

# Cambios en la morfología floral y foliar en *Crataegus tracyi*: importancia de la asimetría fluctuante como indicador de estrés ambiental

Canché-Delgado Armando, García-Jain S. Ecaterina, Vaca-Sánchez M. Sofía, Cuevas-Reyes Pablo

Laboratorio de Ecología de Interacciones Bióticas, Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Ciudad Universitaria, Morelia Michoacán, México. C.P. 58060

## Resumen

La transformación de bosques maduros a otros sistemas reduce su área afectando la distribución espacial de especies de plantas, formando fragmentos de bosque y campos abandonados que generan cambios en la composición y estructura de la comunidad de especies, alteraciones en interacciones planta-animal y pérdida de diversidad genética. Particularmente, las plantas pueden responder a cambios abióticos y bióticos generados por la perturbación expresados en cambios de atributos químicos, fisiológicos y morfológicos acorde a su capacidad de respuesta ante alteraciones ambientales. Estos cambios pueden ser monitoreados mediante el uso de herramientas como la asimetría fluctuante (AF) que es una media particular de la estabilidad durante el desarrollo de algún atributo fenotípico en rasgos bilaterales o radialmente simétricos óptimos. La AF ha demostrado ser una herramienta útil para evaluar el estrés ambiental sobre diferentes organismos. En este estudio, se evaluó el efecto de la perturbación de hábitat sobre la asimetría fluctuante en caracteres morfológicos de flores y hojas en *Crataegus tracyi* en potreros y sitios de bosque maduro en un bosque tropical seco mediante el uso de morfometría geométrica. Nuestros resultados indican que la morfología de flores y hojas es diferente entre potreros y sitios de bosque maduro, sugiriendo una alta plasticidad fenotípica de *C. tracyi* en estos ambientes. Además, se encontraron mayores niveles de asimetría fluctuante de flores y hojas en potreros indicando un alto estrés ambiental. Finalmente, nuestros resultados indican que tanto la morfometría geométrica como la AF son una excelente herramienta de monitoreo ambiental en ambientes perturbados.

**Palabras clave:** Asimetría fluctuante, morfometría geométrica, perturbación de hábitat, *Crataegus tracyi*

## Introducción

La distribución espacial de las especies es afectada por la transformación de los bosques maduros a otros tipos de sistemas (Fahring, 2003). El resultado es un paisaje con parches aislados con distintos niveles de perturbación y transiciones abruptas entre diferentes tipos de hábitats (e.g., pastizales, campos agrícolas, bosques secundarios, etc.). Por lo tanto, la perturbación de hábitats se considera como una de las mayores amenazas a la biodiversidad y al funcionamiento de los ecosistemas terrestres (Saunders *et al.*, 1991; Harrison y Bruna, 1999; Thies y Tschardtke, 1999). Los resultados de la perturbación del hábitat son entre otros, la formación de fragmentos de bosque y campos abandonados que generan cambios en la composición y abundancia de especies, alteraciones en las interacciones planta-animal, culminando con la pérdida de diversidad genética y extinción de especies (Golden y Crist, 1999; Debinski y Holt, 2000; Couvet, 2002; Tovar-Sánchez *et al.*, 2004). Del mismo modo, la perturbación afecta las condiciones ambientales, aumentando la disponibilidad de luz y temperatura del aire dentro de los fragmentos, mientras que la humedad del suelo tiende a ser significativamente menor (Kapos, 1989; Murcia, 1995). Por lo tanto, las condiciones ambientales de los sitios perturbados generan estrés en las plantas que afectan tanto procesos de germinación, establecimiento y regeneración (Laurence *et al.*, 1998), como procesos metabólicos que contribuyen a la biosíntesis, mantenimiento y crecimiento celular (Berry y Raison, 1981; Bruhn *et al.*, 2000; Loveys *et al.*, 2002).

Como resultado de la acción de estos factores ambientales, la selección natural puede resultar en la evolución de plasticidad fenotípica donde los genotipos producen diferentes fenotipos acorde a las condiciones ambientales (Creighton, 2005). Particularmente, las plantas pueden responder a cambios abióticos y bióticos generados por la perturbación expresados en atributos químicos, fisiológicos y morfológicos acorde a su plasticidad fenotípica (Agrawal, 2001; Atkin *et al.*, 2006), la cual ha sido reconocida como una estrategia importante en plantas que maximiza o mantiene su adecuación ante estos cambios (Schlichting y Pigliucci, 1998; Wright y MacConnaughay, 2002). Los cambios en atributos morfológicos pueden ser identificados mediante el uso de herramientas como la morfometría geométrica (Klingenberg y McIntyre, 1998), mientras que el estrés ambiental puede ser monitoreado utilizando la asimetría fluctuante (AF), que es una media particular de la estabilidad durante el desarrollo de algún atributo fenotípico en rasgos bilaterales o radialmente simétricos óptimos (Møller y Shykoff, 1999). La AF es una herramienta útil para evaluar los impactos de estrés medioambiental sobre diferentes organismos (Møller y De Lope, 1998). Además, tales medidas de órganos homólogos o modulares del mismo individuo genético proveen una información más extensa de la habilidad de un genotipo para controlar y canalizar su desarrollo sobre un rango de condiciones ambientales (Whitlock, 1996, 1998; van Dongen, 1998). Por lo tanto, para un buen entendimiento de la habilidad de un organismo para

