprocos entre dos poblaciones de *D. stramonium* aporta evidencia de que la selección natural ha promovido la diferenciación adaptativa en la resistencia a insectos herbívoros entre poblaciones. Los análisis de selección a nivel fenotípico y genético detectaron que la selección natural que actúa sobre la resistencia difiere entre las poblaciones. Sólo en la población de Ticumán se detectó la presencia de selección natural en la resistencia a insectos herbívoros en los valores fenotípicos y reproductivos. El hecho de que Ticumán fuese la población más resistente en ambos sitios y que su adecuación fuese superior en su lugar de origen, sugiere fuertemente que la resistencia es uno de los caracteres responsables de la adaptación local en esta población. Los resultados también indican que la intensidad de la selección fenotípica sobre la resistencia para la población de Ticumán difiere entre sitios, sugiriendo diferencias en la presión selectiva ejercida por diferentes especies de insectos herbívoros entre ambientes, y es consistente con un escenario de adaptación local (Sork *et al.* 1993). Esto mismo es apoyado por las diferencias observadas entre sitios en las especies de

insectos herbívoros causantes del daño en las plantas. Mientras que en Ticumán las plantas fueron atacadas por escarabajos especialistas del género *Epirix*, en Sto. Domingo prevaleció el daño por chapulines (herbívoros generalistas). Por el contrario, en plantas de la población de Sto. Domingo no se detectó selección direccional positiva sobre la resistencia en ninguno de los sitios. Estos resultados son consistentes con la ausencia de selección sobre la resistencia para esta población en el jardín común (ver Cap. II). En el caso de esta población, sólo se detectó selección estabilizadora operando sobre la resistencia a nivel fenotípico en su sitio de origen. Así, las diferencias en los patrones de selección sobre la resistencia sugieren que este carácter en *D. stramonium* no es igualmente favorecido entre sitios y poblaciones.

A diferencia de la población de Ticumán, los análisis de selección en los rasgos aquí medidos no muestran evidencias claras de adaptación local para la población de Sto. Domingo. En las plantas de esta población, las evidencias no apoyan el valor adaptativo de la resistencia. El mejor desempeño de las plantas de Sto. Domingo en Ticumán sugiere que el Sitio Sto. Domingo no favoreció a ninguna de las poblaciones. Sin embargo, a pesar de que en Sto. Domingo las plantas de Ticumán fueron más grandes, menos dañadas y la resistencia fue selectivamente favorecida en comparación con las nativas, no se detectaron diferencias significativas en la adecuación promedio entre poblaciones. Este hecho sugiere que las plantas de Sto. Domingo en su sitio de origen serían más tolerantes que las de Ticumán dada la ausencia de diferencias en la adecuación con respecto a las de Ticumán.

Los análisis sobre la variación fenotípica en el tamaño de la planta revelaron un efecto significativo del origen de las poblaciones, el sitio de transplante y su interacción

(i.e., Población \times Sitio). Sin embargo, el valor adaptativo de este rasgo parece no diferir entre poblaciones. Independientemente de que los patrones de selección direccional sobre el tamaño difieren entre sitios, no se encontró evidencia de diferencias en los patrones de selección sobre el tamaño entre poblaciones. Aparentemente el origen de las poblaciones no fue importante en el patrón de selección sobre el tamaño de la planta en *D.*

stramonium.

La reducción o ausencia de variación genética aditiva de resistencia y el tamaño de la planta de ambas poblaciones cuando éstas fueron foráneas, apoya la hipótesis de la adaptación local. Estos cambios en la expresión de los caracteres entre sitios tendría tres posible explicaciones. Primero, existen evidencias de que la heredabilidad de un carácter se reduce en un ambiente nuevo o estresante (Hoffman y Parsons 1991; Bennington y McGraw 1996; Mousseau 2000; Nager *et al.* 2000) y su estimación es específica para cada población y ambiente (ver Bennington y McGraw 1996) ya que depende de las frecuencias alélicas (Falconer 1981). Si ambas poblaciones están adaptadas localmente, es razonable esperar que la expresión genética de la resistencia y el tamaño se vea reducida cuando son sembradas fuera de su sitio de origen. Segunda, si la variación genética es dependiente del tipo de herbívoro (Fritz y Price 1988; Simms y Rausher 1989; Marquis 1990; Núñez-Farfán y Dirzo 1994), la varianza genética aditiva para la resistencia posiblemente sería detectada para herbívoros especialistas o locales y no para los herbívoros ausentes en su sitio nativo (Núñez-Farfán 1991; Núñez-Farfán y Dirzo 1994). Por ejemplo, a pesar de existir varianza genética para la resistencia en Ticumán, ésta no fue detectada cuando es expuesta al daño por chapulines en el Sitio Sto. Domingo. Incluso en la población de Sto. Domingo, en la cual no se detectó selección

sobre la resistencia en su sitio nativo a pesar de existir variación genética aditiva, la heredabilidad para este rasgo fue de cero en el Sitio Ticumán. Por último, la variación ambiental puede influir en la expresión fenotípica de la resistencia (Fritz 1990, 1992; Stowe *et al.* 1994; Rand 1999). Por ejemplo, si ciertos ambientes producen convergencia en las normas de reacción de los genotipos para la adecuación por la interacción genotipo-ambiente, se esperaría una reducción en la varianza fenotípica y en el poder de la selección para detectarla (Stearns 1992). Debido a que la heredabilidad es estimada a partir de las mediciones fenotípicas cuya expresión difiere entre sitios, la variación genética en la resistencia puede no ser detectada en algunos ambientes (Fritz 1990).

Las correlaciones fenotípicas y genéticas positivas detectadas entre resistencia y tamaño no sugieren la posibilidad de un compromiso entre ambos caracteres (Herms y Mattson 1992) o de que en plantas con tallas mayores aumenta la probabilidad del ataque por herbívoros (Sork *et al.* 1993). Un estudio previo con *D. stramonium* reveló una correlación positiva entre el daño por herbívoros y el tamaño de la planta, es decir, las plantas grandes son más susceptibles al daño por herbívoros en comparación con las plantas pequeñas (Núñez Farfán 1991; Núñez Farfán y Dirzo 1994). En el presente estudio, además de las correlaciones positivas entre resistencia y tamaño, se detectó selección correlativa a nivel genético entre ambos rasgos en la población de Ticumán sembrada en el Sitio Sto. Domingo.

Se ha establecido que rasgos asociados con la adecuación tengan poca variación genética (Fisher 1958), sin embargo no fue el caso para la resistencia y el tamaño de la planta en estas dos poblaciones de *D. stramonium*. En el caso de la población de Sto. Domingo, la ausencia de selección direccional explicaría el mantenimiento de variación

genética para la resistencia. Pero ¿qué mantiene la variación genética en el tamaño en ambas poblaciones y de la resistencia en Ticumán? Existen posibles explicaciones para el mantenimiento de la variación en estos rasgos: 1) de existir fluctuaciones temporales en la intensidad de la selección eso explicaría la disminución en la erosión de la varianza genética (Marquis 1990, 1992; Núñez Farfán 1991; van Tienderen y van der Toom 1991b). 2) Si existe una restricción producto de una correlación genética negativa entre la resistencia y algún otro rasgo favorecido por la selección natural, eso explicaría el mantenimiento de la variación genética en la resistencia (Núñez Farfán 1991; Roff 1997). Por último, 3) la diversidad genética de la resistencia en ambas poblaciones de *D. stramonium* podría resultar de la variación temporal y/o espacial en la densidad de los herbívoros especialistas asociadas a esta especie (Strong *et al.* 1993).

