

14
24



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

EFFECTOS MATERNOS Y PATERNOS SOBRE LA PRODUCCION DE SEMILLAS Y EL DESEMPEÑO DE LA PROGENIE DEL ARBUSTO HETEROSTILICO
***Erythroxylum havanense* Jacq.**
(ERYTHROXYLACEAE)

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A :
GERMAN AVILA SAKAR

MEXICO, D. F.

YESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1991



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

AGRADECIMIENTOS	ii
RESUMEN	iv
SUMMARY	v
INTRODUCCION	1
OBJETIVOS	16
SITIO DE ESTUDIO	17
HISTORIA NATURAL DE <u>E. havanense</u>	19
EXPERIMENTO I: FAMILIAS GENETICAS.	21
Método	21
Resultados	27
EXPERIMENTO II: ABORCION MANUAL.	38
Método	38
Resultados	41
DISCUSION	49
CONCLUSIONES	60
RECOMENDACIONES PARA OTRAS INVESTIGACIONES	61
BIBLIOGRAFIA	63
APENDICE	73

RESUMEN

Erythroxylum havanense Jacq. es una especie arbustiva, distíllica y autoincompatible, que tiene una baja eficiencia en la producción de frutos (14.1% a partir de las flores producidas), lo cual involucra altos niveles de abortión de frutos inmaduros. Este estudio evalúa la hipótesis de que esta planta tiene la capacidad de abortar los frutos que contienen embriones de "mala calidad" (en términos de su habilidad para producir descendencia). Si la calidad está determinada, al menos en parte, por alelos aportados a la progenie por los donadores de polen, habrá diferencias importantes entre ellos en su éxito reproductivo.

Se generaron familias genéticas mediante polinizaciones manuales y se estudiaron los efectos de la identidad de los progenitores (femenino y masculino) sobre la eficiencia en la producción de semillas y sobre varios componentes de adecuación de la progenie. Los efectos maternos resultaron ser los más importantes. Se hallaron efectos paternos sobre la eficiencia en la producción de semillas en las cruzas de receptores Thrum con donadores Pin, pero no en las cruzas recíprocas. No se encontraron efectos de los progenitores sobre la sobrevivencia de la progenie, por lo que las diferencias en la cantidad de descendientes generadas antes del reclutamiento de las plántulas deberían perdurar a través del tiempo.

Se realizó un experimento de "abortión manual" de frutos (inmaduros). Los resultados sugieren que la abortión es selectiva y que la fecundidad de este arbusto no sólo está limitada por recursos, sino que también tiene un "umbral" de calidad para las semillas por debajo del cual no maduran los frutos que las contengan, a pesar de que haya suficientes recursos.

Finalmente, hay evidencias de que las plantas Thrum desempeñan mejor la función femenina y que las Pin funcionan mejor como donadores de polen. Esta afirmación y las anteriores están apoyadas por los resultados de cultivos de polen *in vitro*. Las evidencias respaldan la proposición de que el sistema reproductivo de E. havanense podría encontrarse en una transición evolutiva de la heterostilia a la diecia.

SUMMARY

Erythroxylum havanense Jacq. is a distylous, self-incompatible shrub with a low fruit-set (14.1% relative to flower production). This study tests the hypothesis that a plant should mature only those fruits with "high quality" seeds (in terms of the embryo's ability to leave progeny). Given that the quality of the seed is at least partially determined by the male-parent's genetic contribution to the embryo's genotype, there might be important differences in reproductive success among pollen donors.

Genetic families were generated to study the effects of pollen donor and pollen recipient identity on fruit-set and several fitness components of the progeny. Maternal effects proved to be the most important ones. There were significant paternal effects on fruit-set among Pin, but not Thrum pollen donors. No parental effects were found on seedling survival. Therefore, differences in offspring number among maternal and paternal parents due to phenomena occurring before seedling establishment should be lasting.

Results from an "artificial abortion" experiment (removal of immature fruits) suggest that, in this shrub, fecundity is not only resource-limited, but in addition, there is a certain "quality status," below which no fruits (seeds) are matured even with ample resources.

There is evidence that thrum plants perform better the female function while pins perform better as males. This assertion and the previous ones are supported by the outcomes of an in vitro pollen germination and tube growth experiment. There is support to the proposal that the sexual system of E. havanense might presently be in a transition from heterostyly to dioecy.

INTRODUCCION

Los estudios de ecología evolutiva sobre la reproducción de las plantas han tenido un auge en las últimas dos décadas. Darwin fue el primero en documentar e interpretar la gran variación de los sistemas reproductivos de las plantas. Sin embargo, aunque su trabajo data de 1877 y ha tenido una gran influencia en los estudios posteriores (ver Wyatt 1983), se puede considerar que es un campo todavía muy poco desarrollado (Charnov 1988).

Los estudios de ecología reproductiva de las angiospermas aportan evidencias que permiten inferir la evolución de la gran gama de sistemas de reproducción que presentan. La hipótesis fundamental que subyace estos estudios, y en particular el presente, es que la selección natural (sensu lato; ver Endler 1986 y Willson 1990) es la principal fuerza evolutiva que rige los cambios en los sistemas reproductivos. Es posible que algunos de los atributos de estos sistemas sean el reflejo de restricciones filogenéticas o el resultado de eventos de deriva génica u otras fuerzas de evolución. Sin embargo, la selección natural puede actuar sobre ese marco de caracteres no adaptativos, ya que los sistemas reproductivos afectan directamente la contribución genética de los individuos a las siguientes generaciones, dando lugar a ciertos atributos con valor adaptativo. El propósito más general de este trabajo es aportar evidencias en torno al problema de la evolución de los sistemas reproductivos de las angiospermas.

A la fecha, existe una sólida teoría en el campo de la ecología de los sistemas reproductivos en plantas. Dicha teoría incluye la reciente incorporación de conceptos teóricos de la ecología de la conducta y de la sociobiología; inclusive, algunos autores consideran que se puede hablar ya de una nueva disciplina: la sociobotánica (Lovett Doust y Lovett Doust 1988). Sin embargo, faltan todavía muchos estudios de poblaciones naturales para confrontar las predicciones de la teoría y permitir el desarrollo balanceado de este campo.

En este capítulo se hará una breve reseña de los sistemas reproductivos que existen y de las principales explicaciones que se han postulado en torno a su evolución. Bawa y Beach (1981) y Domínguez (1985) tratan con mayor profundidad algunas de esas hipótesis.

SISTEMAS REPRODUCTIVOS EN ANGIOSPERMAS

Los sistemas de reproducción sexual o sistemas reproductivos son "cualquier aspecto de la expresión sexual de las plantas que afecta la contribución genética a la siguiente generación de individuos de una especie" (Wyatt 1983). Bawa y Beach (1981) acuñaron el término "sistemas sexuales" para referirse a sistemas reproductivos sin arrastrar la implicación (prejuiciosa, i.e. Ornduff 1966, 1971) de que la única presión de selección es la adquisición de cierto nivel de heterocigosis. El término reemplaza

zado, breeding system (sistema de cruzamiento) ha sido usado por numerosos autores en estudios donde hacen énfasis sobre las adaptaciones de las plantas para propiciar el entrecruzamiento (ver Wyatt 1983, Bawa y Beach 1981 y referencias citadas ahí).