controlar su programa de desarrollo ante cambios ambientales o ambientes adversos, es ideal medir la asimetría fluctuante del mismo rasgo sobre un rango de condiciones ambientales (Møller y Shykoff, 1999). Sin embargo, existen pocos estudios que hayan evaluado la relación entre los cambios morfológicos con la AF en ambientes contrastantes. Por lo tanto, se plantearon las siguientes preguntas: (i) ¿Existen cambios en atributos morfológicos de flores y hojas de *Crataegus tracyi* entre ambientes conservados y perturbados?; (ii) ¿Existe variación en los patrones de AF de flores y hojas de *C. tracyi* en ambos ambientes? (iii) Existe relación entre la AF y los cambios morfológicos de flores y hojas de *C. tracyi*?

## Materiales y métodos

### Sitio de estudio

El estudio se realizó en Tenacatita ubicado en la Costa de Jalisco, México. Es una bahía que tiene una extensión de 6.5 km de largo, con una precipitación anual de 748mm donde la temporada de lluvias es de Junio a Octubre. La vegetación predominante es bosque tropical caducifolio con parches vegetación riparia (Rzedowski, 1978). El pastoreo es una de de las principales actividades humanas en Tenacatita, donde tradicionalmente se realiza el cambio de uso de suelo de bosque maduro a potreros. Los potreros generalmente presentan árboles remanentes de bosque maduro como es el caso de *Crataegus tracyi* que los humanos utilizan para sombreo durante sus jornadas laborales.

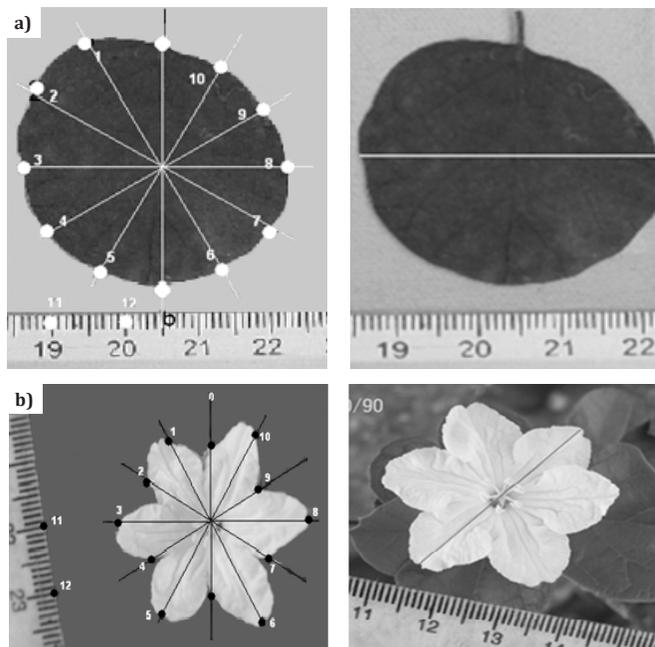
### Sistema de Estudio

*Crataegus tracyi* (Rosaceae) es un arbusto deceduo de 6 m de alto con flores blancas que produce frutos rojos y pilosos, a menudo con hojas rojizas. Rara vez se cultiva, pero tiene el potencial de convertirse en una planta ornamental valiosa (Phipps, 1997).

## Métodos

Se ubicaron potreros (sitios perturbados) y zonas de bosque maduro (sitios conservados) donde ocurre *C. tracyi*. En cada sitio de estudio se muestreó el dosel de 10 individuos de *C. tracyi*, colectando 5 ramas aleatoriamente. De cada rama, se tomaron fotografías digitales de 2 flores y 10 hojas (i.e., 10 flores y 50 hojas por individuo). Para determinar si el tipo de hábitat afecta la morfología de flores y hojas se aplicaron técnicas de morfometría geométrica (Rohlf, 1998). En cada imagen se colocaron 10 marcas anatómicas y 2 marcas adicionales como referencia del tamaño (Figura 1a, 1b). Cada marca corresponde a sitios homólogos (i.e., landmarks) que representan la morfología del contorno de flores y hojas (Bookstein, 1991).