Los resultados revelan que el valor adaptativo de la resistencia a insectos herbívoros varía entre poblaciones de *D. stramonium*. La presencia de varianza genética aditiva y la detección de selección variable entre sitios y poblaciones, apoyan la importancia de la selección natural sobre otros procesos generadores de diferenciación local (*i.e.*, deriva genética y flujo genético restringido; Scheiner y Teeri 1985; Schwaegerle *et al.* 1986; Schmitt y Gamble 1990; Thompson 1994; Kercher y Conner 1996; Mazer y Meade 2000),) en la evolución de la resistencia en esta especie. A pesar que el fenómeno de adaptación local entre poblaciones de plantas es frecuente en varios caracteres cuantitativos (Bradshaw y Jain 1966; Nagy 1997; Jonas y Geber 1999), la escasa evidencia en caracteres defensivos se concentra en especies perennes (Mopper *et al.* 1991; Sork *et al.* 1993; Roy 1998), y/o a grandes escalas geográficas (Bryant *et al.* 1989; Flanders *et al.* 1992; Flanders *et al.* 1997). En el caso de *D. stramonium*, se detectó

que entre poblaciones geográficamente cercanas (≈ 30 km.) existen diferencias en el patrón de selección natural actuando sobre la resistencia generando diferenciación poblacional adaptativa. Finalmente, los resultados del presente estudio revelan el papel diversificador de la adaptación local en la evolución de la resistencia entre poblaciones de *D. stramonium* (Nuïsmar *et al.* 1999; Gómez y Zamora 2000).

Literatura citada

- Arvesen, L.N. y Schmitz, T.H. 1970. Robust procedures for variance component problems using the jackknife. *Biometrics* 26: 677-686.
- Bennington, C.C. y McGraw, J.B. 1996. Environmental-dependence of quantitative genetic parameters in *Impatiens pallida*. *Evolution* 50: 1083-1097.
- Berenbaum, M. R., Zangerl, A. R. y Nitao, J. K. 1986. Constraints on chemical coevolution: wild parsnip and the parsnip webworm. *Evolution* 40: 1215-1228.
- Bradshaw, A.D. 1972. Some evolutionary consequences of being a plant. *Evolutionary Biology* 5: 25-47.
- Bradshaw, A.D. y Jain, S.K. Evolutionary divergence among adjacent plant populations. I. the evidence and its theoretical analysis. *Heredity* 21: 407-441. 1966
- Bryant, J.P., Tahvanainen, J., Sulkinoja, M., Julkunen-Tiitto, R., Reichardt, P. y Green, T. 1989. Biogeographic evidence for evolution of chemical defense by boreal birch and willow against mammalian browsing. *American Naturalist* 134: 20-34.
- Caruso, C.M. 2000. Competition for pollination influences selection on floral traits of *Ipomopsis aggregata*. *Evolution* 54: 1546-1557.
- Cates, R. G. 1975. The interfase between slugs and wild ginger: some evolutionary aspects. *Ecology* 46: 391-400.
- Clausen, J. y Hiesey, W. N. 1958. Experimental Studies on the Nature of Species. IV. Genetic structure of ecological races. Publication 615, Carnegie Institution of Washington, Washington, D.C.
- Daehler, C. C., y D. R. Strong. 1997. Reduced herbivory resistance in introduced smooth cordgrass (*Spartina alterniflora*) after a century of herbivory-free growth. *Oecologia* 110: 99-108.

- Dudley, S. A. 1996. Differing selection on plant physiological traits in response to environmental water availability: a test of adaptive hypothesis. *Evolution* 50: 92-102.
- Edmunds, G. F. y Alstad, D. N. 1978. Coevolution in insect herbivores and conifers. *Science* 199: 941-945.
- Ehrlich, P.R. y Raven, P.H. 1964. Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution* 18:586-608.
- Falconer, D.S. 1981. *Introduction to Quantitative Genetics*. Second ed. Longman, London.
- Fisher, R.A. 1958. *The Genetical Theory of Natural Selection*. Second ed. Dover, New York.
- Flanders, K.L., Hawkes, J.G., Radcliffe, E.B. y Lauer, F.I. 1992. Insect resistance in potatoes: Sources, evolutionary relationships, morphological and chemical defenses, and ecogeographical associations. *Euphytica* 61: 83-111.
- Flanders, K.L., Radcliffe, E.B. y Hawkes, J.G. 1997. Geographic distribution of insects resistance in potatoes. *Euphytica* 93: 201-221.
- Fornoni, J. y Núñez-Farfán, J. 2000. Evolutionary ecology of *Datura stramonium*: Genetic variation and costs for tolerance to defoliation. *Evolution* 54: 789-797.
- Fritz, R. S. y Price, P. W. 1988. Genetic variation among plants and insect community structure: willows and sawflies. *Ecology* 69: 845-856.
- Fritz, R. S. 1990. Effects of genetic and environmental variation on resistance of willows to sawflies. *Oecologia* 82: 325-332.
- Fritz, R. S., y Simms, E. L. 1992. *Plant Resistance to Herbivores. Ecology, Evolution, and Genetics*. University of Chicago Press, Chicago.
- Galloway, L.F. y Fenster, C.B. 2000. Local differentiation in annual legume: local adaptation. *Evolution* 54: 1173-1181.
- Gianoli, E. y Hannunen, S. 2000. Plasticity of leaf traits and insect herbivory in *Solanum incanum* L. (Solanaceae) in Nguruman, SW Kenya. *African Journal of Ecology* 38: 183- 187.
- Gómez, J.M. y Zamora, R. 2000. Spatial variation in the selective scenarios of *Hormathophylla spinosa* (Cruciferae). *American Naturalist* 155: 657-668.

- Hägele, B. F. y Rowell-Rahier, M. 1999. Genetic and environmental-based variability in secondary metabolic leaf content of *Adenostyles alliariae* and *A. alpina* (Asteraceae). A test of resource availability hypothesis. *Oikos* 85: 234-246.
- Hare, J. D. y Futuyma, D. J. 1978. Different effects of variation in *Xanthium strumarium* L. (Compositae) on two insects seed predators. *Oecologia* 37: 109-112.
- Hermes, D. A. y Mattson, W. J. 1992. The dilemma of plants: to grow or defend. *Quarterly Review of Biology* 67: 283-335.
- Hoffman, A.A. y Parsons, P.A. 1991. *Evolutionary Genetics and Environmental Stress*. Oxford University Press, Oxford.
- Johansson, K. 1994. Life history differences between central and marginal populations of clonal aquatic plant *Ranunculus lingua*: a reciprocal transplant experiment. *Oikos* 70: 65-72.
- Jonas, C. S. y Geber, M. A. 1999. Variation among populations of *Clarkia unguiculata* (Onagraceae) along altitudinal and latitudinal gradients. *American Journal of Botany* 86: 333-343.
- Jordan, N. 1992. Path analysis of local adaptation in two ecotypes of the annual plant *Diodia teres* Walt. (Rubiaceae). *American Naturalist* 140: 149-165.
- Kercher, S. y Conner, J. K. 1996. Patterns of genetic variability within and among populations of wild radish, *Raphanus raphanistrum* (Brassicaceae). *American Journal of Botany* 83: 416-421.
- Lande, R. y Arnold, S.J. 1983. The measurement of selection on correlated characters. *Evolution* 37: 1210-1226.
- Lawrence, M.J. 1984. The genetical analysis of ecological traits. In: *Evolutionary Ecology* (B. Shorrocks, ed.), pp. 27-63. Blackwell Scientific, Oxford.
- Linhart, Y.B. y Grant, M.C. 1996. Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27: 237-277.
- Lynch, M. y Walsh, B. 1998. *Genetics and Analysis of Quantitative Traits*. Sinauer Associates, Inc., Massachusetts.
- Marquis, R. J. 1991. Evolution of resistance in plants to herbivores. *Evolutionary Trends in Plants* 5: 23-29.
- Marquis, R. J. 1992. The selective impact of herbivory. En: *Plant Resistance to Herbivory*

