



Universitat Autònoma de Barcelona

**Interaccions planta-herbívor en dues espècies
exòtiques de *Senecio* (*S. pterophorus* i *S. inaequidens*):
estudi biogeogràfic i de comunitat**

Maria Morante Moret

Directora : Eva Castells Caballé

Departament de Farmacologia, Terapèutica i Toxicologia

Programa de Doctorat en Farmacologia

Bellaterra, 2015



FACULTAT DE VETERINÀRIA



Universitat Autònoma de Barcelona

La **Dra. Eva Castells Caballé**, professora titular interina del Departament de Farmacologia, Terapèutica i Toxicologia.

Certifica:

Que la memòria titulada : “**Interaccions planta-herbívor en dues espècies de *Senecio* (*S. pterophorus* i *S. inaequidens*) : estudi biogeogràfic i comunitat**” presentada per **Maria Morante Moret** s’ha realitzat sota la seva direcció, i considera que compleix totes les condicions exigides per optar al títol de Doctora per la Universitat Autònoma de Barcelona.

Dra. Eva Castells Caballé

AGRAÏMENTS

En primer lloc voldria donar-li les gràcies a la meva directora de tesi, l'Eva Castells, per des d'un inici haver confiat amb mi i aconsellar-me durant aquest llarg camí. Desenvolupar la tesi doctoral sota la seva direcció m'ha ensenyat moltes coses tant a nivell acadèmic com personal. Aprofito també per agrair-li a la seva parella, en Francesc Cebrià, per haver-me posat en contacte amb ella.

També, voldria agrair especialment a l'Anabel Blasco per tot el suport acadèmic i personal. Gràcies per estar sempre disposada a escoltar-me i per descobrir-me el món dels zeros inflats!

Als companys de projecte i de despatx, moltes gràcies per el vostre suport i ànims al llarg d'aquests anys! En especial, gràcies Anna per l'ajuda i les bones estones al Montseny. Santi, Pere, Judith, Toni, Laura, Mariona i Victòria gràcies per el suport i per arrencar-me un somriure davant les dificultats.

Moltes gràcies també a en Jaume per tot el seu suport, comprensió, ànims i ajuda en l'edició! Ets genial! També gràcies als meus pares per creure i confiar amb mi. Sense vosaltres no hagués estat possible. En aquests agraïments tampoc puc oblidar al meu avi, que tot i que no sabia que feia tantes hores darrera l'ordinador, sempre em va fer costat i companyia. Ni tampoc als meus ajudants incondicionals, Boleta, Bruni, Bambú, Tuc, Nanuk i Charly, que han fet tantes o més hores que jo darrera la pantalla.

Als amics que han aguantat els meus "rotllos" sobre les plantetes, els insectes, les dades i els zeros també moltes gràcies! Laura, Joan i filloleta moltes gràcies per estar sempre allà animant! Ara us toca a vosaltres! Sare, Mireia, Ernest i Núria moltes gràcies pel suport i pels bons moments que sempre ajuden a tirar endavant. Rubén gràcies per acompanyar-me al Montseny més d'un dia! Gagos, Clarets, Traves, Clara, Ada, Nessim, Alícia, Anna, Quel, Dani, Albert, Maria R., Albert M., Edu, Núria, Martí, Toni C. i molts altres que perdoneu si ara no us tinc en ment, moltes gràcies!

CONTRIBUCIONS

En el següent apartat es detallen les contribucions de la doctoranda en aquesta tesi doctoral:

Estudi biogeogràfic (Capítol 1)

- Disseny del mostreig a Sud-àfrica i Catalunya contactant amb herbaris i altres fonts d'informació per poder determinar la distribució de *S. pterophorus*.
- Prospecció del terreny per a la cerca de poblacions insitu a l'àmbit natiu des de Ciutat del cap (Western Cape) fins a Durban (Kwa Zulu Natal) amb la finalitat de cobrir tota l'àrea de distribució d'aquesta espècie (novembre 2009).
- Prospecció del terreny per a la cerca de poblacions en l'àmbit invasor (Catalunya). Es van recórrer les principals zones on l'espècie havia estat citada per la bibliografia com també es van explorar noves zones susceptibles d'estar colonitzades (juliol 2010).
- Realització del mostreig de 19 poblacions a Sud-àfrica i 12 a Catalunya en les quals es van recol·lectar capítols per avaluar l'herbivorisme i fulles per anàlisis genètiques i fitoquímiques. A la vegada es van caracteritzar els hàbitats de les poblacions mostrejades.
- Avaluació de l'herbivorisme a través de la dissecció dels capítols recol·lectats en el mostreig de les poblacions sud-africanes i catalanes. Recompte i identificació dels herbívors trobats.
- Participació en les anàlisis estadístiques de les dades d'herbivorisme en col·laboració amb el servei d'estadística de la Universitat Autònoma de Barcelona.
- Participació en la redacció de l'article resultant d'aquest estudi: "*Reduced seed predation after plant invasion supports enemy release in a broad biogeographical survey.*" *Oecologia* 173:1397-1409. DOI 10.1007/s00442-013-2718-4.

Estudi de comunitat (Capítols 2, 3 i 4)

- Prospecció del terreny per a la cerca de poblacions on coexistissin les espècies natives i exòtiques al Parc Natural del Montseny.
- Determinació de les poblacions i marcatge dels individus. Estructuració del calendari de mostreig i creació dels fulls de camp.
- Mostreig de les sis poblacions seleccionades durant els anys 2009 i 2010. Les poblacions eren visitades amb una freqüència entre 7 i 15 dies. A cada visita s'annotava l'estadi fenològic de les plantes, s'eliminaven els involucre i es recol·lectaven els capítols per poder estimar l'herbivorisme a posteriori.
- Dissecció dels capítols recol·lectats, conservació i cria dels insectes.
- Participació en la identificació dels herbívors recol·lectats.
- Realització de les anàlisis fitoquímiques utilitzant les llavors recol·lectades a de les poblacions mostrejades. Aquestes anàlisis es van dividir en dues etapes. En primer lloc es va realitzar l'extracció d'alcaloides pirrolizidinics a partir de material vegetal triturat al laboratori. En segon, es van analitzar els alcaloides per cromatografia de gasos i de masses al Servei d'Anàlisis Químiques de la Universitat Autònoma de Barcelona (Capítol 4)
- Anàlisis de les dades d'herbivorisme amb la col·laboració d'Anabel Blasco-Moreno del Servei d'Estadística de la Universitat Autònoma de Barcelona (Capítol 2, 3 i 4).
- Participació en la redacció de l'article resultant d'aquest estudi: "*Herbivores on native and exotic Senecio plants: is host switching related to plant novelty and insect diet breadth under field conditions?*" *Insect Conservation and Diversity* 7: 420-431. DOI 10.1111/icad.12064.
- Redacció dels capítols 3 i 4.

RESUM

La invasió de les espècies exòtiques és una de les causes més importants de la pèrdua de biodiversitat. Un dels reptes actuals en l'estudi de les invasions és determinar quins factors afecten a la capacitat d'invasió quan una espècie exòtica colonitza un nou ambient. Entre els diferents factors, els herbívors destaquen per la seva capacitat per controlar les poblacions vegetals. Segons les hipòtesis actuals, els herbívors influiran en l'èxit d'invasió de les espècies exòtiques a través de dos processos contraposats: l'alliberament dels enemics naturals de la zona d'origen, que facilitaria la invasió i l'establiment de noves interaccions amb els herbívors de l'àrea envaïda, que podria frenar-la.

L'objectiu principal d'aquesta tesi ha estat avaluar les interaccions planta–herbívor en dues espècies exòtiques de *Senecio* (*S. pterophorus* i *S. inaequidens*) mitjançant un estudi a nivell biogeogràfic, comparant poblacions natives i invasores d'una mateixa espècie, i a nivell de comunitat, comparant espècies exòtiques i natives en una zona d'introducció. Els resultats de l'estudi biogeogràfic (Capítol 1) han evidenciat que les plantes de *S. pterophorus* s'han alliberat dels enemics naturals de la zona d'origen però que també han establert noves interaccions amb els herbívors locals. En l'estudi de comunitat (Capítol 2, 3, 4) s'ha demostrat que les plantes exòtiques *S. pterophorus* i *S. inaequidens* estableixen noves interaccions amb herbívors locals especialistes. Les interaccions entre els herbívors locals i les plantes de *Senecio* no han estat influïdes per les defenses químiques vegetals, al contrari del què prediuen les hipòtesis vigents, mentre que altres característiques de les plantes, com la fenologia o la grandària dels individus, hi han influït significativament. En general, la intensitat d'herbivorisme en les plantes exòtiques no ha estat superior en comparació als congèneres nadius. Per tant, es conclou que els herbívors no esdevenen un element important en el control d'aquestes dues espècies invasores. Els resultats obtinguts han contribuït a la comprensió de les interaccions planta–herbívor en el procés d'invasió així com han posat de manifest la complexitat de les condicions naturals.

ABSTRACT

The invasion of exotic species is one of the most significant factors affecting biological diversity at global scale. An important challenge in the study of invasions is to understand what factors determine the capacity of invasion when an exotic species colonizes a new habitat. Among these ones, herbivores stand out for their capacity to control plant populations. The current hypotheses postulate that herbivores may influence the invasions success through two opposite mechanisms: the release of native herbivores from the native area, which may favor invasibility, and the establishment of new interactions with herbivores from the invaded area, which could decrease plant fitness and reduce the invasion capacity.

The general objective of this thesis was to study plant–herbivore interactions in two exotic species from the genus *Senecio*, *S. pterophorus* and *S. inaequidens* through a biogeographical study, comparing native and exotic populations of a species, and a community study, comparing native and exotic species in an invaded area. Results of the biogeographical study (Chapter 1) have demonstrated that plants of *S. pterophorus* are release from their native enemies from the native area and, at the same time, establish new interactions with local herbivores in the invaded areas. The study at community level (Chapter 2, 3 and 4) has shown that exotic species, *S. pterophorus* and *S. inaequidens*, establish new interactions with local specialist herbivores. Interactions between local herbivores and *Senecio* plants are not influenced by chemical defenses, contrary to the current hypotheses; while other plant characteristics such plant size or phenology have a significant influence. In general, the intensity of herbivory on exotic plants has not been more significant than native congeners. We conclude that local herbivores are not playing a relevant role as biological control agents in these two exotic species. The obtained results contribute on plant–herbivore interactions knowledge as well as highlight the complexity of natural conditions on plant invasion.

TAULA DE CONTINGUTS

1. INTRODUCCIÓ.....	15
1.1. Les invasions biològiques	17
1.2. Factors que influencien el procés d'invasió	20
1.2.1. Potencial invasor de l'espècie exòtica.....	20
1.2.2. Esforç d'introducció i temps de residència	20
1.2.3. Vulnerabilitat de l'ecosistema receptor	21
1.3. Paper de les interaccions planta–herbívor en les invasions vegetals.....	23
1.3.1. Canvis en l'entorn biòtic: pèrdua i guany d'enemics	23
1.3.2. Factors d'influència en les noves interaccions entre plantes exòtiques i herbívors natius.....	24
1.3.3. Hipòtesis sobre el paper dels herbívors en l'èxit d'invasió	27
1.4. El gènere <i>Senecio</i>	29
1.4.1. El gènere <i>Senecio</i> com a invasor a Catalunya: el cas de <i>S. pterophorus</i> i <i>S. inaequidens</i>	30
2. OBJECTIUS i SISTEMES EXPERIMENTALS.....	35
2.1. Objectiu principal i sistemes experimentals	37
2.2. Objectius específics.....	38
2.3. Estructura de tesi	39
3. CAPÍTOLS.....	41
3.1. Capítol 1 / Chapter 1: Reduced seed predation after invasion supports enemy release in a broad biogeographical survey	43
Abstract	45
Introduction	46
Materials and Methods.....	48
Results	56
Discussion.....	60
Acknowledgments.....	63
References.....	63
3.2. Capítol 2 / Chapter 2: Herbivores on native and exotic <i>Senecio</i> plants: is host switching related to plant novelty and insect diet breadth under field conditions?.....	69
Abstract	71
Introduction	72
Materials and Methods.....	74

Results	78
Discussion	86
Acknowledgements	89
References	90
3.3. Capítol 3 / Chapter 3: Reexamining the Enemy Release Hypothesis: differentiating between the frequency and the intensity of herbivory in native and exotic <i>Senecio</i> species	95
Abstract	97
Introduction	98
Materials and Methods	100
Results	104
Discussion	110
Acknowledgements	114
References	114
3.4. Capítol 4 / Chapter 4: Plant size, but not chemical defenses, predicts intraspecific variation in herbivory in native and exotic <i>Senecio</i> species under field conditions	123
Abstract	125
Introduction	126
Materials and Methods	128
Results	131
Discussion	137
Acknowledgments	140
References	141
4. DISCUSSIÓ GENERAL	153
4.1. Actualització de la distribució mundial de <i>S. pterophorus</i>	155
4.1.1. Distribució a Sud-àfrica	156
4.1.2. Distribució a Austràlia	160
4.1.3. Distribució a Catalunya	160
4.1.4. Distribució a Itàlia	161
4.2. Enemics naturals en les zones natives i invasores: alliberament i establiment de noves interaccions	164
4.2.1. Identificació dels herbívors a l'àmbit natiu i invasor	164
4.2.2. Noves interaccions i pressió d'herbivorisme	168
4.2.3. Factors d'influència en les interaccions planta–herbívor en l'àmbit invasor	170
4.3. Impacte dels herbívors en el procés d'invasió	175

5. CONCLUSIONS	177
6. REFERÈNCIES	183
7. ANNEX.....	197

1. INTRODUCCIÓ

1.1. Les invasions biològiques

Les invasions biològiques, en l'actualitat, són considerades un component important del canvi global i una amenaça a la conservació de la biodiversitat (Vitousek et al., 1996; Pimentel, 2000). El ritme frenètic del transport i la introducció d'espècies exòtiques a noves zones ha contribuït de forma directa al increment del fenomen de les invasions. Val a dir, però, que la introducció d'espècies exòtiques no és un fet recent sinó que s'ha produït des de temps immemorials. En un inici només depenia de factors naturals, com ara el vent, l'aigua, el transport per animals o de fenòmens geològics o climàtics els quals permetien a les espècies accedir a zones llunyanes (Marshall et al., 1982). A mesura que els humans van començar a desplaçar-se a grans distàncies, aquests van esdevenir un factor important en la introducció d'espècies d'uns ecosistemes cap a d'altres. Així doncs, a través de l'acció de l'home les espècies van començar arribar a llocs on probablement no haguessin aconseguit arribar-hi de forma natural. Els nòmades primitius van ser els primers que amb els seus desplaçaments introduïen algunes plantes i animals en nous territoris abans inaccessibles (Crosby, 1986). Posteriorment, els romans, grecs i fenicis amb el comerç van començar a accelerar lleugerament el transport i la introducció d'espècies cap a noves àrees. Precisament, espècies que avui dia ja formen part del nostre paisatge com ara el pi pinyoner (*Pinus pinea*) o el castanyer (*Castanea sativa*) van ser introduïdes fa segles per aquestes civilitzacions.

En les darreres dècades la introducció s'ha vist accelerada de forma alarmant. La intensificació d'activitats humanes com la globalització del mercat mundial, el turisme i les migracions han estat els principals responsables en fomentar el transport i la introducció de noves espècies de manera exponencial en períodes de temps molt curts (Levine & D'Antonio, 2003; Lockwood et al., 2007). En conseqüència, un elevat nombre de les espècies introduïdes voluntària o accidentalment acaben accedint al medi natural, on algunes d'elles podran esdevenir invasores. Per exemple un 60 % de les espècies reportades com a invasores en àrees naturals dels Estats Units van ser importades amb finalitats ornamentals i d'horticultura (Mack & Erneberg, 2002).

Entre les espècies introduïdes que aconsegueixen esdevenir invasores, algunes podran ocasionar impactes considerables en l'entorn d'invasió. A nivell ecològic, les espècies invasores poden afectar considerablement la composició, l'estructura, i el funcionament de

l'ecosistema (Vitousek et al., 1996; Pimentel, 2000). En el cas concret de les plantes invasores, aquestes competeixen amb les autòctones per els recursos naturals com el sòl, l'aigua, la llum, els nutrients i l'espai, fins arribar a desplaçar-les (Vitousek et al., 1996; Swearingen et al., 2010). La conseqüent pèrdua de biodiversitat podrà comportar una homogeneïtzació de l'entorn i tindrà greus repercussions sobre la fauna autòctona degut al reemplaçament de les fonts d'alimentació autòctones, ja que moltes espècies invasores sovint solen ser incomedibles o fins i tot tòxiques (Berny et al., 2009; Guitart et al., 2010).

A més a més dels impactes ecològics, les plantes invasores també són responsables d'importants pèrdues econòmiques a través de la disminució de la productivitat dels cultius o per la pèrdua de bestiar a causa d'intoxicacions (Pimentel, 1997; Gupta, 2007; Guitart et al., 2009). A nivell de societat, poden afectar vies de circulació i impedir activitats com el passeig, la navegació o la pesca degut al creixement en excés per senders i àrees riberenques, o per la formació de cabdells impenetrables en zones d'aigües poc profundes. També cal destacar els seus efectes sobre la salut pública com ara al·lèrgies cutànies i respiratòries tant en humans com en animals de companyia (Kettunen et al., 2009).

No obstant, les espècies introduïdes abans de ser capaces d'infligir qualsevol dany ecològic o econòmic han de superar els diferents estadis successius que formen el procés d'invasió (Fig. 1). Aquest procés s'inicia amb el transport intencionat o accidental de les espècies cap a una nova àrea on seran introduïdes (Transport + Introducció). Un cop en el nou entorn poden accedir al medi natural, on els individus exòtics podran no adaptar-se i desaparèixer o bé establir-se formant amb el temps poblacions estables capaces de reproduir-se per elles mateixes (Establiment). Finalment, aquestes espècies establertes o naturalitzades podran mantenir-se en poblacions locals petites o bé créixer en abundància i expandir-se en el nou entorn (Expansió). És en aquest últim estadi en el qual les espècies podran ocasionar impactes tan ecològics com socioeconòmics, i per tant rebran el nom d'espècies invasores.

S'ha estimat que tan sols un 11% de les espècies introduïdes assoleix l'èxit d'invasió ja que durant el procés existeixen varies oportunitats de fracàs (Andreu et al., 2012). No obstant, donat que el nombre d'introduccions és elevat, el petit percentatge d'espècies exòtiques que esdevenen invasores és suficient com per afectar seriosament els ecosistemes i l'economia de diversos països. En conseqüència l'interès científic i la preocupació pública envers les

invasions ha crescut exponencialment durant les últimes dècades (Elton, 1958; Vitousek, et al., 1996; Levine & D'Antonio, 2003; Davis et al., 2001; Lockwood et al., 2007).

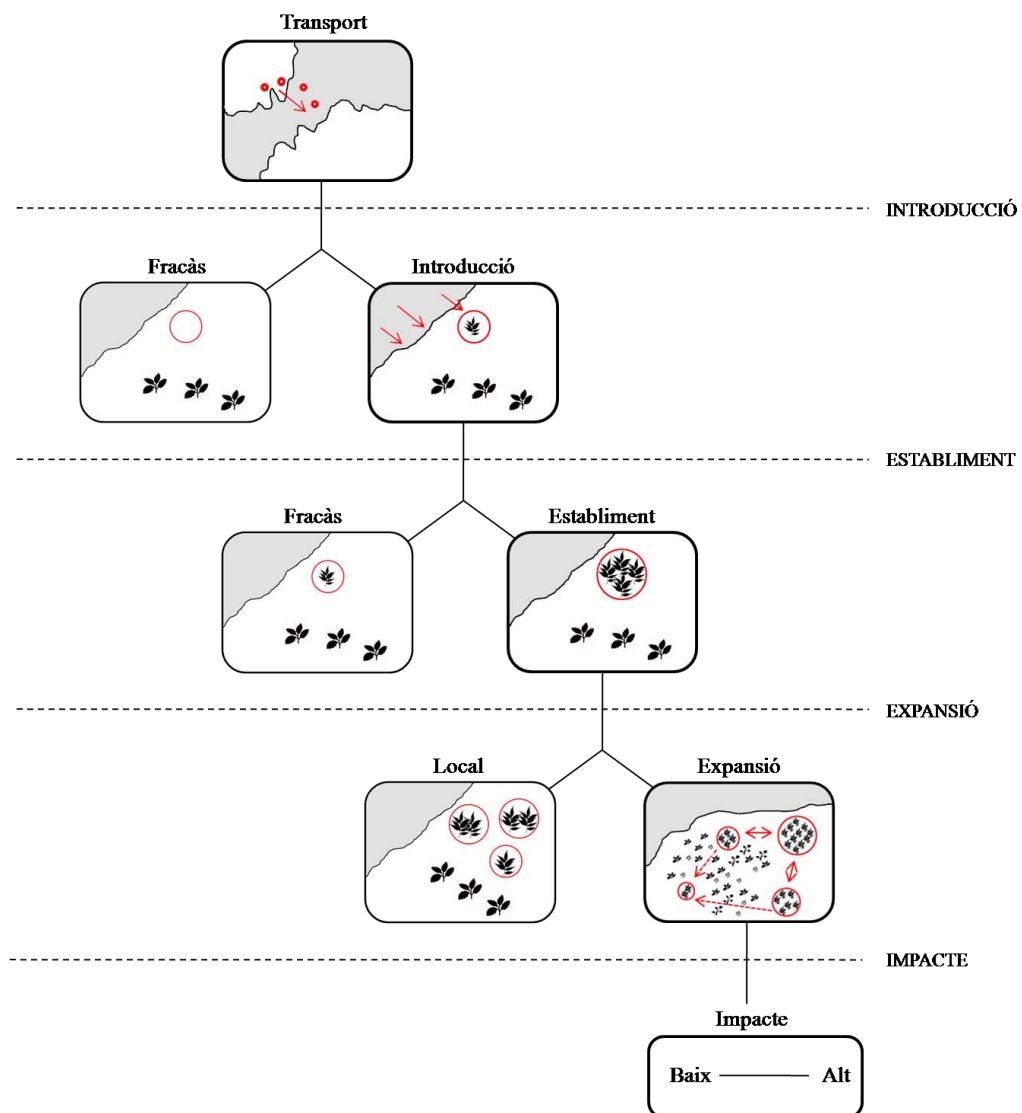


Figura 1. Model del procés d'invasió on s'hi detallen els diferents estadis que una espècie travessa durant el procés d'invasió (modificat a partir de Lockwood, 2007).

1.2. Factors que influencien el procés d'invasió

L'èxit o el fracàs en el procés d'invasió està relacionat amb diversos factors, principalment amb el potencial invasor de l'espècie exòtica, l'esforç d'introducció, el temps de residència i la vulnerabilitat de l'ecosistema receptor.

1.2.1. Potencial invasor de l'espècie exòtica

Les propietats intrínseques d'una espècie permetran que aquesta superi els diferents filtres abiòtics i biòtics en el seu pas per els diferents estadis del procés d'invasió i en conseqüència esdevingui invasora (diCatri, 1989). Definir amb exactitud quines característiques confereixen una bona capacitat invasora és una tasca difícil (Daehler, 2003; Richardson & Pyšek, 2006; Pyšek & Richardson, 2007). Entre les característiques més rellevants s'han destacat una elevada taxa de fecunditat, una producció de llavors elevada, un creixement ràpid, una gran capacitat de dispersió i una bona tolerància a diferents condicions ambientals (Rejmánek & Richardson, 1996; Lloret et al., 2005).

1.2.2. Esforç d'introducció i temps de residència

L'esforç d'introducció es defineix com a el nombre d'individus d'una espècie alliberats en una zona de la qual no són nadius (Carlton, 1996), tenint en compte el nombre absolut d'individus i el nombre d'alliberaments. Aquest és un factor rellevant quan les plantes exòtiques encara no són capaces de formar poblacions autosostenibles i necessiten d'un elevat esforç d'introducció per poder continuar el procés d'invasió. D'altra banda, el temps de residència correspon al temps que ha transcorregut des de que l'espècie va ser introduïda a la nova zona. A mesura que augmenta el temps de residència augmenten les possibilitats d'èxit d'invasió ja que l'espècie haurà pogut augmentar la seva abundància, el radi de dispersió i establir més poblacions (Rejmánek et al., 2005). Les espècies exòtiques, després de la introducció, poden passar per una fase de latència, que es caracteritza per un creixement demogràfic lent i s'esdevé de la necessitat que tenen les espècies exòtiques d'un temps per a l'adaptació al nou entorn (Lockwood, 2007). Així doncs durant aquest temps, les espècies podran superar les limitacions inicials a nivell demogràfic (augmentar el nombre d'individus) i aconseguir un llindar poblacional mínim per iniciar la seva dispersió. També els permetrà acomodar-se a les noves condicions ambientals i biòtiques amb una selecció dels genotips millor adaptats per tal d'afavorir l'èxit d'invasió (Mack et al., 2000; Crooks, 2005).

1.2.3. Vulnerabilitat de l'ecosistema receptor

La resistència o vulnerabilitat que un ecosistema ofereix a l'espècie invasora depèn de diversos factors abiòtics i biòtics (Lonsdale, 1999; Theoharides & Dukes, 2007). Aquests actuen com a filtres al llarg dels diferents estadis del procés d'invasió, en alguns casos facilitant l'èxit d'invasió i en d'altres evitant-lo.

1.2.3.1. Factors abiòtics

Entre els filtres abiòtics destaquen factors com el clima, la disponibilitat de recursos i les pertorbacions tant d'origen natural com antròpic.

Clima: El clima estableix els límits generals de la distribució de les espècies i per tant pot influir significativament en les espècies exòtiques durant la colonització del nou entorn (Sakai et al., 2001). La concordança climàtica entre la zona d'origen i d'invasió afavorirà l'establiment de les espècies exòtiques (Sol et al., 2005). No obstant, cal remarcar que espècies amb una elevada plasticitat i variabilitat genètica podran adaptar-se amb més facilitat a les condicions climàtiques diferents (Sakai et al., 2001; Lavergne & Molosfsky, 2007).

Disponibilitat de recursos: els recursos són un factor limitant per a la supervivència de les espècies. Així doncs ambients amb molta llum, humitat i quantitats remarcables de nutrients incrementaran l'èxit de les espècies invasores (Davis et al., 2000; Davis & Pelsor, 2001).

Pertorbacions: les pertorbacions, igual que els ambients amb una elevada disponibilitat de recursos, són finestres obertes a la invasió (Davis & Pelsor, 2001). Normalment els ambients pertorbats solen oferir nínxols i recursos disponibles que propicien l'èxit d'invasió. Per exemple, aquelles comunitats amb una elevada pertorbació seran més susceptibles a la invasió ja que aquests tendeixen a tenir menor cobertura vegetal, i per tant menor competència i major disponibilitat de recursos.

1.2.3.2. Factors biòtics

Les interaccions que tenen lloc en el nou medi entre les espècies exòtiques i les natives (vegetals, animals i microorganismes) són els principals factors biòtics d'influència en l'èxit d'invasió. Aquestes afectaran la supervivència, el creixement i la reproducció de les espècies exòtiques impedit o facilitant la invasió. Entre les diferents interaccions destaquen la competència, l'herbivorisme, el parasitisme o el mutualisme.

Competència: és probablement un dels factors biòtics més estudiat. La competència es produeix quan en un mateix entorn una espècie redueix el creixement d'una altra, per exemple per consumir més recursos. En el cas de les comunitats amb una elevada biodiversitat local, la competència serà elevada ja que amb més espècies natives ocupant nínxols les espècies exòtiques tindran menys oportunitats (Simberloff et al., 2002). No obstant, existeixen casos en que la competència afavoreix el procés d'invasió, per exemple quan el competidor natiu modifica l'ambient que inicialment era desfavorable a la invasora (Hoopes & Hall, 2002; Facelli & Temby, 2002).

Herbivorisme, parasitisme i mutualisme: malgrat que les espècies exòtiques no hagin evolucionat de forma conjunta amb els herbívors, paràsits o patògens de la zona d'invasió, aquestes podran establir interaccions amb la fauna local. Com a resultat de les noves interaccions, el procés d'invasió es podrà veure afavorit o limitat. Pel que fa les interaccions de *mutualisme* és difícil imaginar com la presència d'una espècie autòctona pot evitar l'establiment d'una espècie exòtica donat que el mutualisme es basa en interaccions d'ajuda entre espècies. No obstant, hi ha casos de mutualisme obligat que poden evitar de forma dràstica l'establiment d'una nova espècie. Per exemple, aquelles espècies exòtiques que hagin estat introduïdes sense el seu soci mutualista de l'àrea d'origen, tindran moltes possibilitats de fracassar en l'establiment de poblacions degut a l'absència de l'altra espècie (Lockwood, 2007). En canvi en els mutualismes facultatius, on la pèrdua d'un dels dos socis no condemna l'altre a l'extinció, l'èxit de l'espècie exòtica dependrà de l'establiment de noves interaccions amb socis més generalistes com per exemple el cas de l'exòtica *Lythrum salicaria* i els pol·linitzadors autòctons a nord Amèrica (Baker, 1965; Marshall & Brown, 1981).

En el cas de les interaccions de *parasitisme*, s'espera que comportin un impacte negatiu en el procés d'invasió. Només podran facilitar l'èxit d'invasió a través d'efectes indirectes com és el parasitisme dels herbívors que ocasionen danys a les espècies exòtiques.

D'altra banda, les interaccions entre les espècies exòtiques i els herbívors autòctons tenen un paper important en l'èxit o el fracàs de la invasió com a conseqüència de l'habilitat dels herbívors per regular les poblacions vegetals (Louda, 1982). Donada la seva rellevància per aquesta tesi doctoral, *l'herbivorisme* serà tractat de forma més extensa en el següent apartat.

1.3. Paper de les interaccions planta–herbívor en les invasions vegetals

En les comunitats vegetals l'entorn biòtic juga un paper fonamental com a regulador de la dinàmica de poblacions. Per exemple, els insectes predadors de llavors poden provocar canvis significatius en la capacitat reproductora de les espècies vegetals, controlant d'aquesta manera l'abundància, la distribució i la dinàmica de poblacions vegetals (Louda, 1982; Louda & Potvin, 1995; Maron & Vilà, 2001). En aquest context on els herbívors poden exercir un control sobre les poblacions vegetals sorgeix la idea de que els canvis en l'entorn biòtic poden influir a la capacitat d'invasió de les espècies exòtiques.

En els següents apartats s'explicaran quins són aquests canvis en l'entorn biòtic, quins factors els promouen i es detallaran les principals hipòtesis sobre l'èxit o el fracàs de la invasió basades en aquests canvis.

1.3.1. Canvis en l'entorn biòtic: pèrdua i guany d'enemics

Els canvis en l'entorn biòtic que una espècie exòtica experimenta durant el procés d'invasió corresponen a la pèrdua de vells enemics i el guany de nous. Inicialment les espècies exòtiques, abans de ser transportades fora de la seva àrea natural de distribució, són atacades per els seus enemics naturals amb els quals comparteixen un passat evolutiu en comú. Quan una espècie és introduïda en un nou entorn, s'espera que deixi enrere els enemics de la zona d'origen i per tant quedi alliberada de l'herbivorisme (*Enemy Release*, Keane & Crawley, 2002). D'altra banda durant el procés d'invasió de la nova àrea, l'espècie exòtica tendirà a guanyar nous enemics. Aquest procés és conegut com a canvi d'hoste (*Host Switching*, Keane & Crawley, 2002). En alguns casos el canvi d'hoste pot ser tant significatiu que les plantes mai s'hauran alliberat dels enemics al colonitzar el nou ambient, si no que hauran patit un intercanvi d'herbívors els quals seguiran regulant les poblacions (Colautti et al., 2004).

Per tal que els herbívors locals passin a consumir espècies exòtiques o altrament dit canviïn d'hoste, és necessari que els herbívors adults reconeixin i seleccionin l'espècie exòtica com a hoste, i que les fases immadures o larvàries siguin capaces de tolerar les noves defenses químiques per poder desenvolupar-se amb èxit assegurant la supervivència. En el cas dels herbívors generalistes, els quals estan adaptats a consumir múltiples espècies i famílies, es considera que aquests tindran una major plasticitat en els mecanismes de reconeixement, selecció i resistència dels nous hostes en comparació amb els herbívors amb una amplitud de dieta més restringida, com es el cas dels especialistes (Jaenike, 1990).

1.3.2. Factors d'influència en les noves interaccions entre plantes exòtiques i herbívors nadius
L'establiment de noves interaccions o canvi d'hoste pot estar influït per diversos factors (Fig. 2). En funció d'aquests els herbívors locals canviaran cap al nou hoste o el rebutjaran. Val a dir que malgrat que el canvi d'hoste pot comportar un impacte negatiu en les espècies invasores, a nivell de les poblacions d'herbívors locals pot ser avantatjós ja que incorporaran una nova font d'alimentació (Agosta, 2006).

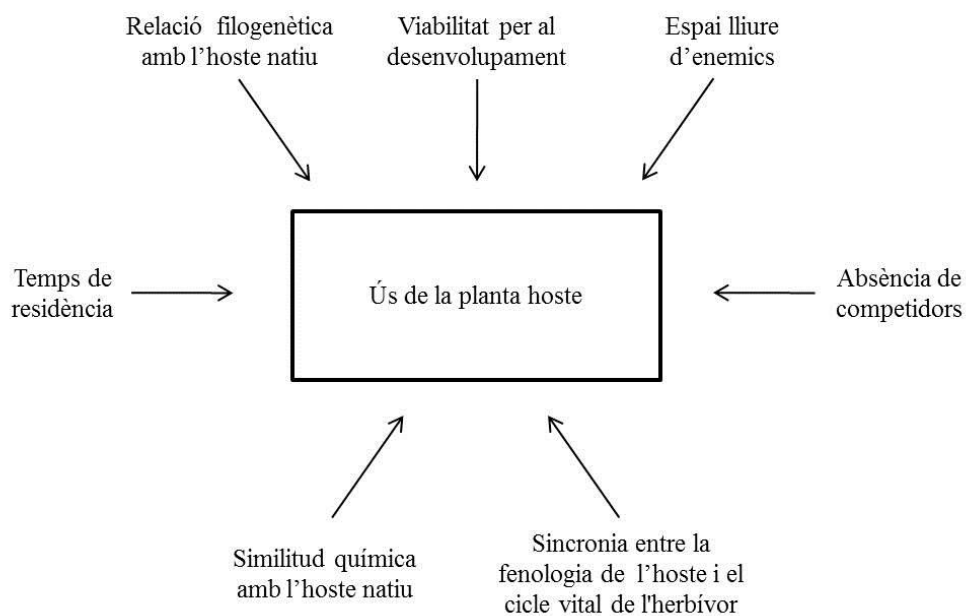


Figura 2. Factors d'influència en l'ús d'espècies exòtiques com a hostes pels herbívors locals (Modificat a partir de Graves & Saphiro, 2003).

Relació filogenètica entre les espècies natives i exòtiques

Una proximitat filogenètica entre els hostes nadius i exòtics implica que aquests comparteixin similituts físiques i químiques entre ells i per tant facilitarà que els herbívors locals reconeixin les espècies exòtiques com a nous hostes (Jaenike, 1990). Per exemple, les espècies exòtiques que estiguin coexistint amb congèneres nadius a la zona d'invasió, el canvi d'hoste serà més freqüent que en aquelles que no tenen cap relació filogenètica amb la flora autòctona.

Similitud química entre les espècies natives i exòtiques

Per establir noves interaccions, els herbívors han de reconèixer els hostes exòtics i desenvolupar mecanismes de resistència contra les noves defenses químiques (Després et al. 2007). Així doncs la presència d'hostes amb una similitud química entre ells facilitarà el canvi d'hoste sobre tot en el cas del herbívors especialistes, ja que a diferència dels generalistes, tenen un rang de tolerància menor i una major especificitat pels compostos químics (Janzen, 1968; Strong, 1984, Ali & Agrawal, 2012).

Hostes adequats per al desenvolupament

Un dels criteris de selecció a l'hora d'escollir hoste és assegurar la viabilitat de la descendència. Per tant, les femelles tendiran a ovipositar en aquells hostes que assegurin el desenvolupament de les larves (Jaenike, 1990). No obstant, en cas que l'espècie exòtica seleccionada per ovipositar resulti un hoste inadequat degut a la seva toxicitat s'espera que la selecció natural produeixi canvis en la fisiologia de l'insecte per poder tolerar-lo o bé canvis en el comportament d'oviposició per tal d'evitar-lo (Graves & Shapiro, 2003).

Mida de la planta

La mida de la planta pot influir en l'elecció de la planta hoste (Cornelissen, 2008). D'acord amb la hipòtesi Vigor de la planta (*Plant Vigor hypothesis*) (Price, 1991), les plantes de mida gran seràn més atractives per els herbívors que les de mida petita donat que els proporcionen una font d'alimentació més rica i de major qualitat (Price, 1991; Cornelissen et al., 2008).

Espai lliure d'enemics i absència de competidors

Els canvis induïts pels herbívors poden alterar la qualitat nutricional i la palatabilitat, augmentar la toxicitat, o fins i tot modificar l'arquitectura, la fenologia, i la fisiologia de la planta hoste (Karban, 1989; Alonso & Herrera, 1996; Inbar et al., 1999). En conseqüència, aquests canvis poden afectar els patrons de oviposició o dany d'altres herbívors. Tanmateix

Introducció

alguns herbívors produeixen senyals dissuasius amb la finalitat d'evitar la competència o l'atac (Pallini et al., 1997; Dicke, 2000). Així doncs, les plantes lliures d'herbívors s'espera que siguin fàcilment colonitzades.

Fenologia de la planta i sincronia amb l'herbivor

La fenologia de les plantes i la sincronia d'aquestes amb els herbívors són factors rellevants en les interaccions planta-herbivor (Vrieling and deBoer, 1999; Mopper and Simberloff, 1995; Russell and Louda, 2004; Asch et al., 2007; Fry et al., 2009). La fenologia de la planta determina el període òptim per el créixement i reproducció dels insectes, per tant, un desajust entre la fenologia de l'hoste i el cicle vital de l'insecte pot tenir conseqüències greus en la supervivència o fecunditat d'aquest últim (Asch et al., 2007). Així doncs, el canvi d'hoste es veurà facilitat en aquelles espècies exòtiques amb una fenologia similar a les espècies natives i al cicle vital de l'insecte (DaRos, 1993). Per exemple, DaRos (1993) va observar que les espècies exòtiques del gènere *Picea* que tenien una fenologia similar a les espècies natives del mateix gènere amb les que estaven coexistent, tenien una major quantitat d'herbívors en comparació amb aquelles espècies exòtiques de fenologia diferent.

Temps de residència

Un llarg temps de residència en l'àmbit invasor facilitarà el canvi d'hoste perquè les poblacions d'insectes hauran tingut més temps per aclimatar-se i adaptar-se a les característiques de l'espècie introduïda (Hawkes, 2007; Mitchell et al., 2010). Diversos estudis han demostrat que la riquesa i l'abundància d'herbívors associats a les plantes exòtiques, i per tant el nombre de noves interaccions, augmenta amb el temps de residència (Hawkes, 2007; Brändle, 2008; Mitchell et al. 2010). Aquest augment no segueix un patró lineal, si no que durant les primeres dècades en el nou hàbitat, les plantes experimenten un canvi ràpid que posteriorment s'estabilitzarà fins aconseguir valors d'herbivorisme similars als de la zona d'origen o als congèneres de la zona d'invasió (Hawkes, 2007). El temps necessari per poder assolir aquests valors s'ha estimat a un màxim de 200 anys després de la introducció (Hawkes, 2007).

1.3.3. Hipòtesis sobre el paper dels herbívors en l'èxit d'invasió

Partint de la idea en que els canvis en l'entorn biòtic poden influir a la capacitat d'invasió de les espècies exòtiques s'han formulat diverses hipòtesis que permeten entendre les causes de l'èxit o el fracàs de la invasió. En aquesta tesi ens centrem concretament en les següents: hipòtesi d'alliberament d'enemics naturals (ERH) i hipòtesi de resistència biòtica (BRH).

Hipòtesis d'alliberament d'enemics naturals (Enemy release hypothesis, ERH)

Aquesta hipòtesi formulada per R.M. Keane i M.J. Crawley (2002) és una de les més avaluades en el camp de l'ecologia d'invasions. Prediu que les espècies exòtiques es beneficiaran d'haver estat transportades a una nova àrea fora del rang de distribució dels seus enemics naturals, ja que l'alliberament o pèrdua d'enemics els hi permetrà incrementar la taxa de creixement i per tant augmentarà la probabilitat d'establir-se en aquesta nova àrea (Fig. 3). No obstant, la hipòtesi també contempla que en el nou entorn les espècies exòtiques podran ser colonitzades per herbívors locals. En aquest cas es preveu que les plantes estaran poc afectades tant per herbívors especialistes com generalistes. En concret, pel que fa als especialistes es considera que donada la seva especificitat per els seus hostes, rarament reconeixeran a les espècies exòtiques com a tals. En relació als generalistes, malgrat la seva elevada tolerància a diferents hostes, es preveu que aquests tindran preferència cap a les espècies autòctones de l'àrea d'invasió. Així doncs tot i l'adquisició de nous enemics, l'ERH prediu que els nivells d'herbivorisme en les espècies exòtiques seran baixos en comparació amb les poblacions de la zona d'origen (comparacions biogeogràfiques) i amb les poblacions d'espècies autòctones de la zona d'invasió (comparacions a nivell de comunitat). Majoritàriament, els estudis a nivell biogeogràfic han donat suport a la hipòtesi ERH constatant així la pèrdua dels enemics naturals en la nova àrea (Memmot et al., 2000; Prati & Bossdorf, 2004; Adams et al., 2009; Maurel et al., 2013). En canvi a nivell de comunitat, el suport és més contradictori, evidenciant diferències en la competitivitat de les plantes exòtiques durant la invasió. Alguns estudis han mostrat que les espècies exòtiques tenen menys herbivorisme en comparació amb les natives de la zona d'invasió, donant suport a l'ERH (Goergen & Daehler, 2001; Siemann & Rogers, 2003; Cincotta et al., 2009), mentre que en d'altres l'herbivorisme és superior a les exòtiques, rebutjant així la hipòtesi (Agrawal et al., 2003; Parker & Hay, 2005; Suwa & Louda, 2012).

Hipòtesi de la resistència biòtica (Biotic Resistance hypothesis, BRH)

Inicialment desenvolupada per Elton (1958), aquesta hipòtesi aporta una possible explicació sobre perquè algunes espècies fracassen en la invasió del nou territori. Considera que les interaccions entre les espècies exòtiques i els nous enemics podran limitar la introducció, l'establiment i l'expansió d'aquestes en el nou entorn (Fig. 3). En concret, s'espera que els herbívors generalistes no es vegin dissuadits per les defenses químiques de les espècies exòtiques ja que les defenses no estaran adaptades en contra d'ells degut a la manca d'un passat evolutiu comú entre les plantes introduïdes i aquests herbívors. Per tant, segons la hipòtesi els herbívors generalistes podran limitar les espècies exòtiques (Parker & Hay, 2005; Morrison & Hay, 2011). Pel que fa als enemics especialistes, alguns estudis han mostrat que en cas de reconèixer i tolerar de l'espècie exòtica, aquests exerciran una major pressió d'herbivorisme a l'hoste exòtic en comparació amb les espècies autòctones. (Trowbridge & Todd, 2001; Trowbridge, 2004; Cogni, 2010).

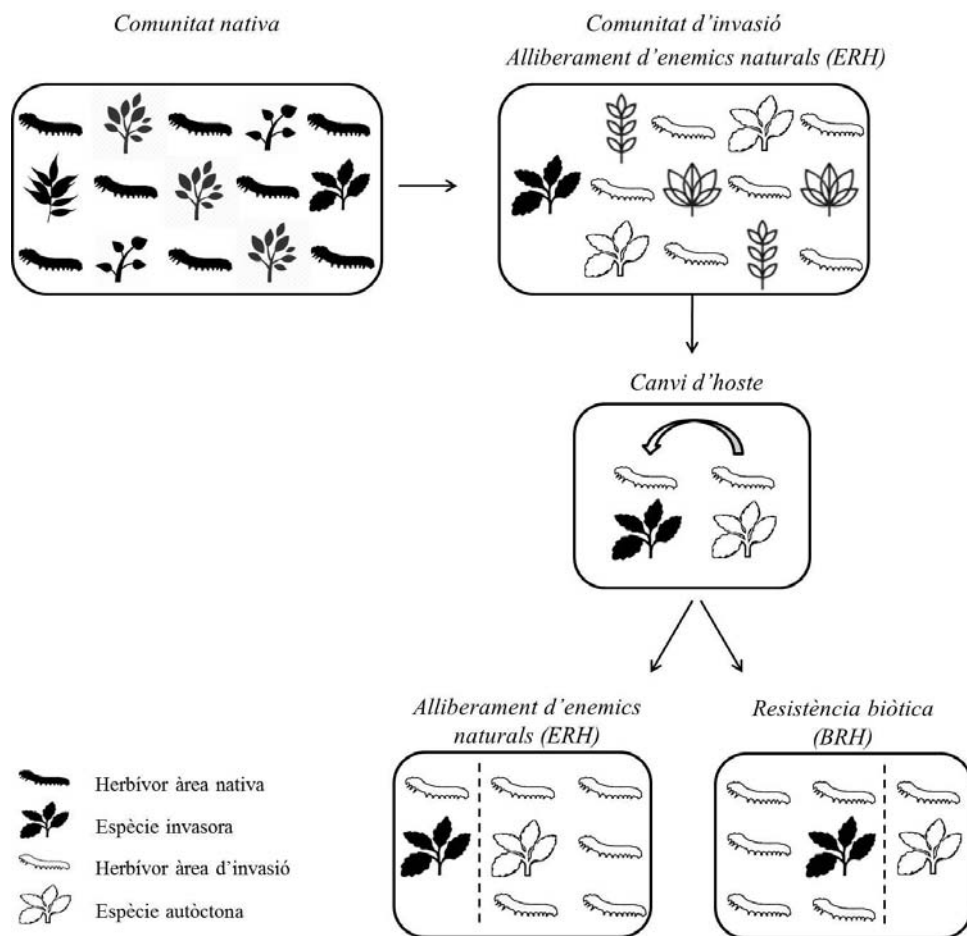


Figura 3. Esquema general de les interaccions planta–herbívor a la zona d'invasió en relació a les hipòtesis d'alliberament d'enemics naturals (ERH) i resistència biòtica (BRH). L'espècie invasora i la seva comunitat d'origen estan representades en negre mentre que la comunitat receptora o d'invasió es representa en blanc. Les orugues representen els enemics naturals de les espècies vegetals.

Malgrat les contrastades conseqüències per a les espècies exòtiques, les hipòtesis d'alliberament d'enemics naturals (ERH) i resistència biòtica (BRH) no s'exclouen mútuament (Verhoven et al., 2009; Morrison et al., 2011). Precisament, el balanç entre la disminució de l'herbivorisme de l'hàbitat natiu i l'establiment de noves interaccions amb els herbívors del nou hàbitat és el que determinarà l'èxit o el fracàs de la invasió. Tanmateix ambdues posen de manifest el paper rellevant dels herbívors en la invasió d'espècies vegetals.

1.4. El gènere *Senecio*

Senecio L. és un dels gèneres més nombrosos de la família de les compostes (Fam. *Asteraceae*) amb aproximadament 1250 espècies descrites (Nordenstam, 2007). Com a membre de la família de les compostes, les espècies d'aquest gènere agrupen les seves flors en inflorescències múltiples anomenades capítols. El fruit, anomenat aqueni, sol estar proveït de papus. Precisament l'origen del nom del gènere recau en la similitut entre el papus de les llavors amb la barba d'un home vell o senil. Donada l'elevada diversitat d'espècies, el gènere *Senecio* presenta una àmplia distribució i una gran varietat morfològica, que inclou herbes, arbusts, plantes crasses, aquàtiques o arbres que exhibeixen diferents cicles vitals i tenen la capacitat de créixer en diferents hàbitats.

Un nombre significatiu d'espècies de *Senecio* són considerades exòtiques o invasores responsables d'importants danys ecològics i socioeconòmics. Degut a la seva importància i per tal de fer front a la problemàtica que comporten, els governs i institucions de diversos països les han inclòs en les llistes d'espècies invasores. Per exemple 10 espècies exòtiques de *Senecio* han estat citades a la flora europea (DAISIE, European Invasive Alien Species Gateway, 2008), 14 a la flora de Nova Zelanda (Lincoln University), 4 a Austràlia (Australian Government) i 6 a Amèrica del nord (USDA).

Una part dels danys econòmics o de salut causats per aquestes espècies venen donats per la seva toxicitat. El gènere *Senecio* es caracteritza per contenir alcaloides pirrolizidínic, els quals són altament tòxics pels vertebrats i actuen com a defenses químiques contra els invertebrats (Bicchi et al., 1985; Hartmann, 1999; Gupta, 2007). La seneciosis o enverinament causat per seneci comporta la reducció de pasturatge i també la mortalitat del bestiar i cavalls. La intoxicació també es pot produir de forma passiva quan el pinso dels animals està

contaminat per la planta (Mc Lean, 1970; Pohlmann et al., 2005; Moyano et al., 2006). En humans, l'exposició a alcaloides a través d'infusions, preparats medicinals, cereals contaminats, pol·len o mel pot produir toxicitat hepàtica greu o crònica, cirrosi en adults i malalties veno-oclusives en infants (Edgar et al., 2002; Kempf et al., 2010; Moyneux et al., 2011; Wiedenfeld, 2011).

La problemàtica les espècies exòtiques de *Senecio* no es restringeix a la seva toxicitat si no que també inclou casos relacionats amb la seva gran capacitat d'expansió. Un exemple és l'afectació de les vies de comunicació a Alemanya on es gasten 100.000 € anuals en l'eliminació de les plantes exòtiques de *Senecio* que creixen incontroladament vora les vies de tren (Reinhardt et al., 2003).

1.4.1. El gènere *Senecio* com a invasor a Catalunya: el cas de *S. pterophorus* i *S. inaequidens*. Catalunya és una de les àrees amb més concentració d'espècies exòtiques d'Espanya i Europa (Andreu et al., 2012). L'elevat grau d'humanització del paisatge, la gran densitat de població, el comerç i el clima mediterrani han facilitat l'entrada d'aquestes espècies. Les famílies més representades a la llista de plantes exòtiques de Catalunya (EXOCAT) són les compostes, les gramínies i les lleguminoses. En concret un total de 588 espècies exòtiques de les quals un 11 % es consideren invasores (Andreu et al., 2012). És important destacar que en aquest grup d'invasores hi consten 4 espècies del gènere *Senecio* : *S. angulatus* L., *S. inaequidens* DC, *S. mikanioides* Otto ex Walp. i *S. pterophorus* DC.

Aquestes espècies, totes d'origen sud-africà, es troben distribuïdes al territori català i són considerades un perill degut als impactes ecològics i socioeconòmics que poden ocasionar. Donada la importància de *S. pterophorus* i *S. inaequidens* en aquesta tesi, a partir d'aquest punt només es detallarà la informació només per aquestes dues espècies.

Senecio pterophorus

Els orígens d'aquesta espècie sudafricana comprenen l'àrea entre la part més sud de la província de KwaZulu Natal fins a l'est de la província de l'est del Cap (Eastern Cape Province) (Hilliard, 1977). En el seu rang natiu, *S. pterophorus* forma poblacions disperses en marges de boscos, prats i fynbos, però també creix en hàbitats ruderals com ara marges de carreteres (Parsons & Cuthbertson, 1992).

S. pterophorus és un arbust erecte, entre 0,4 i 2 metres d'alçada (Fig. 4a). Les seves fulles són de forma variable, des de lanceolades a linears, amb el marge dentat, lobulat o inclús partit i de coloració verd fosc brillant per la cara superior i blanc platejat a la zona del revers (Fig. 4b). El seu tret més distintiu és la petita ala o aleró que es troba entre la tija i la fulla, i s'estén tija avall (Pino et al., 2000; Chamorro et al., 2006). Els seus capítols mesuren 1,5 cm de diàmetre i s'agrupen en inflorescències terminals en forma de corimbe. Aquestes són de color groc intens molt vistós (Fig. 4c).



(a) exemplar de la població de Cambrils



(b) detall de les fulles



(c) detall de les flors.

Figura 4. Detall d'individus de *S. pterophorus*

S. pterophorus ha estat descrita com a invasora al seu mateix país d'origen en el qual va ser introduïda a la zona oest de la província de l'oest del Cap sobre l'any 1918 (Levyns, 1950). A Austràlia, on també és invasora, va ser citada per primer cop a Melbourne (Estat de Victoria) a principis de 1900, no obstant no va ser fins 1935 que van aparèixer noves citacions a Port Lincoln. A partir d'aleshores, *S. pterophorus* va anar-se expandint fins a la zona d'Adelaide i sud est de Melbourne, assolint els màxims nivells d'infestació durant els anys 70 (Parsons & Cuthbertson, 1992). Precisament, a la zona sud d'Austràlia, *S. pterophorus* ha causat greus impactes en l'agricultura i ha estat declarada com a mala herba tòxica subjecte a eradicació pel departament d'indústria primàries a Victoria.



(a) *S. pterophorus* a la població de Stafford's Post (Sud-àfrica)



(b) *S. pterophorus* a la població de Port Lincoln (Austràlia)



(c) *S. pterophorus* a la població de Calella (Catalunya)



(d) *S. pterophorus* a la població de Pietra Ligure (Itàlia)

Figura 5. Poblacions de *S. pterophorus* a la seva zona d'origen, Sud-àfrica (a) i a les àrees d'invasió, Austràlia (b) i Europa, en concret Catalunya (c) i Itàlia (d).

A Europa, *S. pterophorus* també ha esdevingut invasora, no obstant la seva introducció és més recent. Les primeres cites consten a finals dels anys 80 a Catalunya amb poblacions ubicades a les conques del riu Ripoll, Tenes, Tordera i Besòs així com a la riera de Riudecanyes (Casasayas, 1989; Pino et al., 2000). Es considera que va ser introduïda de forma accidental a través del comerç de la llana, ja que un elevat nombre de poblacions es troba al voltant de la zona tèxtil de Sabadell. Precisament aquesta zona entre els anys 1951–1986 rebia una quantitat important de llana, en concret arribaven a processar unes 208 tones de llana sense rentar procedents de Sud-àfrica i Austràlia. Actualment es distribueix en ambients semi-urbans (Fig. 5c.) i en espais naturals protegits com són els Parcs naturals del Montseny i de Sant Llorenç i l'Obac. També ha estat citat recentment al oest de Liguria, al nord oest d'Itàlia (Barberis et al., 1998) (Fig. 5d).

Senecio inaequidens

Aquesta espècie és coneguda popularment com a seneci sudafricà o seneci del Cap. La seva àrea nativa original cobreix aproximadament les províncies del Transvaal i Natal a Sud-àfrica (Meusel & Jäger, 1992; Sans et al., 2004). *S. inaequidens* es caracteritza per ser una planta herbàcia perenne de vida curta, que pot comportar-se com a una planta anual (Rzedowski et al., 2003). En alçada pot arribar a mesurar aproximadament 1 metre (Hilliard, 1977). La seva tija és estriada i glabre, amb fulles alternes, sèssils i de forma linear amb l'apex agut o acuminat. Els capítols s'agrupen en ramets i les seves flors tenen una coloració groga clara. Anualment poden produir 10.000 llavors per planta, les quals poden mantenir-se viables durant anys (Lopez-Garcia & Maillet, 2005).

La seva introducció a Europa des de Sud-àfrica va ser a través del comerç de la llana. En concret va ser introduïda accidentalment a Alemanya al voltant de l'any 1896, i des de llavors ha anat colonitzant l'Europa occidental (Ernst, 1998). A la Península Ibèrica, les primeres cites van ser a mitjans dels anys 80 al País Basc i a Catalunya, possiblement provinents del sud de França on aquesta espècie és abundant (Terrisse, 1987). Concretament, va ser citada per primera vegada per Aseginolaza com a *Senecio herveianus* McOwan l'any 1984 en les voreres d'una carretera en construcció a Apodaka (Àlaba). Poc temps després va ser citada a Catalunya, a l'Alt Empordà per Casasayes (1985) i a la Cerdanya (Terrisse, 1987). En l'actualitat està localitzada a la meitat nord del principat (Sans et al., 2004). Forma poblacions en ambients ruderals, vores de carreteres, vies de tren, llits de rius, vinyes, pastures i en general àrees pertorbades. Com a conseqüència de les seves denses poblacions i els impactes negatius que ocasiona a nivell ecològic, econòmic i en la salut, *S. inaequidens* ha estat inclosa en la llista d'alerta de plagues de la European and Mediterranean Plant Protection Organization (www.eppo.org).