La expresión sexual de las plantas ha sido descrita a tres diferentes niveles: el de la flor individual, el del individuo (planta) y el de la población (grupo de plantas). Se han propuesto distintas clasificaciones, algunas de ellas con terminología compartida entre los diferentes niveles, por lo que con frecuencia resultan ambiguas (ver Frankel y Galun 1977). Tradicionalmente, estas clasificaciones se han basado en criterios morfológicos y por lo tanto, la terminología se deriva de la usada por Linneaus, en su sistema de clasificación de las plantas (tipológico, cualitativo y con límites arbitrarios; Wyatt 1983). Se han reconocido cuatro criterios usados para construir las clasificaciones actuales: 1) distribución espacial de los órganos reproductivos, 2) distribución temporal de los mismos, 3) presencia - ausencia de alelos de incompatibilidad y 4) variación en las longitudes de los estilos y estambres (Bawa y Beach 1981). Las clasificaciones resultantes no son mutuamente excluyentes (Tabla 1).

Uno de los principales problemas de estas clasificaciones es que no reflejan adecuadamente la expresión sexual en su contexto más relevante, es decir, la contribución genética hecha a través de las funciones masculina y femenina dentro y entre los individuos de una población (Bawa y Beach 1981, Lloyd 1980, Wyatt 1983). Los atributos que determinan dicha contribución son de gran importancia evolutiva pues sobre ellos pueden actuar la selección natural y la selección sexual. Se ha desarrollado la idea de que la expresión sexual en las plantas puede medirse de dos maneras: la sexualidad fenotípica y la sexualidad funcional (Lloyd 1980, 1987, Lloyd y Bawa 1984). La primera define las funciones masculina y femenina de acuerdo con la inversión inicial de recursos que hace el progenitor en cada sexo. La sexualidad funcional refleja el éxito reproductivo que obtiene una planta por vía masculina o femenina (Lloyd y Bawa 1984, Wyatt 1983).

En teoría, la sexualidad fenotípica de las plantas ha sido moldeada por selección natural de tal manera que se maximice la ganancia neta en adecuación por vía masculina y/o femenina (sexualidad funcional). Bajo este supuesto, la variación en la expresión sexual de las angiospermas (morfológica, funcional, fenológica, etc.) representa un conjunto de soluciones evolutivas que maximizan el éxito reproductivo de acuerdo a las condiciones particulares en que se desarrolla cada especie y hasta donde los límites impuestos por la filogenia lo permiten (ver Baker 1983).

TABLA 1. Clasificación estándar de los sistemas reproductivos de las angiospermas. (Tomada de Bawa y Beach 1981).

Sistemas basados en la distribución espacial de los órganos reproductivos masculinos y femeninos.

Sistemas monomórficos.

Hermafroditismo: plantas con flores bisexuales.

Monoecia: plantas con flores estaminadas y pistiladas.

Andromonoecia: plantas con flores bisexuales y estaminadas.

Ginomonoeecia: plantas con flores bisexuales y pistiladas.

Sistemas dimórficos.

Diecia: plantas (unisexuales) con flores estaminadas o pistiladas.

Ginodiecia: plantas con flores bisexuales o pistiladas.

Androdiecia: plantas con flores bisexuales o estaminadas.

Sistemas basados en la distribución temporal de los órganos masculinos y femeninos.

Protandria: el polen es liberado antes de que el estigma sea receptivo.

Protoginia: los estigmas son receptivos antes de que se libere el polen.

Sistemas basados en la presencia/ausencia de alelos de autoincompatibilidad.

Autoincompatibilidad: plantas polimórficas con respecto a la presencia de alelos de autoincompatibilidad; las polinizaciones entre polen y estigmas que comparten los mismos alelos de incompatibilidad (incluyendo autopolinización) no producen frutos.

Autocompatibilidad: plantas monomórficas, carecen de alelos de incompatibilidad; todas las polinizaciones, incluyendo autopolinización producen frutos.

Sistemas basados en la variación de las longitudes del estilo y de los estambres.

Distilia (heterodistilia): dos clases de individuos de acuerdo a la forma de sus flores: Pin con estilos largos y estambres cortos; Thrum, con estilos cortos y estambres largos. Las polinizaciones entre individuos del mismo morfo suelen ser incompatibles.

Tristilia (heterotristilia): Tres clases de individuos según la longitud de los estilos de sus flores: cortos, medianos, largos; con estambres de dos longitudes diferentes a la del estilo. Las polinizaciones compatibles son entre morfos distintos.

EVOLUCION DE LOS SISTEMAS REPRODUCTIVOS

Explicar la evolución de los sistemas de reproducción sexual no es una tarea fácil. Darwin fue el primero en apreciar la función y las consecuencias de los mecanismos de entrecruzamiento de las angiospermas (Wyatt 1983). Sus observaciones, así como las de Knight, Sprengel y Kölreuter (citados en Darwin 1859), le permitieron afirmar que en muchas especies la progenie resultante de entrecruzamiento es más vigorosa que la que se obtiene por autofecundación (Darwin 1859, 1876). A esta "ventaja de los híbridos" se le ha llamado la "ley de Darwin-Knight." Con base en ella se ha postulado que el aumento en la tasa de recombinación por medio de la fecundación cruzada es una importante fuerza selectiva en la evolución de los sistemas de reproducción, aunque debe tenerse en mente que existen abundantes excepciones a dicha regla.

A partir de los trabajos de Darwin vino una cascada de estudios que pretendían interpretar todas las variaciones en los sistemas de reproducción sexual como adaptaciones para propiciar la fecundación cruzada (Bawa y Beach 1981, Wyatt 1983). Es indiscutible que una consecuencia de la separación de las funciones sexuales en diversos grados, ya sea espacial o temporalmente, es que se favorece el entrecruzamiento, y por lo tanto aumenta la tasa de recombinación. Sin embargo, dicho aumento en la tasa de recombinación ha sido estimado excesivamente como presión selectiva en la generación de la gran diversidad de sistemas reproductivos. Existen varios puntos por los que el incremento en la tasa de recombinación no puede considerarse como la presión selectiva principal en la evolución de dichos sistemas (Willson 1979):

- 1) Existen especies con niveles muy bajos o nulos de entrecruzamiento que mantienen ciertos grados de heterocigosis (citas en Willson 1979).
- 2) La fecundación cruzada no garantiza que se mantengan bajos los niveles de endogamia, ya que pueden darse entrecruzamientos entre parientes cercanos (Bawa y Beach 1981, Willson 1979).
- 3) Suele asumirse a priori que las características de un sistema reproductivo tienen un valor adaptativo en cierto ambiente, sin embargo hay pocos casos en los que se haya demostrado (Willson 1979). Indudablemente este problema tiene un componente importante de carácter técnico.
- 4) Muchos sistemas de reproducción, a pesar de ser diferentes logran niveles de entrecruzamiento similares (Bawa y Beach 1981, Willson 1979).

El panorama de los procesos involucrados en la evolución de los sistemas reproductivos se ha ampliado recientemente. Las hipótesis que han surgido para explicar su gran diversidad pueden reunirse en dos grandes grupos: la asignación óptima de recursos y los procesos involucrados con la selección sexual y los conflictos familiares (Charlesworth y Charlesworth 1981, Charnov 1979, 1987; Haig 1987, Lloyd 1980, 1982, Mazer 1987b, Willson 1979). Estas ideas no son mutuamente excluyentes, más bien están muy relacionadas y pueden ser complementarias en algunos casos. Desde

luego no se puede negar que el incremento en la tasa de recombinación (sin sobrevalorar su importancia) ha tenido influencia en la diversificación de los sistemas de reproducción sexual. A continuación se comentan las hipótesis más relevantes en el contexto de este estudio.