- and Pathogens. Ecology, Evolution and Genetics* (R.S. Fritz y E.L. Simms, eds.), pp. 301-325. The University of Chicago Press, Chicago.
- Mauricio, R. y Rausher, M.D. 1997. Experimental manipulation of putative selective agents provides evidence for the role of natural enemies in the evolution of plant defense. *Evolution* 51: 1475-1444.
- Mauricio, R., Rausher, M. D. y Burdick, D. S. 1997. Variation in the defense strategies of plants: are resistance and tolerance mutually exclusive? *Ecology* 78:1301-1311.
- Mazer, S.J. y Meade, D.E. 2000. Geographic variation in flower size in wild radish: the potential role of pollinators in population differentiation. En: *Adaptive Genetic Variation in the Wild* (T.A. Mousseau, B. Sinervo y J. Endler, eds.), pp. 157-186. Oxford University Press, New York.
- Mitchell-Olds, T. y Shaw, R.G. 1987. Regression analysis of natural selection: statistical inference and biological interpretation. *Evolution* 41: 1149-1161.
- Mitchell-Olds, T. 1989. *FREE-STAT version 1-10 user manual*. Technical Bulletin No. 101. Division of Biological Sciences, University of Montana, Missoula.
- Mooper, S., Mitton, J.B., Whitham, T.G., Cobb, N.S. y Christensen, K.M. 1991. Genetics differentiation and heterozygosity in pinyon pine associated with resistance to herbivory and environmental stress. *Evolution* 45: 989-999.
- Mousseau 2000. Intra- and interpopulation genetic variation: explaining the past and predicting the future. En: *Adaptive Genetic Variation in the Wild* (T.A. Mousseau, B. Sinervo y J. Endler, eds.), pp. 219-250-186. Oxford University Press, New York.
- Mousseau, T.A., Sinervo, B. y Endler, J. A. 2000. *Adaptive Genetic Variation in the Wild*. Oxford University Press, New York.
- Nager, R.G., Keller, L.F. y van Noordwijk, A. 2000. Understanding natural selection on traits that are influenced by environmental conditions. En: *Adaptive Genetic Variation in the Wild* (T.A. Mousseau, B. Sinervo y J. Endler, eds.), pp. 95-115. Oxford University Press, New York.
- Nagy, E.S. 1997. Selection for native characters in hybrids between two locally adapted plant subspecies. *Evolution* 51: 1469-1480.
- Nuismer, S.L., Thompson, J.N. y Gomulkiewicz, R. 1999. Gene flow and geographically structured coevolution. *Proceedings of the Royal Society of London* 266: 605-609.
- Núñez-Farfán, J. 1991. Biología evolutiva de *Datura stramonium* L. en el Centro de México: selección natural de la resistencia a los herbívoros, sistema de cruzamiento y

- variación genética intra e inter-poblacional. Tesis Doctoral, Centro de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- Núñez-Farfán, J. y Dirzo, R. 1994. Evolutionary ecology of *Datura stramonium* L. in Central Mexico: natural selection for resistance to herbivorous insects. *Evolution* 48: 423-436.
- Núñez-Farfán, J., Cabrales-Vargas, R. A. y Dirzo, R. 1996. Mating system consequences on resistance to herbivory and life history traits in *Datura stramonium*. *American Journal of Botany* 83: 1041-1049.
- Rand, T. A. 1999. Effects of environmental context on the susceptibility of *Atriplex patula* to attack by herbivorous beetles. *Oecologia* 121: 39-46.
- Rausher, M. D. y Simms, E. L. 1989. The evolution of resistance to herbivory in *Ipomoea purpurea*. I. Attempts to detect selection. *Evolution* 43: 563-572.
- Rausher, M. D. 1992. The measurement of natural selection on quantitative traits: biased due environmental covariance between trait and fitness. *Evolution* 46: 616-626.
- Rausher, M. D. 1996. Genetic analysis of coevolution between plants and their natural enemies. *Trends in Genetics* 12: 212-217.
- Robinson, B.W. y Schuller, D. 2000. Natural selection and evolution of adaptive genetic variation in northern freshwater fishes. En: *Adaptive Genetic Variation in the Wild* (T.A. Mousseau, B. Sinervo y J. Endler, eds.), pp. 65-94. Oxford University Press, New York.
- Roff, D.A. 1997. *Evolutionary Quantitative Genetics*. Chapman and Hall, New York.
- Roy, B.A. 1998. Differentiating the effects of origin and frequency in reciprocal transplant experiments used to test negative frequency-dependent selection hypotheses. *Oecologia* 115: 73-83.
- Scheiner, S. M. y Teeri, J. A. 1986. Phenotypic flexibility and genetic adaptation along a gradient of secondary forest succession in the grass *Danthonia spicata*. *Canadian Journal of Botany* 64: 739-747.
- Schemske, D.W. 1984. Population structure and local selection in *Impatiens pallida* (Balsaminaceae), a selfing annual. *Evolution* 38: 817-832.
- Schmitt, J. y Gamble, S. E. 1990. The effect of distance from the parental site on offspring performance and inbreeding depression in *Impatiens capensis*: a test of local adaptation hypothesis. *Evolution* 44: 2022-2030.
- Schmitt, J. 1999. Introduction: experimental approaches to testing adaptation. *American*

Naturalist 154: S1-S3.

- Schwaegerle, K. E., Garbutt, K. y Bazzaz, F. A. 1986. Differentiation among nine populations of *Phlox*. I. Electrophoretic and quantitative variation. *Evolution* 40: 506-517.
- Shonle, I. and Bergelson, J. 2000. Evolutionary ecology of the tropane alkaloids of *Datura stramonium* L. (Solanaceae). *Evolution* 54: 778-788.
- Simms, E. L. 1992. Cost of plant resistance to herbivory. En: *Plant Resistance to Herbivory and Pathogens. Ecology, Evolution and Genetics* (R. S. Fritz y E. L. Simms, eds), pp. 392-425. The University of Chicago Press, Chicago.
- Simms, E.L. and Rausher, M.D. 1989. The evolution of resistance to herbivory in *Ipomoea purpurea*. II. Natural selection by insects and costs of resistance. *Evolution* 43: 573-585.
- Simms, E. L., y Triplett, J. 1994. Costs and benefits of plant responses to disease: resistance and tolerance. *Evolution* 48:1973-1985.
- Sokal, R.R. y Rohlf, F.J. 1995. *Biometry*. Third ed. W.H. Freeman and Company, New York.
- Sork, V. L., Stowe, K. A. y Hochwender, C. 1993. Evidence for local adaptation in closely adjacent subpopulations of northern red oak (*Quercus rubra* L.) expressed as resistance to herbivores. *American Naturalist* 142: 928-936.
- Stearns, S.C. 1992. *The Evolution of Life Histories*. Oxford University Press, New York.
- Stowe, K. A., Sork, V. L. y Farrell, A. W. 1994. Effects of water availability on the phenotypic expression of herbivory resistance in northern red oak (*Quercus rubra* L.). *Oecologia* 100: 309-315.
- Stowe, K. A. 1998. Experimental evolution of resistance in *Brassica rapa*: correlated response of tolerance in lines selected for glucosinolate content. *Evolution* 52: 703-712.
- Strong, D.R., Larsson, S. y Gullberg, U. 1993. Heritability of host plant resistance to herbivory changes with gallmidge density during an outbreak on willow. *Evolution* 47: 291-300.
- Tiffin, P. y Rausher, M. D. 1999. Genetic constraints and selection acting on tolerance to herbivory in the common morning glory *Ipomoea purpurea*. *American Naturalist* 154: 700-716.