2. OBJECTIUS i SISTEMES EXPERIMENTALS

2. 1. Objectiu principal i sistemes experimentals

L'objectiu principal d'aquesta tesi és avaluar les interaccions planta–herbívor en les espècies exòtiques *S. pterophorus* i *S. inaequidens*. Per assolir aquest objectiu s'han realitzat dues aproximacions experimentals:

1) Nivell biogeogràfic (Capítol 1)

S'han comparat les interaccions planta–herbívor de l'espècie *S. pterophorus* entre la seva regió nativa (Sud-àfrica), la zona d'expansió (Oest del Cap a Sud-àfrica) i les regions d'invasió (Austràlia i Europa) per tal de determinar els canvis en la pressió d'herbivorisme que les plantes experimenten quan envaeixen un nou ambient. Segons la hipòtesi d'alliberament d'enemics naturals (ERH), a l'àrea d'invasió les plantes experimentaran una disminució en la pressió d'herbivorisme degut a l'alliberament dels enemics naturals de l'àrea d'origen.

Un dels principals problemes en les comparacions biogeogràfiques és la dificultat de poder cobrir tota l'àrea de distribució nativa i invasora de l'espècie estudiada. La relativament restringida distribució de *S. pterophorus* a nivell mundial permet tenir una visió completa de les colonitzacions d'aquesta espècie fora del seu àmbit natiu i en conseqüència dur a terme un mostreig biogeogràfic que cobreixi gran part de l'àrea de distribució, tant les zones natives com invasores. Les diferències temporals entre la introducció en diferents àrees (Austràlia, 100 anys i Catalunya, 40 anys) permetrà avaluar els canvis en la pressió d'herbivorisme durant el procés d'invasió.

2) Nivell de comunitat (Capítols 2, 3 i 4)

S'han comparat les interaccions planta–herbívor entre les espècies exòtiques *Senecio pterophorus* i *S. inaequidens*, i dos congèneres nadius, *S. vulgaris* i *S. lividus*, que coexisteixen en condicions naturals. Segons la hipòtesi d'alliberament d'enemics naturals (ERH) les espècies exòtiques experimentaran una pressió d'herbivorisme menor en comparació dels seus congèneres nadius, fet que els hi conferirà avantatge en el procés d'invasió.

Aquest estudi s'ha portat a terme al parc natural del Montseny, el qual constitueix un perfecte emplaçament ja que *S. pterophorus* i *S. inaequidens* es troben coexistent amb espècies natives del mateix gènere, les quals podrien contenir herbívors susceptibles de consumir les espècies

exòtiques. A més a més, la distinció química del gènere *Senecio* incrementa les probabilitats de trobar herbívors especialistes que tinguin mecanismes de detoxificació específics per a alcaloides pirrolizidínic i per tant siguin favorables al canvi d'hoste cap a les espècies exòtiques del mateix gènere. D'altra banda, el fet de disposar de dues espècies exòtiques amb històries d'invasió diferents (*S. inaequidens* > *S. pterophorus*) permetrà comparar l'evolució de les interaccions planta–herbívor.

2.2. Objectius específics

- Quantificar l'herbivorisme en capítol i llavors en les plantes de *S. pterophorus* en l'àmbit natiu i invasor.
- Avaluar l'alliberament d'enemics naturals en les plantes de *S. pterophorus* a nivell biogeogràfic comparant la pressió d'herbivorisme entre l'àmbit natiu i invasor.
- Determinar l'existència canvi d'hoste (*host switching*) a través de quantificar la presència d'herbívors locals (generalistes i especialistes) tant en les parts reproductives com vegetatives de les espècies exòtiques, *S. pterophorus* i *S. inaequidens*, i dels seus congèneres nadius, *S. vulgaris* i *S. lividus*.
- Determinar la influència de l'especialització de la dieta dels herbívors en el canvi d'hoste cap a les espècies exòtiques, *S. pterophorus* i *S. inaequidens*.
- Avaluar l'alliberament d'enemics naturals en les plantes de *S. pterophorus* i *S. inaequidens* a nivell de comunitat comparant la pressió d'herbivorisme entre les espècies exòtiques i els seus congèneres nadius, *S. vulgaris* i *S. lividus*.
- Determinar la influència de la fenologia de les plantes i la sincronia amb els herbívors locals en les interaccions planta–herbívor per les espècies natives i exòtiques de *Senecio*.
- Determinar l'efecte de la concentració d'alcaloides pirrolozidínics, la mida planta i la competència entre herbívors en les interaccions planta–herbívor per les espècies natives i exòtiques de *Senecio*.

2.3. Estructura de tesi

Aquesta tesi s'estructura en quatre capítols, els quals inclouen els diferents objectius determinats anteriorment:

- Capítol 1: “Reduced seed predation after plant invasion supports enemy release in a broad biogeographical survey”
- Capítol 2: “Herbivores on native and exotic *Senecio* plants: is host switching related to plant novelty and insect diet breadth under field conditions?”
- Capítol 3: “Reexamining the enemy release hypothesis: differentiating between the frequency and the intensity of herbivory in native and exotic *Senecio* plants”
- Capítol 4: “Plant size but not chemical defenses predicts intraspecific variation in herbivory in native and exotic *Senecio* plants under field conditions”

Els quatre capítols que es presenten en format d'article científic, la qual cosa comporta algunes redundàncies en les descripcions de les espècies i mostreigs.

3. CAPÍTOLS

Capítol 1 / Chapter 1:

Reduced seed predation after invasion supports enemy release in a broad biogeographical survey

Eva Castells, Maria Morante, José M. Blanco-Moreno, F. Xavier Sans, Roser Vilatersana, Anabel Blasco-Moreno (2013) Reduced seed predation after invasion supports enemy release in a broad biogeographical survey. **Oecologia** 173:1397-1409. DOI 10.1007/s00442-013-2718-4

Abstract

The Enemy Release (ER) hypothesis predicts an increase in the plant invasive capacity after being released from their associated herbivores or pathogens in their area of origin. Despite the large number of studies on biological invasions addressing this hypothesis, tests evaluating changes in herbivory on native and introduced populations and their effects on plant reproductive potential at a biogeographical level are relatively rare. Here, we tested the ER hypothesis on the South African species *Senecio pterophorus* (Asteraceae), which is native to the Eastern Cape, has expanded into the Western Cape, and was introduced into Australia (>70-100 years ago) and Europe (>30 years ago). Insect seed predation was evaluated to determine whether plants in the introduced areas were released from herbivores compared to plants from the native range. In South Africa, 25% of the seed heads of sampled plants were damaged. Plants from the introduced populations suffered lower seed predation compared to those from the native populations, as expected under the ER hypothesis, and this release was more pronounced in the region with the most recent introduction (Europe 0.2% vs. Australia 15%). The insect communities feeding on *S. pterophorus* in Australia and Europe differed from those found in South Africa, suggesting that the plants were released from their associated fauna after invasion and later established new associations with local herbivore communities in the novel habitats. Our study is the first to provide strong evidence of enemy release in a biogeographical survey across the entire known distribution of a species.

Introduction

Biological invasions are one of the major causes affecting biodiversity worldwide (Pimentel et al. 2000). The introduction of an exotic plant into a new habitat can strongly affect the composition, structure and functioning of the invaded ecosystem (Vitousek et al. 1996; Pimentel et al. 2000) and may drive evolutionary changes in the native species (Maron and Vilà 2001; Siemann et al. 2006). Not all species introduced into new habitats become invasive, however (Richards et al. 2006). Of the many hypotheses that attempt to unravel the factors affecting potentially invasive alien species, those involving the role of herbivores in controlling plant populations predominate (Colautti et al. 2004; Hierro et al. 2005; Gurevitch et al. 2011).

The most frequently invoked hypothesis for the success of invasive species is the Enemy Release (ER) hypothesis (Elton 1958). This hypothesis predicts that alien plants will be more successful when colonizing a new environment due to being released from herbivores and pathogens in their area of origin. The ER hypothesis is based on three components (Keane and Crawley 2002): 1) plant populations are regulated by their associated enemies in the indigenous area; 2) herbivore pressure decreases after introduction into a novel range; and 3) the individual-level benefits of enemy release to exotic plants translate into increased population size, geographic distribution, and overall invasive ability. Plants that are strongly regulated by herbivores in their areas of origin can experience immediate benefits after enemy release, with increased growth, reproductive capacity and survival (Colautti et al. 2004).

A decrease in herbivore pressure on exotic plants, as predicted by the ER hypothesis, is not determined exclusively by the plants' escape from the natural enemies left behind during an invasion. Once in the introduced range, alien plants may be colonized by native herbivores from the novel habitat, a process known as Native Enemy Host Switching (Keane and Crawley 2002; Agosta 2006). The diversity of consumers in each novel location limits the types and strengths of the interactions that are ultimately established. For example, *Lepidium draba*, a herbaceous perennial mustard, is associated with 16 phytophagous species in its native range, 18 in its extended range and 11 in its introduced range; only 4 of these species are common to all three regions (Cripps et al. 2006). When novel interactions as a result of host switching are quantitatively significant, exotic plants may never be released from herbivore pressure but may merely exchange the species involved. The process of enemy release can be understood as the net effect of the loss of associated enemies from the native

range and the acquisition of fewer new enemies in the introduced range (Colautti et al. 2004; Verhoeven et al. 2009).

The fact that an important element of the ER hypothesis (i.e., host switching) strongly depends upon the biotic community and the characteristics of the receiver ecosystem (Graves and Shapiro 2003; Tallamy et al. 2010) highlights the importance of studies that account for this geographic mosaic of species assemblages. Commonly performed experiments addressing the ER hypothesis include laboratory bioassays, which determine the preference and performance of selected phytophagous species feeding on plants from the native and introduced ranges (Caño et al. 2008; Schaffner et al. 2011), and common-garden experiments performed in a single area, usually in the invasive range (Agrawal and Kotanen 2003, but see Maron et al. 2004). Although these experiments can help to determine levels of plant resistance against certain herbivores, they do not inform on the actual plant-herbivore interactions established under field conditions. Biogeographical surveys comparing *in situ* herbivory on native and alien plant populations in areas where the plants naturally occur, are more appropriate to determine realized (not merely potential) herbivore-induced selective pressures. Due to the high spatial variation in the interactions between plants and herbivores (Kolb et al. 2007) comprehensive tests of the enemy release hypothesis should cover large distribution areas of the plant species both in the native and the invasive range.

Several authors have stressed the importance of biogeographical comparisons when testing major hypotheses related to biological invasions (Maron and Vilà, 2001; Hierro et al. 2005), but this area of research has advanced little in recent years. We found 13 studies published to date that quantified *in situ* herbivory between native and introduced populations in a replicated biogeographical survey (Sheppard et al. 1996; Memmott et al. 2000; Fenner and Lee 2001; Wolfe 2002; De Walt et al. 2004; Prati and Bossdorf 2004; Vilà et al. 2005; Cripps et al. 2006; Ebeling et al. 2008; Adams et al. 2009; Cripps et al. 2010; Williams et al. 2010; Hinz et al. 2012). Of those, only four (Fenner and Lee 2001; Wolfe 2002; Prati and Bossdorf 2004; Cripps et al. 2010) evaluated seed predation, which is more closely related to plant fitness and population success (Kolb et al. 2007), and none covered a large distributional area across the native and invasive ranges. These numbers contrast markedly with the nearly 500 papers published in the last 10 years that explicitly address the ER and its evolutionary extension the Evolution of increased Competitive Ability (EICA) hypotheses (ISI Web of Science). Clearly, more biogeographical studies of enemy release are needed.

Here, we conducted a biogeographical test of the second component of the ER hypothesis using *Senecio pterophorus* DC (Asteraceae) as a model species. This species is a

perennial shrub native to the Eastern Cape and southern KwaZulu-Natal provinces in South Africa (Hilliard 1977). Its range expanded to the Western Cape during the early 20th century (Levyns 1950). Introduced into Australia in 1908, *S. pterophorus* currently forms persistent populations along the southeastern coast from Port Lincoln to Melbourne and around Sydney and Newcastle in New South Wales (The Council of Heads of Australasian Herbaria 2012). In continental Europe, *S. pterophorus* was first found in 1982 near Barcelona in the northeastern Iberian Peninsula (Casasayas 1989), and additional populations in the Mediterranean basin were found in 1990 on the Ligurian coast in northwestern Italy (Barberis et al. 1998). Preliminary studies using neutral markers have shown that populations from Australia and Europe are not genetically related; thus the colonization of the two continents occurred independently (Vilatersana et al. unpublished).

We performed a biogeographical survey designed to cover a substantial portion of the distribution of *S. pterophorus* and to adequately compare seed predation between native and introduced populations. The relatively restricted worldwide distribution of *S. Pterophorus* enabled us to conduct a complete biogeographical survey, determining *in situ* herbivory on *S. pterophorus* in its native, expanded and invaded ranges. The different colonization histories in Australia (>70-100 years) and Europe (> 30 years) and the native vs. expanded ranges in South Africa allowed us to explore the effects of time since introduction and of distance from the source on herbivore release. We aimed to answer the following question: are *S. pterophorus* plants from the extended and introduced ranges released from herbivore predation compared to plants from the native range, resulting in greater reproductive potential?

Materials and Methods

Studied species

Senecio pterophorus is a perennial shrub between 0.4 and 2 m in height. The capitula, which are up to 1.5 cm in diameter with c. 13 female ligulate florets measuring from 2 to 4 mm around the periphery, are grouped into terminal corymbose synflorescences (Hilliard 1977). The seeds (technically achenes or cypselae) are approximately 1.5 mm long, cylindrical, somewhat angular and minutely hairy over the surface. The flowering period may extend from late spring to mid autumn (Levyns 1950) but peaks during two to three weeks in early summer, when all plants in a population bloom synchronously (Morante et al. unpublished). This species produces a large number of seeds (up to 1200 heads/individual; Morante et al.

unpublished), but its population viability is strongly limited by low seedling emergence and establishment (Sans et al. 2004).

Distributional area and invasion history

Senecio pterophorus is indigenous to an area extending from the eastern parts of the Eastern Cape Province to the southernmost part of the KwaZulu-Natal Province (Hilliard 1977) (Fig. 1). In its native range, *S. pterophorus* forms scattered populations in forest margins, grasslands and fynbos, but it also grows in ruderal habitats, such as road sides. This species was introduced into the Western Cape Province around 1918 (Levyns 1950). The earliest records of *S. pterophorus* in Australia date to 1908 and 1909 in Melbourne, Victoria, but the absence of herbarium records during the following three decades suggests that the species may have failed to establish successful populations in that area. In 1935, *S. pterophorus* was found in Port Lincoln, South Australia. From there, it spread to Adelaide Hills and southeast to Melbourne, Victoria, where it reached high levels of infestation during the 1970s (Parsons and Cuthbertson 1992; The Council of Heads of Australasian Herbaria 2012). Scattered populations have been recorded in Sydney and Newcastle, New South Wales, since 1987 (The Council of Heads of Australasian Herbaria 2012) (Fig. 1). In South Australia, *S. pterophorus* causes heavy productivity losses in agricultural areas, and it is a strong competitor that excludes native species in natural communities and interbreeds with several related native species, thus reducing the diversity of the invaded areas (Parsons and Cuthbertson 1992). In 1994, *S. pterophorus* was classified as a Declared Noxious Weed subject to eradication by the Department of Primary Industries, Victoria (Australia).

The first European populations of *S. pterophorus* were found around wool mills in the United Kingdom in 1913 (Preston et al. 2002), but its presence was erratic and infrequent, with only 8 records from 1913 to 1986. After being absent from the UK for 30 years, *S. pterophorus* is now considered extinct in that country. The introduction of *S. pterophorus* into continental Europe is comparatively recent. First recorded in 1982 near Barcelona, northeastern Iberian Peninsula (Casasayas 1989), *S. pterophorus* is mainly found in disturbed riverbeds and eutrophic waste areas, where it can form very dense populations of approximately 3 individuals/m² (Sans et al. 2004). The largest populations occur at the Ripoll River in Sabadell, the most significant textile-manufacturing area in Spain during the 19th and 20th centuries. From 1951 to 1986, Spanish companies processed 208 metric tons of unwashed wool imported from South Africa and Australia (Dirección General de Aduanas de España 1922), suggesting that *S. pterophorus* may have been accidentally introduced to Spain via

sheep wool used in the textile industry. Since 1995, this species has been widely reported at numerous localities in the northeastern Iberian Peninsula (Chamorro et al. 2006) (Fig. 1). At present, *S. pterophorus* grows in natural and semi-natural areas, including open forests, road margins and abandoned fields in Sant Llorenç de Munt i l'Obac Natural Park (EC personal observation) and Montseny Natural Park (Morante et al. unpublished). This species has also been found in western Liguria, northwestern Italy, since 1990 (Barberis et al. 1998). The known distribution of *S. pterophorus* in Italy extends from Savone, 45 km south of Genova, to Ventimiglia, near the French border (Barberis et al. 1998) (Fig. 1). Although its geographical range in Europe remains limited, *S. pterophorus* is most likely expanding there, slowly spreading into less-disturbed communities, such as grasslands, shrublands and forests (Chamorro et al. 2006).

Biogeographical survey

The survey was planned with two purposes: 1) to cover the entire known distribution of *S. pterophorus*, including its native, expanded and introduced ranges; and 2) to target the plants' blooming period to evaluate herbivore damage to reproductive plant parts. Distributional data for *S. pterophorus* were first obtained from the herbarium records of the South African National Biodiversity Institute, the Australian National Herbarium (Council of Heads of Australasian Herbaria 2012), the Biodiversity Data Bank of Catalonia (Font 2012) and the literature (Hilliard 1977; Barberis et al. 1998; Chamorro et al. 2006; Caño et al. 2008; Morante et al. unpublished). The consulted sources provided contradictory information on the native area of *S. pterophorus* in South Africa. While Hilliard (1977) stated that the plant “*is found in the eastern parts of the Transkei and just enters Natal across its Southern border*”, the distribution of *S. pterophorus* obtained from herbarium records exceeded these limits. Moreover, some records identified as *S. pterophorus* in the South African National Biodiversity Institute herbarium may correspond to other *Senecio* species with coincident flowering times and similar morphologies (e.g., *S. polyanthemoides* Sch. Bip. and *S. juniperinus* L.f.) (M. Welman, South African National Herbarium in Pretoria, personal communication).

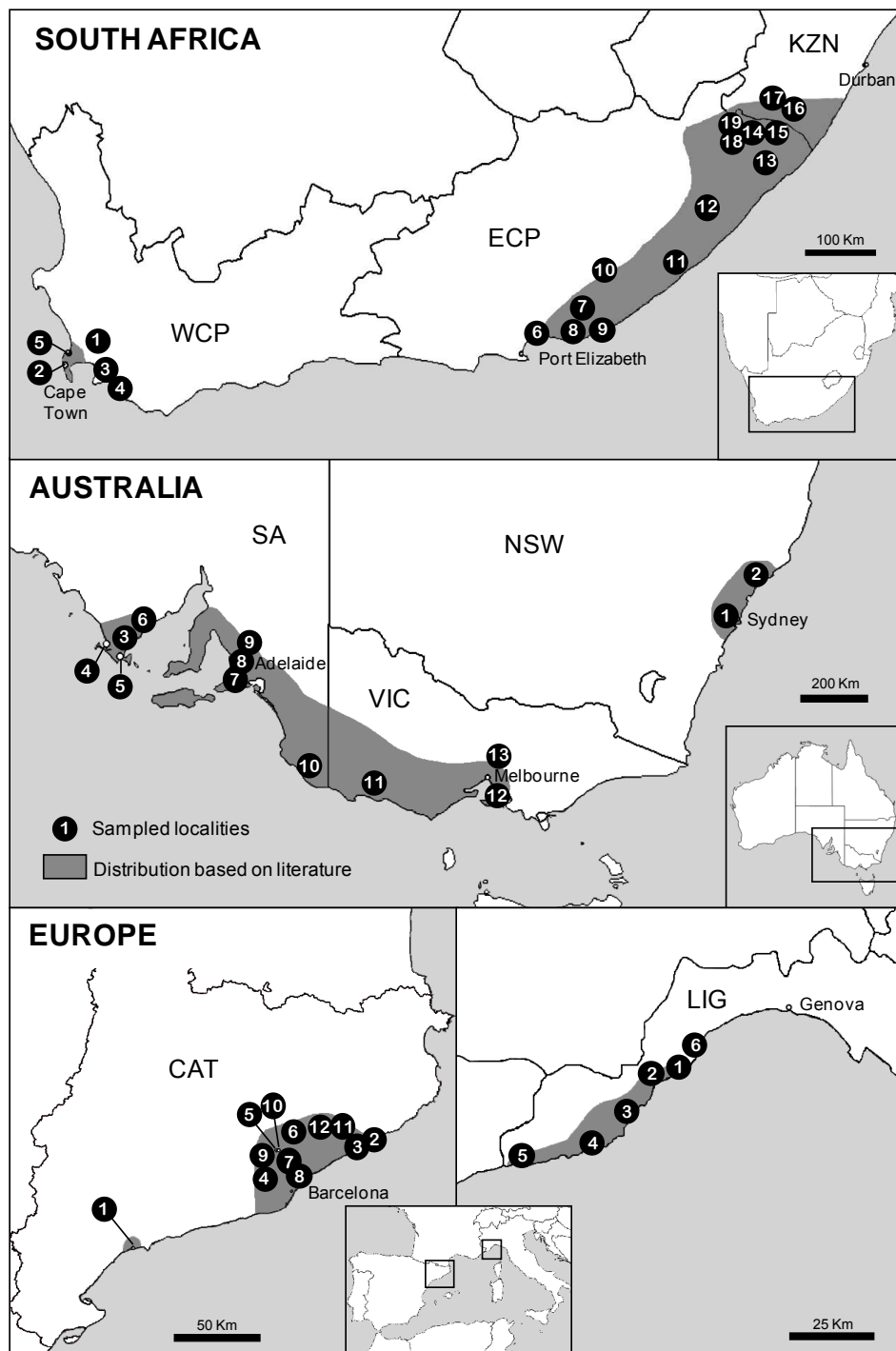


Fig. 1 Maps showing locations of populations of *S. pterophorus* surveyed at the native range (South Africa, populations 6 to 19), the expanded range (South Africa, populations 1 to 5), and the two invasive ranges (Australia and Europe). All populations had reproductive individuals to which damage of herbivores on seed heads and seeds could be evaluated, except for populations 1 and 13 in Australia. Abbreviations for regions or States: in South Africa ECP = Eastern Cape, WCP = Western Cape, KZN = KwaZulu-Natal; in Australia NSW = New South Wales, SA = South Australia, VIC = Victoria; in Europe CAT = Catalonia (Spain), LIG = Liguria (Italy). The shaded area indicates *S. pterophorus* distribution based on herbaria databases and literature. Population numbers correspond to the codes in Table 1.

To ensure that we covered the entire native range of *S. pterophorus* we searched outside the limits cited by Hilliard (1977), including the area from Cape Town (Western Cape Province) to Port Elizabeth (Eastern Cape Province) and up to 225 km north of Durban (KwaZulu-Natal Province). Sampling was conducted during the flowering period of *S. pterophorus*, in December 2009 and January 2010 in the southern hemisphere (South Africa and Australia) and in July 2010 and July 2011 in the northern hemisphere (Catalonia and Liguria).

Senecio pterophorus populations were sought near locations where the species had been previously reported. We attempted to choose populations that were spread across the territory, including populations from the distributional limits. We located the species in most of the searched areas (Fig.1). In South Africa, *S. pterophorus* was absent from Cape Town to Port Elizabeth (Eastern Cape) and north of Port Shepstone (KwaZulu-Natal), confirming the distribution proposed by Hilliard (1977). The plant was not found in some dry areas in South Australia, including York Peninsula and Murray Bridge. In the State of Victoria, where *S. pterophorus* is declared a noxious weed, the plant was extremely difficult to find, possibly due to the control efforts by local authorities.

A population was defined as a cluster of 15 or more adult individuals. In South Africa and Australia, we chose populations at least 30 km apart; in Catalonia and Liguria, where the plant is more localized, we choose populations at least 5 km apart. A total of 50 populations were surveyed, including 14 native (Eastern Cape and KwaZulu-Natal, South Africa), 5 expanded (Western Cape, South Africa) and 31 introduced (13 in Australia and 18 in Europe) (Fig. 1). Of these populations, a total of 48 contained reproductive individuals for which seed predation could be assessed. In each population, we evaluated the habitat type, the sampled patch size, the level of disturbance (low, medium, high), the number of *S. pterophorus* individuals (< 25, 25-100, 100-500 and >500 individuals), the percent cover of *S. pterophorus* (< 5%, 5-25%, 25-50%, 50-75% and 75-100%) and the percentage of individuals at the seedling stage as an estimate of population recruitment (<1%, 1-5%, 5-25%, 25-50%, 50-75% and 75-100%) (Table 1). Climate data (mean annual temperature and precipitation) for each location were obtained from the WorldClim database (Hijmans et al. 2005) (Table 1).

Ten individual plants at reproductive stage were sampled at each population to evaluate herbivore damage. The selected individuals were scattered across the plant patch in order to cover the maximum area of distribution and maximize the distance between individuals. A total of 465 plants were surveyed. We collected 20 seed heads from each plant to quantify the proportion damaged by insect herbivores. To ensure homogeneous sampling across populations and regions, ripe seed heads were chosen when possible. Seed heads were

dissected on the day of collection by opening them longitudinally through the receptacle, spreading the seeds on a surface, and recording the presence of seed-eating insects therein. A seed head was recorded as “damaged” when predated by phytophagous insects, regardless of their number and developmental stage. We calculated the percentage of damaged heads per individual plant. Insects were raised to adults for identification when possible. Taxonomic identification was performed by Jordi Dantart (Societat Catalana de Lepidopterologia, Spain) (Lepidoptera) and Bernhard Merz (Muséum d’Histoire Naturelle, Switzerland) (Diptera). Other species collected at immature stages (larvae) that were not successfully raised to adults during the collecting trip were classified at the lowest possible taxonomic level.

To determine the frequency of predated seeds within capitula, 5 heads from each of 5 individuals per population (8 populations from South Africa, 5 from the Western Cape, 12 from Australia and 12 from Europe) were collected and stored in separate envelopes. Only healthy, ripe heads with no external damage were collected. These samples could not be processed during the collecting trip; therefore, the heads were frozen for 24 h to prevent further herbivore damage. In the laboratory, the heads were dissected, and the total number of seeds (achenes) was recorded. Each seed was assigned to one of the following categories: damaged, showing signs of predation; aborted, having an undeveloped embryo; and filled, having an undamaged, well-developed embryo. A total of 68,621 achenes (23,610 from South Africa, 21,035 from Australia and 23,976 from Europe) were analyzed. The seeds were categorized by inspection under a stereomicroscope at 10/60 × magnification (Nikon, SMZ800). The proportion of damaged seeds within a head was expressed relative to the total number of achenes after excluding the aborted ones.

Table 1 Locations and habitat characterization of *Senecio pterophorus* populations surveyed in the native range (South Africa), the expanded range (Western Cape, South Africa) and introduced ranges (Australia and Europe)

Location ¹	Population	Code ²	Origin ³	Coordinates	Alt. (m) ⁴	Temp. (°C) ⁴	Rainfall (mm) ⁴	Habitat type	Patchsize (m)	Pop. Size (No. ind.)	SP Cover (%) ⁵	Seedlings (%) ⁶	Disturb. Level ⁷	No. sampled in d. ⁸
SOUTH AFRICA														
ECP	Colchester	S06	N	33°41'S 25°49'E	6	16.4	440	Perennial grassland	50	25-100	5-25	1-5	M	10
ECP	Grahamstown	S07	N	33°19'S 26°32'E	668	18.5	741	Meadow	400	>500	5-25	n/a	M	10
ECP	Alexandria	S08	N	33°36'S 26°24'E	124	16.1	548	Grassland	10	25-100	5-25	<1	M	10
ECP	Port Alfred	S09	N	33°36'S 26°52'E	61	18.2	595	Grassland	100	100-500	25-50	<1	M	10
ECP	Fort Hare	S10	N	32°47'S 26°52'E	535	18.2	593	Perennialgrassland	100	25-100	25-50	1-5	M	10
ECP	Courtlands	S11	N	32°40'S 28°00'E	471	17.9	802	Grassland	50	25-100	5-25	1-5	H	10
ECP	Umtentu	S12	N	31°51'S 28°30'E	716	17.4	713	Meadow	75	25-100	5-25	<1	M	10
ECP	Flargstaff	S13	N	31°11'S 29°26'E	884	16.0	912	Meadow	125	>500	50-75	5-25	M	10
ECP	Mt. Ayliff	S14	N	30°50'S 29°15'E	1116	15.9	827	Meadow	25	>500	50-75	n/a	M	10
ECP	Bizana	S15	N	30°50'S 29°35'E	1076	15.6	907	Meadow	150	>500	75-100	n/a	M	10
ECP	Mount Frere	S18	N	30°57'S 28°57'E	1242	15.6	856	Grassland	35	25-100	75-100	<1	H	10
ECP	Antioch	S19	N	30°42'S 28°51'E	1261	16.0	787	Meadow	200	25-100	5-25	<1	M	10
KZN	Stafford's Post	S16	N	30°31'S 29°46'E	1141	15.6	927	Perennialgrassland	10	25-100	5-25	n/a	M	10
KZN	Franklin	S17	N	30°23'S 29°38'E	1200	15.5	834	Perennialgrassland	50	25-100	5-25	1-5	M	10
WCP	Groenfonteinkop	S01	E	33°47'S 18°52'E	176	16.9	786	Shrubland	125	<25	5-25	1-5	M	10
WCP	Cape Town	S02	E	34°07'S 18°23'E	26	16.4	825	Perennial grassland	100	25-100	5-25	1-5	M	10
WCP	Elgin	S03	E	34°09'S 19°01'E	326	14.7	996	Annual grassland	200	100-500	5-25	<1	H	10
WCP	Hermanus	S04	E	34°24'S 19°11'E	23	16.2	589	Annualgrassland	25	100-500	25-50	1-5	M	10
WCP	Cape Town	S05	E	33°56'S 18°26'E	114	16.5	1086	Annualgrassland	125	100-500	5-25	25-50	H	10
AUSTRALIA														
NSW	Doonside	A01	I	33°45'S 150°52'E	48	17.2	873	Perennialgrassland	600	25-100	5-25	<1	M	0
NSW	Newcastle	A02	I	32°52'S 151°41'E	13	17.9	1092	Perennialgrassland	50	25-100	5-25	1-5	L,M	10
SA	Port Lincoln	A03	I	34°33'S 135°49'E	13	16.0	509	Perennialgrassland	75	>500	50-75	<1	M	10
SA	Wangary	A04	I	34°30'S 135°25'E	15	16.2	531	Annualgrassland	30	>500	25-50	<1	L	10
SA	Lincoln NP	A05	I	34°48'S 135°46'E	6	16.2	516	Shrubland	30	>500	5-25	50-75	H, M	10
SA	Hincks NP	A06	I	33°55'S 136°14'E	84	16.4	399	Annualgrassland	4700	<25	<5	<1	L	7
SA	Mt. Compass	A07	I	35°20'S 138°36'E	262	14.6	801	Schubland	30	100-500	50-75	50-75	M	10
SA	Cleland NP	A08	I	34°57'S 138°42'E	602	13.0	1101	Forest	20	25-100	<5	5-25	M	10
SA	Warren CP	A09	I	34°40'S 138°51'E	257	14.9	616	Forest	25	25-100	<5	<1	L	10
SA	Mt. Burr	A10	I	37°35'S 140°28'E	171	13.3	867	Plantation	30	100-500	<5	5-25	L	10
VIC	Mt. Napier NP	A11	I	37°55'S 142°02'E	223	12.9	757	Forest	15	100-500	5-25	75-100	H	10
VIC	Hastings	A12	I	38°17'S 145°11'E	15	14.5	785	Shrubland	15	25-100	25-50	<1	H	2
VIC	Gumbaya Park	A13	I	38°04'S 145°39'E	121	13.7	960	Perennialgrassland	10	<25	<5	<1	M	0

EUROPE

CAT	Cambrils	C01	I	41°04'N 1°04'E	20	16.3	549	Riverbed	100	25-100	5-25	n/a	H	10
CAT	Palafolls	C02	I	41°39'N 2°42'E	66	15.6	722	Forest	75	>500	25-50	50-75	H	10
CAT	Calella	C03	I	41°37'N 2°39'E	144	15.6	717	Shrubland	40	>500	75-100	5-25	M	10
CAT	Castellbisbal	C04	I	41°27'N 1°59'E	51	16.3	589	Riverbed	100	25-100	<5	<1	H	10
CAT	Castellar V.	C05	I	41°36'N 2°04'E	288	15.3	631	Annualgrassland	50	25-100	5-25	n/a	M	10
CAT	Bigues i Riells	C06	I	41°41'N 2°12'E	295	15.1	667	Wasteland	50	25-100	50-75	n/a	H	10
CAT	Sabadell	C07	I	41°31'N 2°07'E	124	16.1	594	Annualgrassland	30	25-100	5-25	5-25	H	10
CAT	Ripollet	C08	I	41°29'N 2°10'E	61	16.3	599	Wasteland	50	25-100	<5	<1	H	10
CAT	Matadepera	C09	I	41°35'N 2°01'E	413	14.5	662	Riverbed	50	100-500	25-50	<1	M	10
CAT	SantLlorenç NP	C10	I	41°36'N 2°05'E	332	14.9	654	Grassland, Forest	30	<25	5-25	<1	M	10
CAT	Campins	C11	I	41°43'N 2°28'E	519	14.2	798	Forest	25	<25	25-50	n/a	L	10
CAT	Montseny NP	C12	I	41°43'N 2°24'E	622	13.0	822	Forest	25	25-100	25-50	n/a	L	10
LIG	PietraLigure	L01	I	44°08'N 8°16'E	10	14.7	846	Grassland	100	100-500	5-25	1-5	H	10
LIG	Zucarello	L02	I	44°06'N 8°07'E	172	14.2	807	Annualgrassland	100	25-100	5-25	25-50	H	10
LIG	Pontedassio	L03	I	43°56'N 8°00'E	283	14.4	794	Annualgrassland	75	100-500	50-75	25-50	H	10
LIG	Arma di Taggia	L04	I	43°50'N 7°51'E	14	15.7	812	Riverbed	500	100-500	50-75	<1	H	10
LIG	Ventimiglia	L05	I	43°49'N 7°35'E	21	15.7	804	Annualgrassland	80	<25	5-25	<1	M	5
LIG	Vado Ligure	L06	I	44°16'N 8°25'E	30	14.5	884	Annualgrassland	50	<25	<5	<1	M	10

¹Abbreviation for regions and States. In South Africa: ECP = Eastern Cape, WCP = Western Cape, KZN = KwaZulu-Natal; in Australia: NSW = New South Wales, SA = South Australia, VIC = Victoria; in Europe: CAT = Catalonia (Spain), LIG = Liguria (Italy)

²Code assigned to each population. Population number corresponds to Fig. 1

³Origin: N = native, E = expanded, I = introduced

⁴Altitude, mean annual temperature and mean annual rainfall

⁵Relative cover of *S. pterophorus* in the sampling area

⁶Relative abundance of *S. pterophorus* seedlings in the population, n/a: data not available

⁷Disturbance level: L = low, M = medium, H = high

⁸Number of reproductive individuals that were sampled to assess herbivory on capitula and seeds

Data analyses

Differences among regions were tested using an ANOVA for continuous variables (altitude, temperature and precipitation) and a likelihood-ratio test for categorical variables (population size, percent cover of *S. pterophorus*, percentage of seedlings and disturbance level). To evaluate differences among regions in seed-head predation a zero-inflated negative binomial (ZINB) mixed model was calculated considering damage as the response variable, region as a fixed explanatory variable and population as a random factor. We used this type of model due to the large number of zero values in the data (Hall 2000). A ZINB is a mixture model for count data that incorporates two sources of zero values: a negative-binomial distribution for the process generating the counts (NB, seed head damage greater than or equal to 0) and a zero-inflation process that separately models the occurrence of extra zero values not accounted for by the process generating the counts (ZI, extra undamaged seed heads). Accordingly, each comparison between regions resulted in two *P* values, one for the average seed-head damage and one for the zero inflation. Next, a generalized linear model (GLM) was calculated separately for each region to compare the populations therein. A Levene test was conducted to identify differences in the variance across regions.

Differences among regions in the frequency of herbivore-damaged seeds within heads were assessed by a GLMM (generalized linear mixed model). Region and population nested within region were considered fixed factors, and the individual plant was considered a random factor. A negative binomial distribution was used to model the total number of seeds, and a binomial distribution was used to model the percentage of aborted seeds and the percentage of filled seeds. The percentage of damaged seeds was modeled using the variance-transformation proposal of McCullagh and Nelder (1989), which enabled us to control the variability in these data. The statistical analyses were performed using SAS System ® v9.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). For all statistical tests, a nominal significance level of 5% ($p < 0.05$) was applied. A Tukey adjustment was performed for multiple tests.

Results

Populations of *S. pterophorus* in the native region (South Africa) were located at a higher altitude (750 m a.s.l.) compared to populations in the extended (133 m) and introduced regions (Australia, 140.7 m; Europe, 192.5 m) (South Africa-Western Cape $t = 4.19$; South Africa-Australia $t = 5.60$; South Africa-Europe $t = 5.54$; $P < 0.001$ for all paired-comparisons, ANOVA) (Table 1). Mean annual temperature was significantly higher in the native range in

South Africa (16.6°C) than the introduced ranges in Australia (15.1°C) and Europe (15.1°C) (South Africa-Australia $t = 3.25$, $P=0.011$; South Africa-Europe $t = 3.52$, $P=0.005$, ANOVA) but did not differ between the native and extended ranges (16.1°C) (South Africa-Western Cape $t = 0.80$, $P=0.85$, ANOVA). Mean annual rainfall, *S. pterophorus* population size, percent cover and seedling relative abundance were similar across all four regions (data not shown). Disturbance level differed significantly among regions ($\chi^2 = 18.36$, $P= 0.005$, likelihood ratio test), with the highest levels found in European populations (Table 1).

Plants in the native range had an average of 25.2% of their seed heads damaged by herbivores (Fig. 2). In the expanded range, herbivores attacked 33.4% of the heads per plant, but this value did not differ significantly compared to the native area (NB: $F = 1.54$, $P= 0.221$; ZI: $F = 2.98$, $P= 0.091$). In Australia, where *S. pterophorus* has coexisted 70-100 years with the native fauna, herbivory levels were lower than in the native area (NB: $F = 5.81$, $P= 0.020$; ZI: $F = 4.69$, $P= 0.035$), with an average of 15.4% of the seed heads damaged (Fig. 2). In Europe, where *S. pterophorus* was introduced more recently compared to Australia (>30 years ago), only 0.2% of the seed heads per plant were damaged by herbivores, significantly lower than in South Africa (NB: $F = 13.43$, $P= 0.001$; ZI: $F = 110.62$, $P<0.001$) or Australia (NB: $F = 6.72$, $P= 0.013$; ZI: $F = 85.13$, $P<0.001$) (Fig. 2). Cross-regional comparison of the extra occurrence of zero values (ZI), which indicates the absence of plant-herbivore associations, showed that the South African populations had significantly fewer predation-free seed heads compared to the Australian and European populations. The variances of the frequency of damaged seed heads differed significantly among regions ($F = 27.02$, $P<0.0001$, Levene test). The highest variability, as estimated by the standard deviation (SD), was found in the native and extended ranges ($SD_{\text{South Africa}}=19.73$; $SD_{\text{Western Cape}}=20.03$), followed by the introduced ranges ($SD_{\text{Australia}}=14.96$; $SD_{\text{Europe}}=1.29$).

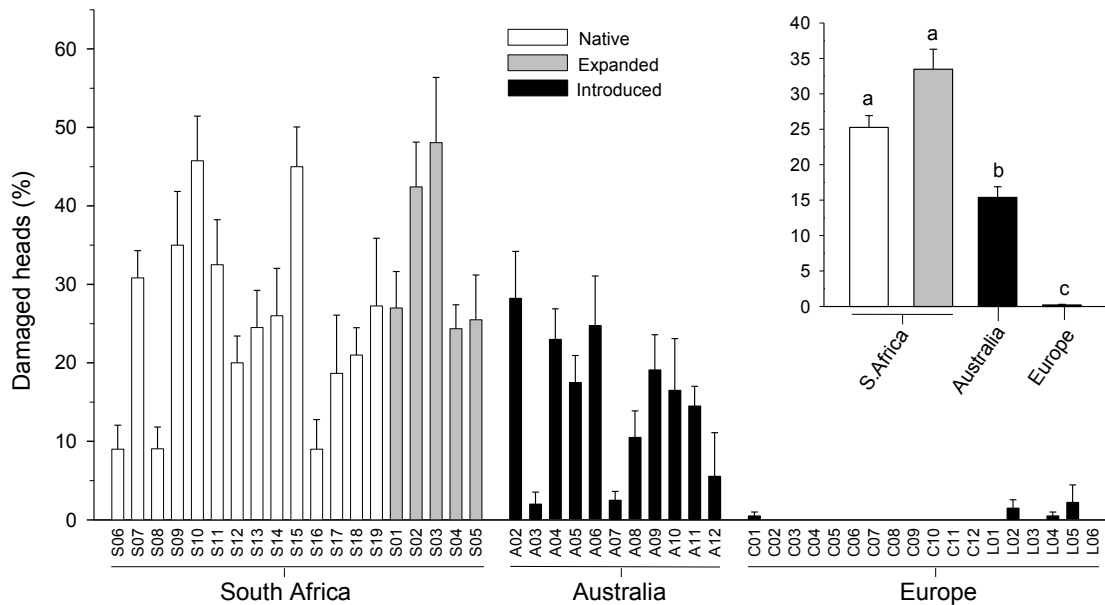


Fig. 2 Herbivory damage, estimated as the percentage of damaged seed heads among populations from the native (South Africa), expanded (Western Cape, South Africa) and introduced regions (Australia and Europe). Bars represent mean (+ SE, n=10 individuals per population). Population codes correspond to numbers given in Figure 1. Inserted graph shows herbivory damage by regions (mean + SE). Different letters indicate significant differences between regions ($P < 0.05$) based on the Zero-Inflation process for ZINB model for count data.

The number of achenes per head varied across regions, but these differences were not related to the native or invasive status of the populations (Fig. 3a). The seed-predation pattern was similar to the head-predation pattern (Fig. 3b). Plants from the native populations (South Africa) showed significantly higher seed predation compared to plants from the introduced populations (South Africa-Australia $t = 14.90$, $P < 0.001$; South Africa-Europe $t = 99.94$, $P < 0.001$, GLMM) (Fig. 3b). However, in contrast to the results found at the head level, achene predation was higher in the extended range than in the native range (South Africa-Western Cape $t = -3.52$, $P = 0.002$, GLMM). The percentages of aborted and filled seeds varied across regions but showed no pattern related to the native or invasive plant origin (Fig. 3c, d).

The morphology of the collected insects and the analyses of the damage to the heads and seeds showed that the herbivores were similar for plants in the native and expanded ranges but highly distinct in the invaded ranges. In the native and expanded populations in South Africa, the phytophagous insects included monkey beetles (Coleoptera: Scarabeidae, Hopliini) and other unidentified Lepidoptera, Diptera and Coleoptera. In Australia, 30.3% of the predated heads were damaged by *Sphenella ruficeps* (Macquart 1851) (Diptera: Tephritidae), a species endemic to Australia that is monophagous on *Senecio* (Hardy and

Drew 1996), while an additional 69.6% of the damaged heads were attacked by various species of microlepidoptera, including members of the family Pyralidae. In Europe, herbivore damage to seed heads was caused exclusively by microlepidoptera belonging to Pyralidae, such as the oligophagous species *Phycitodes albatella* (Ragonot 1887), which is native to Eurasia and is known to consume three genera within Asteraceae (*Senecio*, *Crepis* and *Solidago*) (Roesler 1973).

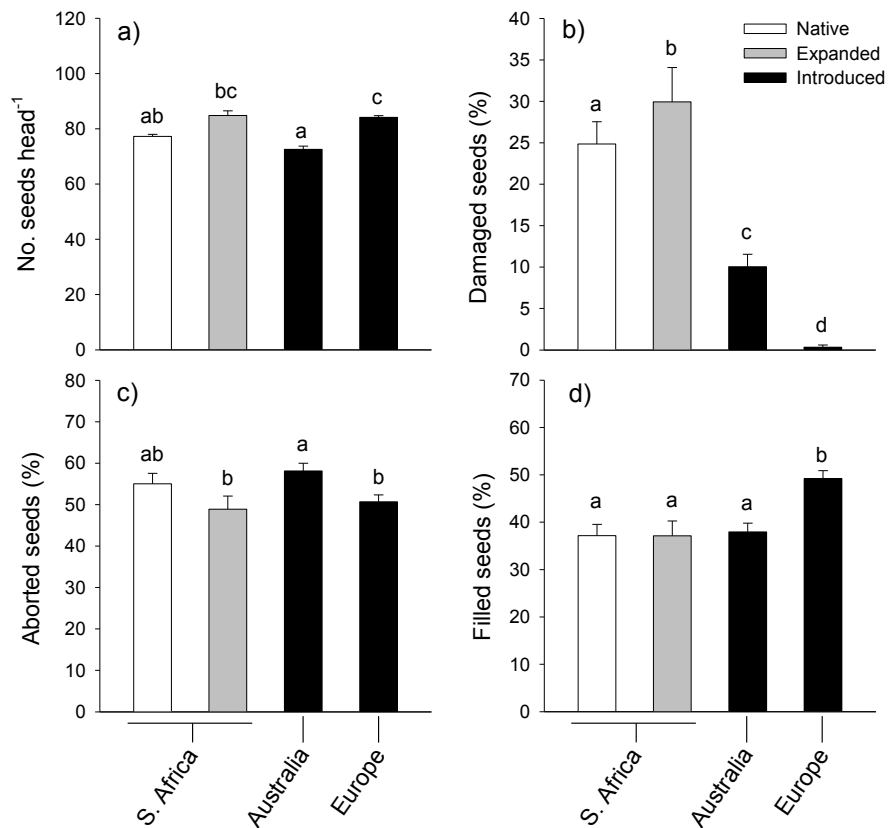


Fig. 3 Comparison of seed production and viability in native, expanded and introduced range across regions: a) total number of seeds per head, b) percentage of damaged seeds within a head, c) percentage of aborted seeds, and d) percentage of well-developed, undamaged, filled seeds within a head. Bars represent mean (+SE) for heads within each region (n = 200 for native South Africa, n = 125 for Western Cape, n = 300 for Australia and Europe). Different letters indicate significant differences between regions ($P < 0.05$).

Discussion

Insect seed predation was significantly lower in *S. pterophorus* growing in its introduced ranges (Australia and Europe) than in plants in the native range (South Africa), as predicted by the ER hypothesis. This pattern was confirmed by two complementary measures of herbivore predation: the frequency of damaged seed heads per plant, and the frequency of damaged achenes within a seed head. Similarly, previous biogeographical studies evaluating differences across native and invaded ranges have mostly supported the ER hypothesis (Memmott et al. 2000; Fenner and Lee 2001; Wolfe 2002; Prati and Bossdorf 2004; De Walt et al. 2004; Vilà et al. 2005; Ebeling et al. 2008; Adams et al. 2009; Cripps et al. 2010) although in some cases this trend was not significant (Sheppard et al. 1996; Cripps et al. 2006; Williams et al. 2010; Hinz et al. 2012). However, the near complete absence of herbivory in some parts of the invaded range, as we found in Europe, has been rarely reported.

We also evaluated herbivory levels on *S. pterophorus* in an extended distributional area, the Western Cape (South Africa). We considered these populations in a separate category because *S. pterophorus* has been introduced recently to that area and thus may exhibit some traits common to cross-continental introductions, even though these populations are relatively close to the area of origin. However, the genetic origin of these populations is unknown, and we cannot ignore the possibility that these plants behave differently from their native counterparts. A recent study analyzing six plant species (Engelkes et al. 2008) has suggested that species whose range is expanding (for example, in response to climate change or habitat availability) will experience reduced herbivory, as expected for enemy release in intercontinental introductions. Contrary to these predictions, predation levels on *S. pterophorus* in the Western Cape were higher than those in the indigenous range, although the difference was significant only for the percentage of damaged achenes and not for the percentage of damaged heads. The relatively small distance between the native range and the extended range may have facilitated the co-introduction of insect species from the native range. Alternatively, if the native insect species have a wider spatial distribution overlapping with the extended range of *S. pterophorus*, plants in the Western Cape may have had uninterrupted interactions with herbivores, or experience a release from their natural enemies followed by a reassociation in the new environment. Some examples of plants that escaped from herbivory after invasion but later reassociated with their coevolved specialist herbivores in a novel range include *Pastinaca sativa* in Unites States and New Zealand and *Conium maculatum* in United States. These species showed high herbivory in the introduced ranges

where they had reassociated with their natural enemies (Castells et al. 2005; Zangerl et al. 2008).

Predation levels following an invasion depend upon the balance between the loss of interactions with herbivores native to the area of origin (escape from natural enemies) and the establishment of new interactions with herbivores native to the novel habitat (native-enemy host switching) (Colautti et al. 2004; Verhoeven et al. 2009). Novel associations between non-coevolved plants and herbivores are frequent in invaded communities (Keane and Crawley 2002; Graves and Shapiro 2003; Parker and Hay 2005; Tallamy et al. 2010) and therefore may be an important component of plant-herbivore networks in the invaded habitat (Colautti et al. 2004). However, very few studies have compared insect identities and abundance between native and invasive locations in a biogeographical survey (Cripps et al. 2006), and thus the information available to date is not sufficient to determine whether herbivory levels in a novel range are mostly explained by partial escape from associated insects in the indigenous range, by the establishment of new interactions via host switching in the novel habitat, or by a combination of both mechanisms. These different scenarios have no small consequences on the plant evolutionary outcomes as new plant-herbivore associations may alter the herbivore selection regimes, causing plant traits to evolve toward different traits in native and invasive communities (Thompson 1994).

Here, based on taxonomic identifications and the morphology of non-identified insect species in the native and introduced populations, we found that insects present in *S. pterophorus* from Europe and Australia differed from those in South Africa, indicating that plant populations in the two introduced areas escaped from coevolved phytophagous species and established novel interactions with herbivores from the introduced range. Host switching was particularly intense in Australia, the region with a longest invasion history, compared to Europe.

Contrary to the assumption that generalist insects are the main component of host shifting in invaded communities (Keane and Crawley 2002; Hinz et al. 2012), we found that monophagous species participated in a novel interaction. One of the most abundant insect species feeding on *S. pterophorus* in Australia was the endemic specialist *Sphenella rucifeps* (Macquart 1851) (Diptera: Tephritidae). This fly, which develops and pupates within seed heads, is monophagous on the genus *Senecio* and has been reported to consume native (*Seneciolautus* and *S. amygdalifolius*) and exotic species (*S. madagascariensis*) in Australia (Hardy and Drew 1996). Specialist herbivores that are adapted to feed on native plants may readily establish interactions with exotic congeners because they share a similar chemical

composition that facilitates recognition, selection and resistance (Verhoeven et al. 2009). The presence of other native and introduced *Senecio* species in Australia may have facilitated host switching by the specialist *S. rucifeps*.

In addition to evaluating changes in herbivory after invasion, our study system also enabled us to test differences in seed predation between two cross-continental introductions with independent invasion histories. Plants in both non-native ranges experienced less herbivory than those in native areas, but this release was more pronounced in European individuals than in Australian individuals. Higher levels of host switching in Australia compared to Europe may be explained by differences in the time since the introduction of *S. pterophorus*. In Australia, this species has coexisted with local fauna for at least 70-100 years, approximately 50 years longer than in Europe. A longer time since introduction may lead to more host shifts because time increases the probability of plant-herbivore encounters and, potentially, the adaptation of local insects to new hosts (Hawkes 2007; Mitchell et al. 2010). For example, invasive populations of Chinese tallow tree (*Sapium sebiferum*) in the United States were released from herbivores only during the early stages of introduction (Siemann et al. 2006). Similarly, herbivore richness and abundance have been reported to increase with the time since the host-plant introduction, reaching levels similar to those found on native plant species 30 to 200 years following an invasion (Hawkes 2007; Brändle et al. 2008). Our results are consistent with this hypothesis, but we cannot reject the possibility that the higher levels of host switching in Australia compared to Europe were due to other causes, such as the local composition of the biotic community.

This biogeographical survey was designed to capture the spatial variability of the biotic community naturally encountered by *S. pterophorus* and its effects on the native and introduced populations. Our study is the first to show strong evidence of enemy release in a survey covering most of a species' distributional area, including two independent areas of introduction. The different patterns of herbivore predation in the two introduced areas are consistent with the longer period of coexistence between *S. pterophorus* and the local fauna in Australia compared to Europe. Whether the reduction of herbivory on the exotic *S. pterophorus* populations determines a higher invasion success remains undetermined. Increased seed production due to lower herbivore damage is a good estimate of plant fitness, but benefits at the individual level do not necessarily translate into enhanced population recruitment, growth, density and spatial distribution (Kolb et al. 2007). An analysis of the plant population dynamics in the native, expanded and invaded areas accounting for the time

since plant introduction is necessary to elucidate the role of enemy release in invasion success.

Acknowledgments We thank the collaborators for providing data and helping during the collecting trips: DrJaco Le Roux (Stellenbosch University, South Africa), Christina Potgieter (University of KwaZulu-Natal, South Africa), Dr. Ian Thompson (Royal Botanic Gardens, Melbourne, Australia), Tony Dold (Rhodes University, South Africa) and David Wopula (South Africa). We thank Anna Escolà and Pere Losada for outstanding field and laboratory assistance, Estíbaliz Palma for seed analyses, and Bernhard Merz (Muséum d'Histoire Naturelle, Switzerland) and Jordi Dantart (Catalonia) for identification of insect specimens. MM has a FPI predoctoral fellowship from Ministerio de Ciencia e Innovación (Spain). This research was conducted thanks to the financial support provided to EC by Ministerio de Ciencia e Innovación (Spain) (GCL2008-02421/BOS) and Ministerio de Economía y Competitividad (Spain) (GCL2011-29205). XS, EC, JMBM and MM belong to the Agroecosystems Research group funded by Generalitat de Catalunya (Catalonia) (2009 SGR1058). The experiments comply with the current laws of the countries (Spain, Italy, Australia and South Africa) in which the experiments were performed. The permits required for sampling were obtained from the corresponding authorities when necessary.