Asignación de recursos

Teóricamente la selección natural favorece a los organismos que optimizan la repartición de sus recursos entre las funciones sexuales de tal manera que maximicen su contribución genética a las siguientes generaciones (Charlesworth y Charlesworth 1981, 1987b; Charnov 1987; Lloyd 1984). El principio de asignación supone que el presupuesto de recursos es limitado, por lo cual la asignación a cualquier función implica necesariamente una disminución en los recursos disponibles para otras funciones (Cody 1966). No existe razón *a priori* por la que una asignación equitativa entre la función femenina y la masculina maximice las ganancias en adecuación para un individuo cosexual. En teoría, la asignación óptima de recursos a cada función depende de la forma de las curvas de ganancia de adecuación materna y paterna (Bertin 1988, Lloyd 1987), y del sistema de reproducción sexual (Lovett Doust y Lovett Doust 1988).

Dentro de la asignación de recursos a la reproducción pueden distinguirse los costos directos y los accesorios (o indirectos). Los primeros se refieren a las estructuras que contribuyen con genes a la siguiente generación. Los productos de las asignaciones directas son los gametos y la progenie (el polen y las semillas; Lloyd 1987). Las asignaciones accesorias son los costos de las estructuras que contribuyen indirectamente a la adecuación materna y/o paterna. Los productos de las asignaciones accesorias son los pedicelos, sépalos, pétalos, el néctar y partes de las esporófilas (Lloyd 1987). Lloyd (1987) ha desarrollado modelos para explorar la evolución de varios tipos de reproducción uniparental (un solo individuo cumple ambas funciones sexuales) y biparental (un individuo sólo realiza una de las funciones sexuales) incorporando las ideas de costos directos e indirectos. Algunas de las predicciones que se desprenden de ellos han tenido éxito al compararse con datos experimentales (ver Bell 1985). Estos modelos constituyen una base conceptual importante para los futuros estudios de evolución de sistemas reproductivos y plantean con claridad cuáles son los atributos relevantes que deben medirse. Por ejemplo, la investigación de los factores que modifican las formas de las curvas de ganancia de adecuación (ver Charnov 1979, 1987) brindará información que permitirá elucidar cuáles han sido las presiones de selección importantes en la evolución de los sistemas reproductivos. Otra ventaja de estos modelos es que su construcción permite incorporar otros factores importantes para la reproducción de las plantas, como el sistema de polinización. Probablemente la mayor utilidad de la teoría de la asignación óptima de recursos es que

proporciona una base general para la investigación de la evolución de sistemas reproductivos.

Selección sexual

Darwin (1859) distinguió la selección natural, cuyo efecto principal es sobre la supervivencia de los organismos, de la selección sexual, un proceso que afecta el éxito de los individuos por conseguir consorte: "el resultado no es la muerte del competidor desafortunado, sino que deja poca o ninguna descendencia." La idea fue concebida como un fenómeno que ocurría típicamente en los animales, pero en 1948, Bateman sugirió que podía suceder también en las plantas. El concepto de selección sexual está basado en la inversión diferencial de recursos que tienen que hacer los individuos de cada sexo para producir un descendiente (Bateman 1948). En los organismos oogámicos las diferencias en dicha inversión de recursos empieza desde la producción de los gametos de cada sexo. En general, el costo por descendiente es mayor para la función femenina que para la masculina. El sexo cuya inversión como progenitor sea mayor, se volverá un recurso limitante para el sexo opuesto (Bateman 1948, Trivers 1972). En consecuencia, se generan dos tipos de selección sexual: 1) la competencia intra-sexual, que ocurre entre los miembros de un sexo (comúnmente machos) por acceso reproductivo a individuos del sexo opuesto; y 2) la selección intersexual o elección de pareja, que es la preferencia que muestran los individuos de un sexo (comúnmente hembras) por ciertos individuos del otro sexo para formar pareja. Considerando lo anterior, la selección sexual se puede definir como el éxito reproductivo diferencial entre los individuos del mismo sexo de una población, que han sobrevivido hasta edad reproductiva y son físicamente capaces de dejar descendencia (Stephenson y Bertin 1983). Es una definición que difiere de la de selección natural en que elimina en todo lo posible cualquier consideración de supervivencia. Tiene la ventaja de poderse aplicar a plantas, incluyendo las hermafroditas. Se han hecho otras definiciones de selección sexual (Willson y Burley 1983; Charlesworth *et al.* 1987), pero su discusión va más allá de los objetivos de esta sección.

Teóricamente, la selección sexual ha afectado la evolución de los sistemas reproductivos a través de su influencia en los patrones de asignación de recursos a la reproducción por vía masculina y femenina. En las plantas, existe oportunidad para que opere la selección sexual desde la liberación del polen hasta la dispersión de la semilla. Se ha propuesto que la selección sexual ha favorecido distintas proporciones polen/óvulos así como la polinización por masas de polen en diferentes sistemas de reproducción sexual (Willson 1979). Sin embargo, aun cuando la influencia de la selección sexual en la asignación a las funciones sexuales puede ser grande, no debe olvidarse que también la interacción entre las plantas y los polinizadores constituye un factor crucial (Bawa y Beach 1981). En las plantas zoófilas cabe esperar que las presiones de los polinizadores y de la selección

sexual actúen de manera conjunta en la "construcción" de los sistemas reproductivos. Inclusive, los mismos polinizadores pueden ser los agentes por medio de los cuales opere la selección sexual.

A primera vista no parece difícil atribuir a la selección sexual la evolución de varias características de los sistemas de reproducción sexual. Los problemas empiezan cuando se intenta distinguir los procesos de competencia intrasexual y preferencia intersexual.

Es posible que en los procesos previos a la polinización, como la dispersión del polen, la competencia intrasexual juegue un papel más importante que la preferencia intersexual (Willson 1979, Willson y Burley 1983). Siguiendo esta idea, la evolución de las señales visuales de las plantas, las altas producciones de flores hermafroditas que funcionan más bien como donadoras de polen y la larga fase masculina y lenta liberación del polen en algunas plantas, son características que se pueden atribuir a la competencia entre machos en las plantas (Bullock y Bawa 1981, Lloyd y Yates 1982; Sutherland y Delph 1984).

En otros fenómenos como la germinación del polen y el crecimiento de los tubos polínicos, se vuelve difícil hablar de competencia entre machos debido a que está involucrada la interacción entre el gametofito masculino y el esporofito del receptor. Entonces surge la pregunta ¿cómo y dónde ocurre la preferencia intersexual?

La preferencia de las hembras puede verse claramente en helechos y gimnospermas, donde la poliembriónia simple es común. El gametofito femenino produce varias oosferas (genéticamente idénticas entre sí) que pueden ser fecundadas por células espermatóicas de diferentes donadores de polen, sin embargo sólo un embrión llega a la madurez (Foster y Gifford 1974, Bold *et al.* 1980 y referencias citadas ahí). Los diferentes embriones de un mismo gametofito compiten por recursos con una habilidad distinta (Lovett Doust y Lovett Doust 1988). En cada arqueogonio, las diferencias en habilidad dependen más de la fuente de polen que originó a los embriones, que de la porción materna de su genotipo, pues éste lo comparten todos los medios hermanos.