- Thompson, J. N. 1988. Variation in intraspecific interactions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 19: 65-87.
- Thompson, J. N. 1994. *The Coevolutionary Process*. The University of Chicago Press, Chicago.
- Thompson, J. N. 1999a. The raw material for coevolution. *Oikos* 84: 5-16.
- Thompson, J.N. 1999b. Specific hypotheses on the geographic mosaic of coevolution. *American Naturalist* 153: S1-S14.
- Travis, J. 1996. The significance of geographical variation in species interactions. *American Naturalist* 148: S1-S8.
- van Tienderen, E. y van der Toorn, J. 1991a. Genetic differentiation between populations of *Plantago lanceolata*. I. Local adaptation in three contrasting habitats. *Journal of Ecology* 79: 27-42.
- van Tienderen, E. y van der Toorn, J. 1991b. Genetic differentiation between populations of *Plantago lanceolata*. II. Phenotypic selection in transplant experiment in three contrasting habitats. *Journal of Ecology* 79: 43-59.
- Via, S. 1984. The quantitative genetics of polyphagy in a insects herbivore. II. Genetics correlations in larval performance within and among host plants. *Evolution* 38: 896-905.
- Wainhouse, D. y Ashburner, R. 1996. The influence of genetic and environmental factors on defensive traits in Spruce. *Functional Ecology* 10: 137-143.
- Weaver, S. E. y Warwick, S. I. 1984. The biology of Canadian weeds. 64. *Datura stramonium* L. *Canadian Journal of Plant Science* 64: 979-991.
- Weaver, S. E., Dirks, V. A. y Warwick, S. I. 1985. Variation and climatic adaptation in northern populations of *Datura stramonium*. *Canadian Journal of Botany* 63: 1303-1308.
- Zangerl, A. R. y Berenbaum, M. R. 1990. Furanocoumarin induction in wild parsnip: genetics and populational variation. *Ecology* 71: 1933-1940.
- Zangerl, A. y Bazzaz, F. A. 1992. Theory and pattern in plant defense allocation. En: *Plant Resistance to Herbivory and Pathogens. Ecology, Evolution and Genetics* (R. S. Fritz y E. L. Simms, eds.), pp. 363-391. The University of Chicago Press, Chicago.

Tabla 1. Valores promedio de resistencia relativa (1 – daño relativo), adecuación absoluta (número total de semillas por planta) y tamaño de la planta (número total de hojas por planta) entre poblaciones de *Datura stramonium* en los Sitios Ticumán y Sitio Sto. Domingo.

| Sitio | Carácter | Población | | | | | |
|--------------|-------------|----------------------|---------|--------|----------------------|---------|--------|
| | | Ticumán | | | Sto. Domingo | | |
| | | Media (1E.E.) (n) | rango | CV (%) | Media (E.E.) (n) | rango | CV (%) |
| Ticumán | Resistencia | 0.79 (0.004) (430) | 0-0.95 | 11 | 0.74 (0.01) (289) | 0-0.97 | 23 |
| | Tamaño | 259 (14.5) (423) | 0-2192 | 115 | 130 (12.8) (291) | 0-2208 | 168 |
| | Adecuación | 10013 (575.9) (400) | 0-64175 | 115 | 3930.5 (418.5) (282) | 0-36533 | 173 |
| Sto. Domingo | Resistencia | 0.75 (0.01) (271) | 0-1 | 31 | 0.70 (0.01) (362) | 0-1 | 38 |
| | Tamaño | 10.30 (0.58) (273) | 0-89 | 112 | 7.22 (0.50) (368) | 0-69 | 115 |
| | Adecuación | 158.48 (17.54) (269) | 0-1123 | 150 | 150.18 (11.87) (350) | 0-1377 | 147 |

Tabla 2. Análisis de varianza anidados, componentes de varianza y heredabilidad de la resistencia a insectos herbívoros y tamaño de la planta en las poblaciones de *D. stramonium* de Ticumán y Sto. Domingo, sembradas en el Sitio Ticumán. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$

| Población | Carácter | Fuente de variación | g.l. | SC | F | Componentes de varianza | Porcentaje | $h^2_n (\pm E.E.)$ |
|--------------|--------------|---------------------|------|--------|--------|-------------------------|------------|--------------------|
| Ticumán | Resistencia: | Padres | 27 | 0.919 | 1.97* | 0.0012 | 10.62 | 0.42 (0.20)* |
| | | Madres [Padres] | 28 | 0.483 | 1.77* | 0.0011 | 9.49 | |
| | | Error | 328 | 3.189 | | 0.0097 | 79.87 | |
| | Tamaño: | Padres | 27 | 31.743 | 2.62** | 0.0619 | 16.01 | 0.68 (0.33)* |
| | | Madres [Padres] | 28 | 12.563 | 1.63* | 0.0262 | 7.67 | |
| | | Error | 320 | 87.612 | | 0.2765 | 76.31 | |
| Sto. Domingo | Resistencia: | Padres | 18 | 1.035 | 0.83 | 0 | 0 | 0 |
| | | Madres [Padres] | 19 | 1.308 | 1.95* | 0.0066 | 14.27 | |
| | | Error | 193 | 6.795 | | 0.0399 | 85.73 | |
| | Tamaño: | Padres | 18 | 22.580 | 2.60* | 0.0679 | 17.64 | 0.66 (0.25)* |
| | | Madres [Padres] | 19 | 9.170 | 1.71* | 0.0350 | 9.11 | |
| | | Error | 194 | 57.708 | | 0.2820 | 73.32 | |

Tabla 3. Análisis de varianza anidados, componentes de varianza y heredabilidad de la resistencia a insectos herbívoros y tamaño de la planta en las poblaciones de *D. stramonium* de Ticumán y Sto. Domingo, sembradas en el Sitio Sto. Domingo. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$

| Población | Carácter | Fuente de variación | g.l. | SC | F | Componentes de varianza | Porcentaje | $h^2_n (\pm E.E.)$ |
|--------------|--------------|---------------------|------|--------|---------|-------------------------|------------|--------------------|
| Ticumán | Resistencia: | Padres | 16 | 2.230 | 1.14 | 0.0023 | 2.01 | 0.06 (0.18) |
| | | Madres [Padres] | 17 | 2.994 | 1.77* | 0.0136 | 11.82 | |
| | | Error | 167 | 16.604 | | 0.0994 | 86.16 | |
| | Tamaño: | Padres | 16 | 2.554 | 1.03 | 0.0004 | 0.34 | 0.01 (0.12) |
| | | Madres [Padres] | 17 | 2.631 | 1.30 | 0.0063 | 5.08 | |
| | | Error | 167 | 19.855 | | 0.1188 | 94.56 | |
| Sto. Domingo | Resistencia: | Padres | 27 | 11.098 | 2.08* | 0.0187 | 13.30 | 0.53 (0.20)** |
| | | Madres [Padres] | 28 | 5.533 | 1.85** | 0.0159 | 11.31 | |
| | | Error | 279 | 29.705 | | 0.1064 | 75.38 | |
| | Tamaño: | Padres | 27 | 15.633 | 3.42*** | 0.0354 | 20.20 | 0.80 (0.19)*** |
| | | Madres [Padres] | 28 | 4.739 | 1.26 | 0.0060 | 3.44 | |
| | | Error | 285 | 60.316 | | 0.1341 | 76.35 | |