References

- Adams JM, Fang W, Callaway RM, Cipollini D, Newell E (2009) Across-continental test of the Enemy Release Hypothesis: leaf herbivory on *Acer platanoides* (L.) is three times lower in North America than in its native Europe. *Biol Invasions* 11:1005-1016 doi: 10.1007/s10530-008-9312-4.
- Agosta SJ (2006) On ecological fitting, plant-insect associations, herbivore host shifts, and host plant selection. *Oikos* 114:556-565 doi: 10.1111/j.2006.0030-1299.15025.x
- Agrawal AA, Kotanen PM (2003) Herbivores and the success of exotic plants: a phylogenetically controlled experiment. *Ecol Lett* 6:712-715 doi:10.1046/j.1461-0248.2003.00498.x
- Barberis G, Minuto L, Peccenini S (1998) *Senecio grisebachii* Baker (Compositae), new to the Italian flora. *Webbia* 52:201-206.
- Brändle M, Kuhn I, Klotz S, Belle C, Brandl R (2008) Species richness of herbivores on exotic host plants increases with time since introduction of the host. *Divers and Distrib* 14:905-912 doi: 10.1111/j.1472-4642.2008.00511.x

- Caño L, Escarré J, Fleck I, Blanco-Moreno JM, Sans FX (2008) Increased fitness and plasticity of an invasive species in its introduced range: a study using *Senecio pterophorus*. *J Ecol* 96:468-476 doi: 10.1007/s00442-008-1182-z
- Casasayas T (1989) La flora al·lòctona de Catalunya. Catàleg raonat de les plantes vasculars exòtiques que creixen sense cultiu al NE de la Península Ibèrica. Dissertation, Universitat de Barcelona
- Castells E, Berhow MA, Vaughn SF, Berenbaum MR (2005) Geographic variation in alkaloid production in *Conium maculatum* populations experiencing differential herbivory by *Agonopterix alstroemeriana*. *J ChemEcol* 31:1693-1709 doi: 10.1007/s10886-005-5921-x
- Chamorro L, Caballero B, Blanco-Moreno JM, Caño L, Garcia-Serrano H, Masalles RM, Sans FX (2006) Ecología y distribución de *Senecio pterophorus* (Compositae) en la Península Ibérica. *An Jard Bot Madr* 53:55-62 doi: 10.3989/ajbm.2006.v63.i1.31
- Colautti RI, Ricciardi A, Grigorovich IA, MacIsaac HJ (2004) Is invasion success explained by the enemy release hypothesis? *Ecol Lett* 7:721-733 doi: 10.1111/j.1461-0248.2004.00616.x
- Cripps MG, Schwarzlander M, McKenney JL, Hinz HL, Price WJ (2006) Biogeographical comparison of the arthropod herbivore communities associated with *Lepidium draba* in its native, expanded and introduced ranges. *J Biogeogr* 33:2107-2119 doi: 10.1111/j.1365-2699.2006.01560.x
- Cripps MG, Edwards GR, Bourdôt GW, Saville DJ, Hinz HL, Fowler SV (2010) Enemy release does not increase performance of *Cirsium arvense* in New Zealand. *Plant Ecol* 209:123-134
- DeWalt SJ, Denslow JS, Ickes K (2004) Natural-enemy releases facilitates habitat expansion of the invasive thropical shrub *Clidemia hirta*. *Ecology* 85:471-483
- Dirección General de Aduanas de España (1922) Estadística del comercio exterior de España. Ministerio de Hacienda, Madrid
- Ebeling SK, Hensen I, Auge H (2008) The invasive shrub *Buddleja davidi* iperforms better in its introduced range. *Divers Distrib* 14:225-233 doi: 10.1111/j.1472-4642.2007.00422.x
- Elton CS (1958) *The Ecology of Invasions by Animals and Plants*. Methuen, London.
- Engelkes T, Morrien E, Verhoeven KJF, Bezemer TM, Biere A, Harvey JA, McIntyre LM, Tamis WLM, van der Putten WH (2008) Success ful range-expanding plants experience less above-ground and below-ground enemy impact. *Nature* 456:946-948 doi: 10.1038/nature07474
- Fenner M, Lee WG (2001) Lack of pre-dispersal seed predators in introduced Asteraceae in New Zealand. *New Zeal J Ecol* 25:95-99

- Font X (2012) Vegetation and flora module. Biodiversity database of Catalonia. <<http://biodiver.bio.ub.es/biocat/homepage.html>>. Accessed 28 November 2012
- Graves SD, Shapiro AM (2003) Exotics as host plants of the California butterfly fauna. *Biol Conserv* 110:413-433 pii: S0006-3207(02)00233-1
- Gurevitch J, Fox GA, Wardle GM, Inderjit, Taub D (2011) Emergent insights from the synthesis of conceptual frameworks for biological invasions. *Ecol Lett* 14:407-418 doi: 10.1111/j.1461-0248.2011.01594.x
- Hall DB (2000) Zero-inflated Poisson and binomial regression with random effects: A case study. *Biometrics* 56:1030-1039 doi: 10.1111/j.0006-341X.2000.01030.x
- Hardy DE, Drew RAI (1996) Revision of the Australian Tephritini (Diptera:Tephritidae). *Invertebr Taxon* 10:213-405 doi: 10.1071/IT9960213
- Hawkes CV (2007) Are invaders moving targets? The generality and persistence of advantages in size, reproduction, and enemy release in invasive plant species with time since introduction. *Am Nat* 170:832-843 doi:10.1086/522842
- Hierro JL, Maron JL, Callaway RM (2005) A biogeographical approach to plant invasions: the importance of studying exotics in their introduced and native range. *J Ecol* 93:5-15 doi: 10.1111/j.1365-2745.2004.00953.x
- Hijmans RJ, Cameron SE, Parra JL, Jones PG, Jarvis A (2005) Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *Int J Climatol* 25:1965-1978 doi: 10.1002/joc.1276
- Hilliard OM (1977) *Compositae in Natal*. University of Natal Press, Pietermaritzburg
- Hinz HL, Schwarzlander M, McKenney JL, Cripps MG, Harmon B, Price WJ (2012) Biogeographical comparison of the invasive *Lepidium draba* in its native, expanded and introduced ranges. *Biol Invasions* 14:1999-2016
- Keane RM, Crawley MJ (2002) Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis. *Trends Ecol Evol* 17:164-170 pii: S0169-5347(01)02430-2
- Kolb A, Ehrlén J, Eriksson O (2007) Ecological and evolutionary consequences of spatial and temporal variation in pre-dispersal seed predation. *Perspect Plant Ecol* 9:79-100 doi: 10.1016/j.ppees.2007.09.001
- Levyns MR (1950) *Compositae*. In: Adamson RS, Salter TM (eds) *Flora of the Cape Peninsula*. Juta & Co., Cape Town, South Africa, pp 760
- Maron JL, Vilà M (2001) When do herbivores affect plant invasion? Evidence for the natural enemies and biotic resistance hypotheses. *Oikos* 95:361-373 doi: 10.1034/j.1600-0706.2001.950301.x
- Maron JL, Vilà M, Bommarco R, Elmendorf S, Beardsley P (2004) Rapid evolution of an invasive plant. *Ecol Monogr* 74:261-280

- McCullagh P, Nelder JA (1989) Generalized Linear Models. Chapman & Hall, London.
- Memmott J, Fowler SV, Paynter Q, Sheppard AW, Syrett P (2000) The invertebrate fauna on broom, *Cytisus scoparius*, in two native and two exotic habitats. *Acta oecol* 21:213-222
- Mitchell CE, Blumenthal D, Jarosik V, Puckett EE, Pysek P (2010) Controls on pathogen species richness in plants' introduced and native ranges: roles of residence time, range size and host traits. *Ecol Lett* 13:1525-1535 doi:10.1111/j.1461-0248.2010.01543.x
- Parker JD, Hay ME (2005) Biotic resistance to plant invasions? Native herbivores prefer non-native plants. *Ecol Lett* 8:959-967 doi: 10.1111/j.1461-0248.2005.00799.x
- Parsons WT, Cuthbertson EG (1992) Noxious weeds of Australia. InkataPress,
- Pimentel D, Lach L, Zuniga R, Morrison D (2000) Environmental and economic costs of non indigenous species in United States. *Bioscience*50:53-65
- Prati D, Bossdorf O (2004) A comparison of native and introduced populations of the South African Ragwort *Senecio inaequidens* DC. in the field. In: Breckle SW, Schweizer B, Fandmeier A (eds) Results of the worldwide ecological studies. Heimbach, Stuttgart, pp353-359
- Preston CA, Pearman DA, Dines TD (2002) New atlas of the British & Irish flora: an atlas of the vascular plants of Britain, Ireland, the Isle of Man and the Channel Islands. Oxford University Press, Oxford
- Richards CL, Bossdorf O, Muth NZ, Gurevitch J, Pigliucci M (2006) Jack of all trades, master of some? On the role of phenotypic plasticity in plant invasions. *Ecol Lett* 9:981-993 doi: 10.1111/j.1461-0248.2006.00950.x
- Roesler U (1973) Phycitinae. 1. Teilband: *Trifine Acrobasina*. In: Amsel HG, Gregor F, Reisser H (eds) Microlepidoptera Palaearctica. Georg Fromme & Co, Wien,
- Sans FX, Garcia-Serrano H, Afán I (2004) Life-history traits of alien and native *Senecio* species in the Mediterranean region. *Acta Oecol*26:167-178 doi: 10.1016/j.actao.2004.04.001
- Schaffner U, Ridenour WM, Wolf VC, Basset T, Müller C, Müller-Scharer H, Sutherland S, Lortie JL, Callaway RM (2011) Plant invasions, generalist herbivores, and novel defense weapons. *Ecology* 92:829-835
- Sheppard AW, Brun LA, Lewis RC (1996) A demographic comparison of common heliotrope. *Heliotropium europaeum* L.: Southern Australia and Southern France. In: Shepherd RCH (ed) Eleventh Australian Weeds Conference Proceedings. Weed Science Society of Victoria, Victoria, pp 286-290
- Siemann E, Rogers WE, DeWalt SJ (2006) Rapid adaptation of insect herbivores to an invasive plant. *Proc R Soc B-Biol Sci* 273:2763-2769 doi:10.1098/rspb.2006.3644

- Tallamy DW, Ballard M, D'Amico V (2010) Can alien plants support generalist insect herbivores? *Biol Invasions* 12:2285-2292 doi: 10.1007/s10530-009-9639-5
- The Council of Heads of Australasian Herbaria (1999) Australia's Virtual Herbarium. <www.chah.gov.au/avh> Accessed 28 November 2012
- Thompson JN (1994) *The Coevolutionary Process*. University of Chicago Press, Chicago
- Verhoeven KJF, Biere A, Harvey JA, van der Putten WH (2009) Plant invaders and their novel natural enemies: who is naive? *Ecol Lett* 12:107-117 doi: 10.1111/j.1461-0248.2008.01248.x
- Vilà M, Maron JL, Marco L (2005) Evidence for the enemy release hypothesis in *Hypericum perforatum*. *Oecologia* 142:474-479 doi: 10.1007/s00442-004-1731-z
- Vitousek PM, D'Antonio CM, Loope LL, Westbrooks R (1996) Biological invasions as global environmental change. *Am Sci* 84:468-478
- Williams JL, Auge H, Maron JL (2010) Testing hypotheses for exotic plant success: parallel experiments in the native and introduced ranges. *Ecology* 91:1355-1366
- Wolfe LM (2002) Why alien invaders succeed: Support for the escape-from-enemy hypothesis. *Am Nat* 160:705-711 doi: 10.1086/343872
- Zangerl AR, Stanley MC, Berenbaum MR (2008) Selection for chemical trait remixing in an invasive weed after reassociation with a coevolved specialist. *P Natl AcadSci USA* 105:4547-4552 doi: 10.1073/pnas.0710280105.

Capítol 2 / Chapter 2:

Herbivores on native and exotic *Senecio* plants: is host switching related to plant novelty and insect diet breadth under field conditions?

Eva Castells, Maria Morante, Marta Goula, Nicolás Pérez, Jordi Dantart, Anna Escolà (2014) Herbivores on native and exotic *Senecio* plants: is host switching related to plant novelty and insect diet breadth under field conditions? **Insect Conservation and Diversity** 7: 420-431. DOI 10.1111/icad.12064

Abstract

1. Native herbivores can establish novel interactions with alien plants after invasion. However, it is unclear whether these new associations are quantitatively significant compared to the assemblages with native flora under natural conditions.

2. Herbivores associated with two exotic plants, namely *Senecio inaequidens* and *S. pterophorus*, and two coexisting natives, namely *S. vulgaris* and *S. lividus*, were surveyed in a replicated long-term field study to ascertain whether the plant-herbivore assemblages in mixed communities are related to plant novelty and insect diet breadth.

3. Native herbivores used exotic *Senecio* as their host plants. Of the 19 species of Lepidoptera, Diptera, and Hemiptera found in this survey, 16 were associated with the exotic *Senecio* plants. Most of these species were polyphagous, yet we found a higher number of individuals with a narrow diet breadth, which is contrary to the assumption that host switching mainly occurs in generalist herbivores.

4. The *Senecio* specialist *Sphenella marginata* (Diptera: Tephritidae) was the most abundant and widely distributed insect species (*ca.* 80% of the identified specimens). *Sphenella* was associated with *S. lividus*, *S. vulgaris*, and *S. inaequidens* and was not found on *S. pterophorus*. The presence of native plant congeners in the invaded community did not ensure an instantaneous ecological fitting between insects and alien plants.

5. We conclude that novel associations between native herbivores and introduced *Senecioplants* are common under natural conditions. However, plant novelty is not the only predictor of herbivore abundance due to the complexity of natural conditions.

Introduction

The introduction of an exotic plant into a new habitat may strongly affect the functioning of the invaded ecosystem (Vitousek et al., 1996). Novel plant species can outcompete native vegetation to cause decreases in plant abundance and diversity and thus affect the local arthropod assemblage at higher trophic levels (Levine et al., 2004). Thus, mixed communities formed by introduced aliens and native vegetation have been associated with lower insect abundance, biomass, species composition, diversity, and richness compared with non-invaded communities (Herrera & Dudley, 2003; Gerber et al., 2008). Herbivores, particularly those adapted to consume one or a few plant species, might be particularly susceptible to the replacement of native vegetation by novel plant species (Tallamy, 2004).

Despite the negative effects that invasions may have on native insects, alien plants also offer potential food resources that can be exploited by local herbivores. Immediately after invasion, exotic plants are expected to be released from coevolved enemies from the area of origin (Keane & Crawley, 2002). However, new assemblages between native herbivores from the invaded area and exotic plants are often established (Jaenike, 1990; Frenzel & Brandl, 2003; Graves & Shapiro, 2003; Tallamy et al., 2010; García-Robledo & Horvitz, 2011) through a process known as Native Enemy Host Switching (Keane & Crawley, 2002). Host switching may be advantageous for the local herbivore populations because insects, in addition to feeding on their original hosts, incorporate the novel plant as a complementary food source (Agosta, 2006). In California, where 34% of the butterfly species have been reported to oviposit or feed on exotic plants, the use of an alternative alien host allows some insect species to expand their geographic range and extend their breeding season (Graves & Shapiro, 2003).

To establish persistent interactions with novel species, insects need to recognize and select alien plants that coexist in the same habitats, and immature have to display resistance mechanisms against novel plant chemical defenses to successfully develop on the new host (Després et al., 2007). Polyphagous herbivores that have adapted to feed on multiple species and families exhibit more plastic mechanisms of host recognition, selection, and resistance compared with herbivores with a narrow diet range (Jaenike, 1990). Accordingly, it is generally accepted that, during the initial stages of invasion, host switching will be more frequent for generalist compared with specialist herbivores (Keaney & Crawley, 2002; Parker & Hay, 2005; Doorduyn & Vrieling, 2011). The presence of native hosts that are phylogenetically related to the invading exotic plants, which thus exhibit similar

phytochemistry, may also facilitate host switching for specialist insects (Janzen, 1968; Strong et al., 1984).

At least two hypotheses have been proposed for the prediction of the intensity of host switching by native generalist and specialist insects under field conditions when both native and exotic host plants are available. The Enemy Release hypothesis (Keane & Crawley, 2002) suggests that local insects will have a higher preference and exhibit better performance when they are associated with native hosts. Thus, in a mixed community formed by native and alien plants, local insects would preferably attack the native over the alien plants. In contrast, the Biotic Resistance Hypothesis (Levine et al., 2004; Parker & Hay, 2005) predicts that the newly introduced plants exhibit a lack of defensive mechanisms against a phytophagous attack; thus, alien plants may be more susceptible to herbivory damage compared with native plants. There is a large body of evidence supporting both hypotheses from experiments performed under controlled conditions, such as laboratory bioassays and common garden designs (Agrawal & Kotanen, 2003; Parker & Gilbert, 2007; Chun et al., 2010; Tallamy et al., 2010). However, field data on herbivore preference and performance in invaded communities are scarce (Hill & Kotanen, 2010), and it is unclear whether these new plant-herbivore associations that are established under natural conditions are quantitatively significant compared to the assemblages with native flora.

In this study, we investigated the plant-herbivore associations between native and exotic plant congeners under field conditions. We used *Senecio* (Asteraceae) as a model system because it is one of the largest genera of flowering plants and is represented by more than 200 indigenous species (Royal Botanic Garden Edinburgh, 2012) and 10 alien species (DAISIE European Invasive Alien Species Gateway, 2008) in Europe. The genus *Senecio* is characterized by the presence of pyrrolizidine alkaloids that are highly toxic to vertebrate and invertebrate herbivores and affect host selection and performance (Hartmann 1999). *S. inaequidens* DC., which is native to South Africa, is a successful plant invader in Europe (EPPO Panel on Invasive Alien Species, 2012). Accidentally introduced in central Europe in 1896 through wool imports (Ernst, 1998), *S. inaequidens* has spread to most European countries and to other parts of the world, including South and North America, Australia, and Africa, where it has colonized vineyards, pastures, and natural areas. Another South African alien, *S. pterophorus* DC., was first reported in continental Europe in 1982 in a wool industrial area near Barcelona, NE Iberian Peninsula (Casasayas, 1989). *S. pterophorus* is highly invasive in SE Australia, where it is considered a noxious weed subject to control, but its distribution in Europe is locally restricted to two areas in the Mediterranean basin:

Catalonia (NE Iberian Peninsula) (Chamorro et al., 2006) and Liguria (NW Italian Peninsula) (Barberis et al., 1998; Castells et al., 2013).

To characterize host switching among plant congeners under natural conditions, we conducted a replicated field survey of the phytophagous insect community associated with two exotic plants, namely *Senecio inaequidens* and *S. pterophorus*, and two coexisting native plants, namely *S. vulgaris* L. and *S. lividus* L. We determined the abundance and identity of any insects feeding on vegetative and reproductive plant tissues during the complete plant reproductive period to answer the following questions: 1) Does the herbivore abundance depend on the plant origin (native vs. exotic)?; 2) Is host switching related to insect diet breadth?; and 3) Does the consumption of exotic plants affect insect performance?

Materials and Methods

Study sites

The present study was conducted at Montseny Natural Park (2°16'E 41°42' N), which is 60 km NE of Barcelona (NE Iberian Peninsula). The rainfall ranges from 860 to 1050 mm, and the mean temperature is 11.2°C. Our main objective was to evaluate the assemblages occurring under field conditions between phytophagous insects and host plants with two contrasting coevolutionary histories (indigenous and exotic plants that are novel to the local fauna) that are also phylogenetically close. Based on the flora distributional data obtained from the Biodiversity Data Bank of Catalonia (Font, 2012) and the literature (Pino et al., 2000; Chamorro et al., 2006; Caño et al., 2007), we selected four species from the genus *Senecio* that are widely distributed within the Park: the exotic species *S. inaequidens* DC. and *S. pterophorus* DC., which have been present in the Park since the 1990s, and the native species *S. vulgaris* L. and *S. lividus* L. A preliminary field screening in various types of habitats, slopes, and altitudes was conducted to locate areas within the Park where the four species coexist. We selected six 600-m-diameter circular areas that are located at an altitude between 500 and 900 m on the south slope of the park and separated by at least 2 km (Fig. 1).

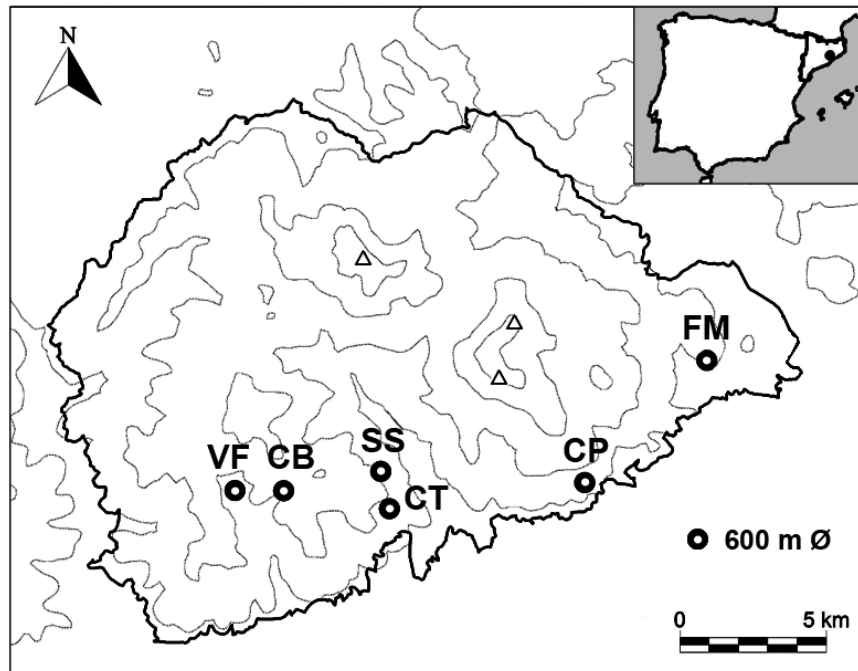


Fig. 1. Study sites at Montseny Natural Park, Catalonia, NE Spain. Each dot represents a 600-m-diameter location where native (*S. vulgaris*, *S. lividus*) and alien *Senecio* species (*S. inaequidens* and *S. pterophorus*) co-occur. Between four and 32 individual plants per species and location were surveyed for the presence of herbivores every 10 to 15 days during the plant reproductive period. The location codes are the following: Vallfornés –VF–, Can Bosc –CB–, Santa Susanna –SS–, Can Tarrer –CT–, Can Pere Poc –CP–, and Fogueres de Montsoriu –FM–. The park limits are indicated in bold.

By surveying a relatively small area, we aimed to ensure that the four species were exposed to the same arthropod communities and microclimate conditions. Thus, differences in the insect abundance across the plant species were expected to be mostly related to the insect preference and performance and not to differences in the flora and fauna spatial distributions. The common habitats within the sampling sites were open *Quercus ilex* forests, *Q. suber* plantations, forest margins, and abandoned crop fields. Other native *Senecio* species reported in the park (*S. adonidifolius* and *S. viscosus*) were absent in the selected locations. In April and May 2009, four to 32 individual plants from each *Senecio* species and location (a total of 479 individuals) were tagged using a plastic label attached to the plant stem. A GPS was used to ensure that the selected individuals were located within the targeted area. The plants were labeled during their initial reproductive stage, when the flower heads were still developing, and monitored during the entire reproductive period. The locality that showed the highest insect abundance in 2009 was Vallfornés, and we surveyed the herbivory in this location during one additional year (2010) using a similar protocol, through which a total of 116 additional individuals were tagged.

Insect survey

The insect survey was part of a larger study to determine the effects of herbivores and pathogens on plant fitness and alien plant invasive capacity. Every 10 to 15 days from April to December 2009 at all six localities (22 to 26 visits in each locality) and from May to November 2010 at Vallfornés (14 visits), the labeled plants were studied to determine if any insects were feeding on the vegetative and reproductive parts. On each sampling date, the plants were first inspected for aphids, and the presence or absence was recorded individually for each labeled plant. The shoots were then inspected, and the herbivores were counted, collected, and transported to the laboratory for identification. The predators collected during plant inspection, such as the Syrphidae (Diptera) *Eupeodes corollae* (Fabricius, 1794), *Scaeva dignota* (Rondani, 1857), and *Scaeva pyrastris* (Linnaeus, 1758), were not included in the study. To assess the presence of phytophagous insects growing within the flower heads, all non-dispersed fructified capitula (a total of 31,370 for 2009 and 2010) were dissected *in situ* or transported to the laboratory.

The flower heads were longitudinally dissected to determine the presence of insects growing inside. The heads that contained larvae were carefully closed and placed into a vial at room temperature to raise the adults. The Lepidoptera larvae collected on plant shoots were reared in plastic containers at room temperature by supplying leaf material from the host plant in which they were found. Food was added as necessary until the insects pupated. The pupae found inside the flower heads were maintained in glass vials at room temperature until the adults emerged. With the exception of *Orthosiacerasi* (Lepidoptera: Noctuidae), which was identified at the larval stage due to its unique morphology, the emerged adult moths were sent to specialist entomologists for identification. The mortality of early instar larvae reared in the laboratory was relatively high, and some individuals were thus not identified at the species level. In these cases, the insects were sorted by order and family. The empty pupal cases found inside the flower heads were also classified by order and family based on morphological similarities with pupal cases reared in the laboratory until the emergence of the adults. The aphids for taxonomic identification were collected only once in May 2010, and care was taken to include individuals of different colors, sizes, and morphologies. The labeled *S. pterophorus* plants at Vallfornés had no associated aphids in 2010, although significant amounts were recorded in 2009. Thus, in May 2011, we collected aphid subsamples from three *S. pterophorus* individuals at Can Tarrer (CT) for identification purposes. Some Lepidoptera larvae were parasitized, and the emerged parasitoid adults were sent for identification. Due to the lack of taxonomical information, the identity of most parasitoid

species remained unresolved. The insect taxonomy was performed by internationally recognized specialists (see acknowledgements for details).

To estimate the effects of host plants on insect performance, the adult body mass of the two most abundant species was determined: the fruit fly *Sphenella marginata* and its parasitoid *Pteromalus* sp. Fruit fly specimens collected in the field as pupae that produced morphologically intact adults (N = 388 for *Sphenella marginata* and N = 100 for *Pteromalus* sp.) were oven-dried for 24 h at 65°C and weighted on a precision scale (MX5 Microbalance, Mettler Toledo).

Herbivore host breadth

Data on the associations between herbivore species and host plants were obtained from the relevant scientific literature. Different sources were used for each arthropod family: Noctuidae (Robinson et al., 2010), Geometridae (Mironov, 2003), Pyralidae (Roesler, 1973), Agromyzidae (Spencer, 1989; 1990), Tephritidae (White, 1988), and Aphididae (García Prieto & Nieto Nafría, 2005; Blackman & Eastop, 2006). The number of host genera and families for each phytophagous species were counted.

Data analyses

The abundance of herbivores (Lepidoptera and Diptera) and parasitoids was estimated as the total number of insects found on each individual plant corrected by the sampling effort, *i.e.*, the number of visits per plant. The abundance of Hemiptera Aphididae was estimated as the percentage of visits during which an individual plant was associated with aphids, which was recorded as presence or absence. The herbivore abundances were calculated throughout the entire plant reproductive season and the overlapping reproductive period for all surveyed *Senecio* species (May and June) during 2009 and 2010. The differences across plant species and locations (in 2009) were analyzed through ANOVA. The count data obtained in this study is not expected to follow a normal distribution even after transformation. However, ANOVAs can be performed if the variances are homogeneous without outliers and the sample size is large, even if the data are not normally distributed (Anabel Blasco, Statistical Services, Universitat Autònoma de Barcelona). Thus, to conduct the statistical analyses, the data were first transformed to stabilize the variances. The dependent variables expressed as mean values were square-root transformed, and the percentages were Anscombe-transformed [$2 * \text{square root}(x + 3/8)$]. Two-way ANOVA with the species as the fixed factor and the location as the random factor was performed to analyze the herbivore and parasitoid abundance in 2009.

One-way ANOVA was performed to test the differences in the herbivore (Lepidoptera, Diptera, and Hemiptera) and parasitoid (Diptera Tachinidae and Hymenoptera) abundance across species in 2010. The differences in the body mass for the Diptera *Sphenella marginata* and its parasitoid *Pteromalus* sp. associated with *Senecio* species was tested independently through one-way ANOVA. Tukey's post-hoc tests were conducted on all of the analyses to test the differences among *Senecio* species with $P < 0.05$, including only the plant species which exhibited an insect abundance different from 0. The statistical analyses were performed using the SPSS 19 software (IBM).

Results

A total of 2,865 phytophagous specimens of Lepidoptera and Diptera were collected throughout the field surveys in 2009 and 2010 on the two native (*Senecio vulgaris* and *S. lividus*) and two exotic (*S. inaequidens* and *S. pterophorus*) host plants. Additionally, a total of 3,732 aphid colonies were recorded on 278 different individual plants.

The Lepidoptera abundance was generally higher on the exotic plant species compared with the native plant species in 2009 and 2010 if the entire sampling period was considered, with the exception of *S. pterophorus* and *S. lividus*, for which no statistically differences were found between species in 2009 (Fig. 2). However, when the comparison was restricted to May and June, which is the overlapping flowering period, no significant differences were found across the different plants (Fig. 3). The significant interaction between the species and locations in 2009 for the two time periods analyzed indicates that the type and intensity of the interactions between the plants and Lepidoptera differed among the localities (Table 1).

S. lividus exhibited the highest levels of Diptera compared with *S. vulgaris* and *S. inaequidens* during the entire reproductive plant season and during May and June in 2009 and 2010 (Fig. 2 and Fig. 3). *S. pterophorus* was not associated with Diptera in any location or sampling year.

The Hemiptera abundance varied across species in 2009 and 2010, although this trend was only marginally significant for the entire reproductive period in 2009 (Table 1). The levels of Hemiptera, however, were not consistent across the years. In 2009, the exotic *Senecio* species presented significantly higher levels of Hemiptera compared to the native *Senecio* species (*S. inaequidens* exhibited the highest levels) during the two sampling periods considered (Fig. 2 and Fig. 3). In 2010, the levels of Hemiptera were lowest in *S. pterophorus* compared with the other species during the two sampling periods, whereas the abundance in *S. inaequidens* was highest during May and June (Fig. 2 and Fig. 3). The parasitoid

abundance did not differ between the plant species in 2009. In 2010, this trend was significant (Table 1), but post-hoc comparisons did not reveal any differences between any pairs of species (data not shown).

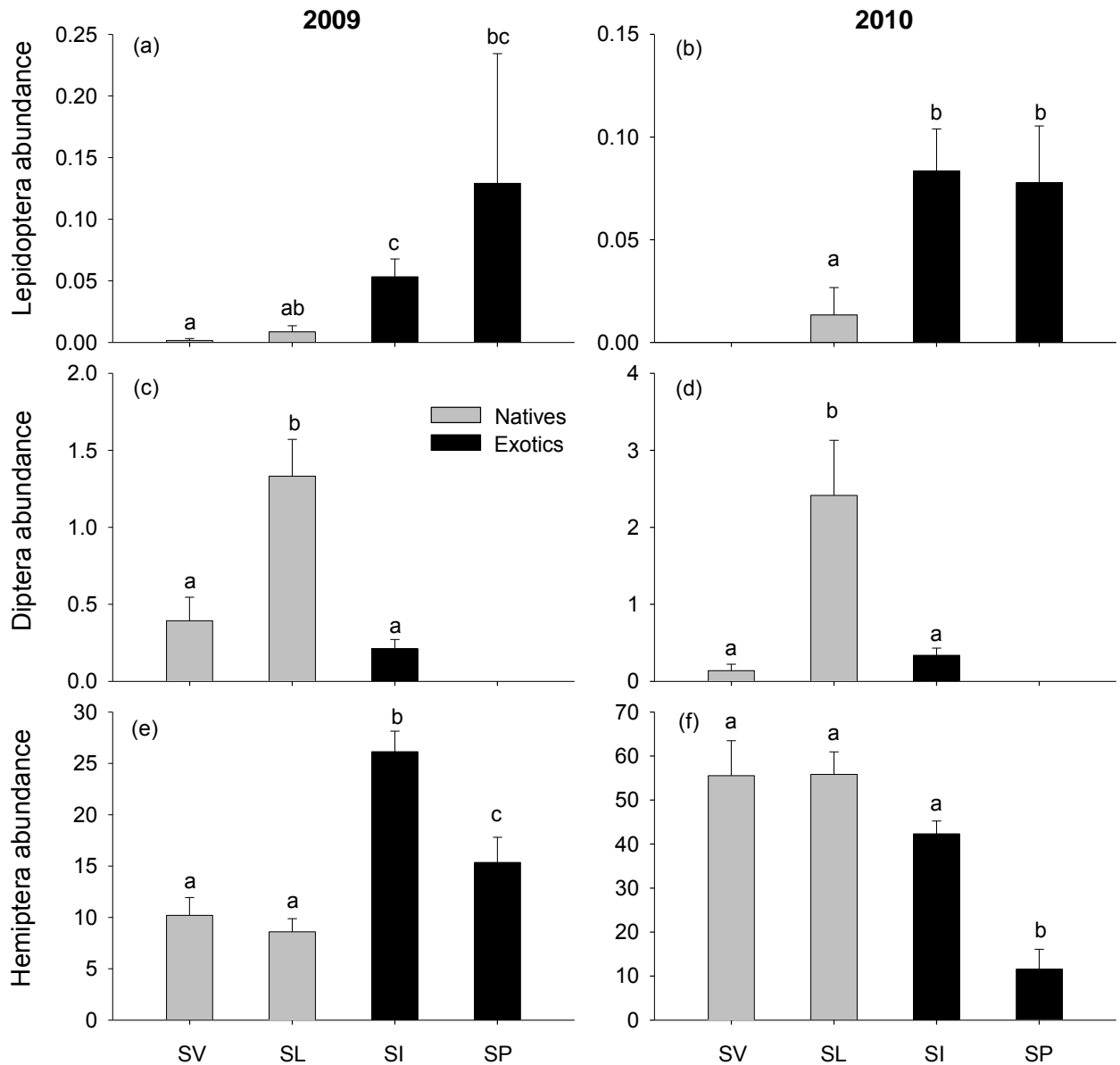


Fig. 2. Abundance of Lepidoptera (a, b), Diptera (c, d), and Hemiptera (e, f) on two native (*S. vulgaris* –SV– and *S. lividus* –SL–) and two exotic plants (*S. inaequidens* –SI– and *S. pterophorus* –SP–) during the entire reproductive plant period in two consecutive years. The abundance was estimated as the number of specimens per plant (for Lepidoptera and Diptera) or the percentage of plants associated with an insect colony (for Hemiptera) divided by the number of visits (mean and SE). The different letters indicate significant differences among the plant species ($P < 0.05$ by Tukey’s post-hoc test).

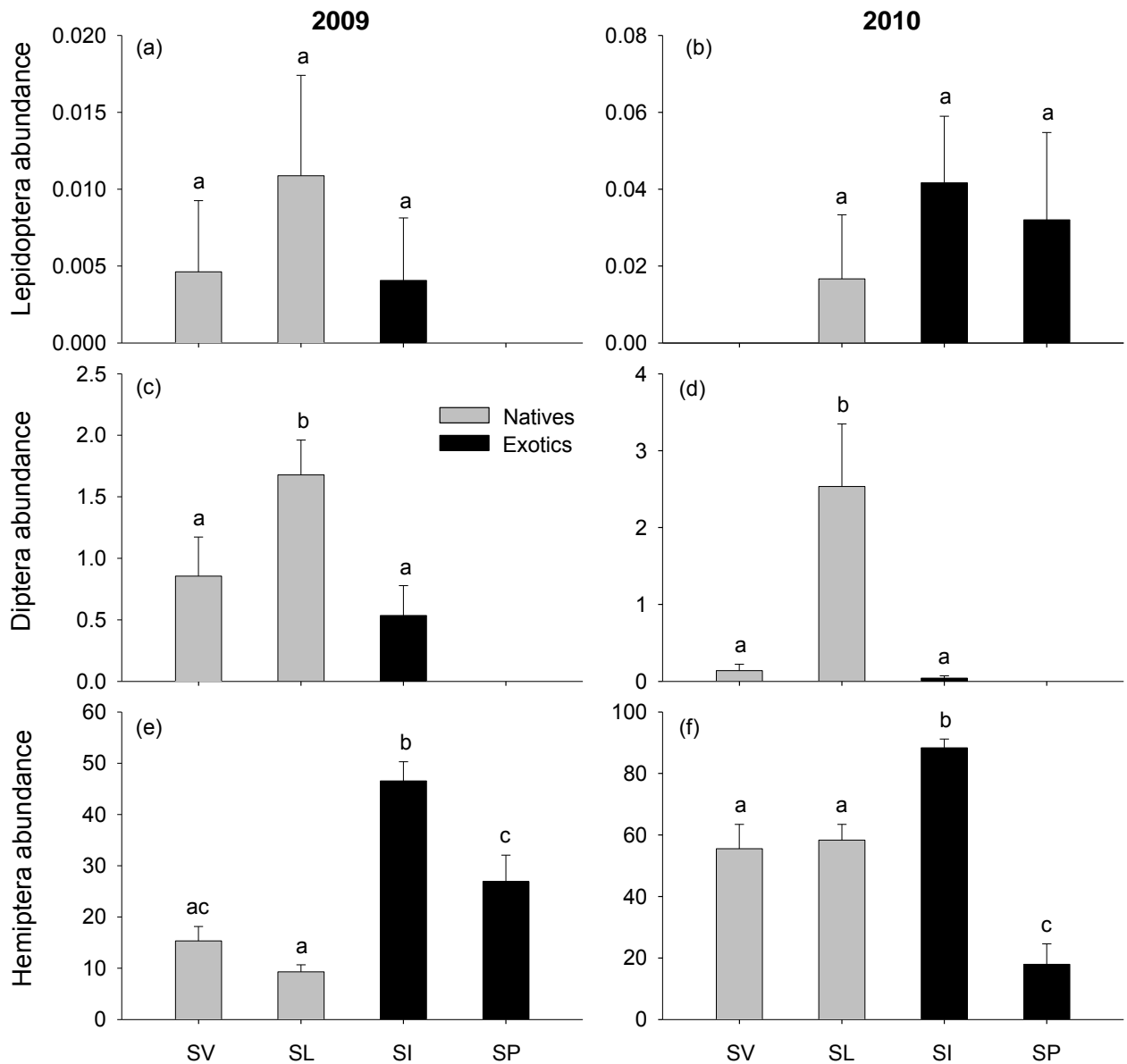


Fig. 3. Abundance of Lepidoptera (a, b), Diptera (c, d), and Hemiptera (e, f) on two native (*S. vulgaris* –SV– and *S. lividus* –SL–) and two exotic plants (*S. inaequidens* –SI– and *S. pterophorus* –SP–) during the overlapping reproductive period (May and June) in two consecutive years. The abundance was estimated as the number of specimens per plant (for Lepidoptera and Diptera) or the percentage of plants associated with an insect colony (for Hemiptera) divided by the number of visits (mean and SE). The different letters indicate significant differences among the plant species ($P < 0.05$ by Tukey’s post-hoc test).

Table 1. Effect of plant species and sampling location on the herbivore and parasitoid abundance during the entire reproductive period and during the overlapping reproductive period. The statistical results were obtained through ANOVA analyses between all of the plant species (May-June). The significant differences ($P < 0.05$) are indicated in bold.

			Entire reproductive period		May-June	
			F	P-value	F	P-value
2009	Herbivores					
	Lepidoptera	Species	1.666	0.214	0.915	0.457
		Location	0.928	0.488	0.670	0.652
		Species x Location	3.453	<0.001	1.826	0.037
	Diptera	Species	37.051	<0.001	27.349	<0.001
		Location	5.861	0.002	6.244	0.002
		Species x Location	1.250	0.231	1.056	0.397
	Hemiptera	Species	3.098	0.058	3.527	0.045
		Location	1.193	0.358	1.440	0.273
		Species x Location	7.451	<0.001	10.729	<0.001
	Parasitoids	Species	1.498	0.249	0.527	0.670
		Location	3.668	0.018	3.032	0.039
		Species x Location	1.236	0.241	1.351	0.181
2010	Herbivores					
	Lepidoptera	Species	10.368	<0.001	1.863	0.140
	Diptera	Species	22.692	<0.001	26.542	<0.001
	Hemiptera	Species	16.462	<0.001	24.794	<0.001
	Parasitoids	Species	7.138	<0.001	5.282	0.002

One third of the collected Lepidoptera and Diptera larvae were reared to adulthood and identified at the species level. The rest of the specimens (17 Noctuidae, eight Geometridae, 117 Pyralidae Lepidoptera, and 1,809 Tephritidae Diptera) were classified at the family level. Of the 19 insect species identified, 14 were associated with the alien *S. inaequidens* and *S. pterophorus*. Of these, only five (two Diptera and three Hemiptera) were also found on native *Senecio* host plants, which indicates a process of host switching within plant genera. The remaining nine species, all of which were Lepidoptera, were absent on the native *Senecio* species, which suggests that their original host plants belonged to other species that were not included in this study.

Sixteen species (84%) were polyphagous (Table 2 and Fig. 4). However, the analysis of the number of individuals collected revealed that the specialist herbivores were predominant (Fig. 4). The *Senecio* specialist *Sphenella marginata* (Diptera: Tephritidae) was the most abundant and widely distributed species, representing 20% of the collected and 80% of the identified specimens. *Sphenella* was found in 46.4% of the *S. lividus* plants, 20.0% of the *S. inaequidens* plants, and 8.2% of the *S. vulgaris* plants and was not present in any *S. pterophorus* plants. Other abundant specialists were *Aphis haroi* (Hemiptera: Aphididae), which was found in all *Senecio* species, and *Phycitodes albatella* (Lepidoptera: Pyralidae), which was associated with the exotic species *S. inaequidens* and *S. pterophorus* (Table 2).

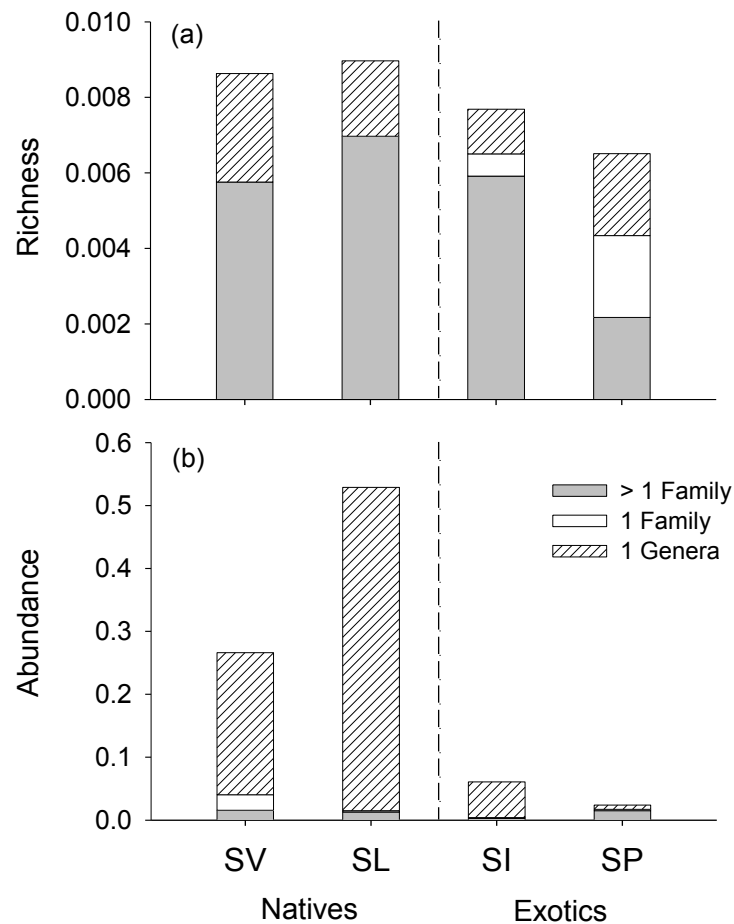


Fig. 4. Richness (a) and abundance (b) of herbivore insects associated with native (*S. vulgaris* –SV– and *S. lividus* –SL–) and exotic plants (*S. inaequidens* –SI– and *S. pterophorus* –SP–) classified by their diet breadth: a single plant genera, a single plant family, and more than one plant family. Values are standardized by the sampling effort (i.e. number of visits per plant).

Table 2. Phytophagous insects feeding on native and exotic *Senecio* host plants at Montseny Natural Park. The sampling was conducted during the reproductive stage for each *Senecio* species in 2009 and 2010. The presence of Lepidoptera and Diptera at a particular month of the year is indicated by roman characters. The aphids were sampled for identification once in May 2010 at Vallfornés; the species presence is indicated by an asterisk.

Order, Family	Species	N ¹	Plant part ²	Type of feeding ³	Natives		Exotics		Diet Breadth (Num. gen/fam ⁴)
					<i>Senecio vulgaris</i>	<i>Senecio lividus</i>	<i>Senecio inaequidens</i>	<i>Senecio pterophorus</i>	
Plant reproductive range (sampling period)					XI-VI	IV-VII	V-XII	V-VII	
Lepidoptera									
Noctuidae	<i>Autographa gamma</i> (Linnaeus 1758)	1	V/R	Chewing	-	-	IX	-	75/24
Noctuidae	<i>Helicoverpa armigera</i> (Hubner 1808)	4	V/R	Chewing	-	-	XI-XII	-	102/40
Noctuidae	<i>Heliothis peltigera</i> (Denis & Schiffermuller 1775)	1	V/R	Chewing	-	VI	-	-	27/12
Noctuidae	<i>Orthosiacerasi</i> (Fabricius 1775)	2	V	Chewing	-	-	VI	-	4/4
Noctuidae	<i>Thysanoplusia orichalcea</i> (Fabricius 1775)	1	V	Chewing	-	-	X	-	57/24
Geometridae	<i>Eupithecia absinthiata</i> (Clerk 1759)	1	R	Chewing	-	-	XI	-	26/7
Geometridae	<i>Eupithecia unedonata</i> Mabilie 1968	1	R	Chewing	-	-	XI	-	3/3
Geometridae	<i>Eupithecia virgaureata</i> Doubleday 1861	3	R	Chewing	-	-	XI	-	21/6
Geometridae	<i>Gymnoscelis rufifasciata</i> (Haworth 1809)	1	R	Chewing	-	-	IX	-	79/41
Pyalidae	<i>Phycitodes albatella</i> (Ragonot 1887)	22	R	Chewing	-	-	VII, XI	VII	3/1
Diptera									
Agromyzidae	<i>Chromatomyia horticola</i> (Goureau 1851)	7	V	Leaf mining	-	IV-V	V	-	268/36
Tephritidae	<i>Sphenella marginata</i> (Fallen 1814)	709	R	Chewing	V-VI	V-VII	VI-XI	-	1/1
Hemiptera									
Aphididae	<i>Aphis fabae</i> Scopoli 1763	3	V	Sucking	*	*	-	-	574/109
Aphididae	<i>Aphis haroi</i> Nieto Nafria 1974	63	V	Sucking	*	*	*	* ⁵	1/1
Aphididae	<i>Aulacorthum solani</i> Kaltentbach 1843	3	V	Sucking	*	*	-	-	344/76
Aphididae	<i>Brachycaudus cardui</i> Linnaeus 1758	1	V	Sucking	-	*	-	-	115/21
Aphididae	<i>Brachycaudus helichrysi</i> (Kaltentbach 1843)	8	V	Sucking	*	-	-	* ⁵	285/49
Aphididae	<i>Macrosiphum euphorbiae</i> (Thomas 1878)	3	V	Sucking	-	*	*	-	302/82
Aphididae	<i>Myzus persicae</i> Sulzer 1776	5	V	Sucking	*	*	-	-	650/125

¹Number of Lepidoptera and Diptera specimens identified. In the case of aphids, the number of samples collected, each of which contains several individuals, is shown.

²V = Vegetative (leaves or stems); R = reproductive (flowers or fruits). ³Type of feeding for Lepidoptera and Diptera at the immature stage.

⁴Number of genera and families used as host plants based on the literature (see Materials and Methods). ⁵Sampling performed on May 2011.

Of the herbivores reared in the laboratory, 7.6% were parasitized to yield a total of 205 specimens from eight different species (Table 3). The most abundant parasitoid species was Hymenoptera *Pteromalus* sp., which is hosted by a Diptera Tephritidae species, most likely *Sphenella marginata*, and associated with *S. vulgaris*, *S. lividus*, and *S. inaequidens* (Table 3). The hosts of the other parasitoid species could not be determined.

The performance of *Sphenella* and the parasitoid *Pteromalus* varied across the host plants. The *Sphenella* specimens feeding on *S. lividus* presented a significantly higher body mass compared with the insects associated with *S. vulgaris* and *S. inaequidens* (one-way ANOVA, $F = 26.11$, $P < 0.001$; Fig. 5). Specimens of *Pteromalus* associated with *S. lividus* were also larger compared with specimens associated with *S. vulgaris* and *S. inaequidens* (one-way ANOVA, $F = 6.58$, $P < 0.005$; Fig. 5).

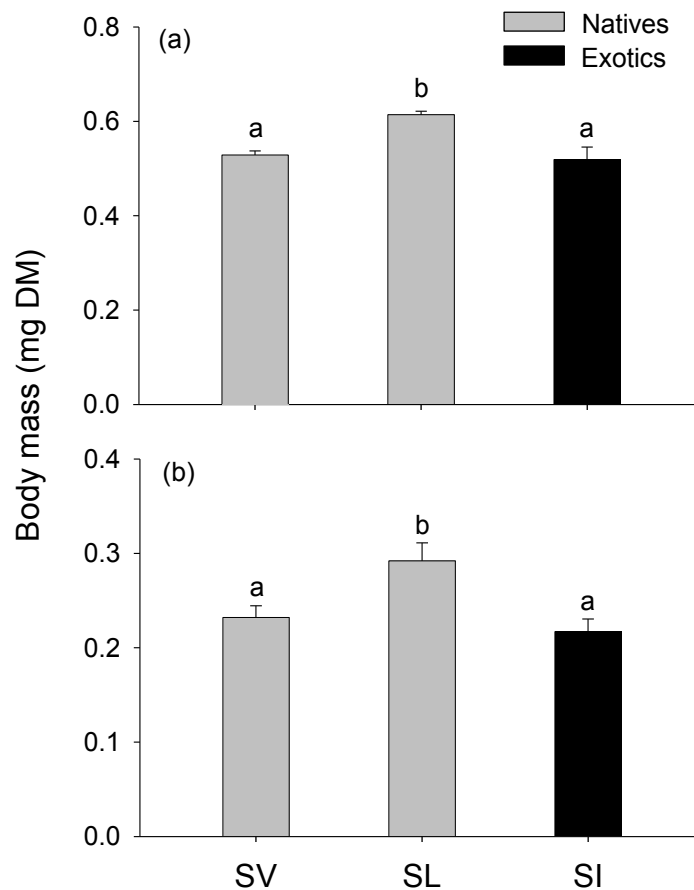


Fig. 5. Adult body mass of the herbivore *Sphenella marginata* (a) and the parasitoid *Pteromalus* sp. (b) associated with the native *S. vulgaris* (SV) and *S. lividus* (SL) and the exotic *S. inaequidens* (SI). The different letters indicate significant differences ($P < 0.05$) between species. $N = 123, 246, \text{ and } 19$, respectively.

Table 3. Parasitoids associated with herbivores feeding on native and exotic *Senecio* host plants at six locations in Montseny Natural Park. The collection month for each species is indicated by roman characters.

Order, Family	Species	N	Feeding strategy	Natives		Exotics	
				<i>Senecio vulgaris</i>	<i>Senecio lividus</i>	<i>Senecio inaequidens</i>	<i>Senecio pterophorus</i>
Diptera							
Tachinidae	<i>Voriaruralis</i>	1	Endoparasitoid	-	-	IX	-
Hymenoptera							
Braconidae	<i>Aleiodessp.</i>	1	Endoparasitoid	-	-	VI	-
Braconidae	<i>Braconsp.</i>	1	Ectoparasitoid	-	VI	-	-
Eulophidae	<i>Chrysocharispubicornis</i> (Zetterstedt 1838)	2	Endoparasitoid	-	V	V	-
Ichneumonidae	<i>Hyposoterdidymator</i> (Thunberg 1824)	4	Endoparasitoid	-	VI	-	VI
Ichneumonidae	<i>Tromatobiasp.</i>	1	Endoparasitoid	-	VI	-	-
Ichneumonidae	<i>Syrphophilusbizonarius</i> (Gravenhorst 1829)	1	Endoparasitoid	-	-	VI	-
Pteromalidae	<i>Pteromalus</i> sp.	194	Endoparasitoid	V-VI	V-VII	VI-XI	-

Discussion

Two hypotheses have been proposed to explain the changes in the plant-herbivore assemblages in invaded communities. The Enemy Release hypothesis (Keane & Crawley, 2002) suggests that local herbivores are better adapted to their native host plants than to the alien plants and that these herbivores thus have a higher preference toward the native plant species. Conversely, the Biotic Resistance hypothesis (Levine et al., 2004; Parker & Hay, 2005) states that exotic plants are more susceptible to local herbivores compared with native hosts because they exhibit a lack of resistance mechanisms to reduce herbivore damage. In this study, Lepidoptera species were more abundant on the exotic species *S. inaequidens* and *S. pterophorus* than in the native species *S. lividus* and *S. vulgaris*, which is in accordance with the Biotic Resistance hypothesis. To determine whether this pattern was caused by a higher insect preference for exotic species and not by differences in plant phenology, we compared the herbivore abundance during the overlapping reproductive period for all *Senecio* species (May-June). When the plants co-occurred, the exotic and native plants were equally affected by Lepidoptera. These results suggest that the extended plant phenology of the exotic plants favored new associations with local insects in absence of native *Senecio* plants and that host switching also occurred when both native and exotic plants were available. None of the abovementioned hypotheses explicitly predicts similar herbivory for native and exotic plants, but the absence of enemy release in exotic *Senecio* species is more suggestive of a biotic resistance mechanism. Similarly, the higher or equal levels of Hemiptera in *S. inaequidens* (and in *S. pterophorus* in 2010) compared with the native *Senecio* species also supports the Biotic Resistance hypothesis. In contrast, the abundance of Diptera was more consistent with the Enemy Release hypothesis because no insect specimens were found on any individual *S. pterophorus* plant during any sampling period and the amount of Diptera in *S. inaequidens* was lower compared with *S. lividus*. However, *S. inaequidens* was not released from Diptera herbivory compared with *S. vulgaris*.

The more pronounced host switching in *S. inaequidens* compared with *S. pterophorus* for Hemiptera and Diptera could be explained by differences in the plant invasion history. A longer time since introduction may facilitate host shifting because insect populations are more likely to interact with novel plants and they have a longer time to acclimate or adapt to its unique chemistry (Hawkes, 2007; Mitchell et al., 2010). Because *S. pterophorus* was introduced in Europe more recently than *S. inaequidens*, local herbivores may be more reluctant to use *S. pterophorus* as a host. In Australia, where *S. pterophorus* was introduced

50 years before than in Europe, the levels of herbivory due to host switching are significantly increased (Castells et al., 2013), which suggests that a longer coexistence time between local insects and novel plants enhances host switching.

Most of the identified species in this survey were polyphagous. However, contrary to the assumption that host switching in invaded communities is mainly performed by generalist herbivores (Keane & Crawley, 2002; Parker & Hay, 2005; Doorduyn & Vrieling, 2011), we found that herbivores with a narrow diet breadth were more abundant on exotic plants than polyphagous herbivores. *Sphenella marginata* (Diptera: Tephritidae), which is the most abundant species found in this study, is a fruit feeder specialized on the genus *Senecio* (e.g., *S. aquaticus*, *S. erucifolius*, *S. jacobaea*, *S. paludosus*, *S. squalidus*, *S. sylvaticus*, *S. viscosus*, and *S. vulgaris*) (White, 1988) and was found to be associated with the native species *S. vulgaris* and *S. lividus* and the exotic species *S. inaequidens* in this study. Other common insect species found in exotic *Senecio* species were also specialists. *Aphis haroi* (Hemiptera: Aphididae), which was previously reported on *S. pyrenaicus* (García Prieto & Nieto Nafría, 2005), and *Phycitodes albatella* (Lepidoptera: Pyralidae), which is a microlepidoptera that has been reported on three genera of Asteraceae (*Crepis*, *Solidago*, and *Senecio*) (Roesler, 1973), were found to be associated with *S. inaequidens* and *S. pterophorus*.

Host switching by specialist insects may be facilitated by the presence of native species that are phylogenetically close to the introduced plants, e.g., belonging to the same genera, in the invaded community (Mitchell et al., 2006; Verhoeven et al., 2009). Herbivores that have adapted to feed on native plants may readily establish novel interactions with exotic congeners through an immediate ecological fitting because these exotic plants share similar physical and chemical traits with the herbivores' original hosts that facilitate recognition, selection, and resistance (Janzen, 1968; Strong et al., 1984; Pearse & Hipp, 2009; Verhoeven et al., 2009). Under these conditions, we expected that insects specialized on native *Senecio* would easily shift to exotic *Senecio* species. However, the presence of native congeneric plant species in the invaded community was not sufficient to readily determine host switching: *Sphenella marginata* shifted from the native *Senecio* species to *S. inaequidens* but not to *S. pterophorus*. The lack of association between *S. pterophorus* and *Sphenella marginata* could not be explained by an asynchrony of plant and insect life cycles. Tephritidae develop and pupate within *Senecio* flower heads, and their occurrence is thus limited by the plant's reproductive stage. However, *S. pterophorus* was blooming at the time that the flies were seeking flower heads for oviposition. In fact, *Sphenella marginata* specimens were observed approaching *S. pterophorus* in the field (EC personal observation), which suggests that insects

recognized the plant as a potential host. The pre-adaptations of *Sphenella marginata* for the consumption of native *Senecio* were not sufficient to ensure the establishment of successful associations with *S. pterophorus*. Different species of *Senecio* share the same type of chemical defenses, namely pyrrolizidine alkaloids (Hartmann, 1999), but insects might adapt to feed on individual chemical compounds rather than groups of chemicals (Macel et al., 2005). The *S. pterophorus* chemical composition may constitute a novel weapon (*sensu* Callaway & Ridenour, 2004) that regulates the new assemblages with local herbivores.