La asimetría fluctuante de hojas y flores fue calculada a partir de cada imagen digital como el valor absoluto de las diferencias entre las distancias del lado derecho e izquierdo tomando como punto de referencia el centro de la flor y la vena central de la hoja (Ai-Bi) usando el programa Sigma Scan Pro, dividido por la distancia promedio  $(A_i+B_i)/2$  para corregir el efecto del tamaño (Cornelissen y Stiling, 2005) (Figura 1a, 1b). Tres diferentes tipos de asimetría han sido reconocidos en la morfología de los organismos: la asimetría fluctuante (AF), la asimetría direccional (AD) y la anti-asimetría (AA) (Albarrán-Lara *et al.*, 2010). La AF mide la variación en las pequeñas desviaciones al azar de la



**Figura 1.** Imagen digital de una hoja de *Crataegus tracyi* mostrando las diez marcas anatómicas (landmarks) a lo largo del margen y dos marcas adicionales (11 y 12) como referencia al tamaño. a) La medición de la AF consideró las diferencias en distancia entre el lado derecho e izquierdo de la hoja. b) Imagen digital de una flor de *C. tracyi* mostrando las diez marcas anatómicas (landmarks) a lo largo del margen y dos marcas adicionales (11 y 12) como referencia al tamaño; la medición de la AF consideró las diferencias en distancia entre el lado derecho e izquierdo de la flor.

simetría en los rasgos bilateralmente pares distribuidos con un valor promedio de cero, mientras que la AD muestra las diferencias entre las características que se distribuyen alrededor de una media que es significativamente mayor o menor que cero. Por último, la AA es la falta de simetría que se caracteriza por una distribución platicúrtica o bimodal de las desviaciones alrededor de una media de cero (Palmer y Strobeck, 1992; Albarrán-Lara *et al.*, 2010). Por lo tanto, la AF describe la variación aleatoria del fenotipo simétrico óptimo, mientras que la AD y AA son de desarrollo controlado y probablemente de adaptación. Por lo tanto, los dos últimos se consideran descriptores ineficientes de la estabilidad de desarrollo. Dado que en nuestros datos existen diferencias entre el lado izquierdo y derecho que siguen una distribución normal y la media no se desvía significativamente de cero, los valores fueron considerados para reflejar la AF.

### Análisis estadístico

Se aplicó un análisis de super-imposición tipo Procrustes para configurar las coordenadas de cada "landmark" usando el programa CoordGen6 (IMP series: <http://www.canisius.edu/~sheets/morphsoft.html>), el cual calcula las formas variables eliminando el efecto del tamaño. Se utilizaron las variables de forma (distancia de procrustes) para los análisis morfológicos que fueron establecidos para determinar el efecto del hábitat sobre la morfología de hojas y flores. Para visualizar los cambios en la forma de las hojas y flores, se utilizó la interpolación usando el análisis de placas delgadas "platespline" (Bookstein, 1989; Zelditch *et al.*, 2004).

Para determinar si la asimetría fluctuante varía entre

individuos dentro de cada tipo de hábitat, para cada uno de ellos se aplicó un análisis de varianza de una vía y una prueba de comparación múltiple de medias (Prueba de Tukey-Kramer) (SAS, 2000). Se utilizó un análisis de regresión logística GENMOD (SAS, 2000) para evaluar si la AF difiere entre hábitats perturbados y conservados. El tipo de hábitat fue considerado como variable independiente y la AF fue considerada como variable de respuesta.