En las angiospermas, donde la poliembriónia simple no ocurre (Foster y Gifford 1974, Bold *et al.* 1980 y referencias citadas ahí, Lovett Doust y Lovett Doust 1988), se ha considerado que la aborción selectiva de óvulos fecundados y/o frutos en desarrollo es el proceso análogo a la preferencia femenina en los animales (Stephenson y Bertin 1983, Stephenson y Winsor 1986, Bertin 1985). La veracidad de esta analogía depende del grado de correspondencia que haya entre los fenotipos de los progenitores paternos y de su progeñie (Mazer 1987b). Desde un punto de vista "ortodoxo," en las plantas no se conocen fenómenos posteriores a la fecundación en los cuales se dé el proceso de preferencia de las hembras estrictamente sobre caracteres exclusivos e intrínsecos de los machos. Se podría pensar que las hembras "seleccionan a los machos" discriminando entre distintos granos de polen (nivel estigma), tubos polínicos (nivel estilo) y óvulos fecundados pero, ciertamente, los fenómenos que ocurren son consecuencias de la interacción del esporofito y

gametofito paterno con el esporofito materno (ver Lewis 1979). La dificultad para separar los procesos de competencia intrasexual y elección intersexual motiva a realizar una aplicación más flexible de los conceptos de selección sexual en las plantas.

Por otra parte, los reportes de abortión selectiva no constituyen una evidencia rotunda de preferencia intersexual, porque en realidad, la elección de las hembras ocurre sobre su progenie y no sobre sus consortes (Mazer 1987b, Haig 1987). Como lo que está ocurriendo es un proceso de supervivencia de la progenie que depende en gran parte de su genotipo (y no sólo la de su progenitor paterno), se ha discutido que la selección posterior a la fecundación es sobre la viabilidad y por lo tanto no debe llamarse selección sexual (Mazer 1987b). Probablemente la razón principal por lo que la abortión selectiva ha sido vista como selección sexual, es que la consecuencia más evidente de ese proceso es una gran varianza en el éxito reproductivo masculino, uno de los patrones que los teóricos usan para reconocer a la selección sexual. Dado que resulta difícil aplicar directamente los conceptos de selección sexual a las plantas, se ha explorado la alternativa de interpretar los mismos fenómenos desde el punto de vista de la teoría de conflictos familiares.

Conflictos familiares

Un comportamiento generalizado en las angiospermas es un alto porcentaje de abortión de óvulos, semillas y frutos (Stephenson y Bertin 1983, Sutherland y Delph 1984, Sutherland 1986, 1987). Este fenómeno se ha interpretado recientemente como el resultado de un "conflicto de intereses" entre la planta progenitora y su progenie o bien entre la progenie misma (Haig 1987, Mazer 1987b, Uma Shaanker *et al.* 1988). Teóricamente, la primera maximiza su adecuación produciendo un alto número de semillas, por lo que se esperaría que la selección natural actuando sobre la planta materna favoreciera una repartición equitativa de recursos entre sus hijos (los modelos de los autores citados no consideran los casos de heteromorfismo de semillas, donde la afirmación anterior podría no cumplirse). En cambio, la adecuación de un hijo en particular depende de los recursos invertidos en él, y la selección debería favorecer a los embriones egoístas que secuestren más recursos a expensas de sus hermanos. De hecho, en muchos trabajos se ha demostrado que el desempeño de las semillas está correlacionado con su peso (Careaga 1989, Kalisz 1989, Roach 1986, Roach y Wulff 1987 y trabajos citados ahí, Stanton 1984, Winn 1985, Wulff 1973, 1986), un atributo que refleja la cantidad de recursos apropiados. Se ha propuesto que esta capacidad de demandar recursos tiene un límite impuesto por la pérdida en adecuación inclusiva del individuo egoísta (Trivers 1974, Haig 1987). Los individuos que posean una habilidad para acumular recursos (HAR) a expensas de sus hermanos serán favorecidos mientras el costo de su "egoísmo" no exceda B/r, donde B es el beneficio del individuo egoísta en términos de adecuación y r es el coeficiente de parentesco (Trivers 1974). Por

otra parte, hay algunas evidencias de que la HAR de los embriones tiene bases genéticas: 1) La aborción de semillas es muy común y no aleatoria (Bertin 1985, 1988, Lee y Bazzaz 1982, 1986, Marshall y Ellstrand 1986, Mazer 1987a, Stephenson y Winsor 1986); 2) En varias especies, el peso de la semilla está influenciado por el genotipo paterno (de manera consistente para varias plantas maternas; Cruzan 1990, Marshall y Ellstrand 1986, Mazer et al. 1986, cf. Marshall y Whittaker 1989); 3) La calidad de la semilla comúnmente depende de la composición de las cargas de polen (Fenster y Sork 1988, Marshall y Whittaker 1989, Mazer 1987b).

Se ha propuesto que los conflictos familiares requieren ciertas condiciones para poder ocurrir (Mazer 1987b):

- 1) Debe haber diferencias genéticas entre la planta progenitora y sus hijos.
- 2) Debe haber diferencias genéticas entre la progeie misma.
- 3) La progeie debe tener cierta habilidad "individualista" heredable para incrementar la inversión materna en su favor, a expensas sus hermanos.
- 4) Debe haber limitación de recursos (la planta materna debe encontrar un óptimo entre su fecundidad y la viabilidad de las semillas determinada por su peso).
- 5) Los patrones de asignación de recursos que maximicen la adecuación inclusiva deben diferir entre la madre y su progeie.

Los primeros dos puntos son muy comunes en las angiospermas, salvo en los casos de apomixis (ninguno se cumple) o autofecundación (el cumplimiento de la primera premisa depende del grado de heterocigosis del progenitor autógeno). Los otros también se dan cotidianamente, aunque presentan dificultades para poderse evaluar (Mazer 1987b).

La manera en que se determina el peso de las semillas es un asunto muy oscuro todavía. Se sabe que los efectos ambientales sobre el peso de la semilla son bastante importantes, pero no se conocen bien los mecanismos fisiológicos que controlan la asignación de recursos a la semilla. Se han propuesto modelos de dos tipos para explicar el aprovisionamiento. Uno considera a los frutos en desarrollo como "succionadores" de recursos que compiten por nutrimentos y fotosintatos tanto con estructuras vegetativas como con otros frutos (Lee 1988). El otro modelo considera la producción de fitoreguladores que inhiben el crecimiento de unidades reproductivas adyacentes (Lee 1988). Probablemente ambos involucran fitoreguladores producidos por la semilla en desarrollo que funcionan como señales para que el progenitor materno libere fotosintatos y otros nutrimentos (Lee 1988, Mazer 1987b, Stephenson 1981, Uma Shaanker et al. 1988 y citas ahí). Desde este punto de vista, la aborción selectiva podría estar basada en los alelos de HAR que porten los embriones. Sin embargo, las cuestiones finas sobre los gradientes de fitoreguladores formados y la repartición de los recursos quedan aún por investigar.

Un hecho que empieza a ser claro es que el desempeño de los donadores de polen no puede concebirse aisladamente. El genotipo, condición fisiológica y ambiente de los tejidos maternos juegan un

papel muy importante en la determinación del éxito de los granos de polen de distintas fuentes.

Los conflictos familiares en las angiospermas son complejos debido a que están involucrados cuatro tejidos genéticamente diferentes: el esporofito materno, el gametofito materno, el endospermo y el embrión, y porque estos tejidos tienen diferentes grados de parentesco entre sí (Haig 1987). En la Tabla 2, se ilustra la relación de parentesco entre el endospermo y otros tejidos en el tipo de óvulo más común entre las angiospermas. Tal vez una síntesis de la embriología y la fisiología vegetales, con la biología evolutiva permitan un gran avance en estos temas.

TABLA 2. Coeficientes de parentesco entre diferentes tejidos de un óvulo (tipo *Polygonum*, el más común en las angiospermas) y su embrión asociado, así como entre dichos tejidos y el embrión de otro óvulo en el mismo individuo. En cada tejido se indica su ploidía y la aportación de cada progenitor a ésta. (Modificada de Haig 1987).