Tabla 4. Gradientes de selección natural direccional (A), cuadráticos (estabilizadora/disruptiva) y correlativos (B) de resistencia a insectos herbívoros y tamaño de la planta en dos poblaciones de *D. stramonium*, en el Sitio Ticumán. Se presentan los análisis fenotípicos y sobre valores reproductivos. Las pruebas de significancia y errores estándar fueron obtenidos mediante el procedimiento "Jackknife" (ver Análisis estadístico). Los errores estándar se muestran entre paréntesis. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

| | Población | | | |
|--------------------------|---------------------|--------------------------------|---------------------|--------------------------------|
| | Ticumán | | Sto. Domingo | |
| A) | β fenotípico | β valores reproductivos | β fenotípico | β valores reproductivos |
| Resistencia | 0.36 (0.06)*** | 0.30 (0.09)** | 0.06 (0.03) | 0.14 (0.08) |
| Tamaño | 0.84 (0.08)*** | 0.34 (0.11)** | 0.78 (0.15)*** | 0.49 (0.08)*** |
| B) | γ fenotípico | γ valores reproductivos | γ fenotípico | γ valores reproductivos |
| Resistencia ² | 0.04 (0.06) | -0.16 (0.15) | -0.01 (0.01) | 0.01 (0.10) |
| Tamaño ² | -0.17 (0.06)** | -0.37 (0.07)** | -0.13 (0.03)*** | 0.08 (0.12) |
| Res. x Tam. | 0.12 (0.07) | 0.25 (0.31) | 0.20 (0.03) | -0.49 (0.24) |

Tabla 5. Gradientes de selección natural direccional (A), cuadráticos (estabilizadora/disruptiva) y correlativos (B) de resistencia a insectos herbívoros y tamaño de la planta en dos poblaciones de *D. stramonium*, en el Sitio Sto. Domingo. Se presentan los análisis fenotípicos y sobre valores reproductivos. Las pruebas de significancia y errores estándar fueron obtenidos mediante el procedimiento "Jackknife" (ver Análisis estadístico). Los errores estándar se muestran entre paréntesis. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

| A) | Población | | | |
|---------------------|--------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | Ticumán | | Sto. Domingo | |
| | β fenotípico | β valores reproductivos | β fenotípico | β valores reproductivos |
| Resistencia | 0.20 (0.07)* | 0.33 (0.08)*** | 0.10 (0.07) | -0.13 (0.13) |
| Tamaño | 0.59 (0.21)** | 0.45 (0.11)*** | 0.50 (0.18)** | 0.41 (0.16) |
| B) | γ fenotípico | | γ valores reproductivos | |
| | γ fenotípico | γ valores reproductivos | γ fenotípico | γ valores reproductivos |
| | Resistencia ² | 0.09 (0.06) | 0.08 (0.12) | -0.13 (0.02)** |
| Tamaño ² | -0.14 (0.03)*** | -0.44 (0.21) | -0.01 (0.03) | -0.03 (0.32) |
| Res. \times Tam. | 0.12 (0.07) | 0.58 (0.17)* | 0.17 (0.15) | -0.49 (0.24) |

Tabla 6. Diferencias en los patrones de selección natural en la resistencia a insectos herbívoros y el tamaño de la planta a partir de análisis de covarianza con adecuación relativa como variable dependiente. Los valores de F y su probabilidad asociada corresponden a las interacciones Factor (Sitio y/o Población) \times covariable (resistencia y/o tamaño). Las interacciones significativas se indican en negritas.

| Carácter | Entre Sitios (Sitio \times carácter) | | Entre Poblaciones (Población \times carácter) | | Entre Sitios por Población (Sitio \times Población \times carácter) | |
|--------------------------|---|------------------------------------|--|-----------------------------------|--|-----------------------------------|
| | fenotípico | valores reproductivos | fenotípico | valores reproductivos | fenotípico | valores reproductivos |
| Resistencia | $F_{1,1291} = 14.43$ $P = 0.0002$ | $F_{1,84} = 6.68$ $P = 0.0114$ | $F_{1,1291} = 16.36$ $P = 0.0001$ | $F_{1,84} = 2.37$ $P = 0.1268$ | $F_{1,1291} = 11.84$ $P = 0.0006$ | $F_{1,84} = 0.01$ $P = 0.9081$ |
| Tamaño | $F_{1,1288} = 129.3$ $P < 0.0001$ | $F_{1,84} = 15.46$ $P = 0.0002$ | $F_{1,1288} = 0.80$ $P = 0.3704$ | $F_{1,84} = 0.39$ $P = 0.5302$ | $F_{1,1288} = 0.69$ $P = 0.4063$ | $F_{1,84} = 0.41$ $P = 0.5216$ |
| Resistencia ² | $F_{1,1270} = 1.85$ $P = 0.1738$ | $F_{1,68} = 0.24$ $P = 0.6254$ | $F_{1,1270} = 0.67$ $P = 0.4110$ | $F_{1,68} = 0.20$ $P = 0.6558$ | $F_{1,1270} = 0.27$ $P = 0.5978$ | $F_{1,68} = 0.52$ $P = 0.4727$ |
| Tamaño ² | $F_{1,1270} = 11.12$ $P = 0.0009$ | $F_{1,68} = 2.65$ $P = 0.1077$ | $F_{1,1270} = 16.25$ $P = 0.0001$ | $F_{1,68} = 0.64$ $P = 0.4239$ | $F_{1,1270} = 16.23$ $P = 0.0001$ | $F_{1,68} = 0.64$ $P = 0.4257$ |
| Res. \times Tam. | $F_{1,1270} = 3.61$ $P = 0.0575$ | $F_{1,68} = 1.59$ $P = 0.2112$ | $F_{1,1270} = 0.17$ $P = 0.6773$ | $F_{1,68} = 2.23$ $P = 0.1397$ | $F_{1,1270} = 0.11$ $P = 0.7332$ | $F_{1,68} = 1.60$ $P = 0.2096$ |