We also explored whether changes in the host use translated to differences in performance in the two most abundant insects that were surveyed: *Sphenella marginata* and the parasitoid *Pteromalus* sp. Both species presented the highest body mass when associated with *S. lividus* compared with *S. vulgaris* and *S. inaequidens*. These results are highly consistent with host selection in the field. Thus, insects feeding on *S. lividus*, which is the most preferred host plant, exhibited a better performance than insects feeding on the less attacked *S. vulgaris* and *S. inaequidens*. Positive correlations between preference and performance are expected to occur when females ovipositing on the selected host plants maximize their fitness (Jaenike, 1990). *Sphenella marginata* performed better when feeding on *S. lividus*, but the use of *S. inaequidens* was not disadvantageous in the absence of *S. lividus* plants. In fact, *Sphenella marginata* populations most likely benefit from the consumption of *S. inaequidens* because the presence of reproductive individuals of *S. inaequidens* in Montseny Natural Park during the fall offers an alternate food source when no other *Senecio* species are available.

Final Remarks

Host preference is a main factor for the determination of new assemblages between insects and exotic plants. However, under natural conditions, trophic interactions are additionally constrained by other factors that are not directly related to preference, such as the spatial and temporal distributions of insects and plants, the presence of native plant congeners, the plant invasion history, the abundance of alien species relative to native hosts, the composition of the local insect community, and the phenological synchrony between plants and herbivores (Janzen, 1968; Graves & Shapiro, 2003). Laboratory bioassays can provide valuable information on the ability of insect species to recognize, select, and develop in new hosts, but these studies are insufficient to elucidate which interactions will actually occur in the field. Unfortunately, few of the studies that have evaluated host switching accounted for the complexity and idiosyncrasy of natural conditions. This study was designed

to provide information on the new plant-herbivore interactions that are established in the field when native plant congeners are present. We performed a long-term replicated plant survey in relatively small areas to ensure that all of the plant species were exposed to the same arthropod communities and microclimate conditions. However, we acknowledge that other factors, such as plant abundance in the surveyed areas and differences in the biological features between native and exotic plants, including plant phenology and chemical defenses, may also determine the host switching process. Our results show that plant novelty was not the only predictor of herbivore abundance. Host switching was generally increased for Lepidoptera and Hemiptera, as expected by the Biotic Resistance hypothesis, but decreased for Diptera, in accordance with the Enemy release hypothesis. Of the exotic species surveyed, *S. inaequidens*, which had coexisted longer with the local fauna in the study site, generally experienced higher herbivory compared with the exotic *S. pterophorus*. Contrary to previous results, host switching was quantitatively more common for specialist insects, but the presence of phylogenetically related native species in the invaded community did not ensure an instantaneous association between specialist insects and exotic plants. In conclusion, the insect order, plant phenology, herbivore diet breadth, and time since plant introduction may affect the host switching among *Senecio* congeners. Despite the limitations of field surveys, this work highlights the importance of the study of plant-herbivore associations under the complexity of natural conditions to understand not only the potential interactions that could be established based on insect preference and performance but also the realized interactions under the constraints of field conditions.

Acknowledgements

We acknowledge the following entomologists for identification of insect specimens: Jordi Dantart (Societat Catalana de Lepidopterologia, Spain) for Lepidoptera Noctuidae, Geometridae, and Pyralidae, Bernhard Merz (Muséum d'Histoire Naturelle, Switzerland) for Diptera Tephritidae, Miloš Černý (Czech Republic) for Diptera Agromyzidae, Hans-Peter Tschorsnig (Staatliches Museum für Naturkunde, Germany) for Diptera Tachinidae, Nicolás Pérez (Universidad de León, Spain) for Hemiptera Aphididae, Mark Shaw (National Museums Scotland, UK) for Hymenoptera Braconidae, Ricardo Jiménez Peydró (Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva, Universitat de València, Spain) for Hymenoptera Braconidae, Richard Askew (France) for Hymenoptera Eulophidae, Jesús Selfa (Universitat de València, Spain) for Hymenoptera Ichneumonidae, and Antoni Ribes (Spain) for Hymenoptera Pteromalidae. We thank Diputació de Barcelona (Catalonia) for permission

on conducting this study at Montseny Natural Park, Xavier Sans (University of Barcelona) for identification of *S. lividus*, and José Manuel Blanco (University of Barcelona) and Pere Losada (Universitat Autònoma de Barcelona) for field and laboratory assistance. MM has a FPI predoctoral fellowship from Ministerio de Ciencia e Innovación (Spain). This research was conducted thanks to the financial support provided to EC by Ministerio de Ciencia e Innovación (Spain) (GCL2008-02421/BOS) and Ministerio de Economía y Competitividad (Spain) (GCL2011-29205).

References

- Agosta, S.J. (2006) On ecological fitting, plant-insect associations, herbivore host shifts, and host plant selection. *Oikos*, **114**, 556-565.
- Agrawal, A.A. & Kotanen, P.M. (2003) Herbivores and the success of exotic plants: a phylogenetically controlled experiment. *Ecology Letters*, **6**, 712-715.
- Barberis, G., Minuto, L., and Peccenini, S. (1998) *Senecio grisebachii* Baker (Compositae), new to the Italian flora. *Webbia*, **52**, 201-206.
- Blackman, R.L. & Eastop, V.F. (2006) *Aphids on the World's Herbaceous Plants and Shrubs*. J. Wiley & Sons, Chichester.
- Callaway, R.M. & Ridenour, W.M. (2004) Novel weapons: invasive success and the evolution of increased competitive ability. *Frontiers in Ecology and the Environment*, **2**, 436-443.
- Caño, L., Escarré, J. & Sans, F.X. (2007) Factors affecting the invasion success of *Senecio inaequidens* and *S. pterophorus* in Mediterranean plant communities. *Journal of Vegetation Science*, **18**, 281-288.
- Casasayas T. (1989) La flora al·lòctona de Catalunya. Dissertation, Universitat de Barcelona.
- Castells, E., Morante, M., Blanco-Moreno, J.M., Sans, F.X., Vilatersana, R. & Blasco-Moreno, A. (2013) Reduced seed predation after invasion supports enemy release in a broad biogeographical survey. *Oecologia*, In press.
- Chamorro, L., Caballero, B., Blanco-Moreno, J.M., Caño, L., Garcia-Serrano, H., Masalles, R.M., and Sans, F.X. (2006) Ecología y distribución de *Senecio pterophorus* (Compositae) en la Península Ibérica. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, **53**, 55-62.
- Chun, Y.J., van Kleunen, M. & Dawson, W. (2010) The role of enemy release, tolerance and resistance in plant invasions: linking damage to performance. *Ecology Letters*, **13**, 937-946.

- DAISIE European Invasive Alien Species Gateway (2008) DAISIE European Invasive Alien Species Gateway. < www.europe-aliens.org > 1st August 2013.
- Després, L., David, J.P. & Gallet, C. (2007) The evolutionary ecology of insect resistance to plant chemicals. *Trends in Ecology and Evolution*, **22**, 298-307.
- Doorduyn, L.J. & Vrieling, K. (2011) A review of the phytochemical support for the shifting defence hypothesis. *Phytochemistry Reviews*, **10**, 99-106.
- EPPO Panel on Invasive Alien Species (2012) Lists of Invasive Alien Plants. <http://www.eppo.int/INVASIVE_PLANTS/ias_lists.htm> 1st August 2013.
- Ernst, W.H.O. (1998) Invasion, dispersal and ecology of the South African neophyte *Senecio inaequidens* in The Netherlands: from wool alien to railway and road alien. *Acta Botanica Neerlandica*, **47**, 131-151.
- Font, X. (2012) Vegetation and flora module. Biodiversity database of Catalonia. <<http://biodiver.bio.ub.es/biocat/homepage.html>> 1st August 2013.
- Frenzel, M. & Brandl, R. (2003) Diversity and abundance patterns of phytophagous insect communities on alien and native host plants in the Brassicaceae. *Ecography*, **26**, 723-730.
- García-Robledo, C. & Horvitz, C.C. (2011) Experimental demography and the vital rates of generalist and specialist insect herbivores on native and novel host plants. *Journal of Animal Ecology*, **80**, 976-989.
- García Prieto, F. & Nieto Nafría, J.M. (2005) Género Aphis. Hemiptera, Aphididae III. *Fauna Ibérica* pp. 30-173. Museo de Ciencias Naturales CSIC, Madrid.
- Gerber, E., Krebs, C., Murrell, C., Moretti, M., Rocklin, R. & Schaffner, U. (2008) Exotic invasive knotweeds (*Fallopia* spp.) negatively affect native plant and invertebrate assemblages in European riparian habitats. *Biological Conservation*, **141**, 646-654.
- Graves, S.D. & Shapiro, A.M. (2003) Exotics as host plants of the California butterfly fauna. *Biological Conservation*, **110**, 413-433.
- Hartmann, T. (1999) Chemical ecology of pyrrolizidine alkaloids. *Planta*, **207**, 483-495.
- Hawkes, C.V. (2007) Are invaders moving targets? The generality and persistence of advantages in size, reproduction, and enemy release in invasive plant species with time since introduction. *American Naturalist*, **170**, 832-843.
- Herrera, A.M. & Dudley, T.L. (2003) Reduction of riparian arthropod abundance and diversity as a consequence of giant reed (*Arundodonax*) invasion. *Biological Invasions*, **5**, 167-177.
- Hill, S.B. & Kotanen, P.M. (2010) Phylogenetically structured damage to Asteraceae: susceptibility of native and exotic species to foliar herbivores. *Biological Invasions*, **12**, 3333-3342.

- Jaenike, J. (1990) Host specialization in phytophagous insects. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **21**, 243-273.
- Janzen, D.H. (1968) Host plants as islands in evolutionary and contemporary time. *The American Naturalist*, **102**, 592-595.
- Keane, R.M. & Crawley, M.J. (2002) Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis. *Trends in Ecology and Evolution*, **17**, 164-170.
- Levine, J.M., Adler, P.B. & Yelenik, S.G. (2004) A meta-analysis of biotic resistance to exotic plant invasions. *Ecology Letters*, **7**, 975-989.
- Macel, M., Bruinsma, M., Dijkstra, S.M., Ooiwendijk, T., Niemeyer, H.M. & Klinkhamer, P.G.L. (2005) Differences in effects of pyrrolizidine alkaloids on five generalist insect herbivore species. *Journal of Chemical Ecology*, **31**, 1493-1508.
- Mitchell, C.E., Blumenthal, D., Jarosik, V., Puckett, E.E. & Pysek, P. (2010) Controls on pathogen species richness in plants' introduced and native ranges: roles of residence time, range size and host traits. *Ecology Letters*, **13**, 1525-1535.
- Mitchell, C.E., Agrawal, A.A., Bever, J.D., Gilbert, G.S., Hufbauer, R.A., Maron, J.L., Morris, W.F., Parker, I.M., Power, A.G., Seabloom, E.W., Torchin, M.E. & Vázquez, D.P. (2006) Biotic interactions and plant invasions. *Ecology Letters*, **9**, 726-740.
- Mironov, V. (2003) Larentiinae II (Perizomini and Eupitheciini). *The Geometrid Moths of Europe* (ed. by A. Hausmann), pp. 1-463. Apollo Books, Stenstrup.
- Parker, I.M. & Gilbert, G.S. (2007) When there is no escape: The effects of natural enemies on native, invasive, and noninvasive plants. *Ecology*, **88**, 1210-1224.
- Parker, J. D. & Hay, M. E. (2005) Biotic resistance to plant invasions? Native herbivores prefer non-native plants. *Ecology Letters*, **8**, 959-967.
- Pearse, I.S. & Hipp, A.L. (2009) Phylogenetic and trait similarity to a native species predict herbivory on non-native oaks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **106**, 18097-18102.
- Pino, J., Afán, I., Sans, F.X., and Gutiérrez, C. (2000) *Senecio pterophorus* DC., A new alien species in the European mainland. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, **58**, 188-189.
- Robinson, G. S., Ackery, P. R., Kitching, I. J., Beccaloni, G. W., and Hernández, L. M. (2010) HOSTS - A Database of the World's Lepidopteran Hostplants. < <http://www.nhm.ac.uk/hosts>> 1st August 2013.
- Roesler, U. (1973) Phycitinae. 1. Teilband: *Trifine Acrobasina. Microlepidoptera Palaearctica* (ed. by H.G. Amsel, F. Gregor and H. Reisser), Georg Fromme & Co, Wien.
- Royal Botanic Garden Edinburgh (2012) Flora Europaea. <<http://rbgweb2.rbge.org.uk/FE/fe.html>> 1st August 2013.

- Spencer, K.A. (1989) Leaf miners. *Plant Protection and Quarantine, Vol. 2, Selected Pests and Pathogens of Quarantine Significance* (ed. by R.P. Kahn), pp. 77-98. CRC Press, Boca Raton.
- Spencer, K.A. (1990) Host Specialization in the World Agromyzidae (Diptera). *Series Entomologica 45* Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Strong, D.R., Lawton, J.H. & Southwood, T.R.E. (1984) *Insects on Plants. Community Patterns and Mechanisms*. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Tallamy, D.W. (2004) Do alien plants reduce insect biomass? *Conservation Biology*, **18**, 1689-1692.
- Tallamy, D.W., Ballard, M. & D'Amico, V. (2010) Can alien plants support generalist insect herbivores? *Biological Invasions*, **12**, 2285-2292.
- Verhoeven, K.J.F., Biere, A., Harvey, J.A. & van der Putten, W.H. (2009) Plant invaders and their novel natural enemies: who is naive? *Ecology Letters*, **12**, 107-117.
- Vitousek, P.M., DAntonio, C.M., Loope, L.L. & Westbrooks, R. (1996) Biological invasions as global environmental change. *American Scientist*, **84**, 468-478.
- White, I.M. (1988) *Tephritid Flies (Diptera: Tephritidae)*. The Royal Entomological Society of London (RES), London.

Capítol 3 / Chapter 3:

**Reexamining the Enemy Release Hypothesis:
differentiating between the frequency and the
intensity of herbivory in native and exotic *Senecio*
species**

Maria Morante, Anabel Blasco-Moreno, Eva Castells

Abstract

The Enemy Release Hypothesis (ERH) postulates that exotic plants introduced into a new area experience a reduced damage from herbivores compared with the native species. However, exotic plants do not remain permanently free from enemies in the new habitat, as they are colonized by herbivores native to the area of introduction that switch onto the novel host. Plant phenology and the degree of synchrony between plants and insects may influence the shift of native enemies from local to introduced species. Here we tested the Enemy Release hypothesis at community level comparing herbivory on reproductive plant parts in field conditions of two species native to Europe, *Senecio vulgaris* and *S. lividus*, and two alien species, *S. inaequidens* and *S. pterophorus* (Asteraceae) along their reproductive season. A zero-inflated negative binomial model was used to compare herbivory levels across species. According to this model, herbivory was discriminated into two components of plant damage: the frequency of herbivory (percentage of damaged plants) and intensity of herbivory (percentage of damage heads within a plant). The exotic species had lower intensity of damage compared with *S. lividus*, but not with *S. vulgaris*. The exotic species were also released from the specialist Diptera, *Sphenella marginata*, in comparison to the natives. Differences on herbivory between species were explained by plant phenology and synchrony with *S. marginata*, except for the case of *S. pterophorus*. We conclude that discriminating between the frequency and the intensity of damage give a much better description of the differences on herbivory among plant species and enriches the interpretation of the Enemy Release hypothesis tested under the complexity of natural conditions.

Introduction

Invasive species represent one of the most challenging environmental problems (Vitousek, 1996). The introduction of alien plants can displace the native species and competitively overrun an entire ecosystem (Morse et al., 1995; Thompson et al., 1987; Campbell, 1994; Mooney and Cleland, 2001). However, not all plant introductions become problematic, only a small fraction of introduced species can get established and spread over large areas becoming invasive (Williamson, 1996; Richardson et al., 2000; Kolar and Lodge, 2001). Thus, to predict the outcome of future introductions there is a need to identify what species and ecosystem traits contribute to the invasion success (Sol et al., 2012).

One mechanism that has been associated to an increased invasion success is the change in predation in the area of introduction. Because herbivores contribute to regulate the abundance and distribution of plant populations (Louda, 1982; Louda and Potvin, 1995; Maron et al., 2002) a novel biotic environment for exotic plants may change their fitness and facilitate invasion. The Enemy Release hypothesis (Keane and Crawley, 2002) posits that exotic plants will be released from co-evolved herbivores of the area of origin, and this loss of natural enemies will benefit exotic plants by an immediate increase in growth and fecundity giving them an advantage over the local flora (Maron and Vilà, 2001; Keane & Crawley, 2002; Colautti et al., 2004). However, exotic plants in the novel area can also be attacked by local herbivores. This process, known as host switching, is facilitated when native and exotic hosts are phylogenetically related, and thus more likely to share chemical and physical traits, or when both hosts have similar ecological traits such as phenology or habitat type (Jaenike, 1990; Dicke, 2000; Agosta, 2006; Verhoeven et al., 2009).

The Enemy Release hypothesis has a strong experimental support at biogeographic level when comparing native and exotic populations from the same species (Colautti et al., 2004; Castells et al., 2013; Maurel et al., 2013). However, at community level, by comparing native and exotic species growing in the same habitats, results are more equivocal (for example see Agrawal et al., 2003; Parker & Hay, 2005; Cincotta et al., 2009; Hawkes, 2010; Suwa and Louda, 2012; Harvey, 2013). A possible source of this variation could be related to the fact that the presence or absence of herbivory reported in field surveys has multiple origins, including biological and methodological causes. Thus, the Enemy Release hypothesis considers that herbivores may be missing on a particular species when they do not recognize a plant as a potential host or when they show a higher preference towards another species (Graves and Shapiro, 2003; Jacquemart et al., 2013). However, absence can also occur when

plants and herbivores have different phenologies and distributional areas, and thus they do not completely co-occur at the temporal or spatial level (Vrieling and deBoer, 1999; Barat et al., 2007; Smith, 2013), if insect populations are not large enough to saturate the available resources thus leaving some plants unattacked, or when the observer may fail to detect them because insects are not present during the survey time or because they are very infrequent (Martin et al., 2005).

Under these conditions the number of plants recorded in a field as free from herbivory may be higher than expected by a Poisson or a Negative Binomial distribution, that is, data might be zero-inflated (Martin et al., 2005). Zero-inflation can affect the outcome of the statistical analysis because the distribution of excess zeros cannot be normalized by any transformation, as zero values are simply replaced by an equally high frequency of the value to which zero is transformed (Hall, 2000). Moreover, ignoring zero inflation on data may cause a bias on the estimated parameters, it increases data over dispersion and it reduces the predictability of the statistical models (Martin et al., 2005; Zuur, 2009). Statistical models incorporating the analysis of zero inflation, such as Zero Inflated (ZI) models, become more adequate alternatives. There are yet few studies in ecology applying these type of statistical analysis to deal with the excess of zeros (Welsh, 1996; Desouhant et al., 1997; Martin et al., 2005; Miller et al., 2004; Rauschert et al., 2009; Yoshioka et al., 2009; Burns & Strauss, 2010; Katsanevakis et al., 2010; Strubbe et al., 2010; Spotswood et al., 2012) and implementation of zero-inflated models on assessing insect–plant interactions under natural conditions is still infrequent (Desouhant et al., 1997; Allington et al., 2013; Castells et al., 2013).

Here we evaluated the Enemy Release hypothesis by comparing the levels of herbivory in two native (*Senecio vulgaris* and *S. lividus*) and two exotic plant species (*S. inaequidens* and *S. pterophorus*) (Asteraceae) coexisting in the same habitats. Herbivore on reproductive tissues was selected over herbivory on vegetative plant parts because it is more closely related to plant fitness and population success (Kolb et al., 2007). We evaluated seed predation on an extensive survey performed every 7-15 days along the entire plant reproductive season to determine how plant origin and differences in phenology across species could affect herbivory under natural conditions. By selecting native and exotic species from the same genus and coexisting in the same areas we aimed to maximize the possibility of host switching by generalist and specialist insects. Data was evaluated for zero-inflation. We aim to answer: 1) Are the exotic species *S. inaequidens* and *S. pterophorus* less damaged than their native congeners *S. vulgaris* and *S. lividus*, as predicted by the Enemy Release

hypothesis? 2) Do synchrony between plants and herbivores explain the differences in the levels of herbivory between native and exotic *Senecio* species?

Materials and Methods

Study site

The study was conducted at Montseny Natural Park (2°16'E 41°42' N; NE), 60 km NE of Barcelona (NE Iberian Peninsula). We selected this area of study because the exotics *Senecio inaequidens* DC. and *S. pterophorus* DC. were previously reported there (Pino et al., 2000; Chamorro et al., 2006; Caño et al., 2007). *Senecio inaequidens* and *S. pterophorus* are woody, perennial shrubs native from South Africa and alien to Europe. *S. inaequidens* was accidentally introduced to North Europe around 1889 by sheep wool commerce (Ernst, 1998) and entered the Iberian Peninsula in 1984 from populations in Southern France (Casasayas, 1989). As an opportunistic species, *S. inaequidens* colonizes a wide range of habitats, including highly disturbed areas such as wastelands, roadsides, crops, burnt land and pastures, where it may form large patches depleting the local flora. *S. pterophorus* was introduced to Europe more recently, during the late 1980s near Barcelona (NE Iberian Peninsula) (Casasayas, 1989; Pino et al., 2000). *S. pterophorus* grows preferentially in river beds and disturbed areas such as roadsides and wastelands, but it has also spread into natural and semi-natural communities outside the urbanized areas, such as pastures and forests (Chamorro, 2006; Castells et al., 2013). Both exotic species were introduced into the Montseny Natural Park during the 90s.

A preliminary survey was conducted to find locations where the two exotic *Senecio* species coexisted with *Senecio vulgaris* L. and *S. lividus* L., two native species present in the Park. We searched on various types of habitats, slopes and altitudes to determine the distribution of the species within the Park limits. *S. inaequidens* was more abundant over the south western area of the Park mostly forming dense patches, although scattered individual plants could be also found in northern areas. *S. pterophorus* was restricted to the southern slope of the Park (Morante et al., 2014). We selected on the southern slope 6 circular areas of 600 m in diameter that were at least 2 km apart that contained at least 4 individuals of each species. By sampling in relatively small areas we expected that all plants within a location would be exposed to the same community of enemies. The predominant habitats within the selected areas were forests of *Quercus ilex*, *Q. suber* and *Castanea sativa*, forest edges and abandoned pastures.

Field survey

On spring of 2009 we labeled 4 to 32 individual plants per each *Senecio* species and locality (a total of 475 individuals) before the flowering period. Plants were surveyed every 7 to 15 days from April to December in order to cover the whole reproductive period. The survey was conducted until the individuals had died (for the annual species) or when the reproductive stage had finished (for the perennial species) (Fig. S2). On each sampling date we quantified the number of flowering heads, fructified heads and involucre with no seeds (dispersed) in each individual plant. Involucres were removed from the plant after counting in order to avoid over-counting in subsequent surveys. Due to the high number of seed heads produced by *S. pterophorus* and some individuals of *S. inaequidens*, total production and herbivory in these plants were evaluated on a subsample of branches and then extrapolated to the whole individual.

All fructifying seed heads were collected, dissected *in situ* or brought to the laboratory for dissection. Heads were dissected longitudinally to determine the presence of any phytophagous insect growing therein or signs of damage. The following categories were established: i) undamaged heads, ii) damaged heads with no predator present (this type of damage that could not be assigned to any particular insect species was labeled as “undetermined”), iii) presence of an empty pupal case, iv) presence of a pupa, and v) presence of a larva. Pupae and larvae recovered during dissections were reared to adults when possible and identified (see Chapter 2/Castells et al. 2014).

We calculated the total number of heads produced by a plant by adding the number of involucres counted in the field to the number of heads brought to the laboratory for dissection on each date. Based on field observations we assumed that the involucres standing on the plant corresponded to undamaged heads because the presence of a predator inside the head impedes its normal opening and seed shedding. The total number of damaged heads was calculated by considering all types of damage (ii to v) regardless the insect species and developmental stadium.

Statistical analyses

To test differences among plant species on total head production we performed a Generalized Linear Mixed (GLM) model with a Negative Binomial (NB) distribution using total heads as response variable, Species as a fixed factor and Locality as a random factor. Tukey adjustment was performed for post-hoc multiple comparisons. Because data on herbivory was significantly zero-inflated (Table 1, Fig. S1) we applied a Zero Inflated Negative Binomial

(ZINB) model (Hall, 2000). In the ZINB model, zeros were modeled separately as coming from two processes. Zeros from the process of counts were modeled by a Negative Binomial GLM (NB heads damaged ≥ 0) while the occurrence of extra zero values not accounted for by the process of counts (ZI, extra undamaged heads of none attacked plants) were modeled by a Binomial GLM. Accordingly, comparisons of herbivory between species pairs resulted in two *p values*, one for the average seed head damage (intensity of damage) and one for the zero inflation (frequency of damage). Damaged heads was considered the response variable, Species a fixed factor, Locality a random factor and the total number of Produced heads was used as a covariate to control for the effect of plant size (offset term). Tukey adjustment was performed for post-hoc multiple comparisons. Additionally, we conducted a ZINB model with the same characteristics to determine differences on the overall herbivory by the most abundant herbivore species: *Sphenella marginata* (Diptera: Tephritidae). To assess differences on herbivory by *S. marginata* when species had overlapping reproductive stages, we conducted a ZINB model for May, June and July. We included damaged heads as the response variable, Species as fixed factor, Locality as a random factor and total number of heads as an offset variable.

To test whether heads production varied significantly across months in each species we conducted a NB model with heads counts as a dependent variable, Month as a continuous variable, Species as a fixed factor and Locality as a random factor. Tukey's post hoc tests were conducted to detect differences among months at $P < 0.05$. Similarly, to determine whether herbivory by *S. marginata* differed significantly among months in each plant species, we also conducted a NB model in this case considering damaged heads counts as a dependent variable. All statistical analyses were performed using SAS System ® v9.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). For all statistical tests a nominal significance level of 5% ($\alpha = 0.05$) was applied.

Table 1. Estimated effects of locality, plant size and plant species on the overall herbivory and herbivory by *S. marginata* using a Zero Inflated Negative Binomial (ZINB) model.

Variables	Estimate	Standard error	<i>t</i> -value	<i>p</i> -value
Overall herbivory				
Zero inflation	0.680	0.070	9.62	0.000
Overdispersion	0.696	0.125	5.56	0.002
Locality	0.098	0.071	1.38	0.227
Plant size*	1.029	0.072	14.27	<0.000
Species (intensity)				
<i>S. vulgaris</i>	-2.464	0.411	-6.00	0.002
<i>S. lividus</i>	1.120	0.236	4.75	0.005
<i>S. inaequidens</i>	-0.598	0.246	-2.44	0.060
<i>S. pterophorus</i>	0.122	0.342	0.36	0.736
Species (frequency)				
<i>S. vulgaris</i>	0.749	0.326	2.30	0.070
<i>S. lividus</i>	-2.311	0.443	-5.21	0.003
<i>S. inaequidens</i>	-3.848	1.187	-3.24	0.023
<i>S. pterophorus</i>	0.864	0.443	1.95	0.109
Herbivory by <i>Sphenella marginata</i>				
Zero inflation	0.790	0.057	13.71	<0.000
Overdispersion	0.520	0.120	4.33	0.007
Locality	0.084	0.063	1.33	0.239
Plant size*	1.088	0.094	11.57	<0.000
Species (intensity)				
<i>S. vulgaris</i>	-2.557	0.518	-4.93	0.004
<i>S. lividus</i>	1.029	0.260	3.96	0.010
<i>S. inaequidens</i>	-1.767	0.262	-6.74	0.001
Species (frequency)				
<i>S. vulgaris</i>	1.330	0.349	3.81	0.012
<i>S. lividus</i>	-2.585	0.415	-6.23	0.002
<i>S. inaequidens</i>	-2.341	0.521	-4.49	0.006

* Offset variable.

Results

Total head production

The average number of seed heads produced by individual plants along the reproductive season was 28 ± 3.1 for *S. lividus*, 29 ± 4.4 for *S. vulgaris*, 262 ± 67.5 for *S. inaequidens* and 1069 ± 209.5 for *S. pterophorus*. The number of heads differed across species (GLM, $F = 167.09$, $p < 0.001$) and it was much higher in the exotic species than in the native congeners (Table 2).

Table 2. Post - hoc multiple comparisons of plant size between species after adjusting the GLM model. Tukey correction was applied.

	Estimate	Standard error	t- value	p- value
<i>S. lividus</i> x <i>S. vulgaris</i>	0.2154	0.1727	1.25	0.5971
<i>S. lividus</i> x <i>S. pterophorus</i>	- 3.7405	0.1976	-18.93	<.0001
<i>S. inaequidens</i> x <i>S. vulgaris</i>	2.2751	0.1962	11.60	<.0001
<i>S. inaequidens</i> x <i>S. lividus</i>	2.0597	0.1864	11.05	<.0001
<i>S. inaequidens</i> x <i>S. pterophorus</i>	-1.6808	0.2165	-7.76	<.0001
<i>S. pterophorus</i> x <i>S. vulgaris</i>	3.9559	0.2068	19.13	<.0001

Herbivory on native and exotic Senecio

Sphenella marginata (Diptera: Tephritidae) (Fallen 1814), a specialist of *Senecio* that develops within the seed heads, was the most abundant herbivore species in *S. vulgaris* (95.4% of the damaged heads), *S. lividus* (92.3 % of the damaged heads) and *S. inaequidens* (34.70% of the damaged heads). In contrast, *S. marginata* was not associated with *S. pterophorus*. The microlepidoptera *Phycitodes albatella* (Lepidoptera: Pyralidae), an oligophagous species that consumes seed heads from the genera *Crepis*, *Solidago* and *Senecio* (Fam. Asteraceae) (Roesler 1973), was only found in *S. inaequidens* (25.71% of the damaged heads) and *S. pterophorus* (99.77% of the damaged heads). *S. inaequidens* had also a 39.58% of the heads damaged by other insects including species Lepidoptera from the Noctuidae and Geometridae families (see Castells et al. 2014).

Of 475 plants analyzed, 54.95% showed no signs of seed head damage along their entire reproductive period. The frequency of plants with zero predation was higher in *S. vulgaris* (83%) and *S. pterophorus* (84%) than in *S. lividus* (33%) and *S. inaequidens* (30%)

(Fig. S1). The zero-inflated negative binomial (ZINB) model confirmed that data on total herbivory, i.e. the total number of damaged heads, and herbivory by *S. marginata* were zero-inflated and overdispersed (Table 1). Accordingly, differences among species for these two dependent variables were compared using a ZINB model which discriminated between the frequency of herbivory and the intensity of damage (% of heads damaged).

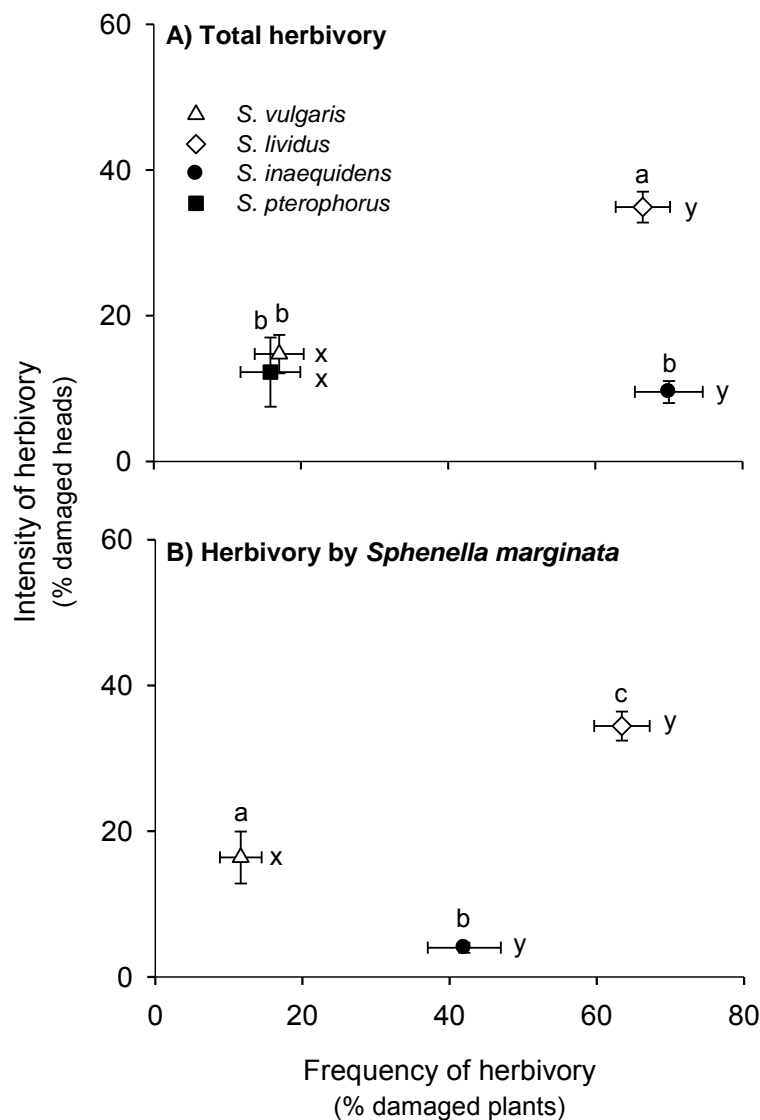


Fig. 1 Intensity and frequency of total herbivory in reproductive plant parts and herbivory by *Sphenella marginata* estimated as the frequency of percentage of damaged plants and the intensity of percentage of damaged seed heads (mean ± SE) on two native, *S. vulgaris* and *S. lividus*, and two exotic species, *S. inaequidens* and *S. pterophorus*. Statistical analyses were performed using a ZINB model. The different letters for frequency (x, y, z) and intensity (a, b, c) of herbivory indicate significant differences at $p < 0.05$ as is shown in Tables 1 and 3.

The frequency of total herbivory was higher in *S. lividus* and *S. inaequidens* than in *S. vulgaris* and *S. pterophorus*, while the intensity of damage was significantly higher in *S. lividus* than in any other species (Fig. 1A, Table 3). When comparisons were performed by *S. marginata* alone, *S. lividus* exhibited the highest intensity of herbivory followed by *S. vulgaris*, and *S. inaequidens* was the species with the lowest intensity of damage (Fig 1B, Table 3).

Table 3. Post - hoc multiple comparisons of ZINB model between plant species for the intensity (% damaged seed heads) and frequency (% damaged plants) of total herbivory and herbivory by *Sphenella marginata*.

	Total herbivory		Herbivory by <i>Sphenella marginata</i> [†]	
	F	<i>p</i> -value	F	<i>p</i> -value
Intensity of herbivory				
<i>S. vulgaris</i> x <i>S. lividus</i>	22.65	0.005	15.64	0.011
<i>S. vulgaris</i> x <i>S. inaequidens</i>	6.04	0.057	45.46	0.001
<i>S. vulgaris</i> x <i>S. pterophorus</i>	0.13	0.738	-	-
<i>S. lividus</i> x <i>S. inaequidens</i>	96.99	0.000	153.81	<0.000
<i>S. lividus</i> x <i>S. pterophorus</i>	10.53	0.023	-	-
<i>S. inaequidens</i> x <i>S. pterophorus</i>	6.28	0.054	-	-
Frequency of herbivory				
<i>S. vulgaris</i> x <i>S. lividus</i>	27.42	0.003	38.82	0.002
<i>S. vulgaris</i> x <i>S. inaequidens</i>	10.78	0.022	20.18	0.006
<i>S. vulgaris</i> x <i>S. pterophorus</i>	3.76	0.110	-	-
<i>S. lividus</i> x <i>S. inaequidens</i>	1.76	0.242	0.24	0.644
<i>S. lividus</i> x <i>S. pterophorus</i>	44.79	0.001	-	-
<i>S. inaequidens</i> x <i>S. pterophorus</i>	15.54	0.011	-	-

[†]The comparison cannot be carried out because the insect was not found in one of the species pair

Herbivory by Sphenella marginata over time

Sphenella marginata was first recorded on *S. vulgaris* and *S. lividus* in May and lasted until the plants had died (June for *S. vulgaris* and July for *S. lividus*). On *S. inaequidens*, the appearance of *S. marginata* mostly coincided with the presence of the first fructified seed heads in June (Fig. 2, Fig. S2). In order to determine the preference of *S. marginata* for the different *Senecio* species we compared the levels of herbivory among species pairs separately by month during their overlapping reproductive period (May to July). The frequency of

damage did not differ between species pairs at any time, except for a higher percentage of damage in *S. lividus* compared with *S. vulgaris* in June (Fig. 2, Table 4). The intensity of damage was significantly higher in *S. lividus* compared with *S. vulgaris* in May, and higher in both native species than in *S. inaequidens* in June (Fig. 2, Table 4). No differences in herbivory were found between *S. lividus* and *S. inaequidens* in July (Table 4). From August through December, *S. inaequidens* was the only available species for *S. marginata*, which was damaged at low intensity with an average of less than 10% of heads consumed (Fig. 2).

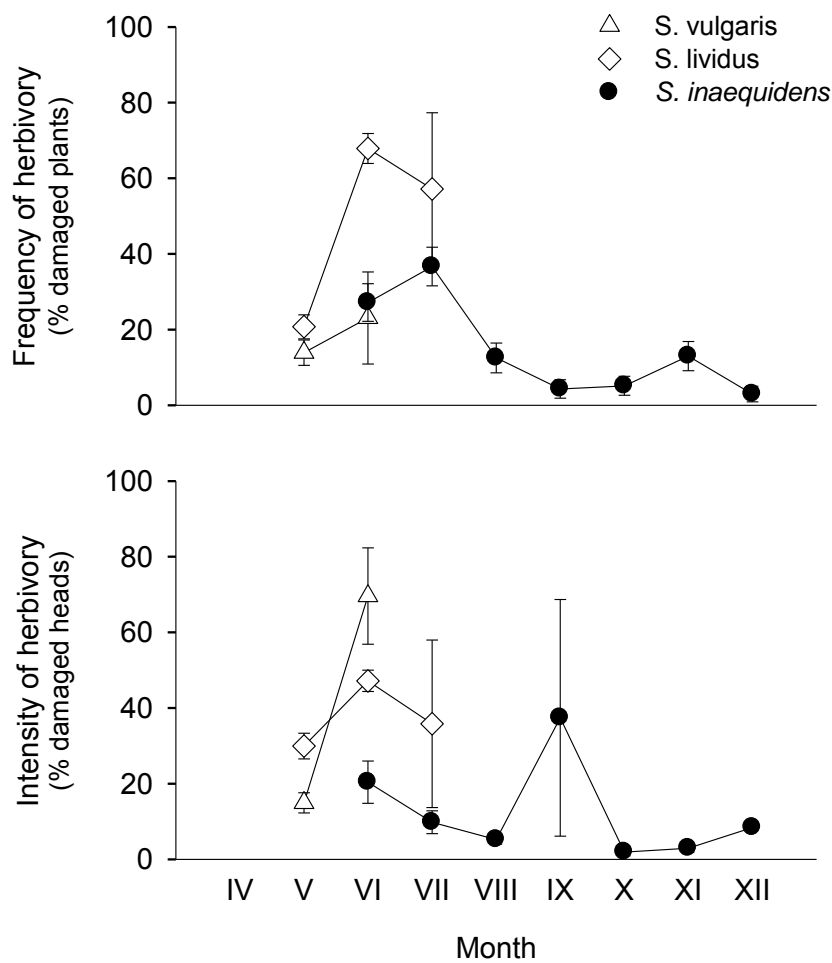


Fig. 2 Herbivory by *Sphenella marginata*, estimated as the frequency of damaged plants and the intensity of damaged seed heads (mean \pm SE) over the reproductive period of the two native species, *S. vulgaris* and *S. lividus* and the exotic *S. inaequidens*. Statistical analyses corresponding to a ZINB model are shown in Table 4.

Table 4. Post-hoc multiple comparisons between plant species for the intensity (% damaged seed heads) and frequency (% damaged plants) of herbivory by *Sphenella marginata* on the two native species, *S. vulgaris* and *S. lividus*, and the exotic host, *S. inaequidens* over months.

	May		June		July	
	F	<i>p</i> -value	F	<i>p</i> -value	F	<i>p</i> -value
Intensity of herbivory						
<i>S. vulgaris</i> x <i>S. lividus</i>	9.93	0.025	1.10	0.342	-	-
<i>S. vulgaris</i> x <i>S. inaequidens</i>	-	-	14.06	0.013	-	-
<i>S. lividus</i> x <i>S. inaequidens</i>	-	-	33.80	0.002	0.87	0.395
Frequency of herbivory						
<i>S. vulgaris</i> x <i>S. lividus</i>	0.00	0.958	6.70	0.049	-	-
<i>S. vulgaris</i> x <i>S. inaequidens</i>	-	-	4.44	0.089	-	-
<i>S. lividus</i> x <i>S. inaequidens</i>	-	-	0.00	0.979	0.05	0.833

To determine whether the presence of *S. marginata* was constrained by the available plant resources over the reproductive period we analyzed the synchrony between total head production and the number of damaged heads. The highest abundance of *S. marginata* in *Senecio* occurred in June that corresponded with the end of the reproductive season for *S. vulgaris*, the peak of head production for *S. lividus* and the start of the reproductive season for most *S. inaequidens* individuals (Fig. 3). Thus, *S. lividus* was the species with the best synchrony between head production and damage by *S. marginata*, with both processes peaking in June (Fig. 3, Table S1). *S. vulgaris* completely escaped from *S. marginata* during April. In June, when the presence of *S. marginata* was highest, more than 90% of *S. vulgaris* individuals were already senescent (Fig. 3, Fig. S2). *S. inaequidens* had two peaks of head production (July and November) but *S. marginata* abundance was extremely low during the whole plant reproductive period (Fig. 3).

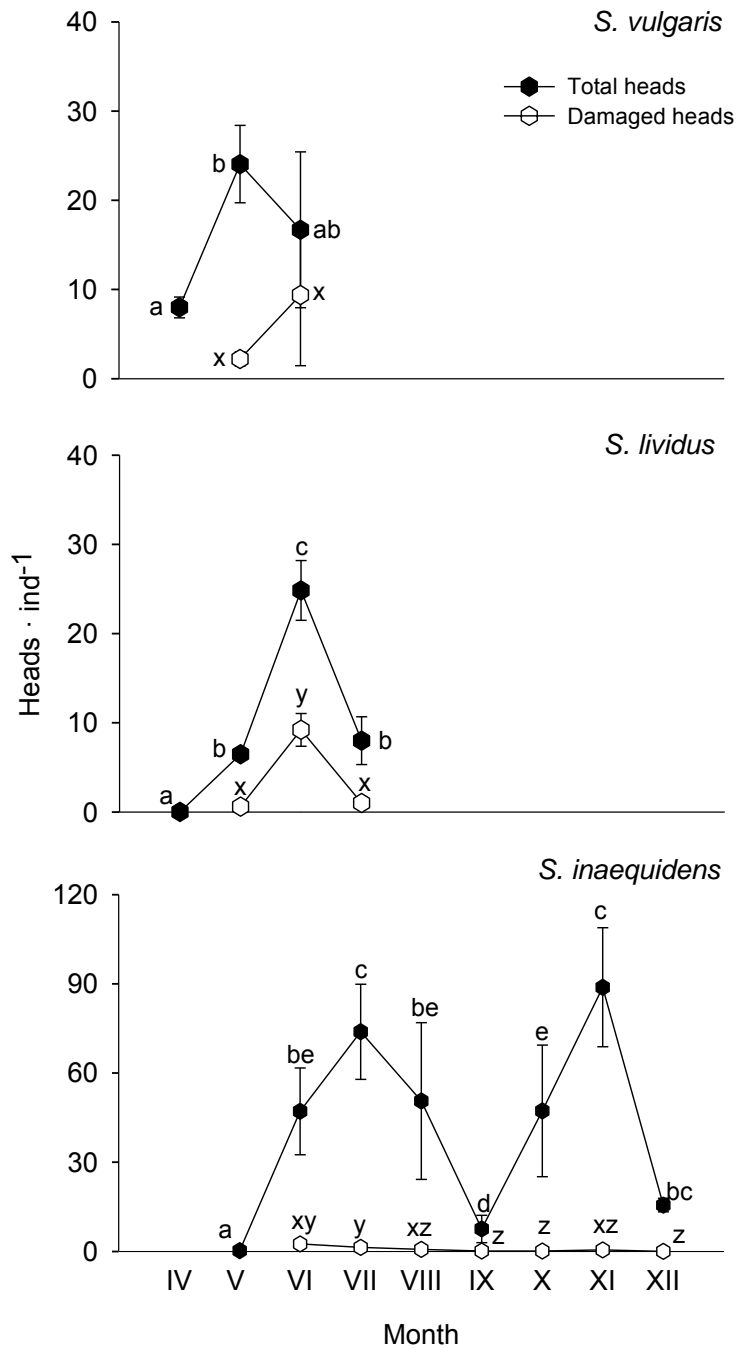


Fig. 3 Synchron reproductive p total heads (a, Binomial mod

a over the letters for I Negative

Discussion

The Enemy Release (ER) hypothesis predicts that exotic plants will experience lower levels of herbivory compared with plants native to the area of introduction (Colautti et al. 2004; Liu et al., 2007; Cincotta et al. 2009). Here we have evaluated this hypothesis by determining the number of damaged seed heads in two native (*Senecio vulgaris* and *S. lividus*) and two exotic plants (*S. inaequidens* and *S. pterophorus*) using a Zero-Inflated Negative Binomial (ZINB) model. One advantage of these types of models in comparison with GLMs is that they discriminate between two components of herbivory: the frequency of herbivory, i.e. the percentage of plants within a population that are damaged by herbivores; and the intensity of herbivory, i.e. the percentage of damaged seed heads within a damaged plant. Thus, herbivore release could either be expressed as a decrease in the frequency of damaged plants as well as in the intensity of damage.

Differences between the native species

First, we found that the frequency and the intensity of herbivory differed significantly between the two native species, with *S. lividus* showing approximately four times more damage than *S. vulgaris*, mostly caused by the specialist fly *S. marginata* (over 90% of the damaged heads). *S. vulgaris* and *S. lividus* are annual species with similar plant size and seed head production. However, their differences in flowering phenology could partially explain the higher levels of herbivory in *S. lividus*. *S. marginata* adults oviposit on flowering heads and larvae develop and pupate along with the fruit maturation, sometimes consuming the totality of seeds (Morante et al., 2014). Therefore, reproduction of *S. marginata* is highly restricted by the presence of plants on a particular phenological stage.

In the surveyed area, most of *S. lividus* plants started fructifying later than *S. vulgaris* but, in contrast, the synchrony between *S. lividus* blooming and *S. marginata* life cycle was highly adjusted, with head production peaking in June coinciding with the highest abundance of *S. marginata*. In contrast, *S. vulgaris* was free from *S. marginata* until May, when the first *S. marginata* adults were observed in the field (M. Morante personal communication), and by the time *S. marginata* was found in highest amounts over 90% of the *S. vulgaris* individuals were already senescent. Phenological synchrony between insects and plants has been an important factor affecting host selection (Vrieling and deBoer, 1999; Mopper and Simberloff, 1995; Russell and Louda, 2004; Asch et al., 2007; Fry et al., 2009).

Other factors besides the synchrony in phenologies between plants and herbivores may have also determined the higher levels herbivory in *S. lividus*, because this species was

preferred over *S. vulgaris* when both species were reproductive (May and June). This result is consistent with the higher performance of *S. marginata* estimated as adult body mass when larvae developed in *S. lividus* compared to those developed in *S. vulgaris* (Chapter 2/Castells et al., 2014). Chemistry could have determined the preference and performance of phytophagous insects. While phylogenetically related species are expected to have a more similar chemical composition, differences across species and within species can have profound effects on the interactions between plants and herbivores (Wink, 1988; Macel et al., 2003; Macel et al., 2005; see chapter 4).

Enemy release hypothesis

Results on the intensity of damage on native and exotic species showed a partial support to the Enemy release hypothesis. Thus, the percentage of damaged heads by any type of insect was lower in the exotics *S. inaequidens* and *S. pterophorus* than in *S. lividus*, as expected by the ER hypothesis, but not in comparison with *S. vulgaris*. However, data was more consistent with the ER hypothesis when considering the intensity of damage by the specialist fly *S. marginata* alone: firstly, the percentage of damaged heads in *S. inaequidens* was lower than in *S. lividus* and *S. vulgaris* when averaged for the whole reproductive period and separately by moth. Secondly, *S. pterophorus* was not associated with *S. marginata* in any plant population or period sampled. In contrast, no evidences of herbivore release were found for the frequency of damage, neither for total herbivory or herbivory by *S. marginata*. The percentage of damaged plants was similar between *S. inaequidens* and *S. lividus* (ca. 70%) and between *S. pterophorus* and *S. vulgaris* (ca. 18%) for total herbivory, and between *S. inaequidens* and the two native species during their coincident reproductive stages (June and July).

The long flowering period of the exotic *S. inaequidens*, spanning from May to December, could have favored the association with herbivores and the absence of enemy release when considering the frequency of herbivory. Indeed, *S. inaequidens* was the only *Senecio* species in a reproductive stage during summer and autumn, and thus apparently the only food source available for the specialist *S. marginata*. In contrast, synchrony in plant and insect phenology did not explain the absence of *S. marginata* on *S. pterophorus*: the plant was reproductive at the end of June and July when *S. marginata* adults were observed in field. We ignore whether *S. marginata* did not recognize *S. pterophorus* as a potential host, or whether larvae were not able to develop successfully feeding on *S. pterophorus* fruits. The shorter time

of introduction of *S. pterophorus* in Europe compared to *S. inaequidens* could explain the absence of *S. marginata* on *S. pterophorus*.

New scenarios of enemy release

The zero-inflated models, that discriminate between two components of herbivory (frequency and intensity) allow to classify plant populations under four distinct scenarios of herbivory (Fig. 4): first, a *low-low* scenario, which include populations with a low percentage of damaged plants (low frequency) and a low percentage of damaged heads within the damaged plants (low intensity); Second, a *low-high* scenario, including populations with a low percentage of damaged plants (low frequency) with a high percentage of damaged heads (high intensity); Third, a *high-low* scenario, including populations with a high percentage of damaged plants (high intensity) with low percentage of damaged heads (low intensity); and fourth, a *high-high* scenario, including populations with a high percentage of damaged individuals (high frequency) with high percentage of damaged heads (high intensity).

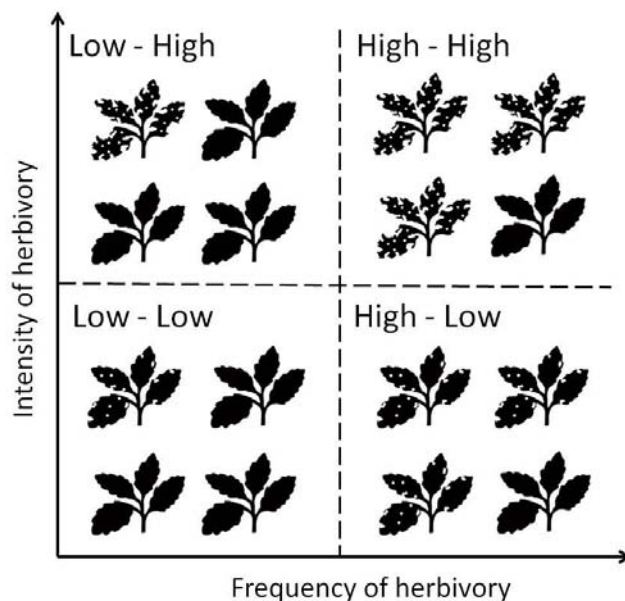


Fig. 4 Scenarios of herbivory damage (Low-low, Low-high, High-low, High-high,) obtained from two components of the Zero Inflated Negative Binomial (ZINB) model: the frequency of herbivory (percentage of damaged plants) and the intensity of herbivory (amount of damage within a plant, i.e. damaged heads).The process of enemy release can be considered as any decrease in the intensity or the frequency of damage plants. For simplicity, damage is represented here as consumption of foliage.

Here the native *S. lividus* was the species with the highest levels of frequency and intensity of damage, and thus classified in a high-high scenario for total herbivory and herbivory by *S. marginata*. In contrast, the native *S. vulgaris* was situated in a low-low scenario for the total herbivory, together with *S. pterophorus*. Finally, *S. inaequidens* was

classified under a high-low scenario for total herbivory, with a frequency of damage similar to *S. lividus* and the intensity of damage similar to *S. vulgaris* and *S. pterophorus*. When considering herbivory by *S. marginata* the intensity of damage in *S. inaequidens* dropped below the intensity than *S. vulgaris*.

The classification of the native and exotic plant species under these scenarios offer a new approach to the enemy release hypothesis, and can help understanding the distributional patterns of herbivores within species and the consequences of herbivory at population level, especially under intermediate levels of herbivory (low-high and high-low scenarios) as occurring for *S. vulgaris* and *S. inaequidens*. Thus, these two species had a similar average of damaged heads when tested by a GLM model (Unianova test) (Fig S3), but the use of a zero-inflated revealed a different distribution of the insects, with *S. vulgaris* having less number of plants attacked but at higher intensity (low-high scenario) and *S. inaequidens* having a high number of plants damaged by a low number of insects (high-low scenario). This suggests that some individuals in *S. vulgaris* population are more attacked either because they are preferred during host selection or because plants are less resistant to herbivory. In contrast, the scenario of *S. inaequidens* suggests a more homogeneous herbivory damage within a population. Host heterogeneity can be expressed by the existence of unsuitable hosts, which are protected from herbivores due to their morphological or chemical composition, suitable hosts which allow establishing interactions with herbivores or suitable host in which different biotic factors reduce the probability of association with herbivores (Desouhant, 1997).

In summary, we found that herbivory was not exclusively determined by plant origin (native vs. exotic) but also by the species traits, including plant phenology and the synchrony between plants and herbivores. The fact that exotic and native species were phylogenetically related was not a determinant factor for the establishment of plant-herbivore interactions, as seen by the absence of the specialist fly *S. marginata* on *S. pterophorus*. The Enemy release hypothesis had a stronger support when considering herbivory as the intensity of damage (percentage of damaged heads) than the frequency of damage (percentage of damaged plants), and when considering the levels of herbivory by *S. marginata* alone instead of total herbivory. Based on the results presented here the frequency and intensity of damage appear as novel key concepts to test the ER release hypothesis that helps understanding how herbivores are distributed within native and exotic plants.

Acknowledgements

We thank Diputació de Barcelona for permission on conducting this study in Montseny Natural Park, Dr. Xavier Sans (University of Barcelona), Dr. José Manuel Blanco - Moreno (University of Barcelona) and Dr. Lidia Caño (University of the Basque Country) for location of *S. pterophorus* and *S. inaequidens* in Montseny NP, and Anna Escolà and Pere Losada for technical assistance in the field and laboratory. MM had a FPI predoctoral fellowship from Ministerio de Ciencia e Innovación, Spain. This research was conducted thanks to the financial support provided to E.C. by Ministerio de Ciencia e Innovación (Spain) (GCL2008-02421/BOS) and Ministerio de Economía y Competitividad (Spain) (GCL2011-29205).

References

- Allington, G. R. H.; Koons, D. N.; Morgan Ernest, S. K.; Schutzenhofer, M. R. and Valone, T. J. (2013) Niche opportunities and invasion dynamics in a desert annual community. *Ecology Letters*, 16 : 158 - 166.
- Agosta, S.J. (2006) On ecological fitting, plant-insect associations, herbivore host shifts, and host plant selection. *Oikos* 114:556-565.
- Agrawal, A.A. and Kotanen, P.M. (2003) Herbivores and the success of exotic plants: a phylogenetically controlled experiment. *Ecology Letters* 6 : 712 – 715.
- Asch, M. and Visser, M.E. (2007) Phenology of forest caterpillars and their host trees: the importance of synchrony. *Annual Review of Entomology*, 52 : 37-55
- Barat, M.; Tarayre, M. and Atlan, A. (2007) Plant phenology and seed predation: interactions between gorses and weevils in Brittany (France). *Entomologia Experimentalis et Applicata* 124: 167–176
- Burns J.H. and Strauss, S. Y. (2010) More closely related species are more ecologically similar in an experimental test. *PNAS* Vol. 108 N° 13.
- Campbell, F.T. and Schlarbaum, S. (1994) *Fading forests: North American trees and the threat of exotic pests*. Natural Resources Defense Council, New York.
- Caño, L; Escarré, J. & Sans, F.X. (2007) Factors affecting the invasion success of *Senecio inaequidens* and *S. pterophorus* in Mediterranean plant communities. *Journal of Vegetation Science*, 18 : 281 – 288.
- Casasayas, T. (1989) *La flora al·lòctona de Catalunya. Catàleg raonat de les plantes vasculares exòtiques que creixen sense cultiu al NE de la Península Ibèrica*. Dissertation, Universitat de Barcelona, Barcelona.