TEJIDO	PARENTESCO CON EMBRIÓN ASOCIADO (r_1)	PARENTESCO CON OTRO EMBRIÓN (r_2)	B/C
ESPOROFITO MATERNO ($2n, \varphi\sigma$)	1/2	1/2	1
GAMETOFITO FEMENINO (n, φ)	1	1/2	1/2
ENDOSPERMO ($3n, \varphi\varphi\sigma$)	1	1/3	1/3
EMBRIÓN ($2n, \varphi\sigma$)	1	1/4*	1/4

r_1 es la probabilidad de que un alelo tomado al azar del tejido indicado esté presente por descendencia común en el embrión del óvulo.

r_2 es la probabilidad de que ese alelo esté presente en el embrión de otro óvulo de la misma planta materna.

B/C ($=r_1/r_2$) es la relación entre el beneficio que obtiene la planta materna al seguir invirtiendo en un embrión dado y el costo por no invertir en otros; teóricamente, para maximizar la adecuación inclusiva de cada tejido, la inversión materna en un embrión particular debe detenerse cuando (B/C)_{na} sea menor que el cociente mostrado en la tabla.

* coeficiente correspondiente a embriones producidos por diferente donador de polen (medios hermanos).

Las plantas presentan ciertos rasgos morfofisiológicos que son interpretables desde el punto de vista de la selección sexual y de los conflictos familiares. Las dos aproximaciones deben moldearse al ser aplicadas a las plantas. Probablemente sea necesario construir un nuevo marco teórico con el cual se analicen los fenómenos particulares de las angiospermas de manera objetiva

y libre de los prejuicios de los paradigmas ya existentes (Haig 1987).

Hasta este punto se han mencionado generalidades de la evolución de los sistemas reproductivos. En la siguiente sección se presenta un sistema peculiar que se ha prestado para numerosos estudios y diversas interpretaciones evolutivas.

LA HETEROSTILIA: UN CASO PARTICULAR

El hecho de que la variación entre individuos en su funcionamiento como machos o como hembras sea más continua de lo que se pensaba (Baker 1986, Lloyd 1979, 1980, Lloyd y Bawa 1984, Barrett 1980, Meagher y Wyatt no publ. citado en Wyatt 1983) ha despertado gran interés en los sistemas reproductivos en aparente transición evolutiva. La heterostilia ha sido considerada como tal en diversos estudios cuyos resultados sugieren su evolución hacia otro sistema reproductivo, especialmente la diecia (Baker 1986, Barret 1980, Beach y Bawa 1980, Lloyd 1979, Ornduff 1966, y citas en Wyatt 1983).

La heterostilia es un polimorfismo floral controlado genéticamente. Consiste en la presencia de dos o tres clases de plantas autoincompatibles, pero entrecruzables, en una misma población. Cuando son dos clases morfológicas, se dice que la población presenta distilia (heterodistilia, Font-Quer 1973); si son tres, se dice que presenta tristilia. Los dos o tres morfos de una especie heterostilica difieren recíprocamente en las longitudes del estilo y de los estambres. La mayoría de las veces, sólo las cruza entre anteras y estigmas de la misma altura son completamente efectivas en la producción de semillas (Baker 1986). A éstas, Darwin (1877) les llamó cruza legítimas. La variación en el nivel de compatibilidad dentro del mismo morfo varía entre poblaciones y entre especies (Barret *et al.* 1989, Sobrevilla *et al.* 1983, Wyatt 1983).

El polimorfismo floral frecuentemente está ligado con un sistema dialélico de incompatibilidad esporofítica. La distilia está controlada por un supergene que se segrega mendelianamente, por lo que se comporta como un locus con dos alelos S y s (Ganders 1979a, Lewis 1979). En la mayoría de las especies, las plantas con flores de estilo corto (Thrum, en lo sucesivo) tienen el genotipo Ss, y las de estilo largo (Pin) presentan el genotipo recesivo ss. Esta generalidad es en sí un hecho que merece atención, pues la heterostilia ha surgido varias veces de manera independiente en las angiospermas (Ganders 1979a, Wyatt 1983). En la tristilia, son dos loci con dos alelos cada uno. En ambos sistemas, un alelo es completamente dominante sobre el otro (Ganders 1979a).

Se puede considerar que la heterostilia es un sistema de reproducción raro pues sólo se presenta en veinticuatro familias de angiospermas, tanto de monocotiledóneas como de dicotiledóneas (Ganders 1979a). Este sistema reproductivo no se presenta en las subclases más primitivas, pero tampoco en las familias altamente especializadas (*sensu* Cronquist 1981; Ganders 1979a). Ya que las

familias donde se le encuentra no forman un grupo emparentado, seguramente la heterostilia es un sistema reproductivo de origen polifilético (Ganders 1979a).

Ubicar a las especies heterostilicas en algún habitat particular es una tarea inútil. En todos los continentes excepto Antártica se les puede hallar, recorriendo desde desiertos hasta medios acuáticos. Se presenta más usualmente en plantas perennes. El más común de los sistemas heterostilicos es la distilia. (Ganders 1979a).

A pesar de ser un sistema reproductivo polifilético, existen convergencias que sugieren que ciertos caracteres son importantes para su funcionamiento. Por lo tanto es probable que la selección natural haya jugado un papel importante en su evolución. Dichos caracteres son: la longitud recíproca de estilos y estambres, la morfología de la corola (con algunas excepciones), la superficie estigmática, el tamaño y número de los granos de polen y su producción, y por último la presencia de un sistema genético de incompatibilidad (Ganders 1979a). Los polimorfismos característicos de cada morfo se resumen en la Tabla 3 y están esquematizados en la Figura 1.

TABLA 3. Características generales de las flores distilicas y diferencias principales entre morfos, (los símbolos +/- indican mayor/menor tamaño o número).

FORMA: actinomorfas, simpétalas, tubulares, (si polipétalas, con apéndices que constituyen una porción tubular).
TAMAÑO: pequeñas.

DIFERENCIAS ENTRE MORFOS:

CARACTER	THRUM (SS ó Ss)	PIN (ss)
estilos (longitud)	-	+
papilas estigmáticas (tamaño)	-	+
estambres (longitud)	+	-
anteras (tamaño)	+	-
polen (tamaño)	+	-
polen (cantidad producida)	-	+
flor (tamaño)	+	-
autoincompatibilidad	+	-

(Fuentes: Ganders 1979a, Lewis 1979).

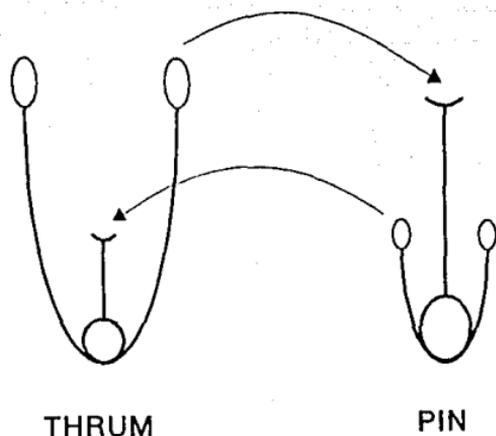


Figura 1. Esquema comparativo de las flores de morfo Thrum y Pin. Las principales diferencias se han exagerado. Las flechas indican la dirección del flujo "legítimo" de polen.