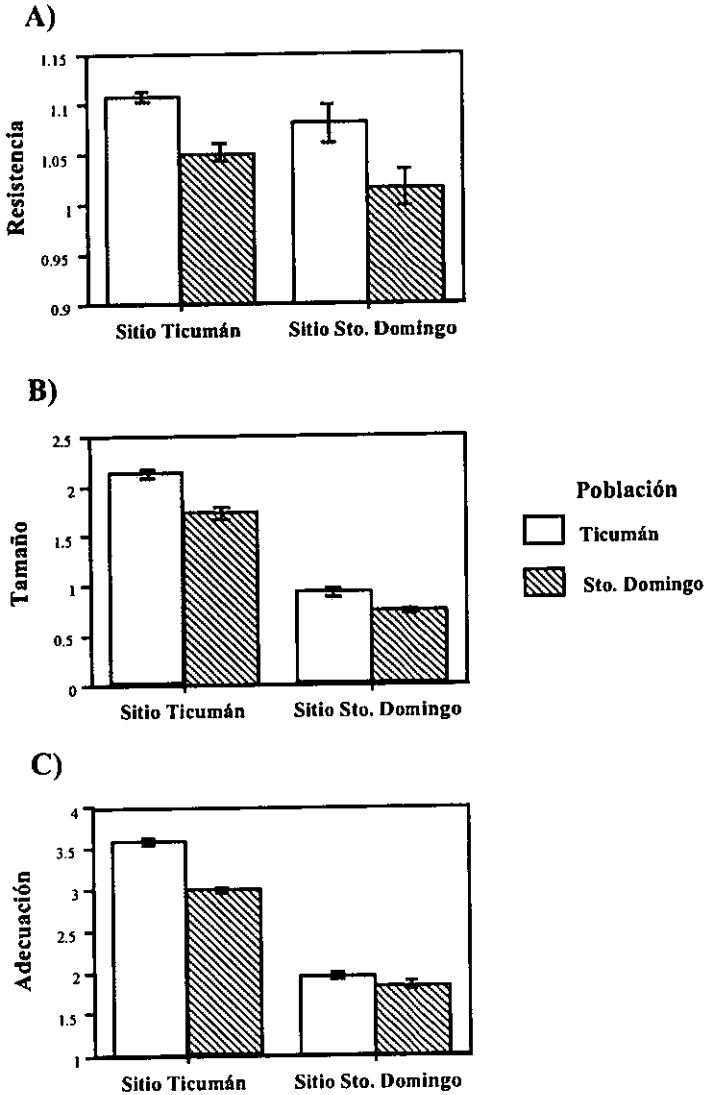


Figura 1. Valores promedio (± 1 E.E.) de resistencia a insectos herbívoros (arcoseno de la raíz cuadrada de $[1 - \text{daño relativo}]$), tamaño ($[\log_{10} + 1]$) del número total de hojas por planta) y adecuación ($[\log_{10} + 1]$) del número total de semillas por planta) para las poblaciones de Ticumán y Sto. Domingo sembradas en ambos sitios.

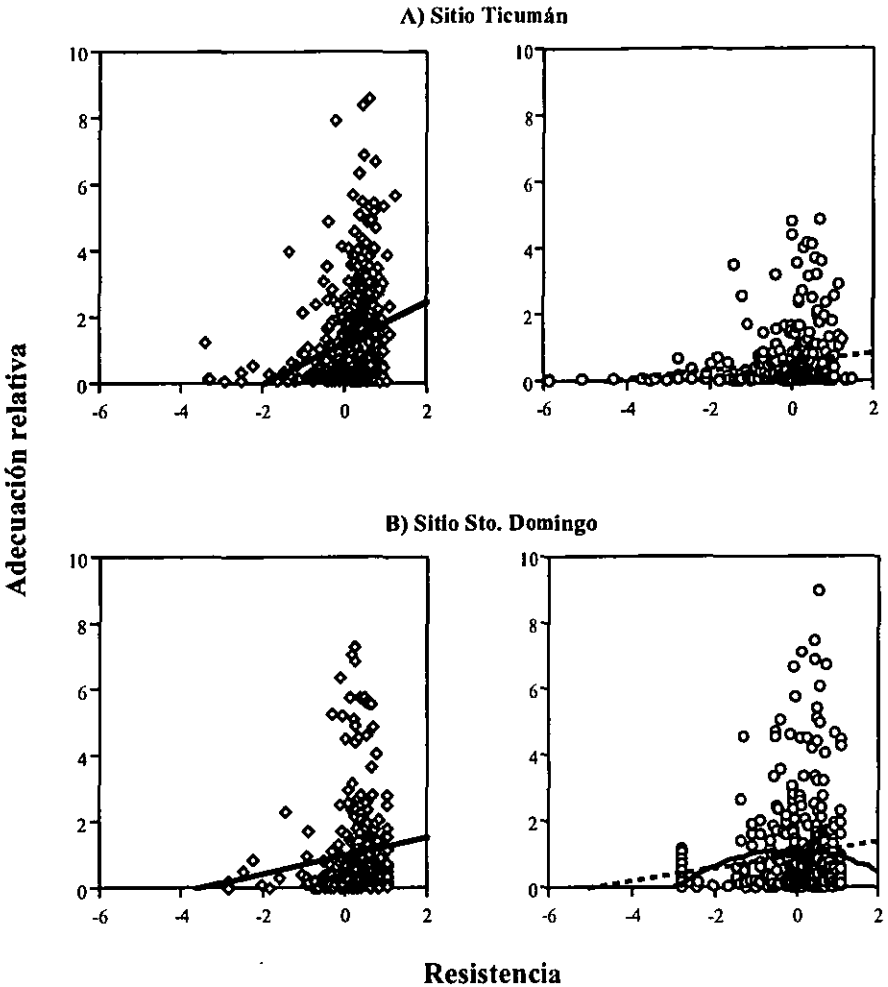


Figura 2. Relación entre los valores fenotípicos de resistencia (estandarizada) y adecuación relativa en la población de Ticumán (◆) y Sto. Domingo (○) en el A) Sitio Ticumán y B) Sto. Domingo. Los gradientes de selección direccional significativos se indican con líneas continuas (—) y los no significativos con líneas punteadas (- - -). Solo para la población de Sto. Domingo en su sitio nativo se detectó un gradiente de selección estabilizadora significativo sobre la resistencia (ver Resultados).

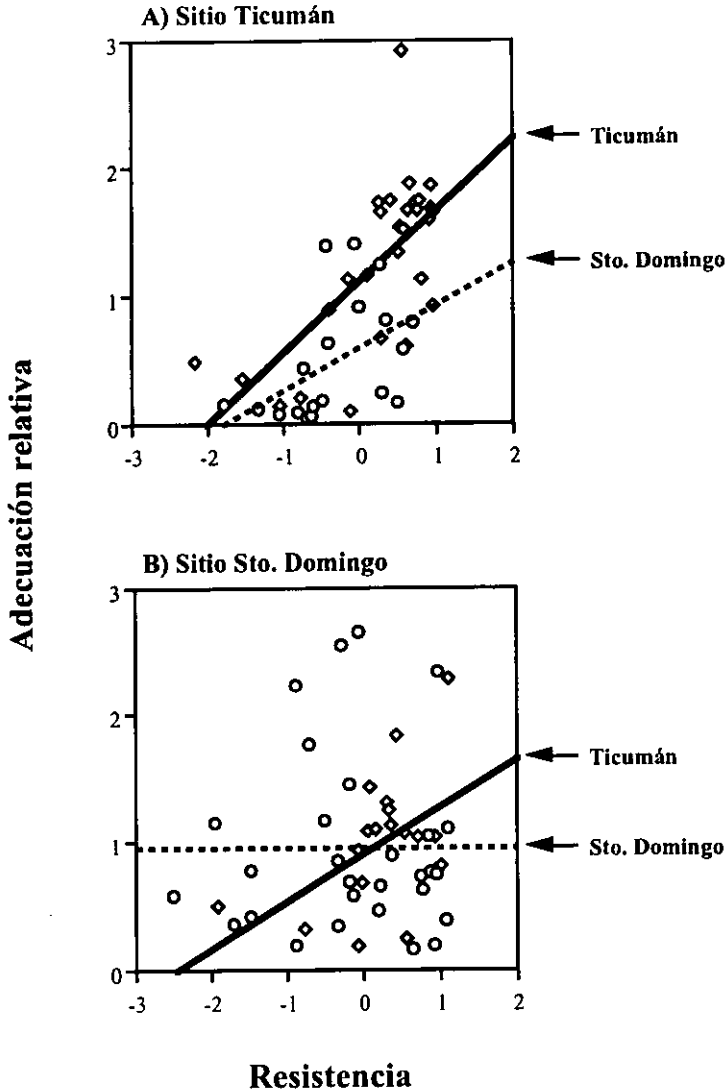


Figura 3. Relación entre los valores reproductivos para las familias de medios hermanos paternos de resistencia (estandarizada) y adecuación relativa en la población de Ticumán (◊) y Sto. Domingo (○) en el A) Sitio Ticumán y B) Sto. Domingo. Los gradientes de selección significativos se indican con líneas continuas (—) y los no significativos con líneas punteadas (- - -) (ver Resultados).