- Castells, E.; Morante, M.; Blanco-Moreno, J. M.; Sans, F. X.; Vilatersana, R. and Blasco-Moreno, A. (2013) Reduced seed predation after invasion supports enemy release in a broad biogeographical survey. *Oecologia* 173: 1397 – 1409.
- Castells, E.; Morante, M.; Goula, M.; Pérez, N.; Dantart, J. and Escolà, A. (2014) Herbivores on native and exòtic *Senecio* plants: is host switching related to plant novelty and insect diet breadth under field conditions? *Insect Conservation and Diversity*.
- Chamorro, L.; Caballero, B.; Blanco-Moreno, J.M.; Caño, L.; Garcia-Serrano, H.; Masalles, R.M. and Sans, F.X. (2006) Ecología y distribución de *Senecio pterophorus* (Compositae) en la Península Ibérica. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 53, 55-62.
- Cincotta, C.L.; Adams, J. L. and Holzapfel, C. (2009) Testing the enemy release hypothesis: a comparison of foliar insect herbivory of the exotic Norway maple (*Acer platanoides* L.) and the native sugar maple (*A. saccharum* L.). *Biological Invasions* 11 : 379 – 388.
- Colautti, R.I.; Ricciardi, A.; Grigorovich, I.A. and MacIsaac, H.J. (2004) Is invasion success explained by the enemy release hypothesis? *Ecology Letters* 7:721-733.
- Desouhant, E.; Debouzie, D. and Menu, F. (1997) Oviposition pattern of phytophagous insects: on the importance of host population heterogeneity. *Oecologia* 114 : 382 – 388.
- Dicke, M. (2000) Chemical ecology of host-plant selection by herbivorous arthropods: a multitrophic perspective. *Biochemical Systematics and Ecology* 28, 601 – 617.
- Ernst, W.H.O. (1998) Invasion, dispersal and land ecology of the South African neophyte *Senecio inaequidens* in The Netherlands: from wool alien to railway and road alien. *Acta Botanica Neerlandica*, 47, 131-151.
- Fry, H.R.; Quirin, D.T; Ryall, K.L and Dixon, P.L. (2009) Influence of intra-tree variation in phenology and oviposition site on the distribution and performance of *Ennomosubsignaria* on mature sycamore maple. *Ecological Entomology*, 34, 394 – 405.
- Graves, D.S. and Shapiro A.M. (2003) Exotics as host plants of the California butterfly fauna, *Biological conservation* 110, 413 – 433.
- Hall, D.B. (2000) Zero-inflated Poisson and binomial regression with random effects: A case study. *Biometrics* 56:1030-1039.
- Harvey, K.J.; Nipperess, D.A.; Britton, D. R. and Hughes, L. (2013) Does time since introduction influence enemy release of an invaded weed? *Oecologia*.doi:10.1007/s00442-013-2633-8.
- Hawkes, C.V.; Douglas, A.E. and Fitter, A.H. (2010) Origin, local experience, and the impact of biotic interactions on native and introduced *Senecio* species. *Biological Invasions* 12:113-124.

- Jacquemart, A-L., Vanparys, V.; Meerts, P. (2013) Generalists versus specialists herbivores on the invasive *Senecio inaequidens* and a native related species: what makes the difference? *American Journal of Plant Science* 4, 386 – 394.
- Jaenike, J. (1990) Host specialization in phytophagous insects. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 21, 243 – 273.
- Katsanevakis, S.; Salomidi, M. and Panou, A. (2010) Modelling distribution patterns and habitat preference of the invasive green alga *Caulerparacemosa* in the Saronikos Gulf (Eastern Mediterranean). *Aquatic Biology*, Vol. 10 : 57 – 67.
- Keane, R.M. and Crawley, M..J. (2002) Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis. *Trends in Ecology and Evolution*, 17, 164-170.
- Kolar, C.S. and Lodge, D.M. (2001) Progress in invasion biology: predicting invaders. *Trends in Ecology & Evolution* 16:199-204.
- Kolb A, Ehrlén J, Eriksson O (2007) Ecological and evolutionary consequences of spatial and temporal variation in pre-dispersal seed predation. *Perspect Plant Ecol* 9:79–100.
- Liu, H., Stiling, P. and Pemberton R. W. (2007) Biological invasions, 9 : 773 – 781.
- Louda S. M. (1982) Limitation of the recruitment of the shrub *Haplopappussquarrosus* (Asteraceae) by flower- and seed feeding insects. *J. Ecol.* 70, 43–53.
- Louda, S.M. and Potvin M.A. (1995) Effect of inflorescence-feeding insects on the demography and lifetime fitness of native plant. *Ecology*, 76 (1) 229 – 245.
- Macel, M. and Vrieling, K. (2003) Pyrrolizidine alkaloids as oviposition stimulants for the cinnabar moth, *Tyriajacobaeae*. *Journal of Chemical Ecology*, Vol. 29, No. 6.
- Macel, M.; Bruinsma, M., Dijkstra, S.M.; Ooijendijk, T.; Niemeyer, H.M. and Klinkhamer, P.G.L (2005) Differences in effects of pyrrolizidine alkaloids on five generalists insect herbivore species. *Journal of Chemical Ecology*, Vol. 31, No.7.
- Maron, J.L. and Vilà, M. (2001) When do herbivores affect plant invasion? Evidence for the natural enemies and biotic resistance hypotheses. *Oikos* 95:361-373.
- Maron, J.L.;Combs, J.K. and Louda, S.M., 2002. Convergent demographic effects of insect attack on related thistles in coastal vs. continental dunes. *Ecology* 83, 3382–3392.
- Martin, T.G.; Wintle, B. A.; Rhodes, J. R.; Kuhnert, P. M.; Field, S. A.; Low-Choy, S. J.; Tyre, A. J. and Possingham, H. P. (2005) Zero tolerance ecology: improving ecological inference by modelling the source of zero observation. *Ecology letters* 8 : 1235 – 1246.
- Maurel,N.; Fujiyoshi, M.; Muratet, A.; Porcher, E.; Motard, E.; Gargominy, O. and Machon, N. (2013) Biogeographic comparisons of herbivore attack growth and impact of Japanese knotweed between Japan and France. *Journal Ecology*, 101, 118 – 127.

- Miller, K. E. and Gorshov, D. L. (2004) The invasive shrub, *Lonicera maackii*, reduces growth and fecundity of perennial forest herbs. *Oecologia* 139 : 359 – 375.
- Mooney, H.A. and Cleland, E. E. (2001) The evolutionary impact of invasive species. *PNAS*. Vol 98. n° 10, pp. 5446–5451.
- Mopper S. and Simberloff D. (1995) Differential herbivory in an oak population: The role of plant phenology and insect performance. *Ecology*, Vol. 76, No. 4, pp. 1233-124.
- Morante, M.; Escolà, A. and Castells, E. (2014) Paper dels insectes en l'èxit d'invasió de *Senecio inaequidens* i *S. pterophorus* al Parc Natural del Montseny. VIII Monografies del Montseny, p. 229 – 238. Diputació de Barcelona.
- Morse, L.E.; Kartesz J.T. and Kutner L.S. (1995) Our living resources: A report to the nation on the distribution, abundance and health of U.S. plants, animals and ecosystems. In: La Roe ET, Farris GS Puckett CE, Doran PD, Mac MJ (eds) U.S. Department of the Interior, National Biological Service, Washington, pp205-209.
- Parker, J.D. and Hay, M.E. (2005) Biotic resistance to plant invasions? Native herbivores prefer non-native plants. *Ecol Lett* 8:959-967.
- Pino, J.; Afán, I.; Sans, F.X. and Gutiérrez, C. (2000) *Senecio pterophorus* DC., A new alien species in the European mainland. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 58:188-189.
- Rauschert, E. S. J.; Mortensen, D. A.; Bjornstad, O. N.; Nord, A. N. and Peskin N. (2009) Slow spread of the aggressive invader, *Microstegium vimineum* (Japanese stilgrass). *Biological invasions* 12 : 563 – 579.
- Richardson, D.M.; Pyšek, P.; Rejmánek, M.; Barbour, M.; Panneta, F.D. and West, C. (2000) Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. *Diversity and Distribution* 6:93-107.
- Russell, F. L. And Louda, S. M. (2004) Phenological synchrony affects interaction strength of an exotic weevil with *Plattale thistle*, a native host plant. *Oecologia*, 139 : 525 – 534.
- Smith, L. M. (2013) Extended leaf phenology in deciduous forest invaders: mechanisms of impact on native communities. *Journal of vegetation science* 24, 979 – 987.
- Spotswood, E. N.; Meyer, J. and Bartolome, J.W. (2012) An invasive tree alters the structure of seed dispersal networks between birds and plants in french Polynesia. *Journal of biogeography* 39, 2007 – 2020.
- Sol, D.; Maspons, J.; Vall-llosera, M., Bartomeus, I.; Garcia-Peña, G.E.; Piñol, J. and Freckleton, R. P. (2012) Unraveling the life history of successful invader. *Science*. Vol. 337 n°6094. pp.. 580 – 583.
- Strubbe, D. Matthysen, E. and Graham, C. H. (2010) Assessing the potential impact of invasive ring-necked parakeets *Psittacula krameri* on native nuthatches *Sitta europaea* in Belgium. *Journal of applied ecology*, 47, 549 – 557.

- Suwa, T. and Louda, S.M. (2012) Combined effects of plant competition and insect herbivory hinder invasiveness of an introduced thistle. *Oecologia* 169: 467 – 476.
- Thompson, D.Q.; Stuckey, R.L. and Thompson E.B. (1987) Spread, impact and control of purple loosestrife (*Lythrum salicaria*) in North American wetlands. U.S. Fish and Wildlife Service, Washington DC.
- Verhoeven, K.J.F.; Biere, A.; Harvey, J.A. and Van der Putten, W.H. (2009) Plant invaders and their novel natural enemies: who is naïve? *Ecol Lett* 12:107-117.
- Vitousek, P.M.; D'Antonio, C.M.; Loope, L.L. & Westbrooks, R. (1996) Biological invasions as global environmental change. *American Scientist* 84:468-478.
- Yesilova, A.; Kaydan, M.B. and Kaya, Y. (2010) Modeling insect-egg data with excess of zeros using zero-inflated regression models. *Hacettepe Journal of Mathematics and Statistics* Vol. 39 (2), 273 – 282.
- Yoshioka, A.; Kadoya, T.; Suda, S. and Washitani, I. (2009) Impacts of weeping lovegrass (*Eragrostis curvula*) on native grasshoppers: responses of habitat generalist and specialist species. *Biological invasions* 12 : 531 – 539.
- Vrieling, K. and de Boer, N. J. (1999) Host – plant choice and larval growth in the cinnabar moth: do pyrrolizidine alkaloids play a role? *Entomologia Experimentalis et Applicata* 91 : 251 – 257.
- Welsh, A. H.; Cunningham, R. B.; Donnelly, C. F. and Lindenmayer, D. B. (1996) Modelling the abundance of rare species: statistical models for counts with extra zeros. *Ecological modelling* 88, 297 – 308.
- Williamson, M. and Alastair, F. (1996) The Varying success of invaders. *Ecology*, Vol. 77, No.6, pp.1661 – 1666.
- Wink, M. (1988) Plant breeding: importance of plant secondary metabolites for protection against pathogens and herbivores. *Theoretical and applied genetics*, 75 : 225 – 233.
- Zuur, A. F.; Ieno, E.N.; Walker, N.; Saveliev, A. A. and Smith, G. M. (2009) Mixed effects models and extensions in ecology in ecology with R, Statistics for biology and health. Springer Science & Business Media.

Supplementary information

Table S1. Post-hoc comparisons between months for the two natives *S. vulgaris* and *S. lividus*, and the exotic *S. inaequidens* by total seed heads produced and damaged by *Sphenella marginata*. A Tukey correction was applied.

Variable	Total heads		Damaged heads	
	<i>t</i> -value	<i>p</i> -value	<i>t</i> -value	<i>p</i> -value
<i>S. vulgaris</i>				
IV x V	-5.06	<0.0001	-	-
IV x VI	-1.77	0.182	-	-
V x VI	0.59	0.825	-0.75	0.456
<i>S. lividus</i>				
IV x V	-8.71	<0.0001	-	-
IV x VI	-10.49	<0.0001	-	-
IV x VII	-7.54	<0.0001	-	-
V x VI	-9.16	<0.0001	-10.36	<0.0001
V x VII	-0.03	1.000	0.40	0.915
VI x VII	2.92	0.019	3.62	0.001
<i>S. inaequidens</i>				
V x VI	-8.87	<0.0001	-	-
V x VII	-11.77	<0.0001	-	-
V x VIII	-8.13	<0.0001	-	-
V x IX	-4.20	0.001	-	-
V x X	-7.11	<0.0001	-	-
V x XI	-11.58	<0.0001	-	-
V x XII	-9.71	<0.0001	-	-
VI x VII	-4.07	0.001	-0.84	0.981
VI x VIII	0.75	0.995	2.85	0.069
VI x IX	5.82	<0.0001	4.75	<0.0001
VI x X	2.05	0.448	4.83	<0.0001
VI x XI	-3.88	0.003	2.88	0.062
VI x XII	-1.56	0.776	4.19	0.001
VII x VIII	4.79	<0.0001	3.36	0.015
VII x IX	9.94	<0.0001	5.03	<0.0001
VII x X	5.88	<0.0001	5.10	<0.0001
VII x XI	-0.39	0.999	3.40	0.013
VII x XII	2.19	0.358	4.55	0.000
VIII x IX	5.66	<0.0001	2.24	0.276
VIII x X	1.45	0.832	2.21	0.291
VIII x XI	-4.89	<0.0001	-0.03	1.000
VIII x XII	-2.39	0.246	2.38	0.208
IX x X	-4.29	0.000	-0.10	1.000
IX x XI	-9.85	<0.0001	-2.24	0.274
IX x XII	-7.30	<0.0001	0.69	0.993
X x XI	-5.97	<0.0001	-2.21	0.289
X x XII	-3.49	0.012	0.78	0.987
XI x XII	2.59	0.160	2.40	0.200

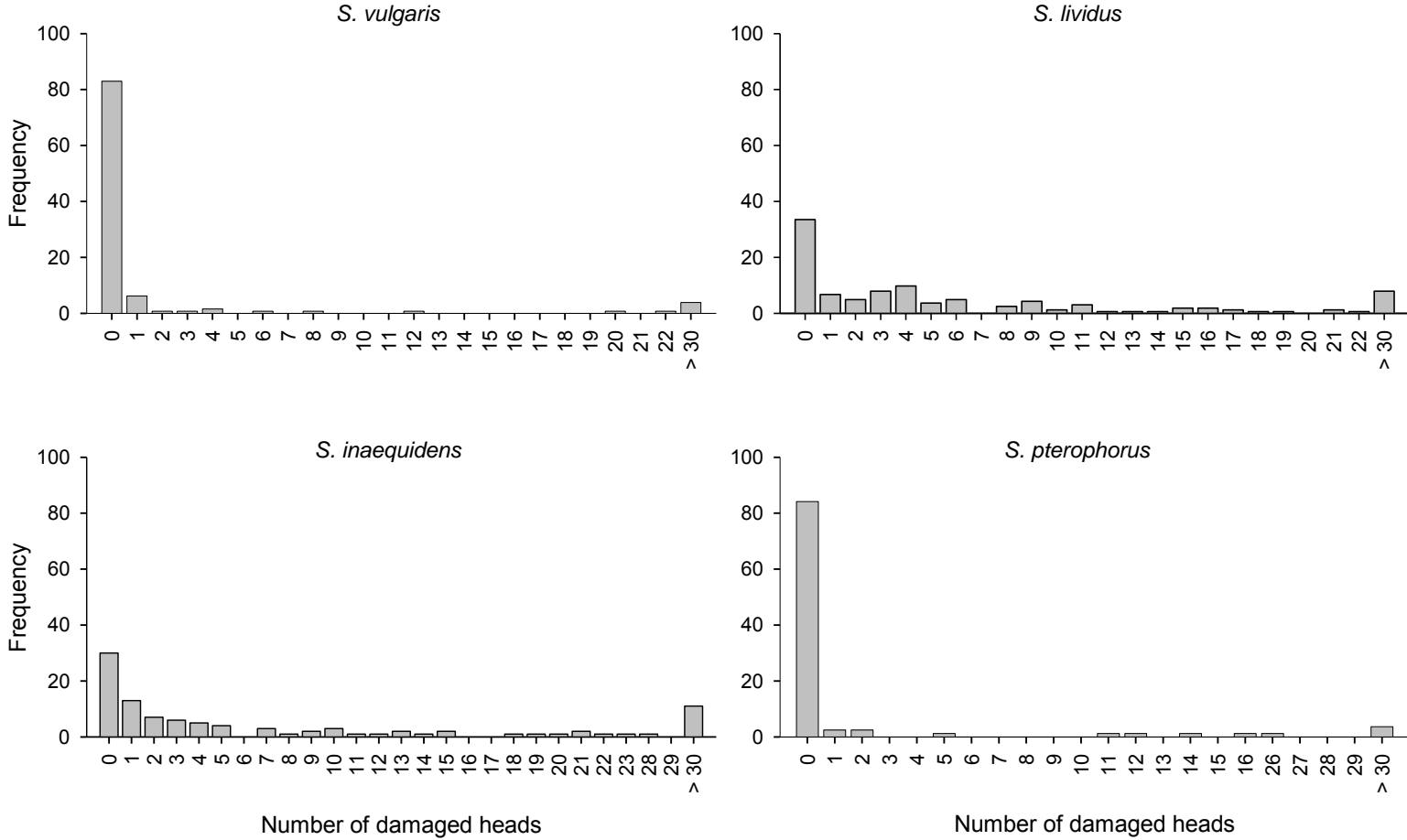


Fig. S1 Frequency of damaged seed heads recorded for *S. vulgaris* (a), *S. lividus* (b), *S. inaequidens* (c) and *S. pterophorus* (d) showing an excess of zero values.

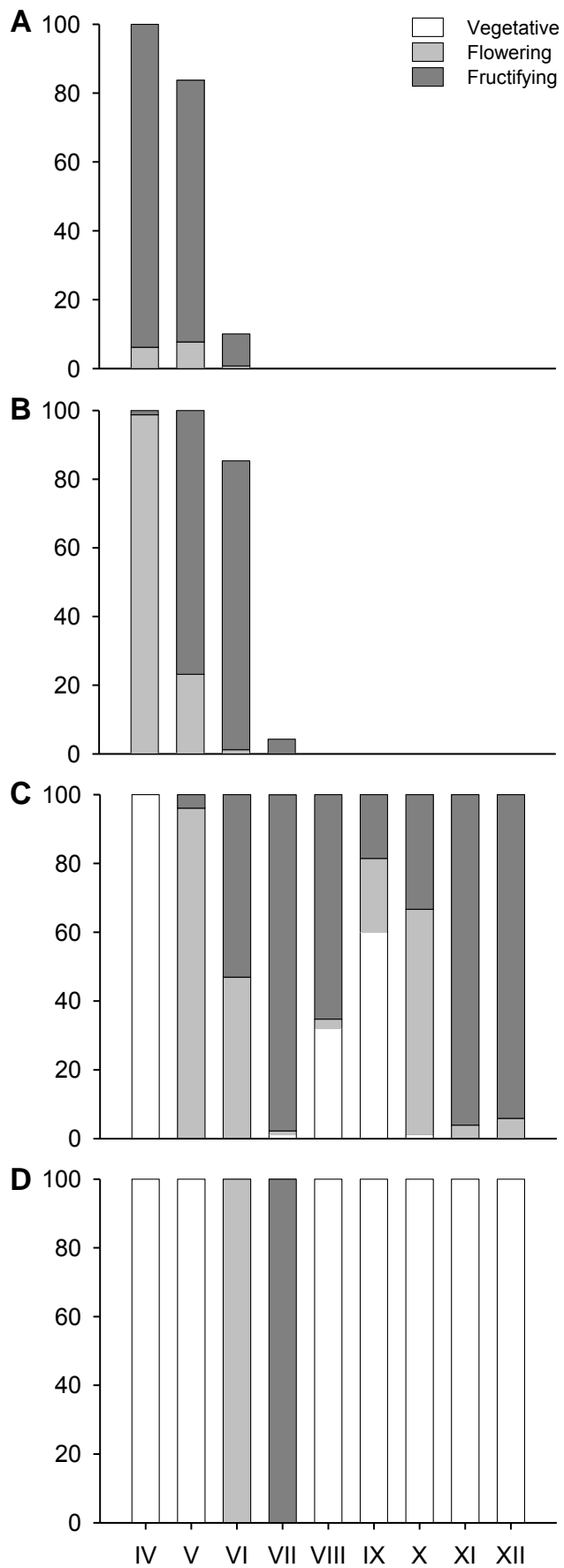


Fig. S2 Distribution of plant phenology in two native (*S. vulgaris*, *S. lividus*) and two exotic species (*S. inaequidens* and *S. pterophorus*). Bars represent the percentage of individuals at vegetative, flowering or fructifying stage.

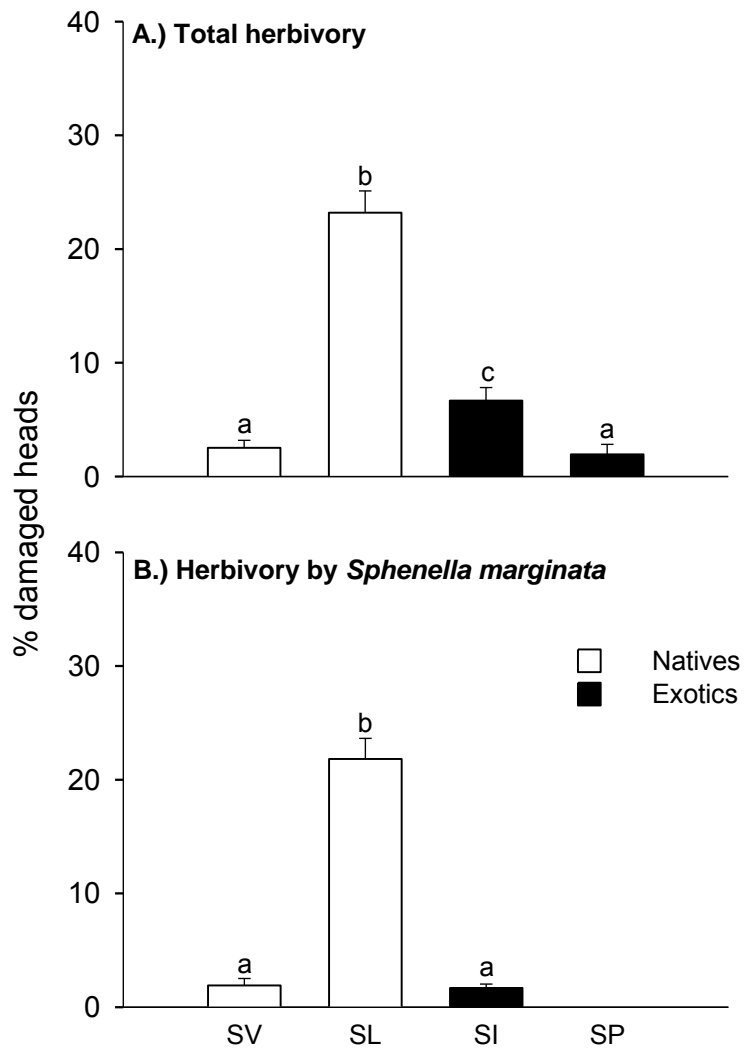


Fig. S3 (a) Total herbivory and (b) herbivory by *Sphenella marginata* estimated as the percentage of damaged heads (mean \pm SE) on two native, *S. vulgaris* (SV) and *S. lividus* (SL), and two exotic species, *S. inaequidens* (SI) and *S. pterophorus* (SP) during all reproductive plant period. Statistical analyses were performed using a Unianova test. Different letters indicate significant differences at $P < 0.05$.

Capítol 4 / Chapter 4:

Plant size, but not chemical defenses, predicts intraspecific variation in herbivory in native and exotic *Senecio* species under field conditions

Maria Morante, Anabel Blasco-Moreno, Eva Castells

Abstract

Secondary metabolites are recognized as fundamental to the defense of plants against herbivores. However, under field conditions, herbivory also can be influenced by other potential defensive plant traits (e.g. physical resistance, morphology) and by other insect competitors sharing the same host species. Despite their importance, these traits are rarely considered together. Here, we analyze one chemical trait (pyrrolizidine alkaloids), one morphological trait (plant size) and one ecological trait (the presence of insect competitors) to answer how these traits together affect herbivory in two native species (*Senecio vulgaris* and *S. lividus*) and two exotic species (*S. inaequidens* and *S. pterophorus*) co-occurring under natural conditions. We found no association between the concentrations of chemical defenses and the levels of herbivory while plant size strongly predicted herbivory. Thus, smaller plants were more resistant to arthropod herbivory than larger plants, regardless their chemical composition. Our results highlight the complexity of host selection mechanisms under natural conditions.

Introduction

Plants synthesize a wide array of secondary metabolites (e.g. alkaloids, phenolics, glucosides or terpenoids) that have deterrent and toxic effects against herbivores and influence host selection and feeding patterns (Ehrlich and Raven, 1964; Sachdev – Gupta, 1990; Hartmann, 1996, 1999; Shinoda et al., 2002; Macel and Vrieling, 2003). This extraordinary chemical diversity at interspecific and intraspecific levels is thought to be result of the natural selection exerted by herbivores (Futuyma and Agrawal 2009). Chemical profile and concentrations of secondary metabolites are highly variable at intraspecific and intrapopulation level (Berenbaum and Zangerl, 1986; Witte et al., 1992; Moore et al., 2014; Castells et al. 2014b). These differences, which are genetically based but shaped by the plant environment, may confer a differential resistance against herbivores in plants within a population (Berenbaum et al., 1986; Castells et al., 2005; Zangerl and Berenbaum, 2005). Indeed, the role of plant secondary metabolites as regulators of the interactions between plants and herbivores has been a main focus of chemical ecology since the early studies in coevolution (Ehrlich and Raven, 1964).

Recent studies, however, have questioned that chemical defenses are the predominant plant resistance mechanism against herbivory (Carmona et al., 2011; Schuldt et al., 2012; Cárdenas et al., 2014). For example, herbivory damage on 28 tropical tree species was related to physical plant traits, such as toughness, and plant phenology but not to concentrations of tannins or latex (Cárdenas et al., 2014). Similarly, a meta-analysis estimating the correlations between herbivory and genetically determined traits within 40 plant species also found that the susceptibility of phytophagous insects from various feeding strategies (chewers, browsers and endophytes) was significantly related with variation in plant phenology, growth rate, gross morphological traits (e.g. plant size, number of branches) and physical defenses (e.g. trichomes) but not with secondary metabolites (Carmona et al., 2011). There are increasing evidences that plant resistance may be determined by a combination of chemical, physical and ecological traits, rather than the effects of a single key trait (Rassman and Agrawal, 2009; Agrawal, 2011). Probably, the abundance of experimental work on plant-herbivore interactions conducted in laboratory conditions, such as choice and non-choice cafeteria experiments, has contributed to give a stronger focus on the plant chemistry over other traits. Nevertheless, to understand how plant resistance has been configured under the complexity of natural conditions the role of chemical defenses should be evaluated in a broader context. Under natural conditions, plants are generally damaged by several herbivores simultaneously.

Accordingly, herbivore host selection can be also affected by the presence of insect competitors feeding on the same individual plants.

The consumption by an herbivore may induce responses on host plants such as chemical or physiological changes (i.e. alter nutritional quality and palatability, increase toxicity, or even modify architecture, phenology, and physiology of host plant) that can reduce or facilitate herbivory (Danell et al. 1985; Karban, 1989; Tallamy and Raupp, 1991; Alonso and Herrera, 1996; Karban and Baldwin, 1997; Inbar et al., 1999). Consequently these changes may affect patterns of oviposition or damage of other herbivores. For example plants browsed by an early season herbivore were later less attacked by seed flies and caterpillars than plants receiving no browsing (Juenger and Bergelson, 1998). On the other hand, feeding herbivores may produce chemical signals that can be picked up by competitor herbivores, which may use them in locating new host plants (Pallini et al. 1997; Dicke 2000). Thus, field surveys offer a more realistic approach than laboratory bioassays to understand the relative importance of resistance traits on regulating plant-herbivore interactions because on the ecological context.

Senecio (Compositae) comprises *ca* 1250 species worldwide and is one of the largest genera of flowering plants (Nordenstam, 2007). In Europe, *Senecio* is represented by more than 200 indigenous species (Royal Botanic Garden Edinburgh, 2012) and 10 exotic species (DAISIE European Invasive Alien Species Gateway, 2008). The genera *Senecio* produce pyrrolizidine alkaloids (PAs), nitrogen-based secondary metabolites that are acutely toxic, genotoxic and teratogenic for vertebrates, including humans, and invertebrates (Frei et al. 1992; Chen et al. 2010; Cheng et al. 2011; Wiedenfeld and Edgar, 2011; EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain, 2011; Trigo, 2011; Nuringtyas et al., 2014). These compounds have been traditionally considered plant chemical defenses against herbivores (Hartmann, 2008).

Here we aimed to evaluate the defensive role of PAs against herbivory at intraspecific level together with one morphological trait (plant size) and one ecological trait (the presence of insect competitors) under natural conditions in two native *Senecio* (*S. vulgaris* and *S. lividus*) and two exotics (*S. inaequidens* and *S. pterophorus*) coexisting in the same habitats in Montseny Natural Park (Barcelona, Spain). According to the defensive traits and herbivore susceptibility described before we expect to find lower levels of herbivory in plants with higher levels of PAs, smaller size and not associated with insect competitors.

Materials and Methods

The study was conducted at Montseny Natural Park (2°16'E 41°42' N; NE), 60km NE of Barcelona (Catalonia, Spain). Two native *Senecio* species (*Senecio vulgaris* L. and *S. lividus*) and two exotic species (*S. inaequidens* and *S. pterophorus*) that co-occurring the Natural Park were chosen for this study. *S. vulgaris* and *S. lividus* are annual plants native to Eurasia. *S. inaequidens* and *S. pterophorus* are perennial shrubs native to South Africa and present in the study area since 1990s. *S. inaequidens* was accidentally introduced to North Europe around 1889 by wool commerce (Ernst 1998) and entered into the Iberian Peninsula in 1984, probably extended from populations in Southern France (Casasayas, 1989). *S. pterophorus* was first found in continental Europe during the late 1980s in a textile industrial area near Barcelona, and is currently found in other parts of continental Europe, such as Liguria (NW Italy) (Castells et al., 2013).

After a literature review (Pino et al., 2000; Chamorro et al., 2006; Caño et al., 2007; Font, 2012) and prospective surveys in the Natural Park (Morante et al., 2014), we established 6 circular areas of 600 m diameter that contained the four *Senecio* species as survey locations. The survey locations were separated by at least 2 km at 500-900 m of altitude facing south (Table S1). By selecting survey areas in similar topological conditions we aimed that plants were subject to similar microclimate conditions and herbivore communities.

In April 2009 between 4 and 32 individual plants per species and location were labeled with plastic tags attached to the stem, with a total of 129 *S. vulgaris*, 164 *S. lividus*, 100 *S. inaequidens* and 81 *S. pterophorus* individuals. Plants were monitored for herbivory every 7 to 15 days covering the entire reproductive period of each individual (April to June for *S. vulgaris*, April to July for *S. lividus*, May to December for *S. inaequidens* and June to July for *S. pterophorus*). On each visit leaves and shoots were inspected for aphids and their abundance was estimated visually and classified into four levels: level 0, absence of aphids; level 1, up to one quarter of the plant affected; level 2, between one quarter and one half of the plant affected; and level 3, more than one half of the plant affected. Levels of aphid abundance obtained along the surveys were averaged by individual plant. Later, fructified heads were collected, counted and dissected longitudinally to determine the presence of damage or phytophagous insect feeding therein. The following categories were established: i) undamaged heads, ii) damaged heads with no predator present, iii) presence of an empty pupal case, iv) presence of a pupa, and v) presence of a larva. Finally, the dispersed seed heads were counted to estimate head production between visits and removed from the plant.

Most individuals of *S. pterophorus* and some of *S. inaequidens* had extremely high numbers of heads, and thus head production and herbivory was estimated from a subsample and extrapolated to the whole plant. Seeds were pooled by individual plant and kept for chemical analyses. The total number of heads produced during the whole reproductive period, including the dispersed and fructified heads, was used as an estimate of plant size. The seeds remaining from dissections were pooled by individual plants and kept for chemical analyses.

Pupae and larvae recovered during dissections were reared to adults for identification (Castells et al., 2014a). The most abundant phytophagous species were: 1) *Sphenella marginata* (Fällen, 1814) (Diptera: Tephritidae), a seed-feeder monophagous of *Senecio* (White, 1988), that was present in *S. vulgaris*, *S. lividus* and *S. inaequidens*, and 2) *Phycitodes albatella* (Ragonot, 1887) (Lepidoptera: Pyralidae), an oligophagous microlepidoptera previously reported on three genera of Asteraceae (*Crepis*, *Solidago* and *Senecio*) (Roesler, 1973), that was found in the exotics *S. inaequidens* and *S. pterophorus*. Herbivory intensity by *Sphenella marginata* and *Phycitodes albatella* was expressed as counts (i.e. the total number of heads damaged along the plant reproductive period) and as the percentage of damaged heads to the total head production.

Chemical analyses

Pyrrolizidine alkaloids (PAs) were analyzed from seeds following a modified method from Witte et al. (1993). Seeds were grinded in a mini-bead beater (Biospect Products, Bartlesville, OK) and extracted with 70% MeOH and 30% 1N HCl. PAs in N-oxide form were reduced with excess Zn for 3 h and hydrochlorides were then transformed into tertiary amines by basifying with 25% NH₄OH. PAs were extracted out with CH₂Cl₂. Monocrotaline (Sigma) was added at the initial extraction step as an internal standard. PAs were analyzed by gas chromatography coupled with a flame ionization detector (Agilent 6890) at Servei d'Anàlisi Químiques, Universitat Autònoma de Barcelona. Samples were injected in a capillary column (HP-1MS, 30m x 0.25mm x 0.25 μm) in a pulsed-split mode (1:10) and run at the following temperature program: initial temperature 150°C, ramp 4°C/min up to 245°C, ramp 20°C/min up to 300°C. Representative samples for each species were also analyzed by GC-MS (Agilent 6890 with mass spectrometer Agilent 5973) using the same column and temperature program detailed above. Kováts Retention indices (RI) were determined using AMDIS 2.69 (NIST, Gaithersburg, MD) by comparison with a set of hydrocarbons (C₉-C₃₆, Restek). PAs were identified by comparison with commercial standards (senecionine, seneciphylline and retrorsine; Sigma) and by their mass, fragmentation spectra and RI in comparison with

literature (White et al., 1993; Castells et al., 2014b). Concentrations of PAs were expressed as monocrotaline equivalents on a dry weight basis and total concentrations of an individual plant were calculated as the sum of all PAs.

Statistical analyses

Differences in total PAs concentrations across species were tested on a two-way ANOVA with species and locality as fixed and random factors respectively. Pairwise differences between species were tested using a Tukey HSD post-hoc test. Statistical analyses to test the effects of PAs, plant size and competitors on herbivory levels were conducted separately for each *Senecio* species. We first determined whether plants with and without herbivory differed in plant size, total PA concentrations and herbivory by insect competitors. We used linear mixed models with plant size or total PA concentrations as dependent variables, the presence or absence of overall predation (including damage on vegetative and reproductive parts), herbivory by *Sphenella marginata*, *Phycitodes albatella* or aphids as fixed factors, and locality as a random factor. To test the quantitative relationships between plant traits and herbivory we truncated the data due to the large number of cases without herbivory and thus we included only the cases where herbivory level was different from zero. These models aimed to determine the pairwise correlations between plant traits and herbivory intensity, but also between the different types of herbivores to test for competitiveness. We performed linear mixed models with plant size, PAs and herbivory levels by aphids, *Sphenella marginata* and *Phycitodes albatella* as factors and as dependent variables, and locality as a random factor. For those dependent variables showing significant relationships with more than one factor we then performed linear mixed models simplified by a backward elimination algorithm.

Finally, to determine the relationship between PA concentrations and herbivory controlling for the effect of plant size we divided the plants into four categories (quartiles) based on the number of heads. Linear mixed models were performed for each plant size category with herbivory (*Sphenella marginata*, *Phycitodes albatella* and/or aphids, depending on the plant species) as a dependent variable, PAs as a fixed factor and locality as a random factor. All variables were log transformed to meet normality. Plant size (total number of heads) was centred at the mean for each species. P-values were calculated based on Satterthwaite's approximation and significance was accepted at $P < 0.05$. Models were fitted using the R software (R Development Core Team, 2008).

Results

Pyrrolizidine alkaloids (PAs)

All four *Senecio* species contained PAs (Table 1). We found a total of 15 individual compounds all belonging to a retronecine type, as shown by the typical fragmentation spectra of this group with main fragments with mass 136, 20 and 93 (Castells et al., 2014b) (Table 1). Four of these compounds were present in all species: senecionine, seneciphylline, spartioidine and interregimine. Total PA concentrations varied across species ($F=380.5$, $p<0.001$, ANOVA) and localities ($F=4.95$, $p<0.001$, ANOVA) (Table 1, Fig. S1). *S. lividus* was the species with the lowest total PA concentrations (Table 1). Indeed, 18.3% of the *S. lividus* individuals showed no detectable levels of PAs. Concentrations of total PAs in the exotics *S. inaequidens* and *S. pterophorus* were between one and two orders of magnitude higher than concentrations in the natives *S. vulgaris* and *S. lividus* (Table 1). PAs were negatively related with plant size in *S. pterophorus*, but not in *S. lividus*, *S. vulgaris* and *S. inaequidens* (Table 2).

PAs and herbivory

Total PA concentrations were not related with herbivory within any *Senecio* species. Plants free from herbivores had similar PA concentrations than damaged plants (Fig. 1). When herbivore-free plants were removed from the statistical analyses (zero truncated data) herbivory was not quantitatively related with PA concentrations for any plant species or insect type (*S. marginata*, *P. albatella* and aphids) (Table 2). Because intraspecific differences in plant size could mask the effects of PAs on herbivory, we classified the individual plants in four separated categories by their size and tested the relationship of herbivory and PAs within each category. No relationship of PA concentration with herbivory was found for any species, size class and insect type, except for the abundance of aphids in *S. inaequidens* with an intermediate size (quartile Q3) which was negatively related with PAs ($t\text{-value} = -3.417$, $df = 26$, $p < 0.01$, GLMM) (Table S3).

Table 1. Chromatographic and spectrometric mass properties of pyrrolizidine alkaloids (PAs) and their concentrations ($\mu\text{g/g DM}$) from two native *Senecio* species (*S. vulgaris*, *S. lividus*) and two exotics (*S. inaequidens*, *S. pterophorus*). Concentrations correspond to the mean \pm se, nd= not detected. Different letters in Total PAs concentration indicate significant Tukey post-hoc differences between species at $p < 0.001$.

PAs	RI ¹	Mass ²	Fragment mass	Native species		Exotic species	
				<i>S. vulgaris</i> n = 89	<i>S. lividus</i> n = 71	<i>S. inaequidens</i> n = 85	<i>S. pterophorus</i> n = 71
Senecivernine	2265	335	136, 120, 93	1.8 \pm 1.1	nd	361.1 \pm 38.4	1.2 \pm 0.6
Senecionine	2276	335	136, 120, 93	30.2 \pm 3.3	15.1 \pm 2.2	202.0 \pm 35.5	137.5 \pm 30.2
Seneciphylline	2290	333	136, 120, 94	49.4 \pm 4.6	1.8 \pm 1.2	12.0 \pm 4.2	496.5 \pm 75.5
Spartioidine	2326	333	136, 120, 93	3.3 \pm 0.6	0.6 \pm 0.3	7.1 \pm 2.2	26.6 \pm 4.7
Interregimine	2334	335	136, 120, 93	3.4 \pm 0.7	10.8 \pm 2.7	92.1 \pm 14.1	4.7 \pm 1.4
Jacobine	2416	351	136, 120, 95	nd	nd	nd	5.6 \pm 2.1
Hydroxy-seneciphylline	2434	349	136, 120, 94	nd	nd	nd	12.8 \pm 2.5
Acetylseneciphylline	2460	375	136, 120, 94	nd	nd	nd	31.3 \pm 6.8
Unknown I	2499	351*	136, 120, 93	nd	nd	100.1 \pm 11.0	nd
Retrorsine	2515	351	136, 120, 93	40.2 \pm 7.2	nd	1877.3 \pm 191.0	37.4 \pm 5.4
Jaconine	2519	387	136, 120, 93	nd	nd	nd	32.7 \pm 3.7
Unknown II	2538	363*	136, 120, 93	nd	nd	10.1 \pm 2.3	nd
Unknown III	2547	369*	136, 120, 93	nd	nd	67.5 \pm 6.4	nd
Usaramine	2583	351	136, 120, 93	nd	nd	182.6 \pm 20.4	nd
Unknown IV	2607	393*	136, 120, 93	nd	nd	1.7 \pm 0.4	nd
Total PAs				182.2 \pm 14.5 ^a	28.3 \pm 5.3 ^b	2913.7 \pm 275.0 ^c	810.4 \pm 129.3 ^d

¹Retention index on a HP-1 column

²Tentative mass based on fragmentation spectra is indicated by *

Table 2. Estimates of linear mixed models between plant size (number of heads /individual, centred at the mean of each species), total pyrrolizidine alkaloid concentrations (PAs; ug/g DM) and herbivory levels by aphids, *Sphenella marginata* and *Phycitodes albatella* in two native (*Senecio vulgaris* and *S. lividus*) and two exotic plant species (*S. inaequidens* and *S. pterophorus*). Locality was included as a random factor. All variables were log-transformed. Asterisks indicate the significance of the t-statistic as *P<0.05, **P<0.01 and ***P<0.001. Significant effects of factors are indicated in bold.

	Plant size		PAs		Aphids		<i>Sphenella</i> (Counts)		<i>Sphenella</i> (%)		<i>Phycitodes</i> (counts)		<i>Phycitodes</i> (%)	
	Intercept	Factor	Intercept	Factor	Intercept	Factor	Intercept	Factor	Intercept	Factor	Intercept	Factor	Intercept	Factor
Dependent variables														
<i>S. vulgaris</i>														
PAs	4.552***	0.024			4.979***	-0.537	4.805**	-0.164	5.570***	-0.404				
Aphids	0.161	0.203**	0.926*	-0.084			§0.342	§0.097	§0.366	§0.099				
<i>Sphenella</i> (counts)	0.132	1.210***	4.922	-0.699	§1.608	§1.984								
<i>Sphenella</i> (%)	2.141***	0.209	4.564***	-0.444	§1.954*	§0.887								
<i>S. lividus</i>														
PAs	2.614*	-0.058			3.923***	1.072	2.273*	0.105	1.380	0.339				
Aphids	-0.944***	-0.014	-1.215***	0.109			-0.884***	-0.028	-0.831***	-0.034				
<i>Sphenella</i> (counts)	1.699***	0.819***	2.024***	0.020	1.995**	0.083								
<i>Sphenella</i> (%)	3.377***	-0.001	3.127***	0.074	3.183***	-0.111								
<i>S. inaequidens</i>														
PAs	7.752***	-0.078			7.588***	-0.119	7.688***	-0.010	7.770***	-0.111	7.487***	-0.028	7.405***	0.085
Aphids	-1.005**	-0.003	0.053	-0.141			-1.103**	0.177	-1.045*	0.132	-0.861*	0.043	-0.794*	-0.035
<i>Sphenella</i> (counts)	0.879*	0.637***	2.469	-0.153	1.693**	0.461					1.011	0.505*		
<i>Sphenella</i> (%)	1.239**	-0.363***	3.101	-0.289	1.014	0.089							0.783***	0.289*
<i>Phycitodes</i> (counts)	0.916***	0.431***	2.224	-0.169	1.141*	0.234	0.263	0.628**						
<i>Phycitodes</i> (%)	1.276***	-0.569***	-2.975	0.499	0.684*	-0.295			-0.169	0.697*				
<i>S. pterophorus</i>														
PAs	6.057***	-0.245**			6.165***	-0.100					6.773***	-0.260	6.122***	0.044
Aphids	-0.303	-0.021	-0.124	-0.040							-1.071	0.261	-2.366*	0.897
<i>Phycitodes</i> (counts)	2.634***	0.630	3.815	-0.255	3.510*	1.265								
<i>Phycitodes</i> (%)	1.388*	-0.370	1.414	0.034	2.583*	0.931								

§These coefficients correspond to a lineal model because only one population had herbivory by aphids and *S. marginata* different from zero.

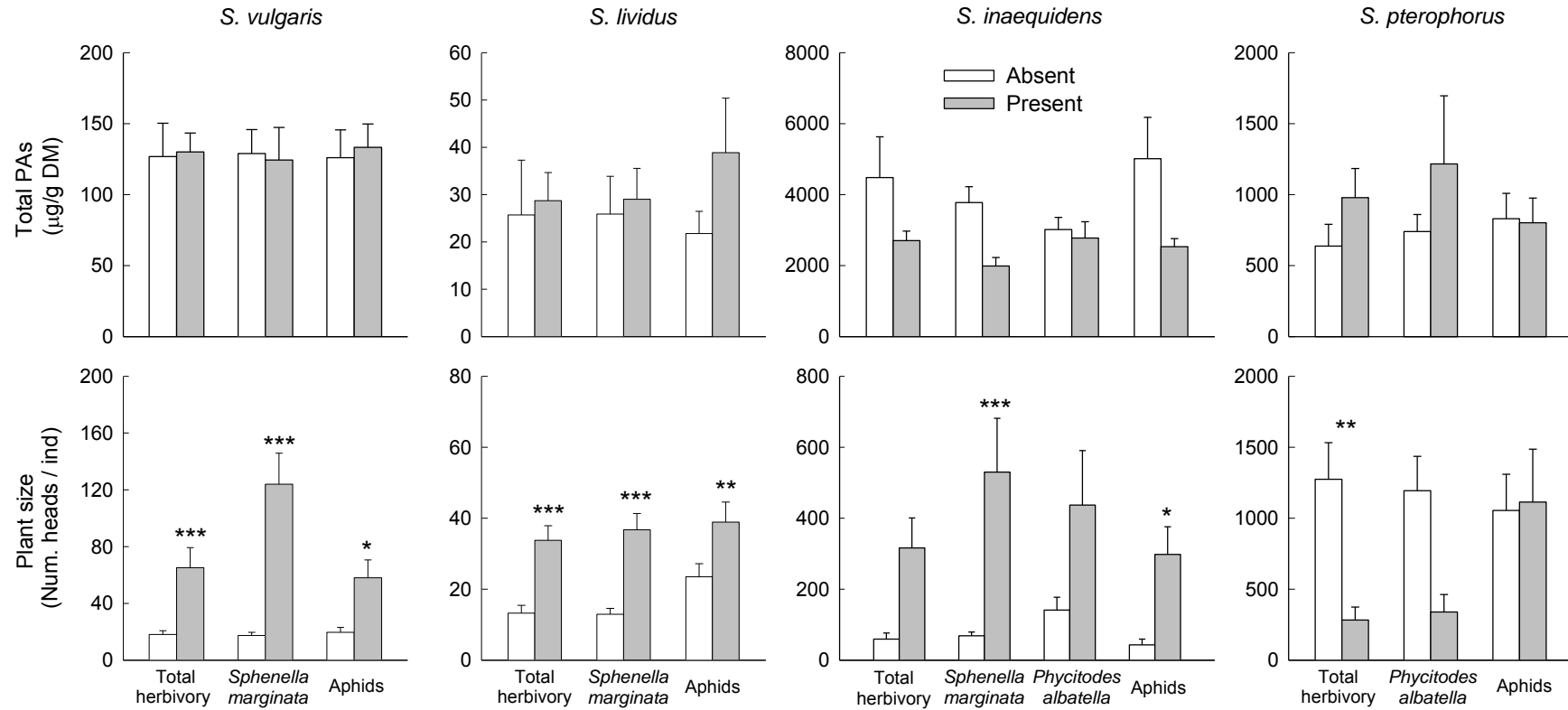


Fig. 1 Pyrrolizidine alkaloid concentrations(µg/mg DM) and number of heads from plants of two native (*S. vulgaris* and *S. lividus*) and two exotic species (*S. inaequidens* and *S. pterophorus*) free from herbivory and associated with herbivores, including overall herbivory, *Sphenella marginata* (Dipera: Tephritidae), *Phycitodes albatella* (Lepidoptera: Pyralidae) and aphids. Asterisks indicate the significance of the F-statistic as *P<0.05, **P<0.01 and ***P<0.001. Full statistic results are shown in Table S2.

Plant size and herbivory

S. vulgaris, *S. lividus* and *S. inaequidens* plants associated with *S. marginata* and aphids, as well as total herbivory in the native species, were significantly larger than herbivore-free plants (Fig. 1, Table S2). In *S. inaequidens*, damaged plants (total herbivory) and plants associated with *P. albatella* were also larger than plants without herbivory, but this trend was only marginally significant (Table S2). Plant size was also quantitative related with levels of *S. marginata* in *S. vulgaris*, *S. lividus* and *S. inaequidens*, and with aphids in *S. vulgaris* (Table 2). In *S. vulgaris* and *S. lividus* herbivory increased proportionally to plant size (estimate close to one) meaning that plants from all sizes were equally damaged. In *S. inaequidens*, however, plant size and abundance of *S. marginata* and *P. albatella* were positive related when herbivory was expressed as number of individuals per plant, but they were negatively related when herbivory was expressed as percentage (Table 2). These results indicate that herbivores had a preference for large host plants, but that insect abundance was not sufficient to saturate the available resource probably due to the large number of flower heads in *S. inaequidens* compared with the native species (Mean \pm SE: *S. lividus* 28 \pm 3.1; *S. vulgaris* 29 \pm 4.4; *S. inaequidens* 262 \pm 67.5) (Chapter 3). *S. pterophorus* was the only species where individual size was not related quantitatively with herbivory for any type of damage (Table 2). However, undamaged plants were larger than damage plants mostly due to the presence of *P. albatella*, showing an opposite trend than the rest of *Senecio* species (Fig. 1).

Insect competitors

The presence or absence of a type of herbivore did not affect the presence of competitors in any *Senecio* species (Table S2). Similarly, we found no quantitative relation between damage except for a positive correlation between levels of *S. marginata* and *P. albatella* in *S. inaequidens* (Table 2). The multivariate models including herbivory by *S. marginata*, *P. albatella* and plant size showed that the relationship between herbivores was partially driven by size, although the positive relation between *P. albatella* and *S. marginata* was maintained in some cases (Table 3).

Table 3. Multiple relationships between plant size and herbivory by *Sphenella marginata* and *Phycitodes albatella* expressed as the number of damaged heads (counts) and the relative damage to the total number of heads (%) in *S. inaequidens*. Asterisks indicate the significance of the t-statistic as *P<0.05, **P<0.01 and ***P<0.001. Significant effects of factors are indicated in bold.

Dependent variable	Factors	Estimate	Std.Error	df	t value	P
<i>Sphenella</i> (counts)	(Intercept)	0.298	0.332	6.1	0.898	0.403
	Plant Size	1.053	0.226	5.0	4.661	0.006 *
	<i>Phycitodes</i> (counts)	0.619	0.233	13.3	2.661	0.019 *
	Plant Size : <i>Phycitodes</i>	-0.209	0.091	10.9	-2.282	0.044 *
<i>Sphenella</i> (%)	(Intercept)	1.096	0.278	19	3.945	0.001 ***
	Size	-0.193	0.131	19	-1.466	0.159
	<i>Phycitodes</i> (%)	0.178	0.146	19	1.217	0.239
<i>Phycitodes</i> (counts)	(Intercept)	-0.656	1.218	19	-0.539	0.596
	Plant Size	0.240	0.296	19	0.811	0.427
	<i>Sphenella</i> (counts)	0.407	0.334	19	1.217	0.239
<i>Phycitodes</i> (%)	(Intercept)	-0.340	1.341	18	-0.254	0.802
	Plant size	0.051	0.210	18	0.242	0.811
	<i>Sphenella</i> (%)	2.704	0.812	18	3.331	0.004 **
	Plant size : <i>Sphenella</i>	-0.432	0.143	18	-3.015	0.007 *

Discussion

This study examined how pyrrolizidine alkaloids (PAs), plant size and insect competitors contributed to the intraspecific variation of herbivory in two native (*S. vulgaris* and *S. lividus*) and two exotic species (*S. inaequidens* and *S. pterophorus*) in a replicated field survey. PAs in native and exotic *Senecio* were not related with the natural guild of herbivores at intraspecific level. Plants free from enemies had similar total PA concentrations than damaged plants, and the intensity of damage in the latter was not related with PA concentrations. This trend was consistent for total herbivory and across insect types (the tephritid fly *Sphenella marginata*, the microlepidoptera *Phycitodes albatella* and various aphid species), suggesting that PAs did not increase the overall plant resistance in *Senecio*. This result is surprising because insects with a narrow diet breadth, such as the insect species present in our study, are expected to have a high capacity to differentiate host plant chemistry at the intraspecific level (Jaenike, 1990; Janz and Nylin, 1997). PAs are considered the most characteristic chemical defenses against vertebrate and invertebrate herbivores in *Senecio*, as well as in other genera such as *Eupatorium* (Asteraceae), *Heliotropium* (Boraginaceae) and *Crotalaria* (Fabaceae) (Hartmann, 1999). PAs produce a well-described liver toxicosis in vertebrates mediated by cytochromes P₄₅₀ that have caused acute and chronic poisoning in livestock and humans (Stegelmeier et al., 1999; Moyano et al., 2006; Molyneaux et al., 2011; Wiedenfeld and Edgar, 2011). In insects, these compounds are genotoxic and cytotoxic when tested on cell cultures (Frei et al., 1992; Li et al., 2013; Nuringtyas et al., 2014) and deterrent and toxic for herbivores (Trigo, 2011; Cheng et al., 2011; but see Macel et al., 2005), but they can also function as oviposition stimulants in some specialist herbivores, e.g. *Tyria jacobaeae*, adapted to sequester PAs for their own defense (Hartmann, 1999; Macel and Vrieling, 2003).

Studies performed under more realistic conditions, in the field or in experimental gardens naturally colonized by herbivores, also support the defensive role of PAs against specialist and generalist phytophagous insects, including *Aphis jacobaeae* and *Brachycaudus cardii* (Hemiptera) (Vrieling et al., 1991) and *Longitarsus jacobaeae* (Coleoptera) (Vrieling and van Wijk, 1994; Stastny et al., 2005), although PAs had also no effect on *Haplothrips senecionis* (Thysanoptera) (Vrieling and van Wijk, 1994) and even stimulated overall herbivore feeding (Macel and Klinkhamer, 2010).

That PA concentrations were not determinants for host selection in our study is also suggested by the patterns of host switching between native and exotic hosts. Regardless PA concentrations in *S. inaequidens* were between one or two orders of magnitude higher than *S.*

vulgaris and *S. lividus*, respectively, the specialist fly *S. marginata* shifted from the native hosts to *S. inaequidens* at a time when all three species were co-occurring in the field, reaching similar abundances than in *S. vulgaris* (Castells et al., 2014a). Additionally, *S. marginata* larvae developing on *S. inaequidens* had the same mass at pupal stage than individuals on growing in *S. vulgaris* (Castells et al., 2014a) and thus highest PA concentrations in *S. inaequidens* did not translate into lower performance. PA concentrations could neither explain the absence of *S. marginata*, the most abundant species in our system, in *S. pterophorus*; this plant species had lower PA concentrations compared with *S. inaequidens*. The assemblages of exotic plants with local herbivores could be inhibited by plant chemical defenses novel in the invaded habitat (Callaway and Ridenour, 2004). Toxicity of PAs strongly depends on the particular compounds and their synergistic interactions, and not only on the total concentrations (Castells et al., 2014b; Macel et al., 2011). Thus, we cannot exclude than differences in the PA composition of *S. pterophorus* compared to the other *Senecio* were involved in the apparent higher resistance of this plant species against *S. marginata*. An alternative explanation is that other secondary metabolites not analyzed here could be regulating the assemblages between local herbivores and native and exotic plants. For example, the sesquiterpenoids, eremophilanes, bisabolanes and calacols, that have been reported in many *Senecio* species and are deterrent and toxic for insects (Reina et al., 2012; Portero et al., 2012; Yang et al., 2011) could be adequate candidates to target in future studies.