Ya ha sido mencionado que la mayoría de las especies heterostilicas son autoincompatibles en grado variable. En algunas especies el nivel de incompatibilidad difiere en función de los morfos (Ganders 1979a) o de la localidad en donde se halla la población (Barret *et al.* 1989; Sobrevilla *et al.* 1983). En las especies distilicas, los individuos Thrum suelen ser más autoincompatibles que los Pin (Bir Bahadur 1970, Ornduff 1966, 1971, Darwin 1877) pero hay casos en los que el patrón se invierte (*i.e.* *Psychotria faxlucens*, Pérez 1990, también ver Ornduff 1970).

Las similitudes generales que presentan las plantas con el "síndrome heterostilico" sugieren que ha ocurrido una evolución convergente en respuesta a presiones selectivas parecidas. Existen al menos dos hipótesis que explican el origen de este sistema de reproducción a partir de plantas hermafroditas. En uno se considera primero el establecimiento de un sistema de incompatibilidad esporofítica que después es reforzado por los polimorfismos que ya han sido descritos en los párrafos anteriores (Lewis 1979), y requeriría de una etapa ginodioica funcional (Ganders 1979a). Una dificultad central en esta hipótesis es que el primer paso restringe la posibilidad de los individuos de reproducirse con la mitad de la población, un evento raro de ocurrir por selección natural. La segunda hipótesis propone como primer paso la evolución del heteromorfismo seguida de la adquisición del sistema de incompatibilidad (Lloyd 1987). Esta secuencia es más factible porque no tiene la dificultad de la hipótesis anterior. Sin embargo, este asunto sigue siendo polémico (ver Barret 1990).

Darwin (1859, 1877) propuso que la diecia había evolucionado a partir de la distilia en varios grupos. Muchos autores han aportado evidencias en favor de esa idea (ver citas en Wyatt 1983). Algunas condiciones que podrían desestabilizar un sistema heterostilico y favorecer su evolución hacia la diecia han sido revisadas por Bawa (1980). El papel de los polinizadores puede ser crítico. Sin embargo, la distilia no es el único camino por donde pudo haber surgido la diecia. Pudo haber sido a través de la ginodiecia, androdiecia o la monoecia, pero ciertamente, su origen último en cualquier caso tuvo que ser un sistema hermafrodita (Bawa y Beach 1981; Wyatt 1983). En la evolución de la distilia a la diecia se puede descartar que la presión selectiva principal sea el aumento en la tasa de recombinación ya que ambos sistemas son equivalentes en ese aspecto (Wyatt 1983). Las mismas presiones selectivas mencionadas con anterioridad pueden estar implicadas en el cambio de distilia a diecia.

Teóricamente, esta transición implica la especialización de las funciones sexuales entre los morfos florales. Un razonamiento importante que surge de esta afirmación es que un sistema distilico que no se encuentre en transición evolutiva (funcional) ganará la misma adecuación por vía masculina que por vía femenina. En cambio, los morfos de un sistema distilico que efectivamente esté en transición mostrarán diferencias en su funcionamiento como macho y como hembra. Esto debe cumplirse también en sistemas tristicos.

A nivel morfológico, en todos los ejemplos que se tienen sobre la transición de distilia a diecia, los individuos Pin se han vuelto pistilados y los Thrum, estaminados (Wyatt 1983 y citas ahí). No obstante, si se pone atención a la sexualidad funcional, se presenta un panorama más balanceado: en algunas especies se sigue ese patrón, pero en otras las Pin cumplen mejor la función masculina y las Thrum funcionan mejor como hembras (Barrett 1980, Meagher y Wyatt no publ. citado en Wyatt 1983; Tabla 4). Se ha sugerido que la preponderancia de las plantas Thrum para adoptar la función masculina se debe a que el morfo Thrum es heterogamético (Ss), igual que las plantas masculinas (XY) en sistemas dioicos (Meagher 1988, Wyatt 1983), pero esto no es un obstáculo para que pueda ocurrir que las plantas heterogaméticas evolucionen a femeninas. Existen muchas especies animales con determinación cromosómica del sexo en los cuales los machos son homogaméticos y las hembras, heterogaméticas.

Para entender los sistemas de reproducción sexual es necesario situarlos en el contexto ecológico donde se desarrollan (Baker 1986), considerándolos como una manera de optimizar el éxito reproductivo masculino y femenino dentro de las restricciones impuestas por el sistema de polinización (Bawa y Beach 1981) y el genotipo.

La diversidad de polinizadores asociados a las especies heterostilicas es grande, aunque casi restringida a insectos: abejas, moscas, esfingidos, mariposas y escarabajos. También hay reportes de polinización por colibríes en especies heterostilicas (Ganders 1979a, Coello et al. 1986, Sobrevilla et al. 1983). Es indudable que los polinizadores han jugado un papel clave en la

dinámica evolutiva de la heterostilia. En el género *Mussaenda* (Rubiaceae) existen ejemplos de evolución de heterostilia a dioicismo donde la transferencia diferencial de polen entre morfos ha sido importante (Baker 1986). En ese caso, se propone que el morfo Pin se volvió femenino debido a que los pequeños pelos en el tubo de la corola dificultan la salida del polen producido por los estambres cortos (Baker 1986).

TABLA 4. Estimaciones de la sexualidad funcional de plantas Pin y Thrum de varias especies. Los valores indican el nivel de desempeño de la función femenina: un valor de 1 corresponde a una ganancia de adecuación únicamente por vía femenina; un valor de 0 significa que únicamente se gana adecuación por vía masculina. (Modificada de Wyatt 1983).

POBLACION	PLANTAS CON ESTILOS LARGOS (PIN)	PLANTAS CON ESTILOS CORTOS (THRUM)
<u>Mitchella repens I</u>	0.224	0.776
<u>Mitchella repens II</u>	0.475	0.525
<u>Cordia dentata</u>	0.443	0.557
<u>Cordia pringlei</u>	0.471	0.529
<u>Cordia inermis</u>	0.947	0.053
<u>Cordia colococca</u>	0.957	0.043
<u>Cordia panamensis</u>	1.000	0.000
<u>Nymphoides indica</u>	0.390	0.610

El presente trabajo intentará evaluar la influencia de algunos fenómenos de selección sexual y/o conflictos familiares sobre el funcionamiento del sistema reproductivo en un arbusto heterostílico. La elección de una planta distílica complica los diseños experimentales, pero permite comparar el comportamiento reproductivo de individuos de distinto morfo, a través de lo cual, entre otras cosas, se puede inferir si la población se encuentra o no en transición evolutiva.

OBJETIVOS

Los objetivos generales de este trabajo son:

1. Evaluar el papel de la selección sexual en la evolución del sistema reproductivo de Erythroxylum havanense a través de su efecto en el éxito reproductivo de donadores y receptores de polen.
2. Evaluar el posible estado transicional del sistema reproductivo (heterostilia a diecia) de este arbusto heterostilico, verificando si existen diferencias entre los individuos de distintos morfos en su eficiencia reproductiva, como donadores (función masculina) y receptores de polen (función femenina); así como determinar las consecuencias sobre el desempeño de la progenie.

Los objetivos particulares son dos:

1. Evaluar el efecto de la identidad de diferentes donadores y receptores de polen sobre la producción de semillas, y sobre varios atributos de la progenie considerados componentes de adecuación.
2. Determinar si la aborción de frutos es selectiva en la población estudiada de esta especie.

Se diseñó un experimento independiente para abordar cada uno de los objetivos particulares. La descripción de cada experimento y sus resultados se presentan como capítulos separados para facilitar su exposición. En un capítulo posterior se desarrolla una discusión general donde se integran los resultados de ambos experimentos. Finalmente se presentan las conclusiones del trabajo y algunas recomendaciones para la realización de futuras investigaciones.