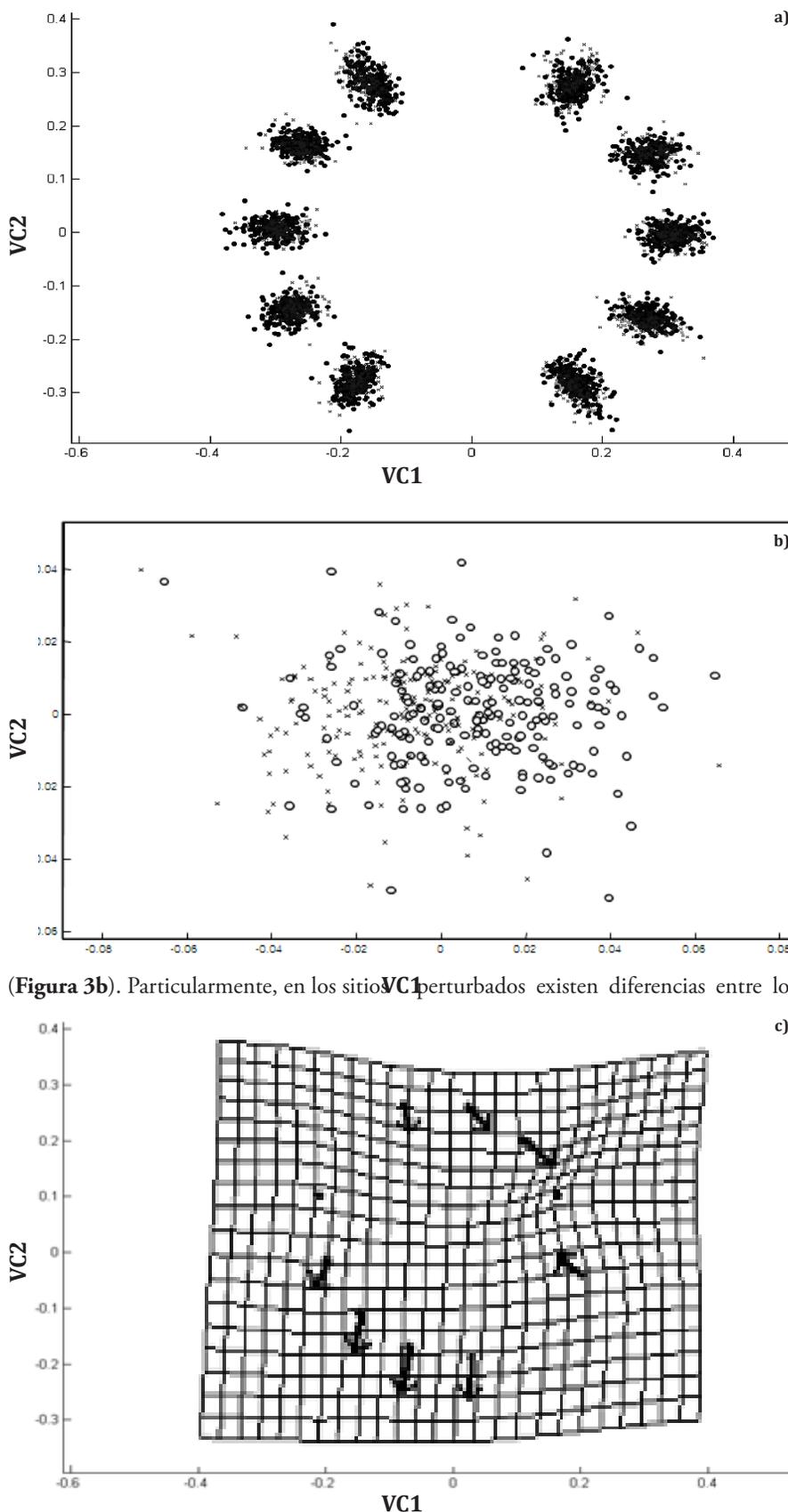
## Resultados

### Morfometría geométrica

El análisis canónico usando coordenadas tipo Procrustes (**Figura 2a**) muestra que la morfología de las hojas de *Crataegus tracyi* fue significativamente diferente entre individuos que ocurren en hábitats perturbados y conservados ( $c^2= 57.9$ ; g.l. = 19;  $P < 0.00001$ ) (**Figura 2b**). El análisis de placas delgadas (“plate spline”) basado en la configuración media de la superposición de coordenadas mostró que las hojas del sitio perturbado son más largas y angostas que las hojas del sitio conservado (**Figura 2c**). No se encontraron diferencias significativas en la forma de las flores entre hábitats perturbados y conservados ( $c^2= 2.9$ ; g.l. = 19;  $P > 0.05$ ).

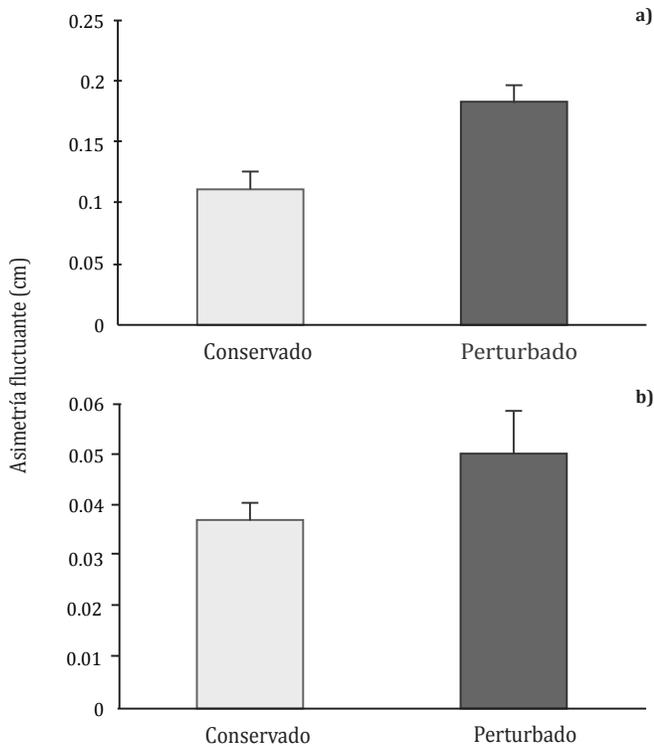
Se encontró variación individual en la forma de hojas dentro del sitio perturbado ( $c^2= 283.5$ ; g.l. = 9;  $P < 0.0001$ ) y en el sitio conservado ( $c^2 = 333.8$ ; g.l. 9;  $P < 0.0001$ ). Un patrón similar fue observado al analizar la forma de las flores entre individuos dentro del sitio perturbado, habiendo diferencias estadísticamente significativas ( $c^2 = 187.7$ ; g.l. =9;  $P < 0.008$ ). Del mismo modo, se encontraron diferencias en la forma de las flores dentro de los sitios conservados ( $c^2= 396.2$ ; g.l. = 9;  $P < 0.0001$ ).