Herbivory was neither influenced by the presence of insect competitors. The damage exerted by herbivores during consumption can change host quality and induce plant chemical signals that deter host selection by latter arriving competitors (Pallini et al., 1997; Dicke, 2000; Castells & Berenbaum, 2008; Gómez et al., 2014). This is not the case in our study because we found no significant effects between the presence of aphids, which were already present before the reproductive season, and flower head chewers (*S. marginata* and *P. albatella*) in *S. vulgaris*, *S. lividus* and *S. inaequidens*, indicating no competition between insects with different feeding strategies. Moreover, in *S. inaequidens*, the abundance of *P. albatella* and *S. marginata* was positively related despite they shared the same resource and that *P. albatella* was present later in the season than *S. marginata* (Castells et al., 2014; Morante et al., unpublished see Chapter 3). One explanation for this lack of negative interaction between competitors is that plant resources were not limiting. That larger *S. inaequidens* individuals received proportionally less herbivory compared with the smaller individuals suggests that herbivores did not saturate the available resources.

In contrast to the lack of effects of PAs and insect competitors, we found a strong relationship between herbivory and plant size (estimated as number of flower heads) across all insect types within *S. vulgaris*, *S. lividus* and *S. inaequidens*. Thus, larger plants were most preferred by herbivores than smaller plants in all species, except for *S. pterophorus* where no consistent trends were found. Our results are in agreement with the Plant Vigor Hypothesis, which predicts an increased abundance of herbivores in the most vigorous plants, i.e. plants with larger size or rapid growth rate (Price, 1991; Cornelissen et al., 2008). According with this hypothesis herbivores may prefer larger plants because they provide an environment with more food resources and higher food quality (Price, 1991). Plant vigor, estimated as number of leaves or rosette diameter, contributed significantly to the levels of herbivory in *Jacobaea vulgaris* (previously *Senecio jacobaea*) (Stastny et al., 2005; Macel and Klinkhamer, 2010; Cheng et al., 2011) although, in contrast with our results, these studies found a negative effect of PAs on herbivore damage. To determine whether the strong effects of plant size were masking potential effects of PAs we classified plant size in four quartiles by their size; PA concentrations were not related with herbivory in any plant species, the only exception being the significant negative correlation between aphid abundance and PAs for a medium size *S. inaequidens* plants. Interestingly, similar results were found between the native species *S. vulgaris* and *S. lividus* and the exotic species *S. inaequidens*, even though these species differ not only in their origin (native vs. exotic) but also in their life history strategies (annual vs. perennial). An exception was *S. pterophorus*, since herbivory was not related to any of the measured plant traits, and it might be due to low number of plants associated with herbivory (Castells et al., 2013; Castells et al., 2014a; Morante et al., unpublished see chapter 3).

Conclusions

Plant secondary metabolites are widely recognized as important traits regulating herbivore preference and performance. However, the relative importance of PAs, the most characteristic chemical defenses in *Senecio* and well-known for their toxic effects was negligible compared with plant size. Plant chemical defenses are maintained over time because the benefits on enhancing fitness by reducing herbivory damage are higher than the costs associated to their synthesis (Rhoades, 1979; Simms and Rausher, 1987; Zangerl and Berenbaum, 1997). However, the balance between cost and benefits of defenses should consider not only the actual damage but also the behavioral effect that defenses will exert on those herbivores that will reject to consume the plant due to its toxicity (Hamilton et al., 2001). The production of PAs in *Senecio* may thus be regulated according to the risks of consumption by organisms other than the specialist insects found here, which could include root and leaf insects chewers, non-arthropod herbivores, pathogens or predators (Tinney et al., 1998; Silva and Trigo, 2002; Trigo, 2011). Unfortunately, insufficient studies have evaluated the role of PAs as chemical defenses when accounting for the complexity and idiosyncrasy of natural conditions. The combination of various methodological approaches, from the feeding bioassays to the study of the natural variation in the field, can help understanding not only to the potential role of phytochemicals as chemical defenses but also on their ecological relevance in more complex and realistic contexts (Agrawal, 2011).

Acknowledgments

We thank Anna Escolà, Pere Losada, and Jose Manuel Blanco-Moreno for field assistance. This research was conducted thanks to the financial support provided to E.C. by Ministerio de Ciencia e Innovación (Spain) (GCL2008-02421/BOS) and Ministerio de Economía y Competitividad (Spain) (GCL2011-29205). MM had a predoctoral fellowship (FPI) from Ministerio de Ciencia e Innovación (Spain).

References

- Alonso, C. & Herrera, C. M. (1996) Variation in herbivory within and among plants of *Daphne laureola* (Thymelaeaceae) : correlation with plant size and architecture. *Journal of Ecology* 84, pp. 495 – 502.
- Agrawal, A.A. (2011) Current trends in the evolutionary ecology of plant defence. *Functional Ecology*, 25, 420–432.
- Berenbaum, M.,R. and Zangerl, A.R.(1986) Variation in seed furanocoumarin within the wild parsnip (*Pastinaca sativa*). *Phytochemistry* 25 (3): 659-661.
- Berenbaum, M.R.; Zangerl, A.R. and Nitao, J.K. (1986) Constrains on chemical coevolution : Wild parsnips and the parsnip webworm. *Evolution*, 40 (6) pp. 1215 – 1228.
- Callaway, R. M. and Ridenour, W. M. (2004). Novel weapons: invasive success and the evolution of increased competitive ability. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2(8), 436-443.
- Caño, L.; Escarré, J. and Sans, F. X. (2007) Factors affecting the invasion success of *Senecio inaequidens* and *S. pterophorus* in Mediterranean plant communities. *Journal of Vegetation Science* 18 : 281- 288.
- Cárdenas, R. E.; Valencia, R.; Kraft, N. J. B.; Argoti, A. and Dangles, O. (2014) Plant traits predict inter- and intraspecific variation in susceptibility to herbivory in a hyperdiverse Neotropical rain forest tree community. *Journal of Ecology*, 102: 939–952.
- Carmona, D.; Lajeunesse, M.J. and Johnson, M.T.J. (2011) Plant traits that predict resistance to herbivores. *Functional Ecology*, 25, 358 – 367.
- Casasayas, T. (1989) La flora al·lòctona de Catalunya. Catàleg raonat de les plantes vasculars exòtiques que creixen sense cultiu al NE de la Península Ibèrica. Dissertation, Universitat de Barcelona, Barcelona.
- Castells, E.; Berhow, M.A.; Vaughn, S. F. and Berenbaum, M.R. (2005) Geographic Variation in Alkaloid Production in *Conium maculatum* Populations Experiencing Differential Herbivory by *Agonopterix alstroemeriana*. *Journal of Chemical Ecology*. Volume 31. Issue 8, pp. 1693 – 1709.
- Castells, E. and Berenbaum, M.R. (2008) Host plant selection by a monophagous herbivore is not mediated by quantitative changes in unique plant chemistry: *Agonopterix alstroemeriana* and *Conium maculatum*. *Arthropod-Plant Interactions* 2: 43–51.
- Castells, E., Morante, M., Blanco-Moreno, J. M.; Sans, F. X., Vilatersana, R. and Blasco-Moreno, A. (2013) Reduced seed predation after invasion supports enemy release in a broad biogeographical survey. *Oecologia* 173: 1397 – 1409.

- Castells, E., Morante, M., Goula, M., Pérez, N., Dantart, J. and Escolà, A. (2014) (a) Herbivores on native and exotic *Senecio* plants: is host switching related to plant novelty and insect diet breadth under field conditions? *Insect Conservation and Diversity* 7: 420 - 431
- Castells, E.; Mulder, P.P.J. and Pérez-Trujillo, M. (2014) (b) Diversity of pyrrolizidine alkaloids in native and invasive *Senecio pterophorus* (Asteraceae): implications for toxicity. *Phytochemistry* 108: 137-146
- Chamorro, L., Caballero, B., Blanco-Moreno, J.M., Caño, L., Garcia-Serrano, H., Masalles, R.M., and Sans, F.X. (2006) Ecología y distribución de *Senecio pterophorus* (Compositae) en la Península Ibérica. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 53, 55-62.
- Chen, T.; Mei, N. and Fu, P.P. (2010) Genotoxicity of pyrrolizidine alkaloids. *Journal of Applied Toxicology* 30: 183–196.
- Cheng, D.; Kirk, H.; Vrieling, K.; Mulder, P.P.J. and Klinkhamer, P.G.L. (2011) The Relationship between Structurally Different Pyrrolizidine Alkaloids and Western Flower Thrips Resistance in F2 Hybrids of *Jacobaea vulgaris* and *Jacobaea aquatica*. *Journal of Chemical Ecology*. 37(10): 1071–1080.
- Cornelissen, T.; Fernandes W. G. and Vasconcellos-Neto, J. (2008) Size does matter: variation in herbivory between and within plants and the plant vigour hypothesis. *Oikos* 117 : 1121 – 1130.
- DAISIE European Invasive Alien Species Gateway (2008) DAISIE European Invasive Alien Species Gateway. <www.europe-aliens.org>.
- Danell, K; Huss-Danell, K and Bergström R (1985) Interactions between browsing moose and two species of birch in Sweden. *Ecology* 66 (6) pp.1867 – 1878.
- Dicke, Marcel (2000) Chemical ecology of host – plant selection by herbivorous arthropods : a multitrophic perspective. *Biochemical Systematics and Ecology* 28, 601 – 617.
- EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); Scientific Opinion on Pyrrolizidine alkaloids in food and feed. *EFSA Journal* 2011; 9(11): 2406. (134 pp.).
- Ehrlich, P.R. and Raven P.H. (1964) Butterflies and plants: A study in coevolution. *Evolution*, 18 : 586 – 608.
- Ernst, W.H.O. (1998) Invasion, dispersal and ecology of the South African neophyte *Senecio inaequidens* in The Netherlands: from wool alien to railway and road alien. *Acta Botanica Neerlandica*, 47, 131-151.
- Font, X. (2012) Vegetation and Flora Module. Biodiversity Data base of Catalonia. <http://biodiver.bio.ub.es/biocat/homepage.html>.
- Frei, H.; Lüthy, J.; Brauchli, J.; Zweifel, U.; Würgler, FE. and Schlatter, C. (1992) Structure/activity relationships of the genotoxic potencies of sixteen pyrrolizidine

- alkaloids assayed for the induction of somatic mutation and recombination in wing cells of *Drosophila melanogaster*. *Chemical Biological Interactions* 83:1–22.
- Futuyma, D.J. and Agrawal, A. A.(2009) Macroevolution and the biological diversity of plants and herbivores. *PNAS* 106 (43) 18054-18061.
- Gómez, S.; Gonda-King, L; Orians, C. M. and Preisser, E. L. (2014). Competitor avoidance drives within-host feeding site selection in a passively dispersed herbivore. *Ecological Entomology*, 39(1), 10-16.
- Hamilton, J. G.; Zangerl, A. R.; DeLucia, E. H. and Berenbaum, M. R. (2001).The carbon–nutrient balance hypothesis: its rise and fall. *Ecology letters*, 4(1), 86-95.
- Hartmann, T. (1996) Diversity and variability of plant secondary metabolism: a new characteristic view. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 80 177 – 188.
- Hartmann,T. (1999) Chemical ecology of pyrrolizidine alkaloids. *Planta*, 207, 483-495.
- Hartmann, T. (2008).The lost origin of chemical ecology in the late 19th century. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(12), 4541-4546.
- Inbar, M.; Doostdar, H.; Leibee, G.L. and Mayer, R. T. (1999) The role of plant rapidly induced responses in asymmetric interspecific interactions among insect herbivores. *Journal of Chemical Ecology*.Vol 25 N. 8.
- Jaenike, J. (1990) Host specialization in phytophagous insects. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 21, 243-273.
- Janz, N. and Nylin, S. (1997) The role of female search behavior in determining host plant range in plant feeding insects: a test of the information processing hypothesis. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 264, 701-707.
- Karban, R. (1989) Community organization of *Erigeon Glaucus* folivores: Effects of competition, predation and host plant. *Ecology* 70 (4) pp. 1028 – 1039.
- Karban, R. and Baldwin, I. T. (1997) *Induced Response to Herbivory*. University of Chicago Press, Chicago.
- Li, Y. H.; Kan, W. L.; T., Li, N.; and Lin, G. (2013). Assessment of pyrrolizidine alkaloid-induced toxicity in an in vitro screening model. *Journal of ethnopharmacology*, 150(2), 560-567.
- Macel, M. and Vrieling, K.(2003) Pyrrolizidine alkaloids as oviposition stimulants for the cinnabar moth: *Tyria jacobaeae*. *Journal of Chemical Ecology*, Vol. 29 No.6.
- Macel, M.; Bruinsma, M.; Dijkstra, S.M.; Ooijendijk, T.; Niemeyer, H.M. and Klinkhamer, P.G.L. (2005) Differences in effects of pyrrolizidine alkaloids on five generalist insect herbivore species. *Journal of Chemical Ecology*.Vol. 31, No. 7.
- Macel, M. and Klinkhamer, P. G. (2010). Chemotype of *Senecio jacobaea* affects damage by pathogens and insect herbivores in the field. *Evolutionary Ecology*, 24(1), 237-250.

- Macel, M. (2011). Attract and deter: a dual role for pyrrolizidine alkaloids in plant–insect interactions. *Phytochemistry Reviews*, 10(1), 75-82.
- McFyden, R. and Sparks, D.(1996) Biological control of FireWeed. In Proceedings, Eleventh Australian Weeds Conference (R. C. H. Shepard ed.), pp. 305–308. Frankston: Weed Science. Society of Victoria Inc.
- Molyneaux, R.J.; Gardner, D. L.; Colegate, S.M. and Edgar, J.A. (2011) Pyrrolizidine alkaloids toxicity in livestock: a paradigm for human poisoning? *Food Additives & Contaminants : Part A*. Vol. 28, Issue 3, pp. 293 – 307.
- Moyano, M.R.; Garcia, A.; Rueda, A.; Molina, A.M.; Mendez A. and Infante, F., (2006) *Echium vulgare* and *Senecio vulgaris* poisoning in fighting bulls. *Journal Veterinary Medicine Series A* 53,24–25.
- Moore, B.D.; Andrew, R.L., Külheim, C. and Foley, W.J. (2014) Explaining intraspecific diversity in plant secondary metabolites in an ecological context. *New phytologist*, Vol. 201, Issue 3, pp. 733 – 750.
- Morante, M.; Escolà, A. and Castells, E. (2014) Paper dels insectes en l'èxit d'invasió de *Senecio inaequidens* i *S. pterophorus* al Parc Natural del Montseny. VII Monografies del Monseny, pp 229-238. Diputació de Barcelona
- Nordenstam, B. (2007) Senecioneae. Pp. 208-241. In: Kadereit, J.W. & Jeffrey, C. (eds.), *The Families and Genera of Vascular Plants*, vol. 8, Flowering Plants. Eudicots.Asterales. Springer, Berlin. 235 p.
- Nuringtyas, T.R.; Verportee, R.; Klinkhamer, P.G., van Oers, MM. and Leis, K.A. (2014) Toxicity of pyrrolizidine alkaloids to *Spodoptera exigua* using cell lines and injection bioassays. *Journal Chemical Ecology* 40: 609-616.
- Pallini, A.; Janssen, A. and Sabelis, W.M. (1997) Odour-mediated responses of phytophagous mites to conspecific and heterospecific competitors. *Oecologia* 110 : 179 – 185.
- Pino, J., Afán, I., Sans, F.X. and Gutiérrez, C. (2000) *Senecio pterophorus* DC., A new alien species in the European mainland. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 58, 188-189.
- Portero, A. G.; González-Coloma, A.; Reina, M. and Díaz, C. E. (2012). Plant-defensive sesquiterpenoids from *Senecio* species with biopesticide potential. *Phytochemistry reviews*, 11(4), 391-403.
- Price, P.W. (1991) The plant vigor hypothesis and herbivore attack. *Oikos* 62, 244–251.
- Rassman, S. and Agrawal, A.A. (2009) Plant defense against herbivory: progress in identifying synergism, redundancy, and antagonism between resistance traits. *Current Opinion in Plant Biology*, Volume 12, Issue 4, August 2009, Pages 473-478.
- Reina, M.; Santana, O.; Dominguez, D. M.; Villarroel, L.; Fajardo, V.; Rodríguez, M. L. and González-Coloma, A. (2012). Defensive Sesquiterpenes from *Senecio candidans* and

- S. magellanicus*, and Their Structure Activity Relationships. *Chemistry & biodiversity*, 9(3), 625-643.
- Roesler, U. (1973) Phycitinae.1. Teilband: Trifine Acrobasina. *Microlepidoptera Palaearctica* (ed. by H.G. Amsel, F. Gregor and H. Reisser), Georg Fromme & Co, Wien.
- Rohades, D.F. (1979) Evolution of plant chemical defense against herbivores. Pages 3-54 in G. A. Rosenthal and D. H. Janzen, eds. *Herbivores: their interaction with secondary plant metabolites*. Academic Press, New York.
- Royal Botanic Garden Edinburgh (2012) Flora Europaea. <<http://rbg-web2.rbge.org.uk/FE/fe.html>>
- Sachdev-Gupta, K.; Renwick, J.A.A. and Radke, C.D. (1990) Isolation and identification of oviposition deterrents to cabbage butterfly, *Pieris rapae*, from *Erysimum cheiranthoides*. *Journal of Chemical Ecology* 16, 1059–1067.
- Schuldt, A.; Bruelheide, H.; Durka, W.; Eichenberg, D.; Fischer, M.; Kröber, W.; Härdtle, W.; Ma, K.; Michalski, S.G.; Palm, W.U.; Schmid, B; Welk, E.; Zhou, H. and Assmann, T. (2012) Plant traits affecting herbivory on tree recruits in highly diverse subtropical forests. *Ecology letters* 15: 732-739
- Shinoda, T.; Nagao, T.; Nakayama, M.; Serizawa, H.; Koshioka, M.; Okabe, H. and Kawai, A. (2002) Identification of a triterpenoid saponin for a crucifer, *Barbarea vulgaris*, as a feeding deterrent to the diamondback moth, *Plutellaxy lostella*. *Journal of Chemical Ecology* 28, 587–599.
- Simms, E. L. and Rausher, M. D. (1987). Costs and benefits of plant resistance to herbivory. *American Naturalist*, 570-581.
- Silva, K. L. and Trigo, J. R. (2002). Structure–activity relationships of pyrrolizidine alkaloids in insect chemical defense against the orb-weaving spider *Nephila clavipes*. *Journal of chemical ecology*, 28(4), 657-668.
- Stastny M, Schaffner U, Elle E (2005) Do vigour of introduced populations and escape from specialist herbivores contribute to invasiveness? *Journal of Ecology* 93:27–37
- Stegelmeier, B. L.; Edgar, J. A.; Colegate, S. M.; Gardner, D. R.; Schoch, T. K.; Coulombe, R. A. and Molyneux, R. J. (1999). Pyrrolizidine alkaloid plants, metabolism and toxicity. *Journal of Natural Toxins*, 8(1), 95-116.
- Tallamy, D. W. and Raupp, M. J. (1991) *Phytochemical Induction by Herbivores*. John Wiley & Sons, New York.
- Tinney, G. W.; Hatcher, P. E.; Ayres, P. G.; Paul, N. D. and Whittaker, J. B. (1998) Inter- and intra-species differences in plants as hosts to shape *Tyria jacobaeae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 88(2), 137-145.
- Trigo, J. R. (2011) Effects of pyrrolizidine alkaloids through different trophic levels. *Phytochemistry Reviews* 10 : 83 – 98.

- Vrieling, K.; Smit, W. and van der Meijden, E. (1991). Tritrophic interactions between aphids (*Aphis jacobaeae* Schrank), ant species, *Tyria jacobaeae* L., and *Senecio jacobaea* L. lead to maintenance of genetic variation in pyrrolizidine alkaloid concentration. *Oecologia*, 86(2), 177-182.
- Vrieling, K. and van Wijk, C. A. (1994). Cost assessment of the production of pyrrolizidine alkaloids in ragwort (*Senecio jacobaea* L.). *Oecologia*, 97(4), 541-546.
- Wiedenfeld, H. and Edgar, J.(2011) Toxicity of pyrrolizidine alkaloids to humans and ruminants. *Phytochemical reviews* 10: 137-151
- White, I.M. (1988) Tephritid Flies (Diptera: Tephritidae). The Royal Entomological Society of London (RES), London.
- Witte, L.; Ernst, L. Adam, H. and Hartmann, T (1992) Chemotypes of two pyrrolizidine alkaloid- containing *Senecio* species. *Phytochemistry*, Vol. 31 No. 2, pp. 559 – 565.
- Witte, L.; Rubiolo, P.; Bichi, C. and Hartmann, T. (1993) Comparative analysis of pyrrolizidine alkaloids from natural sources by gas chromatography – mass spectrometry. *Phytochemistry*, Vol. 32 No. 1 pp.187 – 196.
- Yang, Y.; Zhao, L.; Wang, Y. F.; Chang, M. L.; Huo, C. H.; Gu, Y. C.; Shi, Q.W. and Kiyota, H. (2011). Chemical and pharmacological research on plants from the genus *Senecio*. *Chemistry & biodiversity*, 8(1), 13-72.
- Zangerl, A. R. and Berenbaum, M. R. (1997). Cost of chemically defending seeds: furanocoumarins and *Pastinaca sativa*. *The American Naturalist*, 150(4), 491-504.
- Zangerl, A.R and Berenbaum, M.R. (2005) Increase in toxicity of an invasive weed after the reassociation with its coevolved herbivore. *Proceedings of the National Academy of Science*. Issue 43.

Supplementary information

Table S1. Characteristics of the surveyed localities in the Montseny Natural Park (Catalonia, Spain) and the number of individuals of *Senecio* sampled in each locality.

	Can Bosc	Can PerePoc	Can Tarrer	Fogueres de Montsoriu	Santa Susanna	Vallforners
Locality Code	CB	CP	CT	FM	SS	VF
Coordinates	41 ⁰ 44'N 02 ⁰ 20'E	41 ⁰ 44'N 02 ⁰ 28'E	41 ⁰ 43'N 02 ⁰ 23'E	41 ⁰ 46'N 02 ⁰ 31'E	41 ⁰ 44'N 02 ⁰ 23'E	41 ⁰ 44'N 02 ⁰ 19'E
Altitude (m)	905	527	680	592	785	681
Slope	SW	SE	S	E	S	SW
Soil Type	Pelites & phyllites	Schists	Sandstone, lutties & calcophyllites	Granite & granodiorites	Pelites, sandstone & schists	Granite & granodiorites
No. Individuals sampled:						
<i>S. vulgaris</i>	16	12	23	20	29	29
<i>S. lividus</i>	20	32	27	29	29	27
<i>S. inaequidens</i>	21	14	19	15	4	27
<i>S. pterophorus</i>	19	11	22	8	11	10

Table S2. Results of the lineal mixed models testing whether plants with and without herbivory (total herbivory, *Sphenella marginata*, *Phycitodes albatella* and/or aphids) differ in plant size, total PA concentrations and insect competitors in two native (*S. vulgaris* and *S. lividus*) and two exotic (*S. inaequidens* and *S. pterophorus*) plant species. Locality was included as a random factor. Asterisks indicate the significance of the t-statistic as *P<0.05, **P<0.01 and ***P<0.001. Significant effects of factors are indicated in bold.

Species	Dependent variable	Factor(Presence/absence)	Estimate	Std. Error	df	t-value	P
<i>S. vulgaris</i>	PAs	(Intercept)	4.547	0.161	5.24	28.165	0.000 ***
		Total herbivory	0.043	0.197	85.37	0.218	0.828
		(Intercept)	4.536	0.161	4.86	28.161	0.000 ***
	<i>Sphenella</i>	(Intercept)	0.145	0.226	86.44	0.641	0.523
		(Intercept)	4.481	0.168	5.70	26.741	0.000 ***
		Aphids	0.262	0.208	73.62	1.259	0.212
	Plant size	(Intercept)	2.299	0.297	5.37	7.754	0.000 ***
		Total herbivory	0.777	0.186	123.75	4.170	0.000 ***
		(Intercept)	2.314	0.274	5.10	8.447	0.000 ***
	<i>Sphenella</i>	(Intercept)	1.753	0.224	123.85	7.831	0.000 ***
		(Intercept)	2.343	0.285	5.56	8.207	0.000 ***
		Aphids	0.580	0.232	125.86	2.498	0.014 *
	Aphids	(Intercept)	0.201	0.106	32.00	1.899	0.067
		<i>Sphenella</i>	0.415	0.218	32.00	1.900	0.066
<i>Sphenella</i>	(Intercept)	1.491	0.763	3.42	1.954	0.134	
	Aphids	1.385	1.057	8.33	1.311	0.225	
<i>S. lividus</i>	PAs	(Intercept)	2.803	0.500	11.96	5.601	0.000 ***
		Total herbivory	-0.262	0.444	65.20	-0.591	0.556
		(Intercept)	2.655	0.469	8.93	5.664	0.000 ***
	<i>Sphenella</i>	(Intercept)	-0.087	0.414	67.38	-0.210	0.834
		(Intercept)	2.497	0.356	3.61	7.010	0.003 **
		Aphids	0.211	0.366	68.87	0.577	0.566
	Plant size	(Intercept)	2.193	0.228	7.35	9.600	0.000 ***
		Total herbivory	0.907	0.133	158.36	6.793	0.000 ***
		(Intercept)	2.283	0.207	6.75	11.023	0.000 ***
	<i>Sphenella</i>	(Intercept)	0.887	0.122	158.38	7.246	0.000 ***
		(Intercept)	2.703	0.205	5.47	13.206	0.000 ***
		Aphids	0.475	0.145	158.73	3.275	0.001 **
	Aphids	(Intercept)	-0.971	0.195	46.00	-4.973	0.000 ***
		<i>Sphenella</i>	0.028	0.222	46.00	0.126	0.900
<i>Sphenella</i>	(Intercept)	1.889	0.349	5.25	5.404	0.003 **	
	Aphids	0.105	0.177	98.61	0.593	0.554	
<i>S. inaequidens</i>	PAs	(Intercept)	7.738	0.251	10.63	30.860	0.000 ***
		Total herbivory	-0.003	0.197	83.00	-0.013	0.990
		(Intercept)	7.858	0.197	6.70	39.882	0.000 ***
	<i>Sphenella</i>	(Intercept)	-0.267	0.162	82.99	-1.652	0.102
		(Intercept)	7.767	0.214	6.33	36.233	0.000 ***
	<i>Phycitodes</i>	-0.080	0.159	82.16	-0.505	0.615	
Aphids	(Intercept)	7.901	0.270	16.30	29.216	0.000 ***	
	Aphids	-0.198	0.222	82.70	-0.890	0.376	

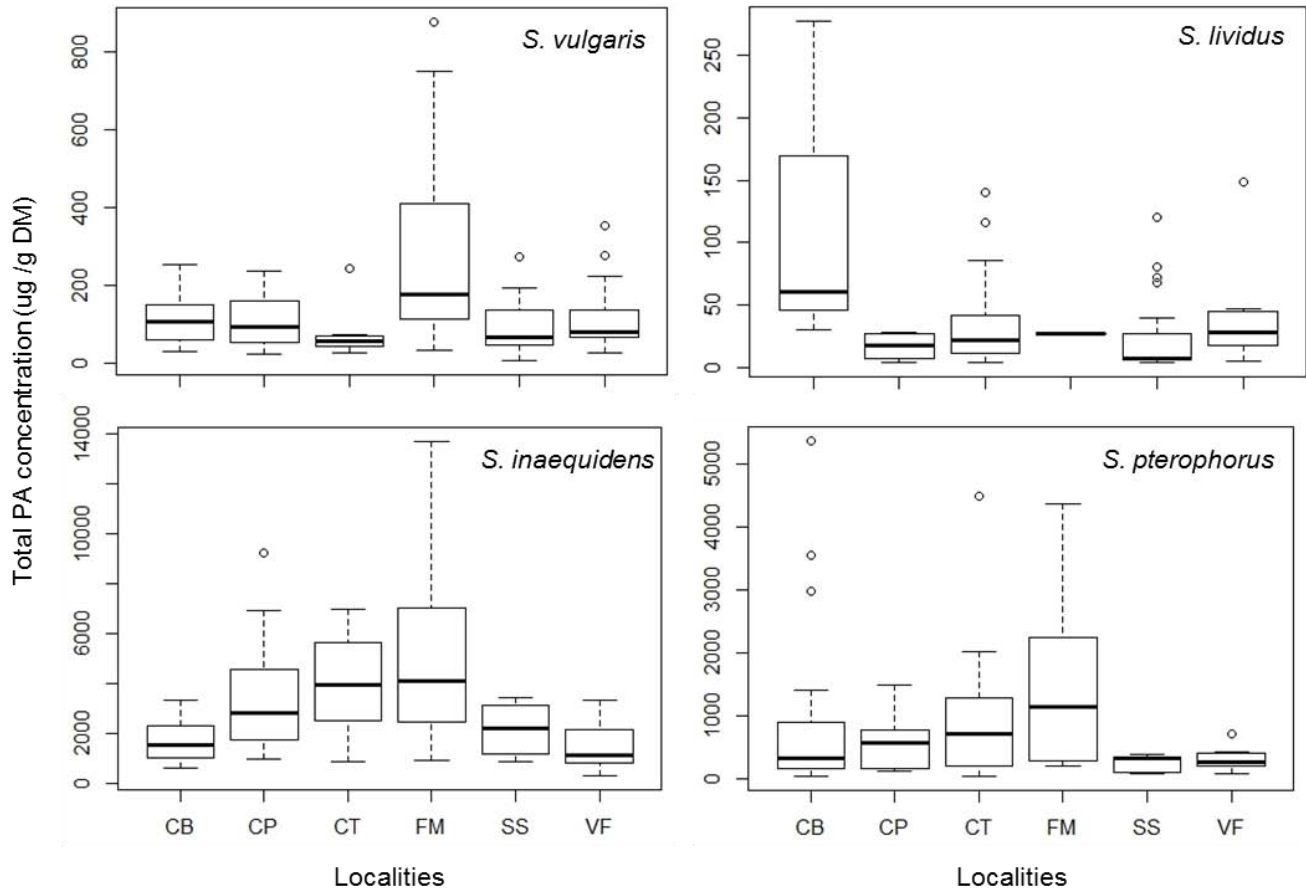
Plant size	(Intercept)	3.572	0.408	22.77	8.762	0.000 ***
	Total herbivory	0.763	0.411	80.95	1.856	0.067
<i>Sphenella</i>	(Intercept)	3.507	0.209	9.24	16.754	0.000 ***
	<i>Phycitodes</i>	1.669	0.281	80.24	5.932	0.000 ***
<i>Phycitodes</i>	(Intercept)	3.915	0.290	8.61	13.518	0.000 ***
	<i>Aphids</i>	0.606	0.320	96.71	1.893	0.061
<i>Aphids</i>	(Intercept)	3.291	0.465	34.90	7.071	0.000 ***
	<i>Sphenella</i>	1.024	0.461	92.53	2.220	0.029 *
<i>Sphenella</i>	(Intercept)	-1.025	0.223	6.26	-4.603	0.003 **
	<i>Phycitodes</i>	0.046	0.151	82.42	0.307	0.760
<i>Phycitodes</i>	(Intercept)	-1.041	0.220	6.21	-4.733	0.003 **
	<i>Aphids</i>	0.094	0.154	83.30	0.610	0.544
<i>Aphids</i>	(Intercept)	1.109	0.363	7.32	3.058	0.017 *
	<i>Sphenella</i>	0.324	0.355	39.46	0.911	0.368
<i>Sphenella</i>	(Intercept)	1.131	1.169	39.62	0.968	0.339
	<i>Phycitodes</i>	0.100	1.157	39.17	0.087	0.931
<i>Phycitodes</i>	(Intercept)	0.711	0.341	8.06	2.083	0.070
	<i>Aphids</i>	0.491	0.416	30.90	1.180	0.247
<i>Aphids</i>	(Intercept)	0.845	0.641	32.37	1.319	0.197
	<i>Sphenella</i>	0.076	0.649	38.97	0.118	0.907
<i>S. pterophorus</i> Plant size	(Intercept)	6.188	0.319	5.52	19.378	0.000 ***
	Total herbivory	-1.149	0.411	75.43	-2.793	0.007 **
<i>Phycitodes</i>	(Intercept)	6.057	0.323	5.31	18.773	0.000 ***
	<i>Aphids</i>	-0.667	0.501	76.28	-1.332	0.187
<i>Aphids</i>	(Intercept)	5.952	0.355	6.95	16.754	0.000 ***
	<i>Phycitodes</i>	0.058	0.373	78.90	0.156	0.876
PAs	(Intercept)	5.966	0.178	3.82	33.447	0.000 ***
	Total herbivory	0.279	0.370	66.79	0.754	0.453
<i>Phycitodes</i>	(Intercept)	5.981	0.180	3.76	33.280	0.000 ***
	<i>Aphids</i>	0.199	0.384	66.84	0.517	0.607
<i>Aphids</i>	(Intercept)	5.879	0.212	5.45	27.756	0.000 ***
	<i>Phycitodes</i>	0.322	0.287	67.33	1.122	0.266
<i>Phycitodes</i>	(Intercept)	-0.325	0.260	4.56	-1.250	0.272
	<i>Aphids</i>	0.273	0.200	24.78	1.368	0.184
<i>Aphids</i>	(Intercept)	1.669	0.441	9.00	3.786	0.004 **
	<i>Phycitodes</i>	1.552	0.731	9.00	2.123	0.063

Table S3. Results of the mixed models testing the relationship of PAs with herbivory in plants classified in four quartiles by size (Q1, Q2, Q3, Q4). Locality was included as a random factor. Total PA concentrations were log-transformed. Asterisks indicate the significance of the t-statistic as *P<0.05, **P<0.01 and ***P<0.001. Significant effects of factors are indicated in bold. A dash symbol indicates that model was not calculated due to the low number of insects in that plant quartile.

Species	Dependent variable	Quartile (plant size)	Estimate		Std. Error		df		t-value		P	
			(intercept)	PAs	(intercept)	PAs	(intercept)	PAs	(intercept)	PAs	(intercept)	PAs
<i>S. vulgaris</i>	Aphids	Q1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Q2	0.000	0.070	0.355	0.074	6.989	6.998	0.000	0.948	1.000	0.375
		Q3	2.232	-0.346	1.229	0.254	3.810	3.848	1.816	-1.362	0.147	0.248
		Q4	1.121	-0.095	0.696	0.151			1.610	-0.625	0.152	0.552
	<i>Sphenella</i>	Q1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Q2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Q3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Q4	6.685	-0.740	1.762	0.372	8.000	8.000	3.794	-1.989	0.005**	0.082
<i>S. lividus</i>	Aphids	Q1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Q2	-1.582	0.205	0.523	0.112	4.978	2.163	-3.026	1.832	0.029*	0.199
		Q3	-1.239	0.119	0.352	0.117	8.000	8.000	-3.519	1.017	0.008**	0.339
		Q4	-1.303	0.164	0.247	0.086	8.000	8.000	-5.276	1.902	0.001**	0.094
	<i>Sphenella</i>	Q1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Q2	0.398	0.260	0.466	0.124	1.021	5.130	0.853	2.093	0.548	0.089
		Q3	2.056	0.083	0.402	0.101	12.935	24.543	5.114	0.820		0.420
		Q4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. inaequidens</i>	Aphids	Q1	-1.959	0.120	1.083	0.114	1.895	0.967	-1.808	1.054	0.219	0.488
		Q2	-1.444	0.032	2.076	0.267	23.946	23.770	-0.695	0.118	0.493	0.907
		Q3	2.707	-0.481	1.064	0.141	26.000	26.000	2.543	-3.417	0.017*	0.002***
		Q4	-1.303	0.164	0.247	0.086	8.000	8.000	-5.276	1.902	0.001**	0.094
	<i>Sphenella</i>	Q1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Q2	2.997	-0.304	2.741	0.361	9.798	9.998	1.093	-0.843	0.300	0.419
		Q3	4.832	-0.459	2.408	0.330	13.000	13.000	2.006	-1.393	0.066	0.187
		Q4	3.433	-0.181	1.075	0.167	1.276	13.305	3.193	-1.082	0.148	0.298
<i>Phycitodes</i>	Q1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Q2	-0.889	0.189	2.702	0.344	3.786	2.988	-0.329	0.549	0.759	0.621	
	Q3	2.014	-0.144	2.648	0.358	11.000	11.000	0.760	-0.403	0.463	0.695	
	Q4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

<i>S. pterophorus</i>	Aphids	Q1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Q2	0.682	-0.128	0.564	0.083	6.776	5.296	1.211	-1.543	0.267	0.180
		Q3	-1.128	0.097	1.128	0.176	9.252	8.071	-1.000	0.552	0.343	0.596
		Q4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Phycitodes</i>	Q1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Q2	1.657	0.128	4.465	0.746	2.366	2.460	0.371	0.172	0.741	0.877
		Q3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Q4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Fig. S1 Concentrations of total PAs (ug/gDM) in *S. vulgaris*, *S. lividus*, *S. inaequidens* and *S. pterophorus* sampled in six localities at Montseny Natural Park. Codes for localities are found in Table S1. Boxplots show the 25th and 95th percentiles (box limits), the median (inner line), 1.5 times the interquartile range (IQR) (below and above whiskers) and the outliers (additional data points).



4. DISCUSSION GENERAL

Aquesta tesi doctoral s'ha centrat en l'estudi de dues espècies exòtiques del gènere *Senecio*: *S. inaequidens* i *S. pterophorus*. El coneixement de les característiques d'aquestes espècies és molt desigual. *S. inaequidens*, invasora a Europa de fa més de 100 anys i amb una àmplia distribució que engloba gairebé tots els països europeus i en altres continents (Austràlia, Amèrica i Àsia), és una espècie que ha estat àmpliament estudiada a nivell de la seva biologia, capacitat invasora, ecologia, filogeografia, entre altres. (Ernst, 1998; Lafuma et al., 2003; Scherber et al., 2003; Bossdorf et al., 2008; Garcia-Serrano et al., 2008; Monty et al., 2008; Lachmuth et al., 2010; Monty & Mahy 2010). La llista europea d'espècies invasores EPPO inclou *S. inaequidens* com una de les espècies problemàtiques que cal controlar. Per contra, *S. pterophorus* és una espècie molt més desconeguda, segurament a causa de la seva distribució relativament localitzada a nivell mundial. *S. pterophorus* està present al sud-est d'Austràlia des de fa un segle, on es classifica com a invasora a l'estat de Victoria, i en les darreres dècades ha estat introduïda a algunes àrees de la costa mediterrània (Catalunya i Ligúria). Recentment *S. pterophorus* ha estat inclosa en la llista d'espècies invasores a Catalunya (Andreu et al., 2012). Malgrat en els darrers anys s'han realitzat estudis de la biologia i capacitat d'invasió de *S. pterophorus* (Sans et al., 2004; Garcia-Serrano et al., 2004, 2005, 2007; Caño et al., 2007, 2008, 2009, Colomer-Ventura et al. 2015) encara no es disposa de suficient informació. La gran capacitat expansiva que ha tingut a Austràlia i el fet que a Catalunya n'hagi augmentat la distribució en els darrers anys fa pensar que és necessari ampliar els coneixements de la biologia i l'ecologia d'aquesta espècie. Els estudis a nivell biogeogràfic i de comunitat efectuats en aquesta tesi han permès millorar el coneixement sobre la distribució de *S. pterophorus* i sobre les interaccions tan d'aquesta espècie exòtica com de *S. inaequidens* amb els herbívors locals, concretament aportant informació sobre el dany que aquests ocasionen en la capacitat reproductiva de la planta i quins factors ho condicionen.

4.1. Actualització de la distribució mundial de *S. pterophorus*

En l'estudi biogeogràfic sobre els canvis en les interaccions planta–herbívor que *S. pterophorus* experimenta durant la invasió, un dels objectius era efectuar un mostreig que cobrés gran part de la distribució d'aquesta espècie en la seva zona nativa i les zones d'introducció per tal d'incloure la màxima variabilitat espacial. Així doncs, es va realitzar una cerca bibliogràfica (Hilliard, 1977; Barberis et al., 1998; Pino et al., 2000; Chamorro et al.,

2006; Caño et al., 2008) i documental en herbaris (South African National Biodiversity Institute, Australian National Herbarium, Banc de dades de biodiversitat de Catalunya) que permetés determinar els límits coneguts de la distribució de *S. pterophorus*. Una vegada obtinguda aquesta informació es va planificar un mostreig que inclogués les zones prèviament descrites però també zones contigües fora d'aquests límits, englobant d'aquesta manera la distribució més extensa possible.

El mostreig biogeogràfic de *S. pterophorus*, que es va portar a terme entre finals del 2009 i mitjans del 2011, va permetre actualitzar i millorar la informació existent fins aleshores (veure poblacions mostrejades a la figura 1 del Capítol 1). Paral·lelament, la caracterització de les poblacions a través de la descripció dels tipus d'hàbitats preferents, la grandària de les poblacions, l'abundància de l'espècie, i l'estructura poblacional, va aportar informació sobre procés invasor d'aquesta espècie.

4.1.1. Distribució a Sud-àfrica

El primer inconvenient a l'hora de planificar el mostreig de la zona nativa a Sud-àfrica va ser determinar la distribució de *S. pterophorus*. Diferents fonts d'informació consultades donaven límits de distribució molt diversos (Hilliard. O.M., 1977; South African National Biodiversity Institute SANBI, 2009).

Segons Hilliard (1977) l'espècie es distribuïa des de la zona est del Transkei (Eastern Cape) fins a la zona més sud de Natal (Fig. 6a). En canvi, la informació obtinguda del SANBI excedia àmpliament aquests límits, en concret, cap a la zona nord de la província de Natal, les províncies veïnes de Mpumlanaga, Limpopo, Gauteng, i la llunyana província de l'Oest del Cap (Western Cape) (Fig. 6b).

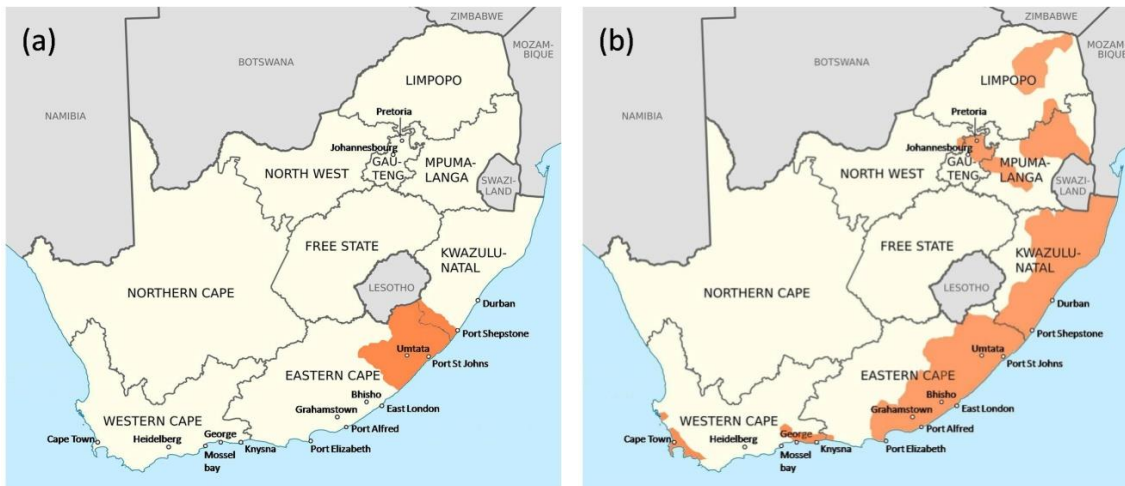


Figura 6. Distribució de *S. pterophorus* segons (a) O.M. Hilliard, (b) South African National Biodiversity Institute (SANBI).

Els límits determinats per el SANBI es fonamentaven en plecs d'herbari recol·lectats a partir del 1800 pel National Herbarium (Pretoria), Walter Sisulu National Botanical Garden (NBG) i South African Museum Herbarium (SAM), fet que va permetre observar canvis notables en la distribució de *S. pterophorus* com ara la colonització als anys 60 de la província oest del cap (Wester Cape) (Fig. 7).

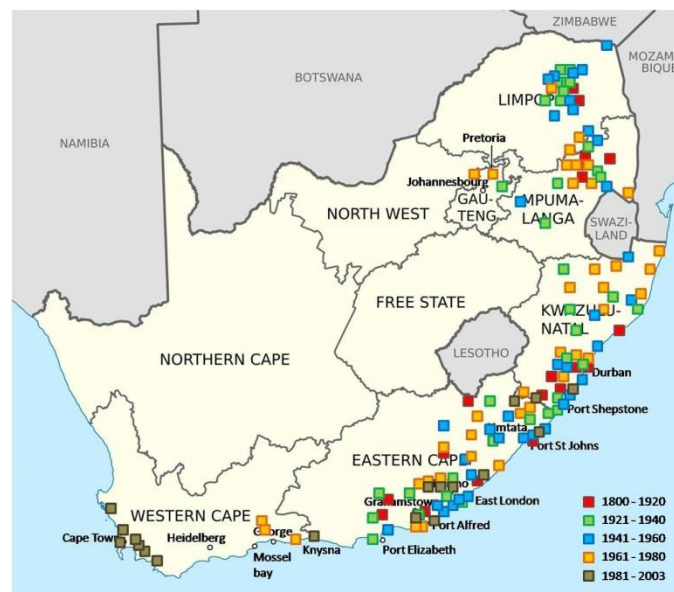


Figura 7. Distribució de *S. pterophorus* a Sud-àfrica segons l' institut de biodiversitat Sud africà (SANBI) des de l'any 1800 fins al 2003. Cada punt representa els plecs recol·lectats per diferents herbaris sud-africans en la franja temporal indicada.

No obstant, segons fonts del mateix SANBI (Wilhelmina Welman, comentari personal) la distribució determinada a través dels seus registres podria ser que fos errònia degut a la facilitat de confondre *S. pterophorus* amb altres espècies del mateix gènere com per exemple *S. polyanthemoides* i *S. juniperinus*. Aquestes tres espècies presenten una morfologia similar, solen coexistir en els mateixos hàbitats i tenen períodes de floració coincidents (Taula 1). Per tant, no es podia descartar que s'haguéssin comès errors en la identificació taxonòmica de *S. pterophorus*. Un exemple d'aquesta possible confusió es pot observar en un dels plecs cedits per Christina J. Potgieter, conservadora de l'herbari de KwaZulu-Natal, en el qual un mateix individu és identificat a la vegada com a *S. pterophorus* i *S. juniperinus* (Fig. 8).

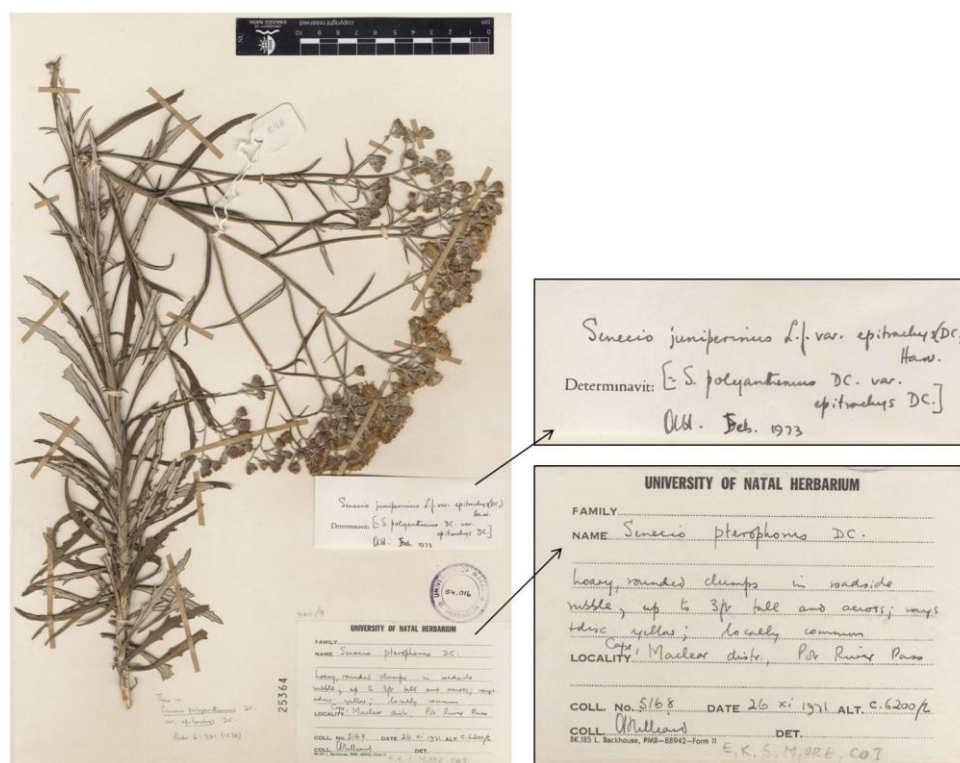


Figura 8. Plec de l'herbari de KwaZulu-Natal on es mostra la confusió entre *S. pterophorus* i *S. juniperinus*.

Per tal de poder fer una distinció acurada entre aquestes espècies, Hilliard a *Compositae in Natal* (1977) va determinar els principals trets distintius de cada una d'elles, entre els quals el més informatiu corresponia als capítols (Taula 1). D'acord amb això, *S. polyanthemoides* es distingeix per tenir els capítols més petits (4 x 3mm) i amb un menor nombre de lígules (8) que *S. pterophorus* i *S. juniperinus*. D'altra banda, malgrat contenir el mateix nombre de

lígules entre ells (11 -13) i mida similar (12 x 15 mm), *S. pterophorus* i *S. juniperinus* poden distingir-se entre elles principalment per la llanositat blanca en els capítols d'aquesta última.

Taula 1. Característiques principals de *Senecio pterophorus*, *S. polyanthemoides* i *S. juniperinus*.

Espècie	Hàbitat	Floració
<i>S. polyanthemoides</i> Sch Bip	Marges de bosc i de carreteres, camps i plantacions abandonades	IX a X
<i>S. juniperinus</i> L. f	Zones obertes	IX a X
<i>S. pterophorus</i> D.C.	Marges de bosc i de carreteres, camps i plantacions abandonades	IX a I
Claus dicotòmiques segons O. M. Hilliard (1997) :		
a	Capítols amb 8 lígules	<i>S. polyanthemoides</i>
a'	Capítols amb 11 – 13 lígules	
b	Capítols amb llanositat blanca com a mínim a les bràctees suplementàries	<i>S. juniperinus</i>
b'	Capítols sense aquesta llanositat	<i>S. pterophorus</i>

En aquesta tesi, després de realitzar una prospecció de les possibles àrees distribució de *S. pterophorus*, els resultats obtinguts principalment van confirmar la distribució proposada per Hilliard (1997). De manera que un gran nombre de poblacions es trobaven restringides a la zona del Transkei i sud de Natal. No obstant, de forma contrària a les observacions de Hilliard, també es van detectar diverses poblacions entre East London i Port Elizabeth (Eastern Cape) i la zona de Cape Town (Western Cape) (Fig. 9). Aquestes últimes localitzacions van constatar la introducció de *S. pterophorus* a la província oest del cap tal i com s'havia detectat a través de les dades cedides pel SANBI.



Figura 9. Distribució actual de *S. pterophorus* a Sud-àfrica com a resultat del mostreig biogeogràfic dut a terme el novembre del 2009.

4.1.2. Distribució a Austràlia

A Austràlia les fonts d'informació sobre la distribució de *S. pterophorus* eren molt abundants (Australia Virtual Herbarium). La majoria de citacions en plecs de diferents herbaris corresponien a la zona de South Australia (aproximadament uns 215 registres de 295) (Australia Virtual Herbarium, <http://avh.chah.org.au/>), on precisament es van trobar un major nombre de poblacions durant el mostreig del 2010. No obstant, a les zones més seques d'aquesta regió no es va localitzar cap població durant el mostreig. D'altra banda, a la regió de Victoria on *S. pterophorus* havia estat molt abundant durant els anys 70 (Parsons & Cuthebertson, 1992), les poblacions van ser escasses i difícils de localitzar, possiblement com a conseqüència de les tasques d'eradicació portades a terme per el govern a causa dels impactes socioeconòmics i de salut causats per aquesta espècie (Department of Environment and Primary Industries, <http://www.depi.vic.gov.au>).

4.1.3. Distribució a Catalunya

Tot i la recent invasió de *S. pterophorus* a Europa, la seva distribució està ben documentada (Casasayas, 1989; Barberis et al. 1998; Pino et al., 2000; Chamorro et al., 2006). Aquesta tesi però ha aportat informació que ha permès ampliar el coneixement sobre la distribució d'aquesta espècie en el vell continent

A Catalunya existeixen dues zones de distribució clarament diferenciades: la zona d'influència de Barcelona (principalment Vallès oriental, Vallès occidental, Barcelonès, Baix Llobregat i Maresme), on l'espècie és força abundant, i la zona de Tarragona (Cambrils).

Segons el mostreig realitzat les poblacions de l'àrea de Barcelona semblaven estar en expansió, mentre que les de Cambrils s'havien reduït. En concret, de les tres poblacions descrites a Tarragona (Casasayas, 1989 i Pino, 1999) actualment només es mantenia una sola població amb una distribució molt restringida a la riera de Cambrils (41°04'N 1°04'E). Possiblement l'aïllament d'aquestes poblacions en comparació a la resta de poblacions a Catalunya i el clima més sec característic de la zona podia no haver afavorit a la viabilitat de les llavors ni al creixement dels juvenils, respectivament, contribuint d'aquesta manera a la seva desaparició. Pel que fa a les poblacions de l'àrea de Barcelona, es va determinar l'existència de noves poblacions que no havien estat descrites anteriorment (Chamorro, 2006). Per exemple, a la zona de l'alt Maresme, a la localitat de Palafolls, es va detectar la població situada més al nord de la distribució coneguda actual, formada per més de 500 individus situats en una zona forestal. També es van localitzar noves poblacions al terme municipal de Calella en zones de pasturatge i vessants de l'autopista C-32. En espais naturals protegits com és el cas del parc natural del Montseny es van detectar noves poblacions d'uns 25–100 individus en zones forestals a prop de Campins, i entre Breda i Arbúcies. De forma similar, al parc natural de Sant Llorenç del Munt, es van descriure diverses poblacions al llarg del riu Ripoll i torrents propers. A més a més de la localització de noves poblacions, també es va descriure un augment important en el nombre d'individus d'algunes poblacions anteriorment descrites per Chamorro (2006), com per exemple al voltant de la riera de Rubí les quals van passar de 10 a més de 50 individus o a la zona de Matadepera i Terrassa on les poblacions incrementen fins a uns 500 individus.

4.1.4. Distribució a Itàlia

Les poblacions descobertes durant el mostreig van coincidir amb exactitud amb la zona determinada per Barberis et al. (1998) recorrent la costa italiana des de Savone fins a Ventimiglia (Liguria). Cal remarcar que la distribució suggerida per Barberis havia estat descrita per *Senecio grisebachii* Baker i no per *S. pterophorus*. La similitud morfològica entre aquestes dues espècies va portar els autors a la confusió. No obstant ells mateixos van posar en dubte la identificació de les plantes estudiades, les quals no encaixaven amb exactitud a la descripció de Baker, en particular per la mida dels capitols que eren més petits. Com a conseqüència de les sospites, Verloove (2005) va comparar les poblacions italianes amb les catalanes descrites com a *S. pterophorus* per Pino (2000), conclouent finalment que en els dos casos es tractava de la mateixa espècie, *S. pterophorus*. En aquesta tesi, la identificació de les plantes mostrejades a la zona de la Liguria van donar suport als resultats trobats per Verloove

(2005), on d'un total de 6 poblacions mostrejades tots els individus van ser determinats com a *Senecio pterophorus*.

En conjunt, els resultats obtinguts en la cerca de *S. pterophorus* a les zones d'invasió, i en concret a Catalunya, van mostrar l'expansió d'aquesta espècie en el territori. Una expansió que ha anat augmentant al llarg dels últims vint anys, colonitzant ambients que es caracteritzen per una elevada freqüència de pertorbacions, majoritàriament de caràcter antròpic. Per exemple, el 25 % de les poblacions catalanes de *S. pterophorus* es van trobar en lleres de rius altament pertorbats per l'acció de l'home (Fig. 11) com el cas dels rius Besòs i Ripoll en els quals hi predomina una vegetació herbàcia ruderal. També es va trobar un notable percentatge de poblacions en marges de boscos, erms i zones arbustives, sobre tot a Austràlia (Fig. 11). Cal destacar però que aquests ambients forestals estaven afectats per incendis o per la mà de l'home. Les poblacions de la zona nativa en canvi s'ubicaven, principalment, en zones de prats i praderies (Fig. 11) i no es va trobar cap població en zones amb un cert grau de pertorbació antròpica com lleres de rius o erms (Capítol 1).