SITIO DE ESTUDIO

El estudio se realizó en la Estación de Biología Chamela, una reserva perteneciente al Instituto de Biología de la UNAM, que se localiza a menos de 2 km de la costa en el estado de Jalisco (19°30'N, 105°03'W) a unos 125 km al noroeste de Manzanillo (Fig. 2.a.). La región está dominada por lomeríos bajos (Lott *et al.* 1987). En la Estación, las altitudes varían entre los 10 y 584 m.s.n.m. (Lott *et al.* 1987). La vegetación dominante es el bosque tropical caducifolio (*sensu* Rzedowski 1978), que se desarrolla sobre los suelos someros de las colinas y pendientes. La caracterizan una vegetación bien desarrollada, con árboles de 4 a 15 m de altura y estrato arbustivo bien desarrollado. También se presenta el bosque tropical subcaducifolio (*sensu* Rzedowski 1978), con árboles más altos y sobre suelos más profundos, pero está restringido a los lechos de los arroyos (Lott *et al.* 1987).

El clima ($Aw_0(x')i$) corresponde al grupo de los más secos de los cálidos subhúmedos (Bullock 1986, García 1988). Se caracteriza por una marcada estación de sequía con un promedio de precipitación anual de 699 mm (1977-1987; Bullock y Solís-Magallanes 1990; 714mm 1977-1990, S.H. Bullock, com. pers.), la mayor parte concentrados entre junio y octubre (Fig. 2.b.). La temperatura media anual es de 24.9°C.

El listado florístico y la estructura de la vegetación se pueden consultar en los trabajos de Lott (1985,) y Lott *et al.* (1987). Bullock (1986) describe en detalle el clima de la región.

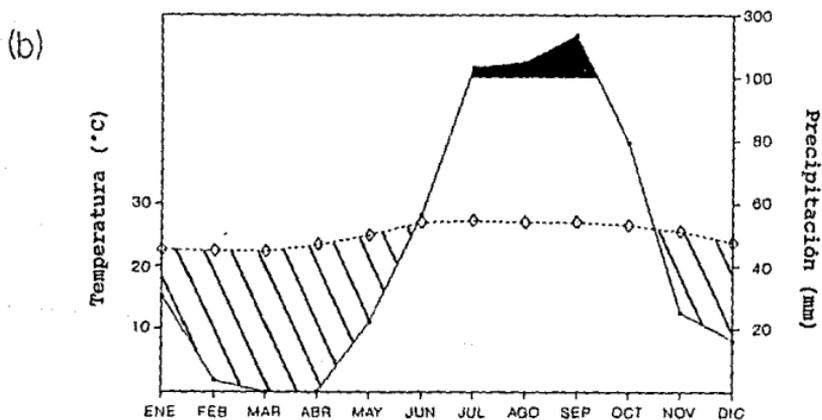
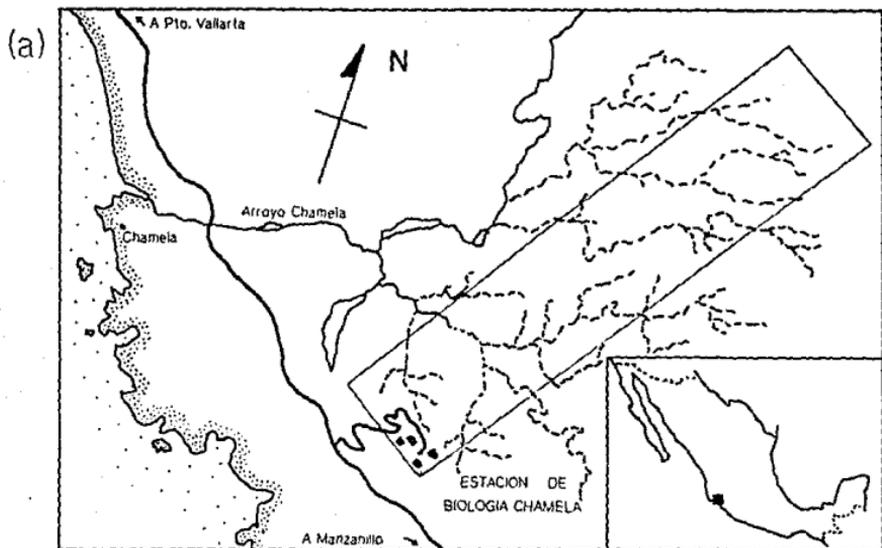


Figura 2. (a) Localización de la Estación de Biología Chamela, Jalisco. (Tomado de Lott 1985). (b) Diagrama ombrotrémico correspondiente. (Tomado de Bullock 1986).

HISTORIA NATURAL DE Erythroxylum havanense

La familia Erythroxylaceae es pantropical y consiste de cuatro géneros y cerca de 200 especies especialmente abundantes en América (Cronquist 1981). La mayor parte de ellas pertenecen al género Erythroxylum. Los otros tres juntos (Aneulophus, Nectaropetalum y Pinacopodium) reúnen tan sólo unas diez especies. Los fósiles más antiguos atribuidos a miembros de esta familia se han encontrado en depósitos argentinos del Eoceno (Cronquist 1981).

En Norteamérica, sólo está presente el género Erythroxylum (Britton 1907), que en México cuenta con siete especies (Standley 1923). Se les encuentra principalmente en bosques tropicales (caducifolios, subcaducifolios y perennifolios) y también en matorrales xerófilos. La mayoría de las especies de este género son distílicas. Los reportes de tristilia no son confiables (Ganders 1979b).

Erythroxylum havanense Jacq. es un arbusto perenne, caducifolio, hermafrodita y distílico. En Chamela no sobrepasa los 3 m de altura, y se encuentra distribuido de manera agregada (en "parches"; Domínguez 1990, Gryj 1990). Sus flores están agrupadas en fascículos de no más de 10 flores. La distribución geográfica de esta especie es amplia. En el Herbario Nacional (MEXU) existen ejemplares de Cuba, Nicaragua, Costa Rica, Honduras y Panamá. En México se ha colectado en Chiapas, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Oaxaca, Sinaloa y Yucatán. Se puede hallar una descripción botánica en Britton (1907).

La floración de este arbusto es masiva, sincrónica y ocurre entre 6 y 15 días después de que empiezan las lluvias (Domínguez 1990). En promedio, cada individuo presenta flores durante casi tres días, aunque a nivel de parche, el periodo de floración es de 5.7 ± 0.9 días (promedio \pm E.E. de aquí en adelante). Cerca del 84% de las flores abren en los primeros dos días, sin embargo el régimen de precipitación puede ocasionar cambios en la duración de la floración (Domínguez 1990).

El día anterior a la floración los botones se ponen turgentes y adquieren un color amarillo cremoso muy característico. Las flores abren entre las 0000 y 0200 hrs. La dehiscencia de las anteras empieza a las 0630 pero hasta las 0900 terminan de abrir todas las de una flor. Cada flor dura sólo un día, y si no es polinizada cae de la planta al día siguiente (Domínguez 1990). A pesar de esta duración, es posible que la receptividad esté limitada a la primera mitad del día, pues hacia la tarde las flores presentan una marchitez extrema.