La asimetría fluctuante fue significativamente mayor en hojas de individuos que ocurren en sitios perturbados ( $0.12 \pm 0.006$ ) en comparación con individuos de sitios conservados ( $0.1 \pm 0.006$ ) ( $c^2= 4,5$ ; g.l. = 1;  $P < 0.03$ ) (**Figura 3a**). Asimismo, la asimetría fluctuante fue mayor en flores de individuos que ocurren en hábitats perturbados ( $0.05 \pm 0.006$ ) en comparación con los sitios conservados ( $0.03 \pm 0.002$ ) ( $c^2= 7.3$ ; g.l.=1;  $P < 0.007$ )



(Figura 3b). Particularmente, en los sitios **VC1** perturbados existen diferencias entre los

**Figura 2. Variación en la morfología de hojas en de *Crataegus tracyi*. a)** forma de las coordenadas de la configuración de landmark en hojas en hábitats conservados (estrellas negras) y hábitats perturbados (círculos). **b)** diferencias en la morfología de la hoja entre hábitats conservados y perturbados acorde al análisis canónico. **c)** red de deformación que muestra variación de la forma de la hoja de hábitats perturbados (las flechas indican la dirección y la intensidad de la deformación) en relación con los hábitats conservados.



**Figura 3. Patrones de asimetría fluctuante en *Crataegus tracyi*.** a) comparación de los niveles de asimetría fluctuante de hojas entre sitios conservados y perturbados. b) diferencias en los niveles de asimetría fluctuante de flores entre sitios conservados y perturbados.

individuos en los niveles de asimetría fluctuante ( $c^2 = 2.5$ ; g.l.=9;  $P < 0.01$ ). El mismo patrón ocurre en los sitios conservados al comparar los niveles de asimetría fluctuante entre individuos ( $c^2 = 2.7$ ; g.l.=9;  $P < 0.01$ ). Igualmente, los niveles de asimetría fluctuante de flores fueron significativamente diferentes entre individuos que ocurren en sitios perturbados ( $c^2 = 3.1$ ; g.l.=9;  $P < 0.01$ ). Similarmente la asimetría fluctuante de flores difiere entre individuos de sitios conservados ( $c^2 = 2.3$ ; g.l.=9;  $P < 0.02$ ).

## Discusión

El tamaño y forma de los órganos de las plantas como las hojas y las flores dependen de una variedad de factores como filogenéticos, fisiológicos y las demandas biomecánicas impuestas por las condiciones del hábitat como son los regímenes de luz, temperatura, humedad, disponibilidad de agua y nutrientes (Horn, 1971; Givnish, 1986; Brown y Lawton, 1991). En nuestro estudio, se encontró que la morfología de las hojas fue diferente en individuos de *Crataegus tracyi* que ocurren en hábitats perturbados y conservados, siendo más largas y angostas en sitios perturbados. Uno de los principales efectos de la perturbación de hábitat es la modificación de las condiciones ambientales aumentando la disponibilidad de luz y temperatura del aire dentro de los fragmentos o pastizales, mientras que la humedad del suelo tiende a ser significativamente menor (Kapos, 1989; Murcia, 1995). Por lo tanto, las condiciones ambientales de los sitios perturbados generan estrés en las plantas que afectan tanto procesos fisiológicos como la biosíntesis y mantenimiento celular (i.e., fotosíntesis y respiración) como procesos asociados

al desarrollo de órganos donde la asignación de recursos resulta en cambios en la morfología de las hojas (Berry y Raison, 1981; Loveys *et al.*, 2002). De tal modo, que el impacto a largo plazo de los cambios en temperatura sobre el crecimiento de las plantas depende en gran medida de la plasticidad fenotípica de las características que sustentan el crecimiento cuando las plantas experimentan un cambio en las condiciones ambientales, como por ejemplo en la temperatura (Atkin *et al.*, 2006). Por lo tanto, variaciones en la morfología y en el tamaño de las hojas acorde a la disponibilidad de humedad y temperatura representan un ajuste morfo-fisiológico en las plantas que puede involucrar plasticidad fenotípica, diferenciación genética o ambos fenómenos (Jonas y Geber, 1999; Royer *et al.*, 2005; Sokal y Rohlf, 2000; Uribe-Salas *et al.*, 2008). De tal modo, nuestros resultados sugieren que estos cambios en la morfología foliar entre los hábitats perturbados y conservados pueden estar asociados a la presencia de plasticidad fenotípica en *C. tracyi*. Existe una aparente confusión entre la inestabilidad del desarrollo y la plasticidad fenotípica en plantas. La plasticidad fenotípica es la habilidad de un organismo en alterar su morfología en respuesta a cambios ambientales y es controlada por diferentes grupos de genes como se ha demostrado en *Arabidopsis thaliana* (Bagchi y Yyama, 1983). Mientras que la inestabilidad del desarrollo en organismos bilaterales es definida como las diferencias en ambos lados de caracteres bilaterales que son controlados por el mismo grupo de genes (Palmer y Strobeck, 1986).