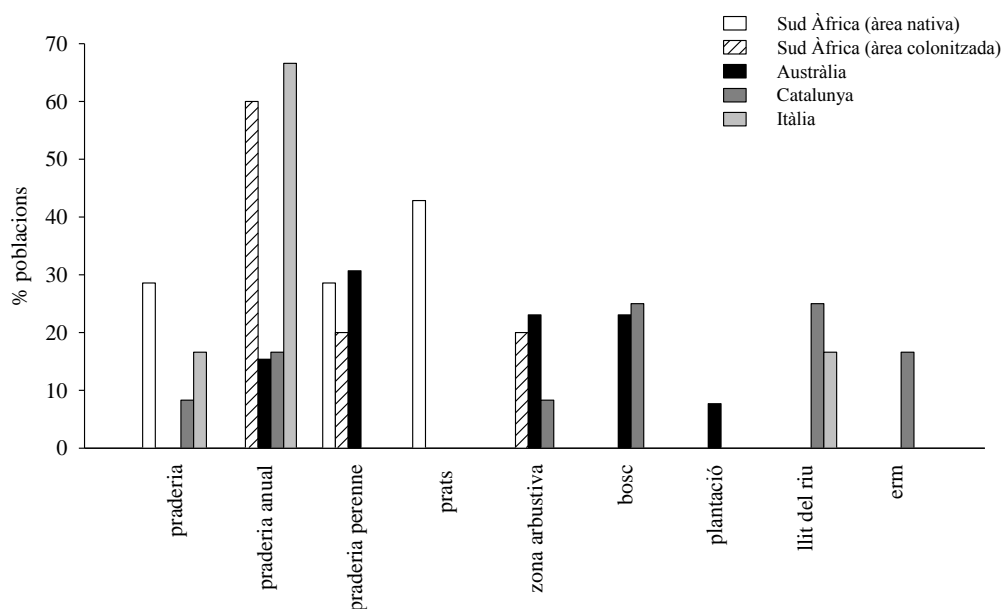


Figura 11. Percentatge de poblacions en els diferents hàbitats descrits per *S. pterophorus* en la zona nativa (Sud-àfrica) i les zones invasores (Sud-àfrica i Europa) obtingudes en el mostreig biogeogràfic realitzat entre el 2009 i 2011.

Així doncs, la caracterització dels hàbitats va evidenciar un vincle entre els hàbitats pertorbats i les poblacions de *S. pterophorus* a l'àrea d'invasió. Altres estudis prèvis (García–Serrano, 2004) també havien demostrat l'efecte positiu de les pertorbacions sobre la capacitat d'invasió de *S. pterophorus*.

D'altra banda, pel que fa als factors abiòtics, aquests no van influir sobre els paràmetres poblacionals. Ni la mida de les poblacions, ni el percentatge de recobriment ni l'abundància de reclutament de nous individus van diferir entre la zona nativa i d'invasió a pesar que a Sud-àfrica la temperatura i l'elevació del terreny fos superior en comparació d' Austràlia i Europa.

4.2. Enemics naturals en les zones natives i invasores: alliberament i establiment de noves interaccions

L'alliberament dels enemics naturals de l'àrea nativa i l'establiment de noves interaccions amb els herbívors nadius de l'àrea d'introducció s'han descrit com a processos clau en l'èxit d'invasió d'una espècie exòtica (Keane & Crawley, 2002). Els resultats obtinguts en aquesta tesi van evidenciar la pèrdua dels enemics naturals però també l'establiment de noves interaccions, principalment amb herbívors especialistes (Capítols 1 i 2). Malgrat aquestes noves interaccions, la pressió d'herbivorisme va ser menor a la zona d'invasió en comparació a la zona nativa (Capítol 1), en canvi, en comparació al congènere natiu els resultats van ser més heterogenis (Capítol 3). En conseqüència, a nivell de comunitat, es van examinar i determinar quins factors havien influït en les interaccions entre els herbívors locals i les espècies natives i exòtiques de *Senecio* (Capítol 3 i 4).

A continuació es discuteixen els canvis en l'entorn biòtic que ha experimentat *S. pterophorus* en relació a la zona nativa i en comparació als seus congènere natiu i l'exòtic *S. inaequidens* a l'àrea d'invasió. Així com la rellevància de cada factor en les interaccions planta–herbívor.

4.2.1. Identificació dels herbívors a l'àmbit natiu i invasor

Àmbit natiu : Sud-àfrica

A l'estudi biogeogràfic (capítol 1) es va determinar que les poblacions sudafricanes de *S. pterophorus* estaven atacades per diferents tipus de coleòpters, lepidòpters i dípters, els quals majoritàriament es trobaven en fase larvària i per tant no van poder ser classificats taxonòmicament més en allà de la categoria d'ordre (Fig. 12a). No obstant, entre els coleòpters, la presència d'alguns individus adults va permetre realitzar una identificació més acurada. Aquests pertanyien la tribu Hopliini (Scarabaeidae: Coleoptera) (Fig. 12b) també anomenats *monkey beetles* degut a la pilositat dels seus cossos i a les llargues i fortes extremitats posteriors, les quals els hi permeten introduir-se dins els capítols de les compostes i després sortir amb facilitat (Scholtz & Holm, 1985). Molt abundants entre les famílies de compostes de sud-àfrica, els *monkey beetles* poden ser pol·linitzadors o herbívors (Ahrens et al., 2011). Aquests últims acostumen a consumir flors i aquenis ocasionant danys considerables en les compostes (Clark, 1988) tal i com es va observar en les plantes de *S. pterophorus*.



(a) larves consumint llavors a l'interior d'un capítol de *S. pterophorus* a Sud-àfrica.

(b) exemplars adults de *monkey beetles* a l'interior de capítols de *S. pterophorus* a Sud-àfrica

Figura 12. Herbívors consumint capítols de *S. pterophorus* en l'àmbit natiu (Sud-àfrica) durant el mostreig realitzat en aquesta tesi l'any 2009.

La identificació dels herbívors a la zona nativa va permetre determinar els enemics naturals de *S. pterophorus*. Els ordres identificats en les plantes mostrejades van coincidir amb els reportats anteriorment per Muwanga-Zake (1994) en el seu estudi sobre la comunitat d'herbívors associada a *S. pterophorus* a l'àrea de Butterworth (Transkei, Sud-àfrica).

Àmbit invasor: Austràlia i Europa

Els herbívors identificats a l'àmbit invasor diferien dels de la zona d'origen demostrant d'aquesta manera que les plantes de *S. pterophorus* a les zones d'introducció havien quedat alliberades dels enemics naturals però que a la vegada havien establert noves interaccions amb els herbívors locals (veure Taula 2 i 3).

Taula 2. Herbívors consumidors de llavors identificats sobre *S. pterophorus* en l'àmbit natiu i invasor, principalment formada per herbívors especialistes (monòfags i oligòfags).

Àmbit natiu	Àmbit invasor	
Sud-àfrica	Austràlia	Europa
Lepidoptera	Lepidoptera (<i>Pyralidae</i>)	Lepidoptera (<i>Pyralidae</i>) (<i>Phycitodes albatella</i>)
Diptera (<i>Tephritidae</i> *)	Diptera (<i>Tephritidae</i>) (<i>Sphenella ruficeps</i>)	
Coleoptera		








* Reportat en la bibliografia (Muwanga-Zake, 1994)

En les noves interaccions descrites, els herbívors més abundants en les plantes exòtiques eren especialistes (Capítol 1 i 2), contràriament a l'especulació de que el canvi d'hoste succeeix principalment per part d'herbívors generalistes (Keane & Crawley, 2002). Aquest fet podia ser explicat en part per la presència de congèneres a les zones d'invasió (Taula 3). En aquests casos, s'espera que els herbívors canviïn amb més facilitat cap a hostes relacionats filogenèticament amb els nadius ja que al compartir trets similars, els herbívors estaran pre-adaptats al seu consum (Janzen 1968; Becerra, 1997; Keane & Crawley, 2002; Trowbridge, 2004; Agosta, 2006; Agosta & Klemens, 2008; Cogni, 2010). No obstant, aquesta explicació no va ser vàlida per totes les espècies. En concret, l'absència d'interaccions entre *Sphenella marginata* i *S. pterophorus* va demostrar que la proximitat filogenètica amb els hostes nadius no sempre garanteix un ajust entre l'espècie exòtica i l'herbívor local. La manca d'ajust ecològic (*ecological fitting*) entre aquestes dues espècies va posar de manifest la complexitat de les interaccions planta-herbívor en condicions naturals.

D'altra banda, el baix nombre d'interaccions de *S. pterophorus* amb els herbívors locals podria ser deguda a la diferència en el temps de residència entre les zones d'invasió (Austràlia > Europa) i entre els congèneres exòtics (*S. inaequidens* > *S. pterophorus*). D'acord amb altres estudis, la riquesa i l'abundància d'herbívors associats a les plantes exòtiques, i per tant el nombre de noves interaccions, augmenta amb el temps de residència en la zona d'invasió (Siemann et al. 2006; Hawkes, 2007; Brändle et al., 2008; Mitchell et al., 2010).

La identificació dels herbívors associats a les espècies de *Senecio* en l'àmbit invasor va demostrar l'existència de canvi d'hoste així com determinar els nous enemics per *S. pterophorus* i *S. inaequidens*. Alguns autors consideren que el canvi d'hoste pot arribar a ser tant significatiu que les espècies exòtiques, en realitat mai s'hauran alliberat de la pressió d'herbivorisme sinó que simplement hauran patit un intercanvi d'insectes fitòfags que seguiran regulant la població vegetal (Colautti et al., 2004). Així doncs, en els següents apartats es discutirà els nivells d'herbivorisme de *S. pterophorus* i *S. inaequidens* en relació a la hipòtesi de l'alliberament d'enemics naturals (Introducció, apartat 1.3.3) i quins factors han contribuït a aquests nivells d'herbivorisme (Introducció, apartat 1.3.2).

Taula 3. Herbívors especialistes associats a les espècies natives i exòtiques de *Senecio* a l'àmbit invasor.

<i>Sphenella marginata</i>	
Hostes natius	<i>S. vulgaris</i> <i>S. lividus</i>
Hostes exòtics	<i>S. inaequidens</i>
	  
	(a) larva dins capítol de <i>S. inaequidens</i> (b) pupa dins capítol de <i>S. inaequidens</i> (c) adult
<i>Phycitodes albatella</i>	
Hostes natius	----
Hostes exòtics	<i>S. inaequidens</i> <i>S. pterophorus</i>
	  
	(d) larva sobre <i>S. pterophorus</i> (e) capítol danyat de <i>S. pterophorus</i> (f) adult
Àfids (<i>Aphis haroi</i>)	
Hostes natius	<i>S. vulgaris</i> <i>S. lividus</i>
Hostes exòtics	<i>S. inaequidens</i> <i>S. pterophorus</i>
	
	(g) àfids sobre <i>S. pterophorus</i>

4.2.2. Noves interaccions i pressió d'herbivorisme

Els resultats obtinguts en l'estudi biogeogràfic van donar suport a la hipòtesi d'alliberament d'enemics naturals (ERH) demostrant que tot i haver establert noves interaccions amb els herbívors locals, les poblacions de *S. pterophorus* a les zones d'invasió experimentaven una pressió d'herbivorisme menor en comparació a la zona d'origen (Capítol 1). En canvi, a l'estudi a nivell de comunitat (Capítol 3), els resultats obtinguts no van mostrar una tendència clara entre les espècies natives i exòtiques en suport a la hipòtesi ERH.

Fent un repàs a la literatura es va veure que aquesta ambigüitat era comú entre els estudis que avaluen l'ERH a nivell de comunitat (veure Taula 4). Una possible explicació sobre aquest fet podia recaure en la complexitat de les interaccions planta–herbívor. En alguns casos, la metodologia d'anàlisi aplicada pot agreujar aquesta complexitat i emascarar els patrons reals d'herbivorisme (Martin et al., 2005). En ecologia és comú que les dades de recompte estiguin zero inflades, és a dir que continguin més zeros del que es podrien esperar en una distribució de Poisson o Binomial Negativa, com a conseqüència de processos biològics o per errors en el mostreig (Martin et al., 2005). Per tant en aquestes circumstàncies és necessària l'aplicació de models estadístics de zero inflació (ZI), els quals no estan gaire extesos entre els estudis sobre les interaccions planta–herbívor.

En aquesta tesi, l'absència de predació en un elevat nombre de plantes de *S. pterophorus* a les zones d'invasió (Capítol 1 i 3) com també en el congènere natiu, *S. vulgaris* (Capítol 3) va comportar que les dades estiguessin zero inflades i per tant fos necessària l'aplicació d'un model de zero inflació (ZINB).

En l'estudi a nivell de comunitat (Capítol 3) l'aplicació del model ZINB a més a més de controlar l'excés de zeros en les dades, també va distingir l'herbivorisme en dues components de dany (freqüència i intensitat). Aquesta distinció va permetre copsar la complexitat real de les interaccions i en conseqüència es va obtenir una millora en la descripció de les diferències d'herbivorisme entre les espècies i en la interpretació dels resultats ambigus en el suport de la hipòtesi d'alliberament d'enemics (ERH).

Taula 4. Estudis sobre la hipòtesi d'alliberament d'enemics naturals (Keane&Crawley, 2002).

Estudis	Suport a la hipòtesi ERH	Mesures d'herbivorisme
<i>Nivell biogeogràfic</i>		
Memmott et al. (2000)	+	diversitat, biomassa i abundànciad'herbívors
Fenner & Lee (2001)	+	% capítols danyats
Wolfe (2002)	+	% plantes atacades i abundància herbívors en tiges, flors i llavors
DeWalt <i>et al.</i> (2004)	+	% herbívorsime en fulla (àrea danyada)
Prati & Bossdorf (2004)	+	% capítols danyats
Vilà (2005)	+	% plantes amb signes d'herbivorisme
Cripps <i>et al.</i> (2006)	n.s.	diversitat, riquesa i abundància d'herbívors
Adams <i>et al.</i> (2009)	+	% herbívorsime en fulla (àrea danyada)
Hinzet <i>et al.</i> (2012)	n.s.	% branques atacades i en aquestes % insectes
Maurel <i>et al.</i> (2013)	+	% fulles atacades i en aquestes % intensitat del dany
<i>Nivell de comunitat</i>		
Goergen & Daehler (2001)	+	% llavors i òvuls danyats
Siemann & Rogers (2003)	+	% herbivorisme en fulla (àrea danyada)
Agrawal & Kotanen (2003)	-	% herbivorisme en fulla (àrea danyada)
Parker & Hay (2005)	-	massa de fulla consumida
Cincotta <i>et al.</i> (2009)	+	% herbívorsime en fulla (àrea danyada)
Suwa & Louda (2012)	-	% herbívorsime en fulla (àrea danyada)
Lombardero <i>et al.</i> (2012)	+	% arbres atacats. Abundància herbívors a les plantacions.
Harvey (2013)	-	% herbívorsime en fulla (àrea danyada). Abundància herbívors associats.

(+) suport (n.s.) no suport (-) contrari

D'altra banda, distingir la freqüència en que les plantes estaven atacades i la intensitat en que els herbívors les consumien va permetre esbrinar quins factors influïen les interaccions planta–herbívor i en conseqüència afectaven l'alliberament de les espècies exòtiques.

4.2.3. Factors d'influència en les interaccions planta–herbívor en l'àmbit invasor

Les interaccions planta–herbívor poden estar influïdes per nombrosos factors (Graves & Shapiro, 2003). A continuació es fa un repàs dels diferents factors estudiats i es discuteix de forma detallada la seva influència en les interaccions planta–herbívor en les espècies natives i exòtiques de *Senecio*.

A la taula 5 es mostra esquemàticament la influència de diferents factors en les interaccions entre les plantes de *Senecio* i els herbívors especialistes més abundants. Donada l'estreta relació entre la mida de la planta i les defenses químiques (Fenny, 1976; Price, 1991), i la seva influència en la presència d'altres herbívors (competidors) aquests factors van ser analitzats de forma conjunta en aquesta tesi (Capítol 4). La influència de la fenologia i la sincronia fenològica entre les plantes i els herbívors locals va ser determinada en l'estudi temporal efectuat en el Capítol 3.

Taula 5. Factors d'influència en l'establiment d'interaccions planta–herbívor per les espècies natives i exòtiques del gènere *Senecio*. X = no influència i el "check" = influència.

	[PAs]	Mida planta	Presència competidors	Fenologia Sincronia	Temps de residència	Presència congèneres
<i>S. vulgaris</i>						
<i>Sphenella marginata</i>	X	✓	X	✓	---	---
<i>Aphididae</i>	X	✓	X	---	---	---
<i>S. lividus</i>						
<i>Sphenella marginata</i>	X	✓	X	✓	---	---
<i>Aphididae</i>	X	✓	X	---	---	---
<i>S. inaequidens</i>						
<i>Sphenella marginata</i>	X	✓	X	✓	✓	✓
<i>Phycitodes albatella</i>	X	✓	X	✓	✓	X
<i>Aphididae</i>	X	✓	X	---	✓	✓
<i>S. pterophorus</i>						
<i>Phycitodes albatella</i>	X	X	X	✓	✓	X
<i>Aphididae</i>	X	X	X	---	✓	✓

4.2.3.1. Concentració d'alcaloides pirrolizidínic (PAs)

Els alcaloides pirrolizidínic són substàncies que es consideren defenses químiques vegetals i per tant que s'han relacionat freqüentment amb la disminució de l'herbivorisme degut als seus efectes aguts i crònics en vertebrats i invertebrats (Bicchi et al., 1985; Hartmann et al. 1999).

En aquest tesi, la concentració d'alcaloides pirrolizidínic no estava relacionada amb els nivells d'herbivorisme en cap de les espècies de *Senecio* estudiades (Capítol 4). En altres estudis efectuats en condicions similars, els efectes de la concentració total de PAs en les interaccions planta–herbívor van ser molt heterogènis, en alguns casos evidenciant efectes negatius (Vrieling & vanWijk, 1994; Stastny et al., 2005), positius (Macel & Klinkhamer, 2010) o nuls (Van der Meijden, 1989).

En conseqüència, es va especular que les interaccions planta–herbívor podien estar influïdes per determinats compostos de PAs en lloc de la concentració total. L'elevada diversitat d'alcaloides (Hartmann & Witte, 1995; Vrieling & Boer, 1999) i la seva influència en les interaccions planta–herbívor ha estat àmpliament reportada (Honda et al. 1997; Macel & Vrieling, 2003).

Així doncs, els PAs podien estar influïnt determinades interaccions com podria ser el cas de *S. pterophorus* i *Sphenella marginata*. De manera que l'absència d'interaccions entre *S. pterophorus* i *Sphenella marginata* ni cap altre espècie de *Tephritids* a Europa a diferència d' Austràlia, podia recaure en diferències en la composició PAs o d'altres metabòlits secundaris entre les plantes de *S. pterophorus* europees i australianes. No obstant per a poder determinar l'existència d'aquestes diferències i quina és la seva influència real sobre les interaccions són necessaris futurs estudis.

4.2.3.2. Mida de la planta

La mida de la planta es considera un factor rellevant en la selecció d'hoste (Cornelissen, 2008). Les plantes sanes, amb creixement ràpid o vigoroses tindran una major qualitat nutritiva (Price, 1991; Karhu & Neuvonen, 1998). Els herbívors especialistes, en la selecció d'hoste estaran més afectats per la qualitat de les plantes hostes que no per els nivells de defenses químiques, ja que han desenvolupat mecanismes per tolerar-les (Price, 1991; Schowalter et al., 1999; Fritz et al. 2003). En conseqüència, s'espera que els especialistes

s'alimentin preferentment sobre plantes sanes, de ràpid creixement o vigoroses (*Plant Vigor Hypothesis*) (Price, 1991).

Els resultats obtinguts en aquesta tesi, en efecte van mostrar que la mida de la planta, en comparació amb altres factors, influïa significativament en l'herbivorisme per especialistes (Capítol 4). Aquesta tendència va ser comuna en totes les espècies, excepte en *S. pterophorus*. Malgrat que les plantes de *S. pterophorus* fossin més vigoroses que els congèneres de l'àmbit invasor i continguessin una elevada concentració de PAs no es va observar cap efecte en l'herbivorisme. Possiblement la baixa quantitat de plantes associats herbívors (Capítols 1, 2 i 3) no va permetre determinar cap relació.

4.2.3.3. Presència de competidors

L'ús d'una planta hoste també es pot veure influït per la presència d'herbívors que s'alimenten de les mateixes plantes (competidors). El consum per herbívor pot induir canvis en la planta hoste com pèrdua de qualitat nutricional i la palatabilitat, augment de la toxicitat, modificacions en l'arquitectura, la fenologia, i la fisiologia (Karban, 1989; Alonso & Herrera, 1996; Inbar et al, 1999). En conseqüència, aquest canvis podran afectar els patrons d'oviposició o consum per part d'altres herbívors (Karban & Baldwin, 1997; Pallini et al. 1997; Dicke 2000; Castells & Berenbaum 2008). En les anàlisis efectuades, la presència d'herbívors competidors no va influir en l'herbivorisme sobre les espècies de *Senecio* per part de cap dels insectes identificats (Capítol 4). Malgrat que *Sphenella marginata* i *Phycitodes albatella* utilitzessin els mateixos recursos, la disponibilitat de capítols va ser suficient com per evitar la competència entre aquestes espècies d'herbívors.

4.2.3.4. Fenologia dels hostes i sincronia amb el cicle vital dels herbívors

La fenologia i la sincronia fenològica van jugar una paper important en les interaccions entre els herbívors locals (*Sphenella marginata* i *Phycitodes albatella*) i els seus hostes. Tal i com es va demostrar en el capítol 3, l'oviposició de les femelles de *Sphenella marginata* va ser significament superior sobre *S. lividus* en comparació amb els congèneres els quals presentaven un menor grau de sincronia amb l'herbívor (veure figura 3 del Capítol 3). D'acord amb altres estudis (Mopper & Simbeldorff, 1995; Russell & Louda, 2004) la sincronia fenològica pot afectar els nivells d'herbivorisme que l'hoste experimenta. En conseqüència, *S. vulgaris* i *S. inaequidens* va estar més alliberades, en part, a causa d'un cert grau d'asincronia amb aquesta herbívor.

D'altra banda, les interaccions de les espècies exòtiques *S. inaequidens* i *S. pterophorus* amb els herbívors locals no van estar prohibides per una falta de coincidència entre la fenologia de les plantes i la dels insectes locals. Sovint, la fenologia d'una espècie exòtica i la dels herbívors locals pot no coincidir i per tant, les noves interaccions queden prohibides és a dir, no es poden establir (da Ros, 1993; Asch et al., 2007). D'acord amb Da Ros (1993), els resultats obtinguts van demostrar que la similitud fenològica entre les espècies exòtiques i els hostes nadius va facilitar el canvi d'hoste dels herbívors locals, excepte en el cas de *Sphenella marginata* i *S. pterophorus*. Aquest fenomen podia estar influït per altres factors comentats en els subapartats anteriors.

En aquesta tesi, les úniques interaccions prohibides a causa de la fenologia van ser entre *Phycitodes albatella* i les espècies natives, *S. vulgaris* i *S. lividus*. Les primeres larves d'aquest insecte van començar a trobar-se al juliol (dades no mostrades) quan pràcticament ja no quedaven plantes de les espècies natives. Precisament, la falta de coincidència entre la fenologia d'aquestes espècies i l'herbívor va evidenciar la presència d'altres hostes nadius en la xarxa d'intercanvis de fitòfags (*host switching*). A la península Ibèrica, els hostes coneguts d'aquest lepidòpter són *Solidago virgaurea* L., *Crepis biennis* L. i *Senecio jacobea* L. Donat que *C. biennis* no està descrita al parc natural del Montseny i la distribució de *S. jacobea* és molt restringida en aquesta zona, es podria considerar *S. virgaurea* com a l'hoste natiu. En concret, aquesta espècie troba distribuïda àmpliament en el parc i el seu període de floració compren des de juliol fins a octubre, coincidint en l'espai i en el temps amb *S. inaequidens* i *S. pterophorus*. No obstant, caldria constatar aquestes especulacions amb un mostreig de les diferents espècies d'asteràcies coexistents amb els hostes exòtics dins el parc, ja que altres espècies amb períodes de floració similars com *Crepis capillaris* o *Crepis foetida* també podrien ser hostes potencials per *Phycitodes albatella*.

4.2.3.5. Hostes adequats per el desenvolupament de la descendència

El canvi d'hoste sol ser avantatjós per els herbívors locals perquè a més a més d'alimentar-se dels hostes nadius, incorporen noves plantes com a fonts addicionals de menjar (Agosta, 2006). A diferència de *S. pterophorus*, el seu congènere *S. inaequidens* va resultar una font d'alimentació addicional per *Sphenella marginata*. Sobre tot, entre juliol i desembre quan els hostes nadius havien desaparegut com a conseqüència del seu cicle vital (anual) (veure figures 2 i S2 del Capítol 3). Tal i com altres estudis han apuntat (Shapiro & Masuda, 1980; Shapiro,

1995), l'acceptació d'un hoste exòtic amb un període de floració diferent al dels hostes originals també va permetre un increment en el nombre de generacions. En alguns casos, tot i haver estat seleccionades com a hostes, les espècies exòtiques poden esdevenir una trampa o engany. És a dir, aparenten llocs hàbils per ovipositar però posteriorment no permeten el correcte desenvolupament de la larva (Courant et al., 1994; Graves & Shapiro, 2003; Casagrande & Dacey, 2007; Keeler & Chew, 2008). En aquest cas, *S. inaequidens* no va esdevenir un hoste “trampa” per *Sphenella marginata*. Tot i l'elevada concentració de PAs en comparació als hostes nadius, el desenvolupament de les larves no es va veure afectat (veure figura 5 del capítol 2). Així doncs, el llarg període de floració de *S. inaequidens* va contribuir a aquesta espècie estigués menys alliberada pel que fa a la freqüència de dany en comparació als seus congèneres, *S. vulgaris* i *S. pterophorus*.

4.3. Impacte dels herbívors en el procés d'invasió

Les plantes exòtiques de *S. pterophorus* i *S. inaequidens* a l'àrea d'invasió van interaccionar principalment amb herbívors especialistes de *Senecio*. Entre els herbívors identificats, *Sphenella marginata* va destacar per la considerable pressió d'herbivorisme que exercia sobre les espècies natives, consumint pràcticament un 40 % dels capítols en el cas de *S. lividus*. Per tant, s'esperava que aquest dípter causes un dany notable en les espècies exòtiques. No obstant, els resultats obtinguts en aquest tesi van de mostrar que en les espècies exòtiques la predació per aquest herbívor era pràcticament insignificant amb menys d'un 5% dels capítols danyats en les plantes de *S. inaequidens* i totalment absent a *S. pterophorus*. L'únic herbívor que va danyar els capítols de *S. pterophorus* va ser el microlepidòpter *Phycitodes albatella*. Tot i així, el percentatge de plantes danyades no superava el 20 % dels individus mostrejats amb aproximadament un 10% dels capítols consumits. En comparació amb la pressió d'herbivorisme exercida per altres herbívors com *Sphenella marginata*, el dany causat per *Phycitodes albatella*, no es pot considerar significatiu.

Avaluar la pressió d'herbivorisme en les parts reproductives de la planta permet tenir una mesura directe en l'efecte dels herbívors sobre la capacitat reproductiva de les plantes i per tant valorar l'impacte d'aquests a la invasió. En aquesta tesi s'ha evidenciat doncs, que els herbívors disminueixen la capacitat reproductiva de les espècies exòtiques però no significativament en comparació als congèneres nadius, en concret respecte *S. lividus*. Per tant en aquest aspecte, el procés invasiu de *S. pterophorus* i *S. inaequidens* no es veu alentit o frenat per els herbívors locals. Les plantes de *S. inaequidens*, no obstant, estaven afectades per àfids de forma similar a les espècies natives i per tant en aquest cas l'eficàcia biològica de l'espècie podria veure's disminuïda significativament.

Cal remarcar però que estudis recents sobre *S. pterophorus* en l'àmbit d'invasió han demostrat que l'alliberament dels enemics naturals no comporta un major creixement de les plantes de les poblacions invasores. Colomer-Ventura et al. (2015) van dur a terme un experiment de *common garden* utilitzant plantes de *S. pterophorus* provinents de 47 poblacions repartides entre la zona nativa, d'expansió i invasora d'aquesta espècie. Les plantes de les poblacions introduïdes, tot i estar alliberades dels enemics naturals, van presentar menor creixement i capacitat reproductiva que les provinents de poblacions natives. Aquests resultats van ser

Discussió general

contraris a la idea de que les plantes poden evolucionar ràpidament després de la invasió degut als canvis de pressió d'herbivorisme. Així doncs, tenint en compte els resultats obtinguts en aquesta tesi i per altres autors (Colomer-Ventura et al., 2015) no sembla que els herbívors puguin actuar com a agents de control de les invasions de *S. pterophorus* i *S. inaequidens*.

5. CONCLUSIONS

Conclusions

Estudi biogeogràfic

- D'acord amb la hipòtesi d'alliberament d'enemics naturals (*Enemy Release*), les plantes de *S. pterophorus* a Austràlia i Europa s'han alliberat dels enemics naturals de la zona d'origen
- Després de la pèrdua dels enemics naturals, les plantes de *S. pterophorus* han establert noves interaccions amb els herbívors locals de la zona d'invasió
- El temps de residència ha estat un factor significatiu en l'establiment de noves interaccions. En concret, a Austràlia on les plantes han coexistit durant més temps amb la fauna local, el canvi d'hoste ha estat més intens en comparació a Europa.
- Tot i les noves interaccions, les poblacions de *S. pterophorus* a les zones d'invasió han experimentat una pressió d'herbivorisme menor en comparació a la zona d'origen, d'acord amb la hipòtesi d'alliberament d'enemics naturals (*Enemy Release*)
- A la zona d'expansió (Western Cape) les plantes *S. pterophorus* han experimentat una pressió d'herbivorisme similar a la zona nativa després de la reassociació amb els herbívors nadius

Estudi a nivell de comunitat

- *S. pterophorus* i *S. inaequidens* han establert noves interaccions amb els herbívors locals
- El canvi d'hoste més pronunciat a *S. inaequidens* en comparació a *S. pterophorus* pot ser explicat, en part, per les diferències en el temps d'introducció (*S. inaequidens* > *S. pterophorus*)
- Els herbívors més abundants identificats a les plantes exòtiques són especialistes. En concret han destacat el dípter *Sphenella marginata*, el microlepidòpter *Phycitodes albatella* i l'àfid, *Aphis haroi*
- La presència de congèneres nadius de *Senecio* a l'entorn ha facilitat el canvi d'hoste d'alguns herbívors locals cap a les espècies exòtiques, com és el cas de *S. inaequidens* i *Sphenella marginata*
- En *S. pterophorus* ni la presència de congèneres ni la coincidència fenològica han pogut explicar l'absència de *Sphenella marginata* en aquesta espècie exòtica
- La distinció de l'herbivorisme en dues components de dany (freqüència i intensitat) ha permès una millora en la descripció de les diferències d'herbivorisme entre les

espècies i en la interpretació dels resultats ambigus respecte la hipòtesi d'alliberament d'enemics naturals (ERH)

- Considerant l'herbivorisme en total i en particular per *Sphenella marginata*, la intensitat de dany en les espècies exòtiques, en cap cas, no ha estat superior a les natives
- L'ERH ha rebut principalment suport pel que fa a la intensitat de dany més que per la freqüència, especialment en l'herbivorisme per *Sphenella marginata*
- Tenint en compte la complexitat de les condicions naturals s'ha determinat que l'herbivorisme no ha estat relacionat amb l'origen de les espècies (natiu vs. exòtic) ni per la concentració total d'alcaloides pirrolozidinics ni la presència de competidors. En canvi, la mida de la planta i la fenologia han estat factors determinants en les interaccions entre els herbívors locals i les espècies natives i exòtiques de *Senecio*, excepte *S. pterophorus*, per la qual no s'ha pogut relacionar amb cap factor.
- Per *S. lividus*, l'elevada freqüència i intensitat de dany causat per *Sphenella marginata* ha estat explicada per la sincronia entre aquesta espècie nativa i el dípter
- Per *S. vulgaris*, el grau d'asincronia amb *Sphenella marginata* i l'heterogeneïtat entre els seus hostes ha comportat que moltes plantes quedessin lliures d'herbivorisme
- Per *S. inaequidens*, el seu llarg període de floració ha afavorit que *Sphenella marginata* l'utilitzi com a hoste durant l'absència de les espècies natives (d'agost a abril) i en conseqüència hagi augmentat el percentatge de plantes danyades.
- Per *S. pterophorus*, la baixa freqüència i intensitat de dany possiblement vinguin determinats per la seva recent introducció

Conclusió general

El mostreig biogeogràfic de *S. pterophorus* ha permès determinar l'alliberament dels enemics naturals per aquesta espècie com també l'establiment noves interaccions amb herbívors locals a la zona d'invasió. En el mostreig de comunitat, s'ha evidenciat que contràriament a les especulacions sobre el canvi d'hoste, els herbívors més abundants sobre les espècies exòtiques han estat especialistes del gènere *Senecio*. L'herbivorisme no ha estat determinat per a l'origen de l'espècie (nativa *vs* exòtica), si no que s'ha demostrat que les característiques intrínseques de la planta com la fenologia o la mida han influït significativament en les interaccions planta–herbívor, posant de manifest la complexitat de les condicions naturals. En general, la intensitat d'herbivorisme en aquestes dues espècies exòtiques no ha estat superior comparat amb els congèneres nadius. Per tant, es podria concloure doncs que en el sistema estudiat, de moment, els herbívors no esdevenen un element important en el control d'aquestes dues espècies invasores.

6. REFERÈNCIES

- Adams, J.M.; Fang, W.; Callaway, R.M.; Cipollini, D. & Newell, E. (2009) A cross-continental test of the Enemy Release Hypothesis: leaf herbivory on *Acer platanoides* (L.) is three times lower in North America than in its native Europe. *Biological Invasions* 11:1005–1016.
- Ahrens, D.; Scott, M. & Vogler, A. P. (2011) The phylogeny of monkey beetles based on mitochondrial and ribosomal RNA genes (Coleoptera: Scarabaeidae: Hopliini). *Molecular phylogenetics and evolution*, 60(3), 408-415.
- Agosta, S.J. (2006) On ecological fitting, plant-insect associations, herbivore host shifts, and host plant selection. *Oikos* 114 : 556-565.
- Agosta, S. J. & Klemens, J. A. (2008) Ecological fitting by phenotypically flexible genotypes: implications for species associations, community assembly and evolution. *Ecology Letters*, 11(11), 1123-1134.
- Agrawal, A.A. & Kotanen, P.M. (2003) Herbivores and the success of exotic plants: a phylogenetically controlled experiment. *Ecology Letters* 6 : 712 – 715.
- Ali, J.G. & Agrawal, A.A. (2012) Specialists versus generalist insect herbivores and plant defense. *Trends in plant Science*. Vol 17, No. 5.
- Alonso, C. & Herrera, C.M. (1996) Variation in herbivory within and among plants of *Daphne laureola* (*Thymelaeaceae*) : correlation with plant size and architecture. *Journal of Ecology* 84, pp. 495 – 502.
- Andreu, J.; Pino, J., Basnou, C.; Guardiola, M. & Ordóñez, J.L. (2012) Les espècies exòtiques de Catalunya. Resum del projecte EXOCAT. CREA i Generalitat de Catalunya, departament d'agricultura, ramaderia, pesca, alimentació i medi natural.
- Asch, M. & Visser, M.E. (2007) Phenology of forest caterpillars and their host trees: the importance of synchrony. *Annual Review of Entomology*, 52 : 37-55.
- Baker, H. G. (1965) Characteristics and modes of origin of weeds. Pages 147–172 in H. G. Baker, and G. L. Stebbins, editors. *The genetics of colonizing species*. Academic Press, New York.
- Barberis, G.; Minuto, L. & Peccenini S. (1998) *Senecio grisebachii* Baker(*Compositae*), new to the Italian flora. *Webbia* 52:201–206.
- Becerra, J. X. (1997) Insects on plants: macroevolutionary chemical trends in host use. *Science*, 276 (5310), 253-256.
- Berny, P.; Caloni, F., Croubels, S.; Sachana, M.; Vandenbroucke, V.; Davanzo, F. & Guitart, R. (2009) Animal poisoning in Europe. Part 2: Companion animals. *The Veterinary Journal* 183, 255 – 259.
- Bicchi, C. & D'Amato, A. (1985) Determination of pyrrolizidine alkaloids in *Senecio inaequidens* D. C. by capillary gas chromatography. *Journal of Chromatography*, 349, 23 -29.

- Blossey, B. & Notzold, R. (1995) Evolution of increased competitive ability in invasive nonindigenous plants: a hypothesis. *Journal of Ecology*, 887-889.
- Bossdorf, O.; Lipowsky, A. & Prati, D. (2008) Selection of preadapted populations allowed *Senecio inaequidens* to invade Central Europe. *Diversity and Distributions*, 14(4), 676-685.
- Brändle, M.; Kühn, I.; Klotz, S.; Belle, C. & Brandl, R. (2008) Species richness of herbivores on exotic host plants increases with time since introduction of the host. *Diversity and Distributions*, 14, 905 – 912.
- Caño, L.; Escarre, J. & Sans, F. X. (2007) Factors affecting the invasion success of *Senecio inaequidens* and *S. pterophorus* in Mediterranean plant communities. *Journal of Vegetation Science*, 18(2), 281-288.
- Caño, L.; Escarré, J.; Fleck, I.; Blanco-Moreno, J. M. & Sans, F. X. (2008) Increased fitness and plasticity of an invasive species in its introduced range: a study using *Senecio pterophorus*. *Journal of Ecology*, 96(3), 468-476.
- Caño, L.; Escarré, J.; Vrieling, K.; & Sans, F. X. (2009) Palatability to a generalist herbivore, defence and growth of invasive and native *Senecio* species: testing the evolution of increased competitive ability hypothesis. *Oecologia*, 159(1), 95-106.
- Carlton, J.T. (1996) Pattern, process and prediction in marine invasion ecology. *Biological Conservation*, 78, 97 – 106.
- Casasayas, T. (1989) La flora al·loctona de Catalunya. Catàleg raonat de les plantes vasculars exòtiques que creixen sense cultiu del NE de la Península Ibèrica. Tesis doctoral, Universitat Autònoma de Barcelona.
- Casagrande, R. A. & Dacey, J. E. (2007) Monarch butterfly oviposition on swallow-worts (*Vincetoxicum spp.*). *Environmental Entomology*, 36(3), 631-636.
- Castells, E. & Berenbaum, M. R. (2008) Host plant selection by a monophagous herbivore is not mediated by quantitative changes in unique plant chemistry: *Agonopterix alstroemeriana* and *Conium maculatum*. *Arthropod-Plant Interactions*, 2(1), 43-51.
- Chamorro, L.; Caballero, B.; Blanco-Moreno, J.M.; Caño, L.; Garcia-Serrano, H.; Masalles, R.M. and Sans, F.X. (2006) Ecología y distribución de *Senecio pterophorus* (Compositae) en la Península Ibérica. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 53, 55-62.
- Cincotta, C.L.; Adams, J. L. & Holzapfel, C. (2009) Testing the enemy release hypothesis: a comparison of foliar insect herbivory of the exotic Norway maple (*Acer platanoides* L.) and the native sugar maple (*A. saccharum* L.). *Biological Invasions* 11 : 379 – 388.

- Clark, M. M. (1988) Insect herbivore communities colonising the flower-heads of *Berkheya* in South Africa and *Carduoideae* in Europe and California. Thesis in the University of Cape Town, South Africa.
- Cripps, M.G.; Schwarzlander, M.; McKenney, J.L.; Hinz, H.L. & Price, W.J. (2006) Biogeographical comparison of the arthropod herbivore communities associated with *Lepidium draba* in its native, expanded and introduced ranges. *Journal of Biogeography* 33:2107-2119.
- Cogni, R. (2010). Resistance to plant invasion? A native specialist herbivore shows preference for and higher fitness on an introduced host. *Biotropica*, 42(2), 188-193.
- Colautti, R.I.; Ricciardi, A.; Grigorovich, I.A. & MacIsaac, H.J. (2004) Is invasion success explained by the enemy release hypothesis? *Ecology Letters* 7:721-733.
- Colomer-Ventura, F.; Martínez-Vilalta, J.; Zuccarini, P.; Escolà, A.; Armengot, L. & Castells, E. (2015) Contemporary evolution of an invasive plant is associated with climate but not with herbivory. *Functional Ecology*.
- Cornelissen, T.; Fernandes W. G. & Vasconcellos-Neto, J. (2008) Size does matter: variation in herbivory between and within plants and the plant vigour hypothesis. *Oikos* 117 : 1121 – 1130.
- Courant, A.V.; Holbrook, A.E.; Van Der Riejden, E.D. & Chew, F.S. (1994) Native pierine butterfly (*Pieridae*) adapting to naturalized crucifer? *Journal of the Lepidopterists' Society* 48, 168–170.
- Crooks, J.A. (2005) Lag times and exotic species: The ecology and management of biological invasions in slow-motion. *Ecoscience*, 12 (3), 316-329.
- Crosby, A. (1986) *Ecological Imperialism: the biological expansion of Europe, 900 – 1900*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Daehler, C. C. (2003) Performance comparisons of co-occurring native and alien invasive plants: Implications for conservation and restoration. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, 34, 183 – 211.
- Da Ros, N., Ostermeyer, R., Roques, A., & Raimbault, J. P. (1993). Insect damage to cones of exotic conifer species introduced in arboreta. I: Interspecific variations within the genus *Picea*. *Zeitschrift für angewandte Entomologie*, 115(2), 113-133.
- DAISIE European Invasive Alien Species Gateway (2008) DAISIE European Invasive Alien Species Gateway. <www.europe-aliens.org>
- Davis, M. A.; Grime, J. P. & Thompson, K. (2000) Fluctuating resources in plant communities : a general theory of invisibility. *Journal of Ecology*, 88, 528 – 534.
- Davis, M. A. & Pelsor, M. (2001) Experimental support for a resource-based mechanistic model of invisibility. *Ecology Letters*, 4, 421-428.

Referències

- Davis, M. A.; Thompson, K. & Grime, J. P. (2001) Charles S. Elton and the dissociation of invasion ecology from the rest of ecology. *Diversity and Distributions* 7 : 97 – 102.
- Desouhant, E.; Debouzie, D. & Menu, F. (1998) Oviposition pattern of phytophagous insects: on the importance of host population heterogeneity. *Oecologia*, 114(3), 382-388.
- Després, L.; David, J. P. & Gallet, C. (2007) The evolutionary ecology of insect resistance to plant chemicals. *Trends in Ecology & Evolution*, 22(6), 298-307.
- DeWalt, S.J.; Denslow, J.S. & Ickes, K. (2004) Natural-enemy releases facilitates habitat expansion of the invasive thropical shrub *Clidemia hirta*. *Ecology* 85:471–483
- Di Castri F (1989) History of biological invasions with special emphasis on the old world. In: Drake, J.A.; Mooney, H.A.; di Castri, F.; Groves, R.H.; Kruger, F.J.; Rejmánek, M. & Williams, M Biological invasions: a global perspective. John Wiley & Sons, Chichester, UK, pp. 1-30.
- Dicke, M. (2000) Chemical ecology of host – plant selection by herbivorous arthropods: a multitrophic perspective. *Biochemical Systematics and Ecology* 28, 601 – 617.
- Edgar, J.A.; Roeder, E. & Molyneux, R.J. (2002) Honey from plants containing pyrrolizidine alkaloids: a potential threat to health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 2719–2730.
- Elton, C.S. (1958) *The Ecology of Invasions by animals and plants*. Methuen, London
- Ernst, W.H.O. (1998) Invasion, dispersal and ecology of the South African neophyte *Senecio inaequidens* in The Netherlands: from wool alien to railway and road alien. *Acta Botanica Neerlandica*, 47, 131–151.
- Facelli, J. M. & Temby, A. M. (2002) Multiple effects of shrubs on annual plant communities in arid lands of South Australia. *Austral Ecology* 27: 422–432.
- Feeny, P.P. (1976) Plant apparency and chemical defense. *Biochemical Interaction Between Plants and Insects* (eds J.W.Wallace & R. L. Mansell). pp. 1–40, Plenum, New York.
- Fritz, R. S.; Crabb, B. A. & Hochwender, C. G. (2003) Preference and performance of a gall-inducing sawfly: plant vigor, sex, gall traits and phenology. *Oikos* 102:601–613.
- Fry, H.R.; Quirin, D.T; Ryall, K.L & Dixon, P.L. (2009) Influence of intra-tree variation in phenology and oviposition site on the distribution and performance of *Ennomossubsignaria* on mature sycamore maple. *Ecological Entomology*, 34, 394 – 405.
- Garcia-Serrano, H.; Escarré, J. & Sans, F. X. (2004) Factors that limit the emergence and establishment of the related aliens *Senecio inaequidens* and *Senecio pterophorus* and the native *Senecio malacitanus* in Mediterranean climate. *Canadian Journal of Botany*, 82(9), 1346-1355.

- Garcia-Serrano, H.; Escarré, J.; Garnier, É. & Sans, F. X. (2005) A comparative growth analysis between alien invader and native *Senecio* species with distinct distribution ranges. *Ecoscience*, 12(1), 35-43.
- Garcia-Serrano, H.; Sans, F. X. & Escarre, J. (2007) Interspecific competition between alien and native congeneric species. *Acta Oecologica*, 31(1), 69-78.
- Garcia-Serrano, H.; Escarre, J.; Cano, L. & Sans, F. X. (2008) Comparing the effect of habitat on the magnitude of inbreeding depression in the Mediterranean native *Senecio malacitanus* and the alien *S. inaequidens*: consequences for invasive ability. *Botany*, 86(1), 63-75.
- Graves, D.S. & Shapiro A.M. (2003) Exotics as host plants of the California butterfly fauna, *Biological conservation* 110, 413 – 433.
- Goergen, E. & Daehler, C. C. (2001) Inflorescence Damage by Insects and Fungi in Native Pili Grass (*Heteropogon contortus*) versus Alien Foundation Grass (*Pennisetum setaceum*) in Hawai'i. *Pacific Science*, 55(2), 129-136.
- Gupta, C. R. (2007) *Veterinary toxicology. Basic and clinal principles*. Elsevier Inc.
- Guitart, R.; Sachana, M.; Caloni, F.; Croubels, S.; Vandenbroucke, V. & Berny, P. (2010) Animal poisoning in Europe. Part 3: wildlife. *The Veterinary Journal* 183, 260–265.
- Fenner, M. & Lee, W.G. (2001) Lack of pre-dispersal seed predators in introduced Asteraceae in New Zealand. *New Zealand Journal of Ecology* 25:95–99.
- Hartmann, T. & Witte, L. (1995) Chemistry, biology and chemoecology of the pyrrolizidine alkaloids. In: Pelletier SW (ed) *Alkaloids: chemical and biological perspectives*, vol 9. Pergamon Press Elmsford, New York, pp 156–233.
- Hartmann, T. (1999) Chemical ecology of pyrrolizidine alkaloids. *Planta* 207, 483 – 495.
- Harvey, K. J.; Nipperess, D. A.; Britton, D. R. & Hughes, L. (2013) Does time since introduction influence enemy release of an invasive weed?. *Oecologia*, 173(2), 493-506.
- Hawkes, C.V. (2007) Are invaders moving targets? The generality and persistence of advantages in size, reproduction, and enemy release in invasive plant species with time since introduction. *American Naturalist*, 170, 832–843.
- Hilliard, O.M. (1977) *Compositae in natal*. University of Natal Press, Pietermaritzburg.
- Hinz, H.L.; Schwarzlander, M.; McKenney, J.L.; Cripps, M.G.; Harmon, B. & Price, W.J. (2012) Biogeographical comparison of the invasive *Lepidium draba* in its native, expanded and introduced ranges. *Biological Invasions* 14:1999–2016
- Honda, K.; Hayashi, N.; Abe, F. & Yamauchi, T. (1997) Pyrrolizidine alkaloids mediate host-plant recognition by ovipositing females of an old world danaid butterfly, *Idea leuconoe*. *Journal of chemical ecology*, 23(7), 1703-1713

- Hoopes, M. F., & L. M. Hall. (2002) Edaphic factors and competition affect pattern formation and invasion in a California grassland. *Ecological Applications* 12: 24–39.
- Inbar, M.; Doostdar, H.; Leibe, G.L. & Mayer, R. T. (1999) The role of plant rapidly induced responses in asymmetric interespecific interactions among insect herbivores. *Journal of Chemical Ecology*. Vol 25 N. 8.
- Jaenike, J. (1990) Host specialization in phytophagous insects. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 21, 243-273.
- Janzen, D.H. (1968) Host plants as islands in evolutionary and contemporary time. *The American Naturalist*, 102, 592–595.
- Karban, R. (1989) Community organization of Erigeon Glaucus folivores: Effects of competition, predation and host plant. *Ecology* 70 (4) pp. 1028 – 1039.
- Karban, R. & Baldwin, I. T. (1997) *Induced Response to Herbivory*. University of Chicago Press, Chicago.
- Karhu, K. J. & S. Neuvonen. (1998) Wood ants and a geometrid defoliator of birch: predation outweighs beneficial effects through the host plant. *Oecologia* 113:509–516.
- Keane, R.M. & Crawley, M.J. (2002) Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis. *Trends in Ecology and Evolution*, 17, 164-170.
- Keeler, M. S. & Chew, F. S. (2008) Escaping an evolutionary trap: preference and performance of a native insect on an exotic invasive host. *Oecologia*, 156(3), 559-568.
- Kempf, M.; Reinhard, A. & Beuerle, T. (2010) Pyrrolizidine alkaloids (PAs) in honey and pollen-legal regulation of PA levels in food and animal feed required. *Molecular Nutrition & Food Research* 54, 158–168.
- Kettunen, M.; Genovesi, P.; Gollasch, S.; Pagad, S.; Starfinger, U.; ten Brink, P. & Shine, C. (2009) Technical support to EU strategy on invasive species (IS) Assessment of the impacts of IS in Europe and the EU (Final module report for the European Commission). Institute for European Environmental Policy (IEEP), Brussels, Belgium.
- Lafuma, L.; Balkwill, K.; Imbert, E.; Verlaque, R. & Maurice, S. (2003) Ploidy level and origin of the European invasive weed *Senecio inaequidens* (Asteraceae). *Plant Systematics and Evolution*, 243(1-2), 59-72.
- Lachmuth, S.; Durka, W. & Schurr, F. M. (2010) The making of a rapid plant invader: genetic diversity and differentiation in the native and invaded range of *Senecio inaequidens*. *Molecular Ecology*, 19(18), 3952-3967.
- Lavergne, S. & Molofsky, J. (2007) Increased genetic variation and evolutionary potential drive the success of an invasive grass. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 104: 3883–3888.

- Levine, J.M. & D'Antonio, C.M. (2003) Forecasting biological invasions with increasing international trade. *Conservation Biology* 17: 322-326.
- Levyns, M.R. (1950) Compositae. In: Adamson RS, Salter TM (eds) *Flora of the cape peninsula*. Juta, Cape Town
- Lockwood, J. L.; Hoopes, M. F. & Marchetti, P. (2007) *Invasion Ecology*. Blackwell publishing.
- Lombardero, M. J.; Alonso-Rodríguez, M. & Roca-Posada, E. P. (2012) Tree insects and pathogens display opposite tendencies to attack native vs. non-native pines. *Forest Ecology and Management*, 281, 121-129.
- Lonsdale, W.M. (1999) Global patterns of plant invasions and the concept of invasibility. *Ecology* 80: 1522-1536.
- Lopez-Garcia, M. C. & Maillet, J. (2005) Biological characteristics of an invasive South African species. *Biological Invasions*, 7(2), 181-194.
- Louda, S. M. (1982) Limitation of the recruitment of the shrub *Haplopappus squarrosus* (Asteraceae) by flower- and seed feeding insects. *J. Ecol.* 70, 43–53.
- Louda, S.M. & Potvin M.A. (1995) Effect of inflorescence-feeding insects on the demography and lifetime fitness of native plant. *Ecology*, 76 (1) 229 – 245
- Lloret, F.; Médail, F.; Brundu, G.; Camarda, I.; Moragues, E. V. A.; Rita, J. & Hulme, P. E. (2005) Species attributes and invasion success by alien plants on Mediterranean islands. *Journal of Ecology*, 93(3), 512-520.
- Macel, M. & Vrieling, K. (2003) Pyrrolizidine alkaloids as oviposition stimulants for the cinnabar moth, *Tyria jacobaeae*. *Journal of chemical ecology*, 29(6), 1435-1446.
- Macel, M. & Klinkhamer, P. G. (2010) Chemotype of *Senecio jacobaea* affects damage by pathogens and insect herbivores in the field. *Evolutionary Ecology*, 24(1), 237-250.
- Mack, R. N. & Erneberg, M. (2002) The United States naturalized flora: largely the product of deliberate introductions. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 89: 176 - 189.
- Mack, R.N.; Simberloff, D.; Lonsdale, W.M.; Evans, H.; Clout, M. & Bazzaz, F.A. (2000) Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences and control. *Ecological Applications* 10: 689-710.
- Maron, J.L. & Vilà, M. (2001) When do herbivores affect plant invasion? Evidence for the natural enemies and biotic resistance hypotheses. *Oikos* 95:361–373.
- Marshall, D. R. & Brown, A. H. D. (1981) The evolution of apomixis. *Heredity* 47: 1–15.
- Marshall, L. G.; Webb, S. D.; Sepkoski Jr., J. J. & Raup, D. M. (1982) Mammalian evolution and the great American interchange. *Science* 215: 1351–1357.