Discusión General

Los resultados del presente estudio demuestran la relevancia de la selección natural en la determinación de la dinámica evolutiva de los rasgos involucrados en la interacción planta-herbívoro, y el valor adaptativo de la resistencia a insectos herbívoros en *Datura stramonium*. Mediante el análisis de la variación a nivel geográfico e intrapoblacional y la evaluación de la selección natural combinada con el estudio de la genética cuantitativa (Lande y Arnold 1983; Michell-Olds y Rutledge 1986; Rausher 1992; Rausher 1996; Roff 1997), se ha demostrado la existencia de diferencias en el valor adaptativo de la resistencia a insectos herbívoros entre poblaciones de *D. stramonium*. Recientemente el estudio de la variación en el valor adaptativo ha cobrado gran importancia ya que se considera que la existencia de un mosaico geográfico en la variación genética de las adaptaciones es la materia prima del proceso coevolutivo (Thompson 1994; Travis 1996; Thompson 1999a, b; Gómez y Zamora 2000).

Teoría del mosaico geográfico

La teoría del mosaico geográfico de la coevolución sugiere que diferentes ambientes favorecen diferentes adaptaciones involucradas en la interacción como consecuencia de la variación espacial y temporal en las presiones selectivas, produciendo diferenciación poblacional adaptativa (Thompson 1997). En el caso de las interacciones planta-herbívoro, el resultado de esta selección en mosaico es la variación interpoblacional en el valor adaptativo de los rasgos involucrados en la defensa. En el presente estudio, además de poner a prueba la importancia de la selección natural en el proceso de diferenciación poblacional (Cap. I y II), se encontró que la variación en las presiones selectivas ejercidas por los herbívoros apoya la hipótesis de la adaptación local para la resistencia (Cap. III),

indicando la existencia de un mosaico selectivo para este rasgo en *D. stramonium* (Thompson 1994; Niusmer *et al.* 1999). A pesar de que otros procesos evolutivos (*i.e.*, deriva génica) pueden ejercer efectos significativos en la expresión de la variación fenotípica entre poblaciones de *D. stramonium* (Núñez-Farfán 1991), los resultados presentados en esta tesis indican que la selección natural juega un papel fundamental en el resultado evolutivo de la interacción a nivel geográfico. En este sentido, la existencia de variación genética aditiva (Cap. III) indican que ni la deriva, ni el flujo genético son lo suficientemente importantes para erosionar la varianza genética o evitar el proceso de adaptación local en por lo menos una de las poblaciones estudiadas (*i.e.*, Ticumán). El hecho de haber detectado adaptación local en un rasgo cuantitativo involucrado en la defensa contra herbívoros (*i.e.*, resistencia) (Cap. III), no excluye la posibilidad de que este fenómeno de adaptación local no se extienda a otros caracteres de relevancia ecológica y evolutiva (*i.e.*, tasa de germinación, sobrevivencia, crecimiento, etc.) (Nagy 1997). Este resultado hace evidente el potencial para el estudio de las adaptaciones del sistema utilizado en esta tesis.

Costos de la resistencia

La teoría de la evolución de la defensa en plantas plantea que el grado de resistencia a los herbívoros que se observa en las poblaciones naturales refleja un compromiso entre los beneficios de reducir el efecto negativo del herbivorismo y los costos de la inversión en rasgos que confieren resistencia (Simms y Rausher 1987; Herms y Mattson 1992; Simms 1992; Zangerl y Bazzaz 1992; Bergelson y Purrington 1996; Rausher 1996). En este sentido, se ha postulado que la variación intra- e inter-poblacional en los niveles de

resistencia es producto de diferencias en la relación costo-beneficio de la resistencia (Fagerström *et al.* 1987; Simms y Rausher 1987; Simms 1992). Aún cuando todavía no existe suficiente evidencia, algunos estudios ecológicos han demostrado la existencia de variación entre poblaciones en la expresión fenotípica de algunos componentes de la defensa (Dirzo y Harper 1982; van der Meijden *et al.* 1988; Coley *et al.* 1985; Marquis 1992; Benkman 1999; Gianoli y Hannunen 2000). Esta variación puede atribuirse tanto a factor del ambiente físico (*i.e.*, disponibilidad de recursos: nutrientes, agua, luz, etc.) (Cates 1975; Coley *et al.* 1985; Zangerl y Bazzaz 1992) como aquellos del ambiente biótico (por ejemplo, abundancia y diversidad de herbívoros) (Fritz y Simms 1992; Marquis 1992). Si en el caso de *D. stramonium*, el valor adaptativo de los rasgos que confieren resistencia ante los herbívoros varía entre poblaciones como consecuencia de variación en los costos asociados a ellos, el resultado evolutivo de la interacción se reflejará en patrones selectivos distintos sobre los componentes de la resistencia.

En relación a lo anterior, el estudio mismo ha abierto una serie de preguntas en relación a la variación en los costos de la resistencia entre poblaciones. Por ejemplo, ¿qué mecanismos explican la variación adaptativa entre poblaciones? Si la selección natural ha sido la fuerza responsable de la diferenciación adaptativa en la resistencia de *D. stramonium* (ver Cap. III), entonces ¿las diferencias entre poblaciones en la defensa está condicionada a la variación en los costos que representa la inversión de recursos a la defensa en las plantas? (Simms 1992; Fornoni *et al.* manuscrito). Es razonable esperar que en aquellos ambientes donde la resistencia fue favorecida (*i.e.*, Ticumán) (Cap. I, II y III), los costos de asignación a la defensa no superen a los beneficios de evitar el daño por herbívoros. Los estudios futuros plantean la necesidad de 1) estimar los costos de los

componentes de la resistencia y 2) su variación entre poblaciones (por ejemplo, densidad de tricomas y compuestos secundarios), a través de la manipulación del agente selectivo en condiciones naturales (Mauricio y Rausher 1997).

Insectos herbívoros

Las investigaciones futuras en la evolución de las defensas en *D. stramonium* deberán incorporar el estudio de los insectos herbívoros asociados a esta especie. Los resultados de la presente tesis muestran que existe variación en la diversidad y abundancia de la fauna de insectos herbívoros entre poblaciones de *D. stramonium* en el Centro de México (Cap. II y III). Lo anterior indica que potencialmente existe variación interpoblacional en las presiones selectivas ejercidas por los insectos herbívoros. De aquí se plantea ¿Cuál es el efecto de esta variación en el proceso de adaptación local en *D. stramonium*? Si se ha reconocido que la variación en las presiones selectivas pueden producir potencialmente divergencia poblacional en los rasgos involucrados en la interacción (Endler 2000; Gómez y Zamora 2000), entonces la detección de diferenciación poblacional y selección contrastante para la resistencia con relación a los agentes selectivos plantea nuevas e interesantes líneas de investigación en el sistema *D. stramonium*-insectos herbívoros.

A pesar de que el papel adaptativo de varios componentes de la defensa han sido evaluados (Fritz y Simms 1992; Marquis 1992; Ågren y Schemske 1993; Roy *et al.* 1999) incluyendo a *D. stramonium* (Shonle y Bergelson 2000; Cap. III), sólo el análisis interpoblacional de la variación adaptativa de los mecanismos que confieren resistencia en las plantas puede ayudar a corroborar el paradigma central de la coevolución entre

plantas y herbívoros con respecto a la gran diversidad de alternativas de defensa presente en las plantas.