En este trabajo, no se encontraron diferencias significativas en la forma de flores de *C. tracyi* entre sitios perturbados y conservados. Cuando la adecuación o "fitness" de un organismo depende de la característica fenotípica de un rasgo en particular, los organismos potencialmente "amortiguan" los efectos de las perturbaciones del medio ambiente en el desarrollo de esas características (Fowler y Whitlock, 1994). Por ejemplo, en flores, la selección natural debe actuar para reducir al mínimo la variación fenotípica porque son rasgos funcionalmente importantes para un organismo. Sin embargo, la forma en que esto ocurre se diferencia en animales y plantas. Si bien los animales pueden evitar alteraciones ambientales y fisiológicas desarrollando mecanismos de comportamiento, las plantas resisten perturbaciones en el medio ambiente mediante la modificación de sus estructuras. En consecuencia, las plantas presentan estructuras muy variables que cambian en respuesta a la intercepción de luz, la humedad del suelo o por exposición al viento (Alados *et al.*, 1999).

Diferentes estudios indican que los bosques tropicales son vulnerables a la perturbación de hábitats (Barlow *et al.*, 2007; Sodhi *et al.*, 2009). Particularmente, los bosques tropicales secos son uno de los ecosistemas más amenazados de América debido a los asentamientos humanos, actividades de agricultura y ganadería (Maass, 1995; Ewel, 1999). Los pastizales incrementan las emisiones de gases invernadero, aumentando la degradación del suelo y generando estrés ambiental en los árboles remanentes (Keller *et al.*, 1993). Las perturbaciones de origen antropogénico en hábitats naturales crea la necesidad de la innovación de métodos para el monitoreo ambiental. La asimetría fluctuante puede ser utilizada para el monitoreo de estrés ambiental (Cuevas-Reyes *et al.*, 2011a, 2011b) que refleja el nivel de perturbación durante el desarrollo de caracteres que afectan la habilidad de los organismos

para desarrollar características uniformes (Palmer, 1986, 1994). Por lo tanto, la asimetría fluctuante refleja el estrés ambiental al cual se encuentra sometidos los organismos por factores ambientales como la temperatura, la disponibilidad de nutrientes y luz (Parsons, 1990; Martel *et al.*, 1999). En esta investigación, se encontraron mayores niveles de asimetría fluctuante en hojas y flores en sitios perturbados en comparación con sitios conservados, indicando que los sitios perturbados representan estrés ambiental para *C. tracyi*. Estos resultados concuerdan con lo reportado en otros estudios donde la fragmentación de hábitats incrementa los niveles de asimetría fluctuante en plantas (Freeman *et al.*, 1993). Una posible explicación a los resultados obtenidos en el presente estudio, es que sitios perturbados como los pastizales muestran una alta degradación del suelo, lo cual reduce la disponibilidad de nutrientes para los árboles remanentes, lo cual incrementa potencialmente los niveles de asimetría fluctuante observados en los sitios perturbados (Murcia, 1995). Freeman *et al.* (2005) muestran que la perturbación del suelo por diferentes actividades humanas (e.g., ganadería y agricultura) incrementan los niveles de asimetría fluctuante en *Ipomoea pandurata* y *Cnidioscolus stimulosus*.

## Conclusión

Los resultados indican que la morfología de hojas es diferente entre potreros y sitios de bosque maduro, sugiriendo una alta plasticidad fenotípica de *C. tracyi* en estos ambientes. Además, altos niveles de asimetría fluctuante en hojas y flores sugieren que los sitios perturbados representan estrés ambiental en *C. tracyi*. Finalmente, los resultados muestran también que tanto la morfometría geométrica como la asimetría fluctuante son una excelente herramienta de monitoreo ambiental en ambientes perturbados.

## Agradecimientos

Pablo Cuevas-Reyes agradece a la Coordinación de la Investigación Científica, UMSNH por su generoso soporte financiero.