- Martin, T. G.; Wintle, B. A.; Rhodes, J. R.; Kuhnert, P. M.; Field, S. A.; Low-Choy, S. J.; Tyre, A.J. & Possingham, H. P. (2005) Zero tolerance ecology: improving ecological inference by modelling the source of zero observations. *Ecology letters*, 8(11), 1235-1246.
- Maurel, N.; Fujiyoshi, M.; Muratet, A.; Porcher, E.; Motard, E.; Gargominy, O. & Machon, N. (2013) Biogeographic comparisons of herbivore attack growth and impact of Japanese knotweed between Japan and France. *Journal Ecology*, 101, 118 – 127.
- Memmott, J.; Fowler, S.V.; Paynter, Q.; Sheppard, A.W. & Syrett, P. (2000) The invertebrate fauna on broom, *Cytisus scoparius*, in two native and two exotic habitats. *Acta Oecologica* 21:213–222.
- Mc Lean, E.K. (1970) The toxic actions of pyrrolizidine (*Senecio*) alkaloids. *Pharmalogical reviews*. Vol. 22, Num. 4.
- Meusel, H. & Jäger, E.J. (1992) *Vergleichende Chorologie der zentraleuropäischen Flora III*. - Gustav Fischer Verlag, Jena - Stuttgart - New York.
- Mitchell, C.E.; Blumenthal, D.; Jarosik, V.; Puckett, E.E. & Pysek, P. (2010) Controls on pathogen species richness in plants' introduced and native ranges: roles of residence time, range size and host traits. *Ecology Letters* 13:1525–1535.
- Monty, A.; Stainier, C.; Lebeau, F.; Pieret, N. & Mahy, G. (2008) Seed rain pattern of the invasive weed *Senecio inaequidens* (Asteraceae). *Belgian Journal of Botany*, 51-63.
- Monty, A. & Mahy, G. (2010) Evolution of dispersal traits along an invasion route in the wind-dispersed *Senecio inaequidens* (Asteraceae). *Oikos*, 119(10), 1563-1570.
- Mopper, S. & Simberloff, D. (1995) Differential herbivory in an oak population: The role of plant phenology and insect performance. *Ecology*, Vol. 76, No. 4, pp. 1233-124.
- Morrison, W.E. & Hay, M.E. (2011) Herbivore preference for native vs. exotic plants: generalist herbivores from multiple continents prefer exotic plants that are evolutionarily naïve. *PLoS ONE* 6 (3).
- Moyano, M.R.; Garcia, A.; Rueda, A.; Molina, A.M.; Mendez, A. & Infante, F. (2006) *Echium vulgare* and *Senecio vulgaris* poisoning in fighting bulls. *Journal of Veterinary Medicine Series A* 53, 24–25.
- Moyneux, R.J.; Gardner, D.L.; Colegate, S.M. & Edgar, J.A. (2011) Pyrrolizidine alkaloid toxicity in livestock: a paradigm for human poisoning? *Food Additives & Contaminants* 28, 293 -307.
- Muwanga-Zake, J.W.F. (1994) Insect herbivores associated with *Senecio pterophorus* and *S. inaequidens* at Butterworth, South Africa. Thesis in Rhodes University, South Africa.
- Nordenstam, B. (2007) Senecioneae. Pp. 208-241. In: Kadereit, J.W. & Jeffrey, C. (eds.), *The Families and Genera of Vascular Plants*, vol. 8, Flowering Plants. Eudicots. Asterales. Springer, Berlin. p. 235

- Pallini, A.; Janssen, A. & Sabelis, W.M. (1997) Odour-mediated responses of phytophagous mites to conspecific and heterospecific competitors. *Oecologia* 110 : 179 – 185.
- Parker, J.D. & Hay, M.E. (2005) Biotic resistance to plant invasions? Native herbivores prefer non-native plants. *Ecology Letters* 8:959–967.
- Parsons, W.T. & Cuthbertson, E.G. (1992) Noxious weeds of Australia. Inkata, Melbourne.
- Pimentel, D.; Lach, L.; Zuniga, R. & Morrison, D. (2000) Environmental and economic costs of nonindigenous species in United States. *Bioscience* 50:53–65
- Pino, J.; Afán, I.; Sans, F.X. & Gutiérrez, C. (2000) *Senecio pterophorus* DC., A new alien species in the European mainland. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 58:188-189.
- Pohlmann, J.; van Loon, G.; Lefère, L.; Vanschandevijl, K.; Nollet, H.; De Clercq, D.; Delesalle, C. & Deprez, P. (2005) Hepatoencephalopathy caused by *Senecio jacobaea* intoxication in five horses. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 74, 440–445.
- Prati, D. & Bossdorf, O. (2004) A comparison of native and introduced populations of the South African Ragwort *Senecio inaequidens* DC. in the field. In: Breckle SW, Schweizer B, Fandmeier A (eds) Results of the worldwide ecological studies. Heimbach, Stuttgart, pp 353–359.
- Price, P.W. (1991) The plant vigor hypothesis and herbivore attack. *Oikos* 62, 244–251.
- Pyšek, P. & Richardson, D.M. (2007) Traits associated with invasiveness in alien plants: where do we stand? In: Nentwig W (ed.) *Ecological Studies: Biological invasions*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 97-125.
- Reinhardt, F., Herle, M., Bastiansen, F., & Streit, B. (2003): Economic Impact of the Spread of Alien Species in Germany. *Umweltbundesamtes* (80), pp.229
- Rejmánek, M. & Richardson, D. M. (1996) What attributes make some plant species more invasive? *Ecology*, 77(6), 1655-1661.
- Rejmánek, M.; Richardson D.M. & Pyšek P. (2005) Plant invasions and invisibility of plant communities. In: Van der Maarel E (eds). *Vegetation ecology*, pp. 332-355. Blackwell publishing, Oxford.
- Richardson, D.M. & Pyšek, P (2006) Plant invasions: merging the concepts of species invasiveness and community invasibility. *Progress in Physical Geography*, 30, 409-431.
- Russell, F. L. & Louda, S. M. (2004) Phenological synchrony affects interaction strength of an exotic weevil with Platte thistle, a native host plant. *Oecologia*, 139(4), 525-534.
- Rzedowski, J.; Vibrans, H. & Calderon de Rzedowski, G. (2003) *Senecio inaequidens* D.C. (Compositae, Senecioneae), a harmful weed introduced into Mexico. *Acta Botanica Mexicana*, 63, 83-96 .

- Sakai, A.K.; Allendorf, F.W.; Holt, J.S.; Lodge, D.M.; Molofsky, J.; With, K.A.; Baughman, S.; Cabin, R.J.; Cohen, J.E.; Ellstrand, N.C.; McCauley, D.E.; O'Neil, P.; Parker, I.M.; Thompson, J.N. & Weller, S.G. (2001) The population biology of invasive species. *Annual Review of Ecology and Systematics* 32:305–332.
- Sans, F. X.; Garcia-Serrano, H. & Afán, I. (2004) Life-history traits of alien and native *Senecio* species in the Mediterranean region. *Acta Oecologica*, 26(3), 167-178.
- Scherber, C.; Crawley, M. J. & Porembski, S. (2003) The effects of herbivory and competition on the invasive alien plant *Senecio inaequidens* (Asteraceae). *Diversity and Distributions*, 9(6), 415-426.
- Scholtz, C. H. & Holm, E. (1985). Scarabaeoidea. In: Scholtz, C. H. & Holm, E. (Eds), *Insects of Southern Africa* (2nd Edn), pp. 214-223. London: Butterworth. 502 pp.
- Schowalter, T.D.; Lightfoot, D.C. & Whitford, W.G. (1999) Diversity of arthropod responses to host-plant water stress in a desert ecosystem in southern New Mexico. *The American Midland Naturalist*. 142, 281–290.
- Shapiro, A.M. & Masuda, K.K., (1980) The opportunistic origin of a new citrus pest. *California Agriculture* 34, 4–5.
- Shapiro, A.M. (1995) From the mountains to the prairies to the ocean white with foam: *Papilio zelicaon* makes itself at home. In: Kruckberg, A.R., Walker, R.B., Leviton, A.E. (Eds.), *Genecology and Ecogeographic Races*. Pacific Division AAAS, San Francisco, California, pp. 67–99.
- Siemann, E. & Rogers, W. E. (2003) Herbivory, disease, recruitment limitation, and success of alien and native tree species. *Ecology*, 84(6), 1489-1505.
- Siemann, E.; Rogers, W.E. & DeWalt, S.J. (2006) Rapid adaptation of insect herbivores to an invasive plant. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 273:2763–2769.
- Simberloff, D.; Relva, M. A. & M. Nuñez. (2002) Gringos en el bosque: introduced tree invasion in a native *Nothofagus/Austrocedrus* forest. *Biological Invasions* 4: 35–53.
- South African National Biodiversity Institute (SANBI) (2009) <http://www.sanbi.org/>
- Stastny, M.; Schaffner, U. & Elle, E. (2005) Do vigour of introduced populations and escape from specialist herbivores contribute to invasiveness? *Journal of Ecology* 93:27–37.
- Swearingen, J.; Slattery, B.; Reshetiloff, K. & Zwicker, S. (2010) *Plant Invaders of Mid-Atlantic Natural Areas*, 4th ed. National Park Service and U.S. Fish and Wildlife Service. Washington, DC. pp 168.
- Sol, D.; Blackburn, T.; Cassey, P.; Duncan, R. & Clavell, J. (2005) The ecology and impact of non-indigenous birds. In: Del Hoyo, J.; Elliott, A. & Christie D. (eds) *Handbook of the birds world*, volume 10. Lynx Editions, Barcelona.

- Strong, D.R.; Lawton, J.H. & Southwood, T.R.E. (1984) *Insects on Plants. Community Patterns and Mechanisms*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.
- Suwa, T. & Louda, S.M. (2012) Combined effects of plant competition and insect herbivory hinder invasiveness of an introduced thistle. *Oecologia* 169: 467 – 476.
- Terrisse, A. (1987) Contributions à l'inventaire de la flore: Pyrénées Orientales. *Bulletin de la Société Botanique du Centre-Ouest* 18, p. 107
- Theoharides, K. A. & Dukes, J. S. (2007) Plant invasion across space and time: factors affecting nonindigenous species success during four stages of invasion. *New Phytologist*, 176(2), 256-273.
- Trowbridge, C. D. & Todd, C. D. (2001) Host-plant change in marine specialist herbivores: ascoglossan sea slugs on introduced macroalgae. *Ecological Monographs*, 71(2), 219-243.
- Trowbridge, C. D. (2004) Emerging associations on marine rocky shores: specialist herbivores on introduced macroalgae. *Journal of Animal Ecology*, 73(2), 294-308.
- Van der Meijden, E.; Van Zoelen, A.M. & Soldaat, L.L. (1989) Oviposition by the cinnabar moth, *Tyria jacobaeae*, in relation to nitrogen, sugars and alkaloids of ragwort, *Senecio jacobaea*. *Oikos* 54:337–344
- Verhoeven, K. J.; Biere, A.; Harvey, J. A. & Van Der Putten, W. H. (2009) Plant invaders and their novel natural enemies: who is naive? *Ecology Letters*, 12(2), 107-117.
- Verloove, F. (2006) New records of interesting xenophytes in Spain. *Lazaroa*, 26, 141-148.
- Vilà, M.; Maron, J.L. & Marco, L. (2005) Evidence for the enemy release hypothesis in *Hypericum perforatum*. *Oecologia* 142:474–479.
- Vitousek, P.M.; D'Antonio, C.M.; Loope, L.L. & Westbrooks, R. (1996) Biological invasions as global environmental change. *American Scientist* 84:468-478.
- Vrieling, K. & van Wijk, C.A.M. (1994) Estimating costs and benefits of the pyrrolizidine alkaloids of *Senecio jacobaea* under natural conditions. *Oikos* 70:449–454
- Vrieling, K. & Boer, N. J. (1999) Host-plant choice and larval growth in the cinnabar moth: do pyrrolizidine alkaloids play a role? *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 91(1), 251-257.
- Wiedenfeld, H. & Edgar, J. (2011) Toxicity of pyrrolizidine alkaloids to humans and ruminants. *Phytochemistry Reviews*. 10, 137–151.
- Wolfe, L.M. (2002) Why alien invaders succeed: support for the escapefrom- enemy hypothesis. *The American Naturalist* 160:705–711.

Referències

Zuur, A. F.; Ieno, E. N.; Walker, N.; Saveliev, A.A. & Smith, G.M. (2009) Mixed effects models and extensions in ecology with R, Statistics for biology and health. SpringerScience&BusinessMedia.

7. ANNEX

Annex

Paper dels insectes en l'èxit d'invasió de *Senecio inaequidens* i *S. pterophorus* al Parc Natural del Montseny

Maria Morante, Anna Escolà i Eva Castells.

Annex

El següent document annex forma part de les VIII Monografies del Montseny i va ser presentant a la VIII Trobada d'Estudiosos del Montseny els dies 22 i 23 de novembre del 2012 a la Universitat de Girona.

Paper dels insectes en l'èxit d'invasió de *Senecio inaequidens* i *S. pterophorus* al Parc Natural del Montseny

Maria Morante, Anna Escolà i Eva Castells
Unitat de Toxicologia. Universitat Autònoma de Barcelona

Resum

Les espècies d'origen sud-africà *Senecio inaequidens* i *Senecio pterophorus* envaeixen diferents hàbitats del Parc Natural del Montseny. L'establiment de noves interaccions amb els herbívors locals pot afectar negativament l'èxit d'invasió de les espècies exòtiques. Per tal de conèixer el paper dels insectes locals en el potencial invasor de *S. inaequidens* i *S. pterophorus*, com també els factors que influeixen en l'establiment de noves interaccions, es va fer un mostreig de sis localitats on coexistien les dues espècies exòtiques. Els resultats obtinguts mostren que algunes espècies d'insectes incorporen a la seva dieta les espècies exòtiques consumint-ne les llavors. No obstant això, la pressió d'herbivorisme resultant de les noves interaccions podria no ser quantitativament suficient per alentir el procés d'invasió. No es descarta que en un futur els insectes locals puguin provocar efectes més significatius sobre la reproducció de les espècies exòtiques.

Paraules clau

Senecio inaequidens, *Senecio pterophorus*, herbivorisme, canvi d'hoste, espècies exòtiques, èxit d'invasió

Resumen

Papel de los insectos en el éxito de invasión de *Senecio inaequidens* y *S. pterophorus* en el Parque Natural del Montseny

Las especies de origen sudafricano *Senecio inaequidens* y *Senecio pterophorus* invaden varios hábitats del Parque Natural del Montseny. El establecimiento de nuevas interacciones con los herbívoros locales puede afectar negativamente al éxito de invasión de las especies exóticas. Con el fin de conocer el papel de los insectos locales en el potencial invasor de *Senecio inaequidens* y *Senecio pterophorus*, así como los factores que influyen en el establecimiento de nuevas interacciones, se realizó un muestreo de seis localidades donde coexistían las dos especies exóticas. Los resultados mostraron que algunas especies de insectos incorporan en su dieta las especies exóticas consumiendo las semillas. No obstante, la presión de herbivoría resultado de las nuevas interacciones podría no ser cuantitativamente suficiente para ralentizar el proceso de invasión. No se descarta que en un futuro los insectos locales puedan provocar efectos más significativos en la reproducción de las especies exóticas.

Palabras clave

Senecio inaequidens, *Senecio pterophorus*, herbivoría, cambio de huésped, especies exóticas, éxito de invasión

Abstract

Role of insects in the invasion success of *Senecio inaequidens* and *S. pterophorus* in Montseny Natural Park

The South African species *Senecio inaequidens* and *Senecio pterophorus* invade the habitats of Montseny Natural Park. New interactions with local herbivores can negatively affect the invasion success of exotic species. With the aim of learning about the impact of local insects on the potentially invasive species *S. inaequidens* and *S. pterophorus*, as well as the factors that influence the establishment of new interactions, a sampling was carried out of six locations where the two exotic species coexist. The results showed that some of the insect species incorporate the exotic species into their diet by consuming the seeds. Nevertheless, the herbivory pressure resulting from the new interactions may not be quantitatively sufficient to slow down the invasion process. It is not ruled out that local insects might have a more significant impact in the future on the reproduction of exotic species.

Key words

Senecio inaequidens, *Senecio pterophorus*, herbivory, change of host, exotic species, invasion success

Introducció

Un dels perills que amenaça la biodiversitat de les àrees naturals protegides és la introducció d'espècies vegetals invasores. La probabilitat que les espècies exòtiques s'estableixin en un nou hàbitat formant poblacions estables i reproductives és variable, ja que no totes les espècies ho aconseguen (KOLAR i LODGE, 2001). L'èxit de colonització recau majoritàriament en la capacitat invasora de l'espècie exòtica, que a la vegada depèn de les característiques intrínseques de l'espècie, tant a nivell reproductor com nutricional, i també de la seva plasticitat per adaptar-se a les noves condicions. Una capacitat d'invasió elevada permetrà que les espècies exòtiques competeixin amb èxit amb les espècies natives pels recursos, modifiquin les interaccions ecològiques de les espècies natives i, en conseqüència, disminueixin la biodiversitat local (GHAZOU, 2002). No obstant això, la capacitat d'invasió de les espècies també depèn dels canvis en la pressió d'herbivorisme exercida pels insectes. En les comunitats vegetals, les interaccions planta-insecte són fonamentals per a la reproducció de les plantes. Els insectes poden actuar com a pol·linitzadors, dispersors de llavors, vectors de transmissió de malalties o com a predadors de flors i llavors. Entre aquests grups funcionals, els insectes predadors de llavors tenen un paper important a l'hora de controlar les poblacions vegetals, ja que són capaços de provocar canvis significatius en la capacitat reproductora de les espècies. Aquests canvis podran afavorir o perjudicar la capacitat d'invasió de les espècies exòtiques en funció de la pressió exercida.

La hipòtesi *Enemy Release* ('alliberament dels enemics naturals') (KEANE i CRAWLEY, 2002) postula que les espècies exòtiques introduïdes en un nou hàbitat s'alliberen de la pressió d'herbivorisme que exerceixen els enemics naturals propis de l'àrea d'origen. Segons aquesta hipòtesi, la manca d'herbivorisme afavoreix les poblacions vegetals, fet que facilita l'expansió de l'espècie introduïda. Això no obstant, amb el temps, les plantes exòtiques poden establir noves interaccions amb els insectes locals de la zona envaïda que reconeixen les espècies exòtiques com a plantes hostes i les incorporen a la seva dieta (KEANE i CRAWLEY, 2002). Aquesta nova pressió d'herbivorisme causada per un canvi d'hoste en els insectes locals podrà condicionar l'èxit d'invasió de les espècies exòti-

ques disminuint la seva capacitat reproductora i, consegüentment, alentint la invasió. La presència en un mateix hàbitat d'espècies natives filogenèticament relacionades pot afavorir l'establiment de noves associacions planta-herbívor, ja que les espècies d'un mateix gènere són químicament similars (JAENIKE, 1990). Altres factors que contribueixen a l'establiment de noves associacions són el temps d'introducció de les espècies, que està correlacionat amb la diversitat de noves associacions que aquestes estableixen amb herbívors locals (HAWKES, 2007), i la sincronia entre la fenologia de floració i el cicle vital de l'herbívor (RUSSELL i LOUDA, 2005).

En aquest treball hem estudiat les interaccions planta-herbívor en dues espècies exòtiques presents al Parc Natural del Montseny: *Senecio inaequidens* i *Senecio pterophorus*. Totes dues espècies són d'origen sud-africà i formen poblacions estables i reproductives en diferents hàbitats del Parc, des de marges de camins i zones de pastura fins a brolles i alzinars. *S. pterophorus* és una espècie introduïda al continent europeu fa entre trenta i quaranta anys, possiblement a través de la importació de llana. Actualment, *S. pterophorus* presenta una distribució relativament restringida, limitada a Catalunya (PINO *et al.*, 2000) i al nord d'Itàlia (BARBERIS *et al.*, 1998). A Austràlia va ser introduïda al principi del segle passat (SCOTT i DELFOSSE, 1992) i hi ha esdevingut una espècie invasora. D'altra banda, *S. inaequidens* va ser introduïda a Europa fa més de cent anys també gràcies al comerç de la llana (ERNST, 1998). La seva distribució actual a Europa és molt àmplia, ja que abraça des de l'Europa occidental, on té un comportament altament invasiu, fins a la Mediterrània. A la península Ibèrica només s'ha citat al País Basc i Catalunya (CASASAYAS-FORNELL, 1990); al Parc Natural del Montseny se'n té constància des del 1990. *S. pterophorus* i *S. inaequidens* constitueixen una amenaça per a la biodiversitat per la seva capacitat invasora, i també perquè poden esdevenir un perill per a les espècies animals de pastura, ja que sintetitzen unes substàncies, els alcaloides pirrolizidínics, que són tòxiques per als herbívors. La producció d'alcaloides pirrolizidínics propis del gènere *Senecio* comporta pèrdues econòmiques en el bestiar, atès que els seus efectes hepatotòxics poden arribar a ser mortals (RÖDER *et al.*, 1981).

A causa de l'impacte ecològic que *S. inaequidens* i *S. pterophorus* poden produir en l'entorn natural del Parc Natural del Montseny,

en aquest treball hem determinat quin paper tenen els insectes locals en la capacitat invasora de les dues espècies exòtiques. En primer lloc, es va fer una prospecció pels entorns del Parc per determinar la distribució i l'abundància d'aquestes dues espècies. En sis localitats on les espècies exòtiques coexistien, es va fer un mostreig anual, amb el qual es va quantificar l'herbivorisme sobre les parts reproductores amb la finalitat de respondre les preguntes següents: els insectes locals, reconeixen *S. pterophorus* i *S. inaequidens* com a hostes i els incorporen a la seva dieta?; en cas que s'estableixin noves associacions entre les plantes exòtiques i els insectes locals, quin impacte provoquen els insectes en la capacitat reproductiva de les dues espècies exòtiques? A partir dels resultats obtinguts, discutim si els herbívors locals exerceixen una pressió d'herbivorisme suficient que alenteixi el procés d'invasió de *S. pterophorus* i *S. inaequidens* al Parc Natural del Montseny.

Material i mètodes

El gènere *Senecio* comprèn una gran diversitat d'espècies, moltes de les quals es consideren males herbes (RANDALL, 2001). Els senecis pertanyen a la família de les Compostes i es caracteritzen perquè formen unes inflorescènci-

es en forma de capítol. *S. inaequidens* és un arbust de 100 cm d'alt aproximadament, lleunyós a la base i de forma més o menys esfèrica. Els seus capítols de color groc clar mesuren entre 18 i 25 mm. Abunda en prats i pastures d'alta muntanya, però també s'ha descrit en ambients ruderals de mitja muntanya. Pel que fa a *S. pterophorus*, es tracta d'un arbust d'1,5 m d'alt aproximadament els capítols de coloració groga més fosca del qual mesuren entre 12 i 15 mm. Es caracteritza perquè té les fulles de color verd fosc amb els marges dentats, i una petita aleta que descendeix cap a la tija. Forma poblacions en vores de rius i en hàbitats pertorbats.

Per tal de determinar la distribució de *S. inaequidens* i *S. pterophorus* al Parc, es van recórrer les pistes forestals amb un vehicle a fi de rastrejar en diferents hàbitats, alçades i orientacions amb l'ajuda d'un GPS acoblat a una PDA, en la qual es registrava la presència d'individus d'alguna de les espècies estudiades. A part de *S. inaequidens* i *S. pterophorus*, de forma addicional, i en el marc d'un altre estudi més extens per avaluar les interaccions planta-insecte en els processos invasius (MORANTE *et al.*, no publicat), es va determinar la distribució de dues espècies natives del mateix gènere, *S. vulgaris* i *S. lividus*. D'aquesta manera, es volien obtenir localitats de les quatre espècies de *Senecio* exposades a una mateixa comunitat

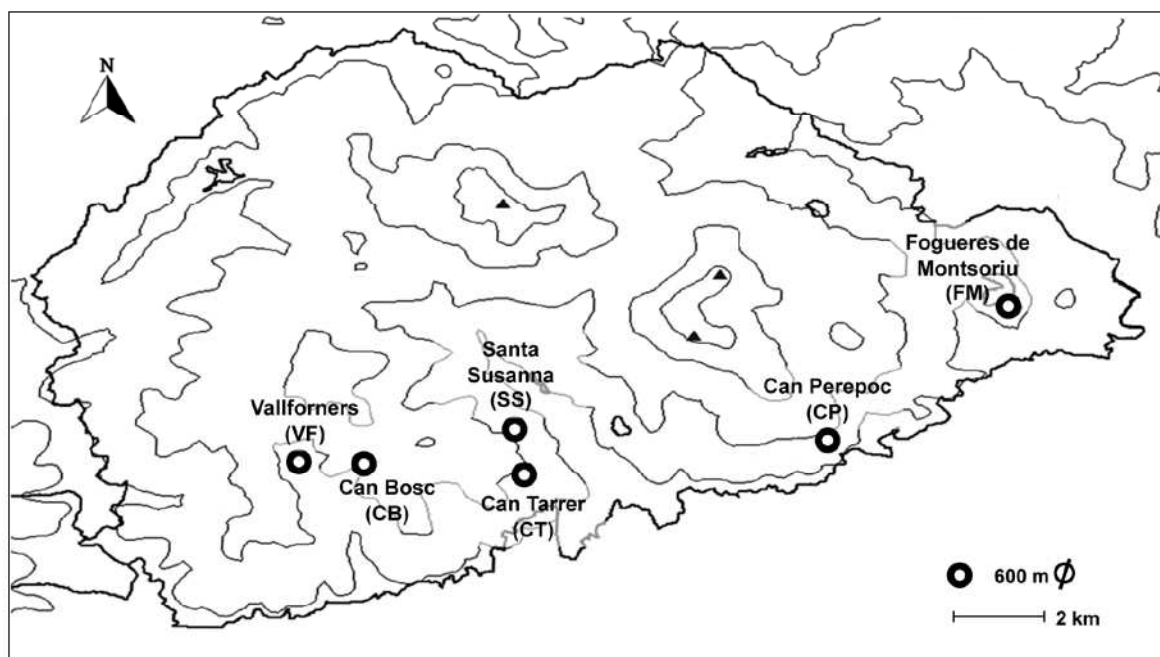


Figura 1. Localitats de mostreig al Parc Natural del Montseny durant el 2009: Vallformers (VF), Can Bosc (CB), Can Tarrer (CT), Santa Susanna (SS), Can Perepoc (CP) i Fogueres de Montsoriu (FM).

d'herbívors. A partir de la informació obtinguda, es van seleccionar sis localitats de mostreig circulars de 600 m de diàmetre que es van anomenar en funció de la seva localització al Parc: Vallforners (VF), Can Bosc (CB), Can Tarrer (CT), Santa Susanna (SS), Can Perepoc (CP) i Fogueres de Montsoriu (FM) (figura 1). Les localitats estaven separades per 2 km com a mínim i estaven distribuïdes entre els 500 i 900 m d'altitud al vessant sud del Parc.

Entre els mesos d'abril i maig del 2009, es van seleccionar entre 10 i 30 individus per a cada espècie i localitat que es trobessin en una fase inicial del seu període reproductiu (amb capítols en desenvolupament). Es van marcar un total de 479 individus amb una etiqueta de plàstic Dymo® anellada a la tija per no malmetre la planta. Des de l'abril fins al desembre, es van visitar les localitats cada set o deu dies. Per poder fer una estimació de la capacitat reproductora de cada individu, en cada visita es comptaven el nombre de capítols madurs i el nombre de capítols amb les llavors ja dispersades. Posteriorment, es recollien tots aquells capítols madurs per determinar la presència d'insectes que consumien les llavors. Un cop al laboratori, els capítols s'obrien fent-los un tall longitudinal que permetia determinar la presència o absència d'insectes al seu interior. Els insectes trobats, principalment en fase larvària o de pupa, es van criar sobre el material vegetal recol·lectat per obtenir-ne exemplars adults i identificar-los taxonòmicament. El nombre total de capítols produïts per cada individu es va determinar sumant els capítols madurs i dispersats al llarg de tot el mostreig. El percentatge de capítols depredats per a cada individu es va determinar a partir del nombre de capítols disseccionats que contenien un insecte a l'interior en relació amb els capítols totals produïts. Per provar les diferències estadístiques en la capacitat reproductora i els nivells de predació dels herbívors entre *S. inaequidens* i *S. pterophorus*, es va fer un test ANOVA de dos factors, utilitzant «espècie» com a factor independent i «localitat» com a factor aleatori. La variable dependent «nombre total de capítols» es va transformar aplicant-hi l'arrel quadrada, i la variable «percentatge de capítols depredats» es va transformar aplicant-hi la proposta d'Anscombe ($2 \cdot \sqrt{x + 3/8}$). Per a l'anàlisi *post hoc*, es va emprar el test de Tukey. Totes les anàlisis estadístiques es van fer amb el programa SPSS 19®.

Resultats

Distribució i abundància de *S. inaequidens* i *S. pterophorus*

Les espècies *S. inaequidens* i *S. pterophorus* es distribueixen principalment al vessant sud del Parc (figures 2 i 3). Ambdues espècies tenen preferència pels hàbitats pertorbats, com ara els marges de pistes forestals o zones de pastura. *S. pterophorus* també s'ha trobat formant part del sotabosc d'alzinars de *Quercus suber*. Pel que fa a *S. inaequidens*, aquesta espècie és molt abundant a la zona sud-oest del Parc, en concret a Vallforners, on forma poblacions de més de 100 individus. En canvi, a la zona sud-est les abundàncies decreixen i tan sols se'n troben poblacions esparses formades per menys de 10 individus entre Sant Antoni de Vilamajor i Breda, o entre 10 i 100 individus entre Sant Esteve de Palautordera i Fogueres de Montsoriu (figura 2). *S. pterophorus* és molt abundant al vessant sud, a la zona central i oest del Parc, on forma poblacions de més de 100 individus a l'alçada de Sant Esteve de Palautordera i Campins (figura 3). A l'àrea de Vallforners forma poblacions petites o mitjanes, entre 10 i 100 individus. No s'han descrit poblacions de *S. inaequidens* o *S. pterophorus* en zones de fagedes, en cotes superiors als 800 m o al vessant nord del Parc Natural.

Capacitat reproductiva i herbivorisme

Les dues espècies exòtiques estudiades van mostrar una capacitat reproductiva molt elevada. *S. pterophorus* produïa una mitjana de 1.098 capítols per individu, fet que equival a una mitjana de 94.428 llavors per individu. En les plantes de *S. inaequidens* la producció era significativament menor, amb una mitjana de 262 capítols i 24.628 llavors per individu (figura 4). Ambdues espècies van mostrar una producció de capítols totals més elevada a la localitat de Vallforners (VF) en comparació de la resta de localitats.

La capacitat reproductora de les espècies exòtiques es va reduir un 6,6% en *S. inaequidens* i un 1,92% en *S. pterophorus* a causa del consum dels herbívors locals. L'equivalència en pèrdua de llavors per dany en els capítols correspon, com a mitjana per individu, a 1.222 llavors malmeses en *S. inaequidens* i a 516 en

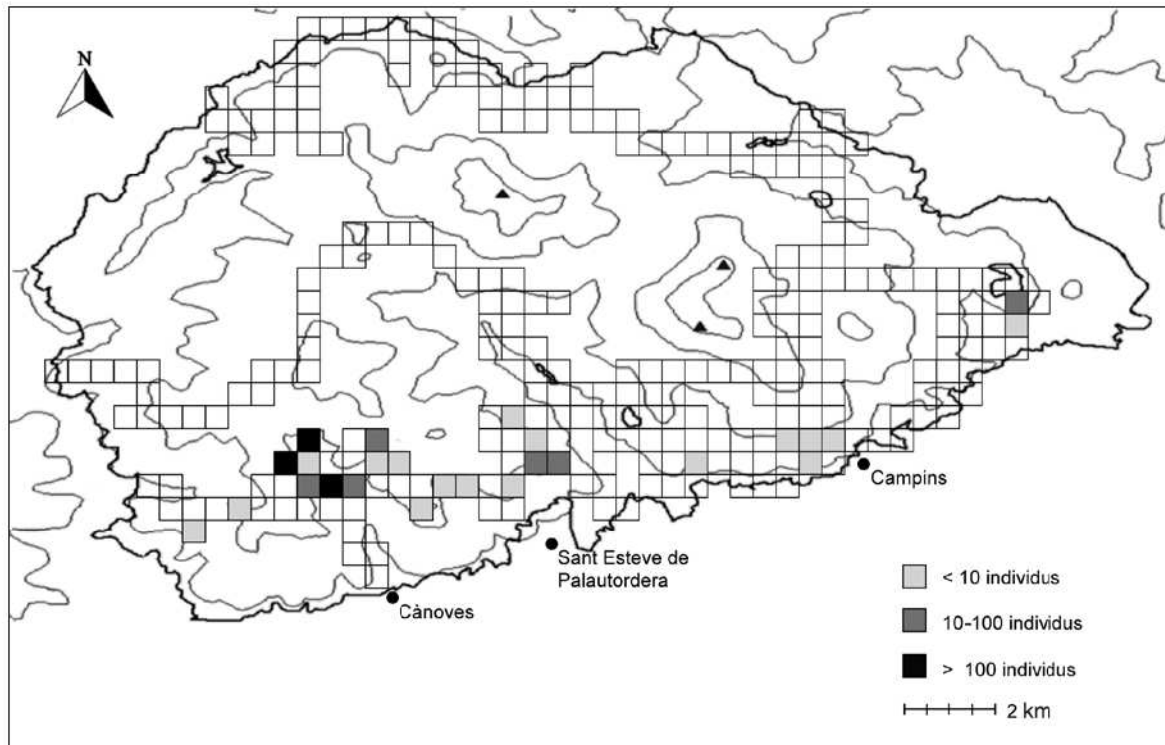


Figura 2. Distribució i abundància de *S. inaequidens* al Parc Natural del Montseny durant el mostreig realitzat el 2009. Els quadrats representen àrees de $0,5 \times 0,5$ km on es va efectuar el rastreig. Els quadrats no acolorits corresponen a zones mostrejades on no es va detectar la presència de *S. inaequidens*, mentre que les coloracions de gris indiquen l'abundància d'individus.

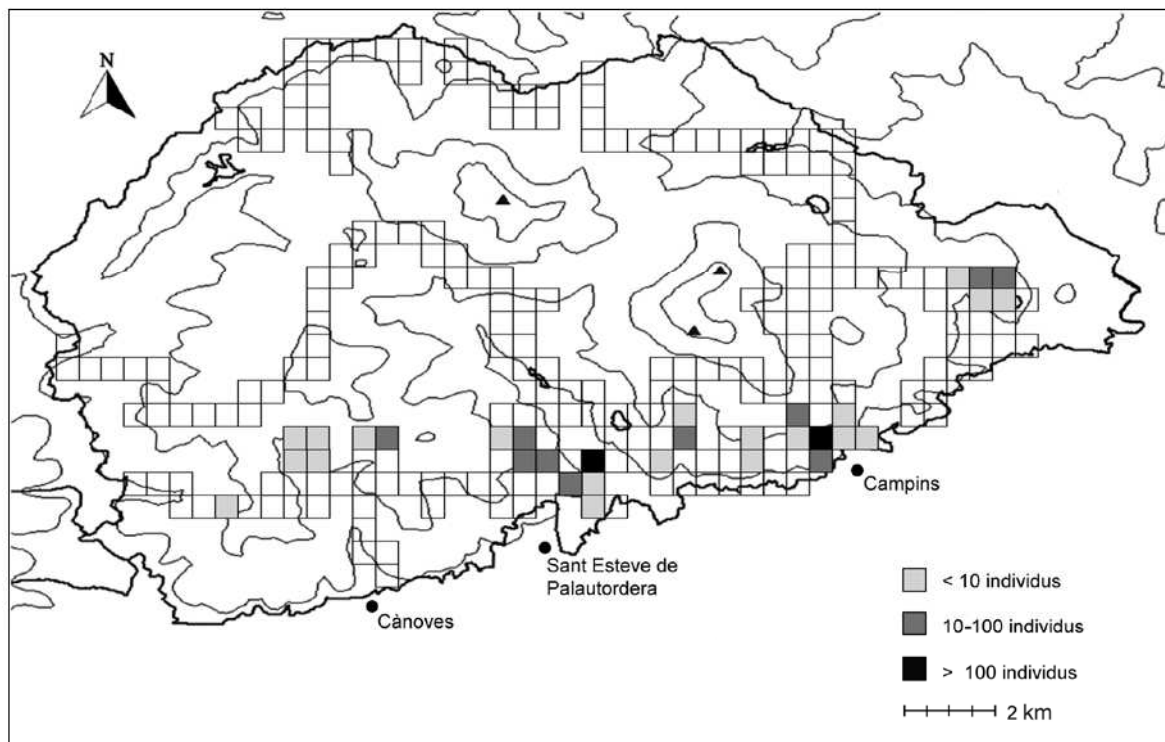


Figura 3. Distribució i abundància de *S. pterophorus* al Parc Natural del Montseny durant el mostreig realitzat el 2009. Els quadrats representen àrees de $0,5 \times 0,5$ km on es va efectuar el rastreig. Els quadrats no acolorits corresponen a zones mostrejades on no es va detectar la presència de *S. pterophorus*, mentre que les coloracions de gris indiquen l'abundància d'individus.

Figura 4. Nombre total de capitols produïts per les dues espècies exòtiques, *S. inaequidens* i *S. pterophorus*, durant tot el període reproductiu a cada una de les sis localitats i en global (mitjana \pm SE). Les distintes lletres indiquen diferències significatives entre espècies a $p < 0,005$ estimat en un test *post hoc* de Tukey

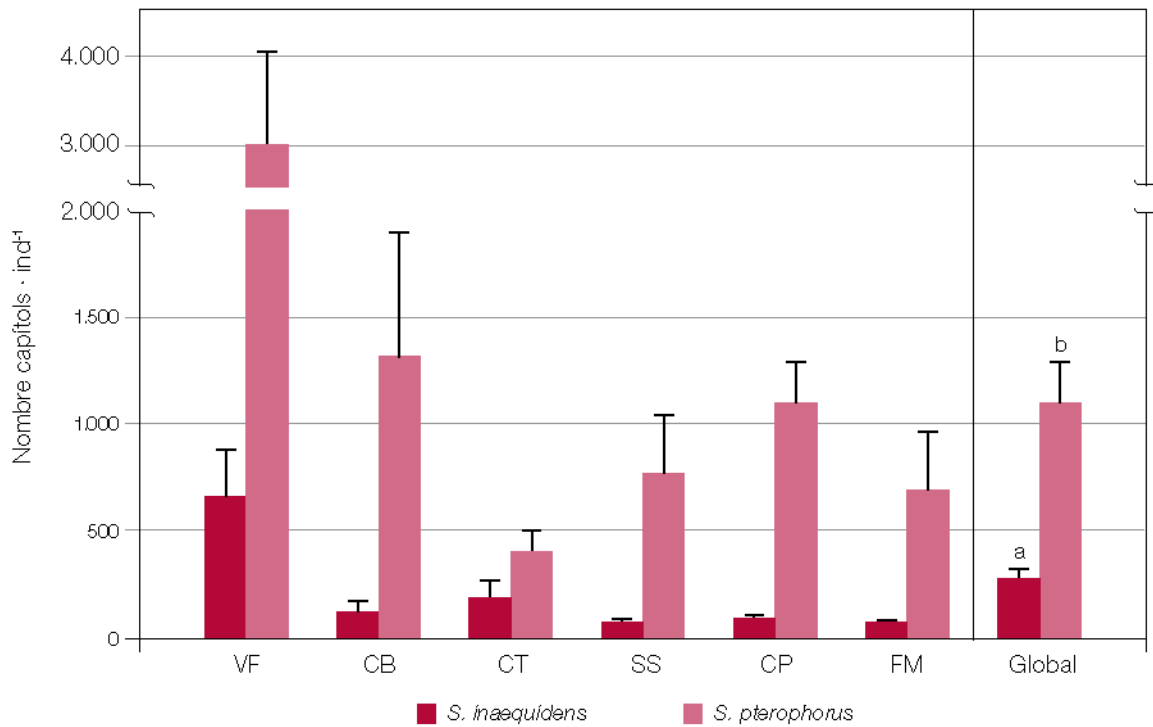
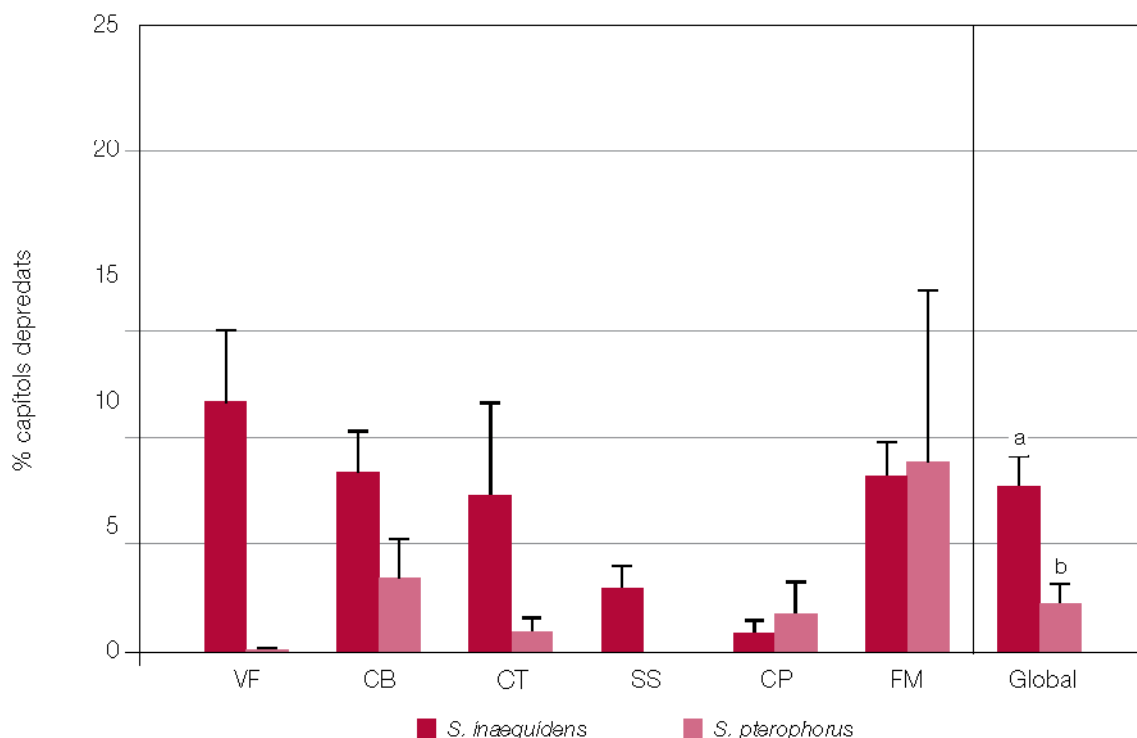


Figura 5. Percentatge de capitols depredats pels herbívors en les dues espècies exòtiques, *S. inaequidens* i *S. pterophorus*, durant tot el període reproductiu per a cada localitat i en global per a totes les localitats (mitjana \pm SE). Les distintes lletres indiquen diferències significatives entre espècies a $p < 0,005$ estimat en un test *post hoc* de Tukey



S. pterophorus. En algunes poblacions, com, per exemple, Vallforners, l'impacte dels herbívors en la capacitat reproductora va ser superior, ja que va arribar fins al 10% dels capítols consumits (figura 5).

Herbívors locals i canvi d'hoste

Els resultats van confirmar l'establiment de noves associacions entre els insectes locals i les espècies exòtiques. D'un total de 2.243 insectes recollits, el 94,15% corresponia al dípter *Sphenella marginata* (Fam. Tephritidae), el 4,72% al microlepidòpter *Phycitodes albatella* (Fam. Pyralidae) i el percentatge restant a diferents espècies de lepidòpters. *Sphenella marginata*, tot i ser l'insecte més abundant del mostreig, només es va trobar sobre *S. inaequidens*, però mai sobre *S. pterophorus* (taula 1). Els capítols afectats pel dípter es podien distingir de forma més evident en capítols madurs, els quals presentaven un lleuger eixamplament de la base, en concret a la zona que conté les llavors, així com un tacte més tou. En fer la dissecció longitudinal dels capítols afectats, aquests contenien a l'interior una larva de coloració blanca o una pupa negra, en els estadis finals del desenvolupament del dípter previs a la fase adulta, acompanyades en ambdós casos per restes de llavors parcialment menjades (figures 6B, 6C i 6D).

D'altra banda, tot i ser poc abundant, el microlepidòpter *Phycitodes albatella* va ser capaç de reconèixer com a hostes tant *S. inaequidens* com *S. pterophorus*. L'impacte causat per aquest microlepidòpter en la capacitat repro-

ductiva de les espècies exòtiques va ser significativament superior en *S. inaequidens* (taula 1). Els capítols afectats pel microlepidòpter es distingien fàcilment pel plomall blanc corresponent al papus de l'aqueni que sobresortia per la part superior del capítol a causa dels moviments que feia la larva en ingerir les llavors. En fer-ne la dissecció, podien contenir la larva o bé restes d'excrements en el seu interior.

Discussió i conclusions

Malgrat la toxicitat demostrada de *S. inaequidens* i *S. pterophorus*, els resultats obtinguts mostren que s'estableixen noves associacions entre aquestes plantes exòtiques i algunes espècies d'insectes locals al Parc Natural del Montseny. Hi ha diversos factors que poden contribuir a l'establiment de noves associacions, i, en conseqüència, afavorir l'alentiment de la invasió. La incorporació d'un hoste exòtic en la dieta dels herbívors locals pot estar facilitada per la presència d'espècies natives relacionades taxonòmicament i químicament amb les espècies exòtiques (JANZEN, 1968; COGNI, 2010). Les espècies d'insectes locals identificades sobre les plantes exòtiques estudiades estan adaptades a consumir altres espècies de plantes que també produeixen alcaloides pirrolizidínic i, per tant, són capaces de tolerar la seva toxicitat. En el cas del microlepidòpter *Phycitodes albatella*, el seu rang d'hostes nadius està format per tres gèneres de la família de les Asteràcies, *Crepis*, *Solidago* i *Senecio* (ROESLER, 1973), mentre que el dípter *Sphenella marginata*

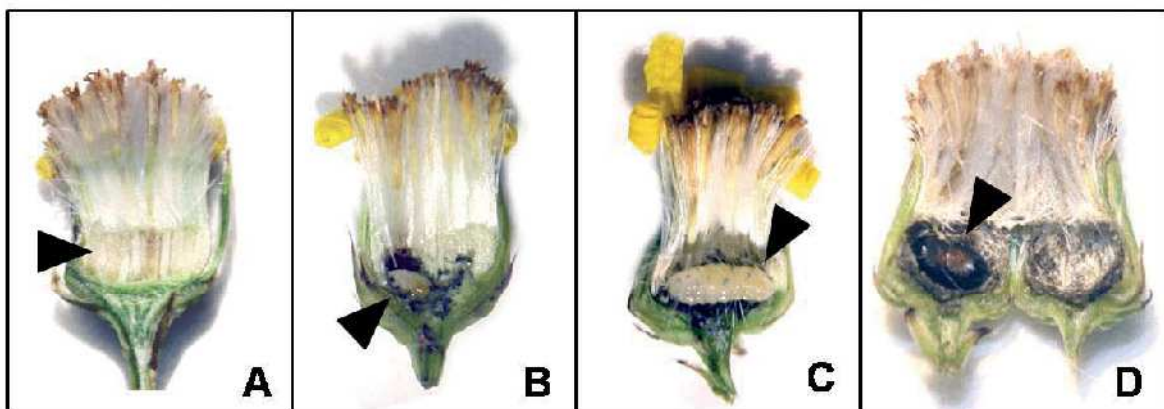


Figura 6. Disseció longitudinal de capítols de *S. inaequidens* en què s'observa: (A) presència de llavors intactes no consumides per insectes; (B) larva de *Sphenella marginata* en fases inicials del desenvolupament i llavors parcialment consumides; (C) larva de *Sphenella marginata* en estadi avançat, i (D) pupa de *Sphenella marginata* després de consumir completament les llavors del capítol.

Taula 1. Nombre total i percentatge de capítols depredats per al dípter *Sphenella marginata* i el microlepidòpter *Phycitodes albatella* en les dues espècies exòtiques, *S. inaequidens* i *S. pterophorus*, durant tot el període reproductiu per a totes les localitats (mitjana \pm SE)

Espècies	Mitjana de capítols depredats per		Percentatge de capítols depredats per	
	<i>Sphenella marginata</i>	<i>Phycitodes albatella</i>	<i>Sphenella marginata</i>	<i>Phycitodes albatella</i>
<i>S. inaequidens</i>	4,48 \pm 1,17	3,32 \pm 1,07	1,67 \pm 0,34	3,08 \pm 0,97
<i>S. pterophorus</i>	0	5,83 \pm 2,94	0	1,90 \pm 0,84

segueix una dieta especialitzada només basada en espècies del gènere *Senecio* (WHITE, 1988). La coexistència de les espècies exòtiques amb els seus congèneres nadius *S. lividus* i *S. vulgaris* a la mateixa àrea de mostreig al Parc Natural del Montseny ha permès determinar l'existència de noves associacions entre *Sphenella marginata* i *S. inaequidens*. Tot i aquesta nova associació, l'impacte causat sobre la capacitat reproductora de la planta és relativament baix (6,6% dels capítols consumits), especialment si es compara amb l'impacte que té l'insecte sobre l'hoste natiu *S. lividus* (21,8%) (MORANTE *et al.*, no publicat). Així doncs, el consum de llavors per part d'aquest dípter sembla que no afecta de forma tan significativa la capacitat reproductora del seu hoste exòtic.

Un resultat sorprenent d'aquest treball és que, malgrat l'elevada abundància de *Sphenella marginata* al Parc Natural del Montseny, aquesta espècie no es va trobar mai associada a *S. pterophorus*. Les diferències entre les interaccions que *Sphenella marginata* estableix amb les dues espècies de *Senecio* exòtiques podrien estar vinculades al temps que ha transcorregut des de la introducció de les plantes a Europa. En general, les espècies introduïdes recentment mostren menys herbivorisme que les espècies que es van introduir temps enrere (HAWKES, 2007; HAWKES, *et al.*, 2010), ja que, com més temps passa, més s'incrementen les probabilitats que plantes i herbívors coincideixin i més es facilita la seva evolució adaptativa. *S. inaequidens* ha format part del paisatge d'Europa com a mínim cinquanta anys més que *S. pterophorus*, i durant aquest període ha pogut coexistir amb els herbívors locals de les àrees colonitzades. A part del temps que ha passat des de la seva introducció, el llarg període de floració que presenta *S. inaequidens* pot ser un factor que influeixi favorablement en l'establiment de noves associacions planta-insecte. La curta durada del període de floració

de les espècies natives pot promoure que el dípter *Sphenella marginata* utilitzi com a hoste *S. inaequidens* durant els mesos de juliol a novembre, en els quals les espècies natives no són presents en el medi i, en canvi, l'espècie exòtica està florida. Per contra, la majoria dels individus de *S. pterophorus* del massís només van florir durant el mes de juliol, de manera que un breu període de floració pot restringir la possibilitat d'establir noves associacions amb els insectes locals, com és el cas del microlepidòpter *Phycitodes albatella*.

L'establiment de noves associacions planta-herbívor té un paper important, ja que regula l'èxit de colonització d'un nou hàbitat; no obstant això, les propietats intrínseques de l'espècie també poden condicionar l'èxit d'invasió. *S. inaequidens* i *S. pterophorus* són dues espècies exòtiques potencialment invasores. La primera es caracteritza perquè té un cicle vital curt i ràpid que li permet produir un nombre més elevat d'individus reproductius des del primer any (CAÑO *et al.*, 2010; SANS *et al.*, 2004). Tanmateix, la seva plasticitat li permet colonitzar nous espais amb una disponibilitat de recursos variables, a diferència de *S. pterophorus*, en què la disponibilitat d'aigua és un factor influent per al seu establiment (GARCIA-SERRANO *et al.*, 2004; SANS *et al.*, 2004). Tot i que té una dependència hídrica més marcada, un cop establert *S. pterophorus* esdevé una espècie amb gran potencial invasor gràcies al seu cicle vital i a una elevada producció de llavors (CHAMORRO *et al.*, 2006). Actualment, a Catalunya *S. pterophorus* forma poblacions aïllades que es concentren en petites àrees de les comarques del Baix Camp, el Baix Llobregat, el Vallès Occidental, el Vallès Oriental i el Maresme. Aquesta distribució restringida indica que probablement *S. pterophorus* encara es troba en una fase inicial d'establiment i que de moment no es comporta com una planta invasora veritable. Ara bé, per conèixer el potencial invasor real de l'espècie caldria

analitzar l'èxit de l'establiment i germinació de les seves llavors. Les llavors de les espècies exòtiques competeixen amb les natives per espais adequats on poder germinar (CRAWLEY, 1986). Aquesta competició pot arribar a ser més rellevant que la competència pels recursos alimentaris o per la llum (GHAZOUL, 2002). A més de la producció i l'establiment, cal tenir en compte la viabilitat de les llavors produïdes.

L'herbivorisme pot reduir la capacitat invasora i afectar l'èxit d'invasió de les espècies exòtiques gràcies a la disminució de la seva capacitat reproductiva i de la seva expansió (MARON i VILÀ, 2001). Els nostres resultats mostren que els insectes locals consumeixen les plantes exòtiques i que, per tant, poden tenir un impacte negatiu sobre el seu potencial reproductiu. Com que els efectes dels insectes locals sobre les espècies exòtiques és quantitativament baix, especialment en el cas de *S. pterophorus*, els resultats suggereixen que els insectes locals actualment no alenteixen la invasió dels *Senecio* exòtics al Parc Natural del Montseny, tot i que no es pot descartar que una evolució de les associacions ja existents i/o l'establiment de noves associacions planta-herbívor puguin provocar efectes més significatius sobre la reproducció de les espècies exòtiques en un futur.

Bibliografia

- BARBERIS, Giuseppina; MINUTO, Luigi; PECCE-NINI, Simonetta (1998): «*Senecio grisebachii* Baker (Compositae), new to the Italian flora». *Webbia*, núm. 52; p. 201-206.
- CAÑO, Lidia; ESCARRÉ, Josep; CASTELLS, Eva; SANS, Francesc X. (2010): «El potencial invasiu de dues espècies exòtiques (*Senecio inaequidens* i *S. pterophorus*) al Parc Natural del Montseny». *VII Monografies del Montseny*, Barcelona: Diputació de Barcelona, p. 119-128.
- CASASAYAS-FORNELL, Teresa (1990): «Wide-spread adventive plants in Catalonia». *Biological Invasions in Europe and the Mediterranean Basin*. Londres: Klumer Academic Publishers, p. 85-104.
- CHAMORRO, Lourdes; CABALLERO, Berta; BLANCO-MORENO, José; CAÑO, Lidia; GARCÍA-SERRANO, Hèctor; MASALLES, Ramon M.; SANS, Francesc X. (2006): «Ecología y distribución de *Senecio pterophorus* (Compositae) en la Península Ibérica». *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, núm. 63; p. 55-62.
- COGNI, Rodrigo (2010): «Resistance to plant invasion? A native specialist herbivore shows preference for and higher fitness on an introduced host». *Biotropica*, núm. 42; p. 188-193.
- CRAWLEY, M. J. (1986): «The population biology of invaders». *Physiological Transactions of the Royal Society of London, Series B*, núm. 314; p. 711-731.
- ERNST, W. H. O. (1998): «Invasion, dispersal and ecology of the South African neophyte *Senecio inaequidens* in The Netherlands: from wool alien to railway and road alien». *Acta Botanica Neerlandica*, núm. 47; p. 131-151.
- GARCÍA-SERRANO, Hèctor; ESCARRÉ, Josep; SANS, Francesc X. (2004): «Factors that limit the emergence and establishment of the related aliens *Senecio inaequidens* and *S. pterophorus* and the native *S. malacitanus* in the Mediterranean climate». *Canadian Journal of Botany*, núm. 82; p. 1346-1355.
- GHAZOUL, Jaboury (2002): «Flowers at the front line of invasion?». *Ecological Entomology*, núm. 27; p. 638-640.
- HAWKES, Christine V. (2007): «Are invaders moving targets? The generality and persistence of advantages in size, reproduction, and enemy release in invasive plant species with time since introduction». *American Naturalist*, núm. 170; p. 832-843.
- HAWKES, Christine V.; DOUGLAS, Angela E.; FITTER, Alastair H. (2010): «Origin, local experience, and the impact of biotic interactions on native and introduced *Senecio* species». *Biological Invasions*, núm. 12; p. 113-124.
- JAENIKE, John (1990): «Host specialization in phytophagous insects». *Annual Review of Ecology and Systematics*, núm. 21; p. 243-273.
- KEANE, Ryan M.; CRAWLEY, Michael J. (2002): «Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis». *Trends in Ecology and Evolution*, núm. 4; p. 164-170.
- KOLAR, Cynthia S.; LODGE, David M. (2001): «Progress in invasion biology: predicting invaders». *Trends in Ecology and Evolution*, núm. 16; p. 199-204.
- MARON, John; VILÀ, Montserrat (2001): «When do herbivores affect plant invasion? Evidence for the natural enemies and biotic resistance hypotheses». *Oikos*, núm. 95; p. 361-373.
- MORANTE, Maria; BLANCO-MORENO, José; CASTELLS, Eva (no publicat): *Native enemies on exotic plants: are herbivores and pathogens slowing down plant invasion?*
- PINO, Joan; AFÁN, Isabel; SANS, Francesc Xavier; GUTIÉRREZ, Cèsar (2000): «*Senecio pterop-*

horus DC., A new alien species in the European mainland». *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, núm. 5; p. 188-189.

RANDALL, Rod (2001): «A global compendium of weeds» [En línia]. Department of agriculture of Western Australia (AgWest) & Hawaiian Ecosystems at Risk Project (HEAR). <www.hear.org/gcw>

RÖDER, Erhard; WIEDENFELD, Helmut; STENGL, Peter (1981): «Die Pyrrolizinaalkaloide Senecionin und Retorsin aus *Senecio inaequidens*». *Planta medica*, núm. 41; p. 412-413.

ROESLER, Uwe R. (1973): *Phycitinae*. 1. Teilband: Trifine Acrobasina. Viena: Georg Fromme & Co, Amsel HG, Gregor F, Reisser H, Microlepidoptera Palaearctica, p. 1-752.

RUSSELL, Leland F.; LOUDA, Svata M. (2005): «Indirect interaction between two native thistles mediated by an invasive exotic floral herbivore». *Oecologia*, núm. 146; p. 373-384.

SANS, Francesc X.; GARCÍA-SERRANO, Hèctor; AFAN, Isabel (2004): «Life-history traits of alien and native *Senecio* species in the Mediterranean region». *Acta Ecologica*, núm. 26; p. 167-178.

SCOTT, John K.; DELFOSSE, Ernest S. (1992): «Southern African plants naturalized in Australia: a review of weed status and biological control potential». *Plant protection Quarterly*, núm. 7; p. 70-80.

WHITE, Ian M. (1988): *Tephritid flies (Diptera: Tephritidae)*. Londres: The Royal Entomological Society of London.