Literatura Citada

- Ågren, J. y Schemske, D.W. 1993. The cost of defense against herbivores: an experimental study of trichome production in *Brassica rapa*. *American Naturalist* 141: 338-350.
- Benkman, C.W. 1999. The selection mosaic and diversifying coevolution between crossbills and lodgepole pine. *American Naturalist* 153: S75-S91.
- Coley, P. D., Bryant, J. P. y Chapin III, F. S. 1985. Resource availability and plant antiherbivory defense. *Science* 230: 895-899.
- Dirzo, R. y Harper, J.L. 1982. Experimental studies on slug-plant interactions. III. Differences in the acceptability of individual plants of *Trifolium repens* to slugs and snails. *Journal of Ecology* 70: 101-117.
- Endler, J. A. 2000. Adaptive genetic variation in the wild. En: *Adaptive Genetic Variation in the Wild* (T.A. Mousseau, B. Sinervo y J. Endler, eds.), pp. 251-260-186. Oxford University Press, New York.
- Fagerström, T., Larsson, S. y Tenow, O. 1987. On optimal defence in plants. *Functional Ecology* 1: 73-81.
- Fritz, R. S., y Simms, E. L. 1992. *Plant Resistance to Herbivores. Ecology, Evolution, and Genetics*. University of Chicago Press, Chicago.
- Gianoli, E. y Hannunen, S. 2000. Plasticity of leaf traits and insect herbivory in *Solanum incanum* L. (Solanaceae) in Nguruman, SW Kenya. *African Journal of Ecology* 38: 183- 187.
- Gómez, J.M. y Zamora, R. 2000. Spatial variation in the selective scenarios of *Hormathophylla spinosa* (Cruciferae). *American Naturalist* 155: 657-668.
- Lande, R. y Arnold, S.J. 1983. The measurement of selection on correlated characters. *Evolution* 37: 1210-1226.
- Herns, D. A. y Mattson, W. J. 1992. The dilemma of plants: to grow or defend. *Quarterly Review of Biology* 67: 283-335.
- Marquis, R. J. 1992. The selective impact of herbivory. En: *Plant Resistance to Herbivory*

plantas y herbívoros con respecto a la gran diversidad de alternativas de defensa presente en las plantas.

Literatura Citada

- Ågren, J. y Schemske, D.W. 1993. The cost of defense against herbivores: an experimental study of trichome production in *Brassica rapa*. *American Naturalist* 141: 338-350.
- Benkman, C.W. 1999. The selection mosaic and diversifying coevolution between crossbills and lodgepole pine. *American Naturalist* 153: S75-S91.
- Coley, P. D., Bryant, J. P. y Chapin III, F. S. 1985. Resource availability and plant antiherbivory defense. *Science* 230: 895-899.
- Dirzo, R. y Harper, J.L. 1982. Experimental studies on slug-plant interactions. III. Differences in the acceptability of individual plants of *Trifolium repens* to slugs and snails. *Journal of Ecology* 70: 101-117.
- Endler, J. A. 2000. Adaptive genetic variation in the wild. En: *Adaptive Genetic Variation in the Wild* (T.A. Mousseau, B. Sinervo y J. Endler, eds.), pp. 251-260-186. Oxford University Press, New York.
- Fagerström, T., Larsson, S. y Tenow, O. 1987. On optimal defence in plants. *Functional Ecology* 1: 73-81.
- Fritz, R. S., y Simms, E. L. 1992. *Plant Resistance to Herbivores. Ecology, Evolution, and Genetics*. University of Chicago Press, Chicago.
- Gianoli, E. y Hannunen, S. 2000. Plasticity of leaf traits and insect herbivory in *Solanum incanum* L. (Solanaceae) in Nguruman, SW Kenya. *African Journal of Ecology* 38: 183-187.
- Gómez, J.M. y Zamora, R. 2000. Spatial variation in the selective scenarios of *Hormathophylla spinosa* (Cruciferae). *American Naturalist* 155: 657-668.
- Lande, R. y Arnold, S.J. 1983. The measurement of selection on correlated characters. *Evolution* 37: 1210-1226.
- Herms, D. A. y Mattson, W. J. 1992. The dilemma of plants: to grow or defend. *Quarterly Review of Biology* 67: 283-335.
- Marquis, R. J. 1992. The selective impact of herbivory. En: *Plant Resistance to Herbivory*

- and *Pathogens. Ecology, Evolution and Genetics* (R.S. Fritz y E.L. Simms, eds.), pp. 301-325. The University of Chicago Press, Chicago.
- Mauricio, R y Rausher, M.D. 1997. Experimental manipulation of putative selective agents provides evidence for the role of natural enemies in the evolution of plant defense. *Evolution* 51: 1475-1444.
- Michell-Olds, T. y Rutledge, J.J. 1986. Quantitative genetics in natural plants populations: a review of the theory. *American Naturalist* 127: 379-402.
- Nagy, E.S. 1997. Selection for native characters in hybrids between two locally adapted plant subspecies. *Evolution* 51: 1469-1480.
- Nuismer, S.L., Thompson, J.N. y Gomulkiewicz, R. 1999. Gene flow and geographically structured coevolution. *Proceedings of the Royal Society of London* 266: 605-609.
- Núñez-Farfán, J. 1991. Biología evolutiva de *Datura stramonium* L. en el Centro de México: selección natural de la resistencia a los herbívoros, sistema de cruzamiento y variación genética intra e inter-poblacional. Tesis Doctoral, Centro de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- Rausher, M. D. 1992. The measurement of natural selection on quantitative traits: biases due to environmental covariance between trait and fitness. *Evolution* 46: 616-626.
- Rausher, M. D. 1996. Genetic analysis of coevolution between plants and their natural enemies. *Trends in Genetics* 12: 212-217.
- Roff, D.A. 1997. *Evolutionary Quantitative Genetics*. Chapman and Hall, New York.
- Roy, B.A., Stanton, M.L. y Eppley, S.M. 1999. Effects of environmental stress on leaf hairs density and consequences for selection. *Journal of Evolutionary Biology* 12: 1089-1103.
- Shonle, I. and Bergelson, J. 2000. Evolutionary ecology of the trophane alkaloids of *Datura stramonium* L. (Solanaceae). *Evolution* 54: 778-788.
- Simms, E. L. y Rausher, M.D. 1987. Costs and benefits of plant resistance to herbivory. *American Naturalist* 130: 570-581.
- Simms, E. L. 1992. Cost of plant resistance to herbivory. En: *Plant Resistance to Herbivory and Pathogens. Ecology, Evolution and Genetics* (R. S. Fritz y E. L. Simms, eds.), pp. 392-425. The University of Chicago Press, Chicago.
- Thompson, J. N. 1994. *The Coevolutionary Process*. The University of Chicago Press, Chicago.

- Thompson, J.N. 1997. Evaluating the dynamics of coevolution among geographically structured populations. *Ecology* 78: 1619-1623.
- Thompson, J. N. 1999a. The raw material for coevolution. *Oikos* 84: 5-16.
- Thompson, J.N. 1999b. Specific hypotheses on the geographic mosaic of coevolution. *American Naturalist* 153: S1-S14.
- Travis, J. 1996. The significance of geographical variation in species interactions. *American Naturalist* 148: S1-S8.
- van der Meijden, E., Wijn, M. y Verkaar, H. J. 1988. Defence and regrowth, alternative plant strategies in the struggle against herbivores. *Oikos* 51: 355-363.
- Zangcr1, A. y Bazzaz, F. A. 1992. Theory and pattern in plant defense allocation. En: *Plant Resistance to Herbivory and Pathogens. Ecology, Evolution and Genetics* (R. S. Fritz y E. L. Simms, eds.), pp. 363-391. The University of Chicago Press, Chicago.