## Referencias

- Agrawal AA (2001) Phenotypic plasticity in the interaction and evolution of species. *Science*. 294: 321–326
- Alados CL, Navarro T, Cabezuelo B (1999) Tolerance assessment of *Cistus ladanifer* to serpentine soils by developmental stability analysis. *Plant Ecol*. 143: 51–66
- Albarrán-Lara AL, Mendoza-Cuenca L, Valencia-Avalos S, González-Rodríguez A, Oyama K (2010) Leaf fluctuating asymmetry increases with hybridization and introgression between *Quercus magnoliifolia* and *Quercus resinosa* (Fagaceae) through an altitudinal gradient in Mexico. *Int. J. Plant Sci.* 171(3):310–322
- Atkin OK, Loveys BR, Atkinson LJ, Pons TL (2006) Phenotypic plasticity and growth temperature: understanding interspecific variability. *J. Exp. Bot.* 57: 267–281
- Bagchi S, Iyama S (1983) Radiation induced developmental instability in *Arabidopsis thaliana*. *Theor. Appl. Genetic* 65:85–92
- Barlow J, Mestre LAM, Gardner TA, Peres CA (2007) The value of primary, secondary and plantation forests for Amazonian birds. *Biol. Conserv.* 136: 212–231
- Berry JA, Raison JK (1981) Responses of macrophytes to temperature. In OL Lange, PS Nobel, CB Osmond, H Zeigler (eds), *Physiological plant ecology. I. Responses to the physical environment*. Berlin, Springer-Verlag. pp. 277–338
- Bookstein FL (1989) Principal warps: thin-plate splines and the decomposition of deformations. *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intel.* 11:567–585
- Bookstein FL (1991) *Morphometric tools for landmark data: geometry and biology*. New York, Cambridge University Press, 435 pp
- Brown BK, Lawton JH (1991) Herbivory and the evolution of leaf size and shape. *Philos. Tr. R. Soc. Lon. B*: 333:265–272
- Bruhn D, Leverenz JW, Saxe H (2000) Effects of tree size and temperature on relative growth rate and its components of *Fagus sylvatica* seedlings exposed to two partial pressures of atmospheric [CO<sub>2</sub>]. *New Phyt.* 146: 415–425
- Couvet D (2002) Deleterious effects of restricted gene flow in fragmented populations. *Conserv. Biol.* 16: 369–376
- Creighton JC (2005) Population density, body size, and phenotypic plasticity of brood size in a burying beetle. *Behav. Ecol.* 16: 1031–1036
- Cornelissen T, Stiling P (2005) Perfect is best: low leaf fluctuating asymmetry reduces herbivory by leaf miners. *Oecologia* 142:46–56
- Cuevas-Reyes P, Oyama K, González-Rodríguez A, Fernandes GW, Mendoza-Cuenca L (2011a) Contrasting herbivory patterns and leaf fluctuating asymmetry in *Heliocarpus pallidus* between different habitat types within a Mexican tropical dry forest. *J. Trop. Ecol.* 27: 383–391
- Cuevas-Reyes P, Fernandes GW, González-Rodríguez A, Pimenta M (2011b) Effects of generalist and specialist parasitic plants (Loranthaceae) on the fluctuating asymmetry patterns of ruprestrian host plants. *Basic Appl. Ecol. (In press)*
- Debinski DM, Holt RD (2001) A Survey and overview of habitat fragmentation experiments. *Conserv. Biol.* 14: 342–355
- Ewel JJ (1999) Natural systems as models for the design of sustainable systems of land use. *Agroforest. Syst.* 45: 1–21
- Fahring L (2003) Effects of habitat fragmentation on biodiversity. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 34: 487–515
- Freeman DC, Brown ML, Duda JJ, Graraham JH, Emlen JM, Krzysik AJ, Balbach H, Kovacic DA, Zak JC (2005) Leaf fluctuating asymmetry, soil disturbance and plant stress: a multiple year comparison using two herbs, *Ipomoea pandurata* and *Cnidioscolus stimulosus*. *Ecol. Indic.* 5: 85–95
- Freeman DC, Graham JH, Emlen JM (1993) Developmental stability in plants: symmetries, stress and epigenesis. *Genetica* 89: 97–119
- Fowler K, Whitlock MC (1994) Fluctuating asymmetry does not increase with moderate inbreeding in *Drosophila melanogaster*. *Heredity*. 73: 373–376
- Givnish TJ (1986) Economics of biotic interactions. In TJ Givnish (ed), *On the economy of plant form and function*. Cambridge, Cambridge University Press. pp 667–680
- Golden DM, Crist TO (1999) Experimental effects of habitat fragmentation on old-field canopy insects: community, guild and species responses. *Oecologia* 118: 371–380
- Harrison S, Bruna E (1999) Habitat fragmentation and large scale conservation: what do we know for sure? *Ecography* 22: 225–232
- Horn HS (1971) *The adaptive geometry of trees*. Princeton, Princeton University Press, pp 144
- Jonas CS, Geber MA (1999) Variation among populations of *Clarkia*

- ungulata* (Onagraceae) along altitudinal and latitudinal gradients. *Am. J. Bot.* 86: 333–343
- Kapos V** (1989) Effects of isolation on the water status of forest patches in the Brazilian Amazon. *J. Trop. Ecol.* 5: 173–185
- Keller M, Veldkamp E, Weitz AM, Reiners WA** (1993) Effect of pasture age on soil trace-gas emissions from a deforested area of Costa Rica. *Nature* 365: 244–246
- Klingenberg CP, Grant SM** (1998) Morphometrics of developmental instability: analyzing patterns of fluctuating asymmetry with procrustes methods. *Evolution* 52: 1363–1375
- Laurence WF, Ferreira IV, Rankin JM, Merona DE, Laurance SG** (1998) Rain forest fragmentation and the dynamics of Amazonian tree communities. *Ecology* 79: 2032–2042
- Loveys BR, Scheurwater I, Pons TL, Fitter AH, Atkin OK** (2002) Growth temperature influences the underlying components of relative growth rate: an investigation using inherently fast- and slow-growing plant species. *Plant Cell Environ.* 25: 975–987
- Maass JM** (1995) Conversion of tropical dry forest to pasture and agriculture. In SH Bullock, HA Mooney, E Medina (eds), *Seasonally Dry Tropical Forests*. New York, Cambridge University Press. pp 399–422
- Martel J, Lempa K, Haukioja E** (1999) Effect of stress and rapid growth on fluctuating asymmetry and insect damage in birch leaves. *Oikos* 86: 208–216
- Møller AP, De Lope F** (1998) Herbivory affects developmental instability of stone oak, *Quercus rotundifolia*. *Oikos* 82:246–252
- Møller AP, Shykoff P** (1999) Morphological developmental stability in plants: patterns and causes. *Int. J. Plant Sci.* 160: 135–146
- Murcia C** (1995) Edge effects in fragmented forests: implications for conservation. *Trends Ecol. Evol.* 10: 58–62
- Palmer AR** (1994) Fluctuating asymmetry analyses: a primer. In TA Markow (ed), *Developmental instability: its origins and evolutionary implications*. Dordrecht, the Netherlands, Kluwer Academic Publishers. pp 335–364
- Palmer AR, Strobeck C** (1986) Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. *Annual Rev. Ecol. Syst.* 17: 391–421
- Parsons PA** (1990) Fluctuating asymmetry: an epigenetic measure of stress. *Biol. Review* 65: 131–145
- Phipps JB** (1997) *Monograph of Northern Mexican Crataegus (Rosaceae, subfam. Maloideae)*. Botanical Research Institute of Texas, Fort Worth, Texas, U.S.A. 94 p
- Royer DL, Wilf P, Janesko DA, Kowalski EA, Dilcher DL** (2005) Correlations of climate and plant ecology to leaf size and shape: potential proxies for the fossil record. *Am. J. Bot.* 92: 1141–1151
- Rzedowski J** (1978) *Vegetación de México*. Editorial Limusa, México, D.F. 432 p
- SAS** (2000) *Categorical data analysis using the SAS system*. SAS Institute, Cary. pp 619
- Saunders DA, Hobbs RJ, Margules CR** (1991) Biological consequences of ecosystem fragmentation: a review. *Conserv. Biol.* 5:18–32
- Schlichting CD, Pigliucci M** (1998) Phenotypic evolution: a reaction norm. In SC Stearns (ed), *The evolution of life histories*. Oxford, Oxford University Press
- Sodhi NS, Koh LP, Brook BW** (2009) A Meta-analysis of the impact of anthropogenic forest disturbance on Southeast Asia's biotas. *Biotropica* 41: 103–109
- Sokal RR, Rohlf FJ** (2000) *Biometry: The Principles and Practices of Statistics in Biological Research*. Freeman, New York, New York, USA
- Thies C, Tschardt T** (1999) Landscape structure and biological control in agroecosystems. *Science* 285: 893–895
- Tovar-Sánchez E, Cano-Santana Z, Oyama K** (2004) Canopy arthropod communities on Mexican oaks at sites with different disturbance regimes. *Biol. Conserv.* 115: 79–87
- Uribe-Salas D, Sáenz-Romero C, González-Rodríguez A, Téllez-Valdéz O, Oyama K** (2008) Foliar morphological variation in the white oak *Quercus rugosa* Née (Fagaceae) along a latitudinal gradient in Mexico: potential implications for management and conservation. *Forest Ecol. Manag.* 256: 2121–2226
- VanDongen S** (1998) How repeatable is the estimation of developmental stability by fluctuating asymmetry? *Proc. R. Soc. Lond. B.* 265: 1423–1427
- Whitlock M** (1996) The heritability of fluctuating asymmetry and the genetic control of developmental stability. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 263: 849–854
- Whitlock M** (1998) The repeatability of fluctuating asymmetry: a revision and extension. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 265:1429–1431
- Wright SD, McCaughay KDM** (2002) Interpreting phenotypic plasticity: the importance of ontogeny. *Plant Species Biol.* 17: 119–131
- Zelditch ML, Swiderski DL, Sheets D, Fink WL** (2004) *Geometric Morphometrics for Biologists: a Primer*. San Diego, CA: Elsevier Academic Press. 443 p