Los visitantes más importantes son abejas meliponinas (Apidae), dentro de las cuales, la especie Scaptotrigona hellwegeri (Ayala 1988) es la más frecuente. Por esto y por su tamaño, podrían ser polinizadores muy eficientes (Domínguez 1990). La frecuencia con la que se presentan las Xylocopa (Anthophoridae) es menor, pero por su gran movilidad podrían jugar un papel importante en el flujo de polen entre parches (Domínguez 1990). De acuerdo con lo esperado para una planta heterostilica, en E. havanense solamente las cruza

entre individuos de distinto morfo producen semillas (Dominguez 1990).

Los frutos maduros son drupas de color rojo intenso, ovoides, de aproximadamente 1 cm de largo. Sus características se ajustan al síndrome de ornitocoria, aunque los registros directos de aves dispersoras son escasos (Gryj 1990). Una consecuencia del patrón de floración es que la fructificación también es sincrónica y masiva. La maduración de los frutos empieza 21 días después de la floración (Dominguez 1990, Gryj 1990) y dura entre veinte y treinta días. Invariablemente los frutos solamente contienen una semilla (obs. pers.).

Las semillas germinan durante la misma temporada húmeda en que son producidas, aproximadamente a los 10 días de quedar en el suelo. Los individuos reclutados deben tolerar la primera sequía como plantas juveniles muy pequeñas y poco lignificadas. Entre los factores que pueden estar involucrados en el establecimiento y supervivencia de las plántulas están la depredación de las semillas, la herbivoría, el pisoteo, y las oportunidades de germinar en sitios favorables.

Hay dos fenómenos muy relevantes para este estudio que encontró Dominguez (1990) en su trabajo sobre el sistema reproductivo de esta planta:

1) La eficiencia en la producción de frutos (frutos maduros / flores producidas) es de 0.141 ± 0.022 , es decir más baja que el promedio para 187 angiospermas hermafroditas autoincompatibles: 0.22 ± 0.14 (Sutherland y Delph 1984). En polinizaciones controladas su eficiencia en la producción de frutos, 0.31 en promedio, también es baja comparada con otras dos especies del género (E. coca y E. novogranatense tienen 0.84 y 0.39 respectivamente en polinizaciones controladas; Ganders 1979b). Aunque en condiciones naturales podría haber limitación de la fecundidad por polinizadores, este fenómeno fue descartado por Dominguez (1990). En otras palabras, los datos de E. havanense indican un nivel muy alto de aborción de frutos inmaduros. Las causas de este fenómeno pueden ser varias. Se reconocen cinco hipótesis (no excluyentes entre sí) mediante las cuales se intenta explicarlo: limitación por polinizadores, atracción de polinizadores, "bet-hedging", y dos involucradas en la selección sexual: donación de polen y aborción selectiva. Los detalles de estas pueden consultarse en Dominguez (1990) y Sutherland (1986, 1987). Este estudio se enfoca principalmente a desentrañar la última hipótesis, como fue mencionado en los objetivos.

2) Existen diferencias entre ambos morfos en la eficiencia de producción de frutos iniciados y maduros. Las plantas Thrum producen más frutos maduros por flor que las Pin. Explorar las diferencias en el comportamiento reproductivo de cada morfo es uno de los objetivos generales del presente trabajo.

EXPERIMENTO I: FAMILIAS GENÉTICAS

Este primer experimento se diseñó con el fin de poder responder a las siguientes preguntas:

1. ¿Existen diferencias entre donadores y/o receptores de polen en su eficiencia para producir descendientes?
2. ¿Existen diferencias en la adecuación de la progenie dependiendo de la identidad de los progenitores maternos y/o paternos?
3. ¿Existen diferencias entre donadores de polen con respecto al porcentaje de germinación de polen y longitud de los tubos polínicos? De haberlas, ¿están correlacionadas con la producción de semillas y con el desempeño de éstas y de las plántulas a que den lugar?
5. ¿Existen diferencias entre individuos de distinto morfo en su desempeño como donadores o receptores de polen? ¿Cuáles son las consecuencias de estas diferencias entre morfos en la adecuación de la progenie?

METODO

Este experimento consistió en generar familias genéticas por medio de polinizaciones manuales. Se utilizó el diseño de cruza llamado North Carolina 2 que fue ideado para calcular la heredabilidad de caracteres merísticos a partir de las varianzas de los hijos, de las hembras y de los machos (Lawrence 1984). Este método tiene la ventaja de poder calcular los efectos de la interacción entre machos y hembras, por lo cual se pueden separar los efectos maternos de los de dominancia y epistasia (Lawrence 1984). En relación a este estudio lo más importante es que permite separar la varianza de los atributos analizados en sus componentes materno y paterno. Ya que *E. havanense* es una planta distilica, se realizaron dos juegos de cruza para poder evaluar el efecto del morfo de los progenitores. Estos juegos de cruza serán designados CRUZA I y CRUZA II en lo sucesivo. En la CRUZA I los donadores de polen fueron de morfo Pin y los receptores fueron Thrum. En la CRUZA II los donadores de polen fueron Thrum y los receptores fueron Pin (Fig. 3). En cada CRUZA, cada uno de ocho receptores recibió polen de seis donadores, formándose 48 familias genéticas donde las madres fueron de morfo Thrum y 48 familias en que las madres fueron Pin. La progenie obtenida con este diseño consiste de hermanos completos y medios hermanos de madre y de padre en cada CRUZA.

Los atributos que se analizaron fueron: 1) la eficiencia en la producción de semillas, como una medida de la adecuación de los progenitores (también como el resultado del proceso de aborción); y 2) como medidas de la adecuación de la progenie: el peso de los frutos, el peso de las semillas, el tiempo de maduración del fruto, la proporción de semillas germinadas y el

		DONADORES DE POLEN														
		PIN						THRUM								
		1	2	3	4	5	6	I	II	III	IV	V	VI			
RECEPTORES DE POLEN	THRUM	1	X	X	X	X	X	X								
	2	X	X	X	X	X	X									
	3	X	X	X	X	X	X									
	4	X	X	X	X	X	X									
	5	X	X	X	X	X	X									
	6	X	X	X	X	X	X									
	7	X	X	X	X	X	X									
	8	X	X	X	X	X	X									
PIN	I						X	X	X	X	X	X				
II							X	X	X	X	X	X				
III							X	X	X	X	X	X				
IV							X	X	X	X	X	X				
V							X	X	X	X	X	X				
VI							X	X	X	X	X	X				
VII							X	X	X	X	X	X				
VIII							X	X	X	X	X	X				

Figura 3. Esquema de las cruzas efectuadas mediante polinizaciones manuales. Las cruzas entre progenitores están indicadas por una X. Números arábigos y romanos indican plantas distintas. El cuadro superior izquierdo corresponde a la "CRUZA I" y el cuadro inferior derecho es la "CRUZA II." En ningún caso un mismo individuo funcionó como donador y receptor de polen.

tiempo de germinación. Una vez que las plántulas se establecieron, se midió la altura y el número de hojas de cada plántula, incrementos en altura y en el número de hojas, y la supervivencia (Tabla 5).

TABLA 5. Cálculo de los atributos analizados como componentes de adecuación.

-
- a). EFICIENCIA EN LA PRODUCCION DE SEMILLAS:
semillas producidas / frutos iniciados
- b). PROPORCION DE SEMILLAS GERMINADAS:
semillas germinadas / total de semillas
- c). INCREMENTO^a EN ALTURA (IA)^b:
 $IA = A_0 + \Sigma(A_{n+1} - A_n)$
- d). INCREMENTO^a EN EL NÚMERO DE HOJAS (IH)^b:
 $IH = H_0 + \Sigma(H_{n+1} - H_n)$
- e). SUPERVIVENCIA:
individuos vivos / individuos reclutados
-

- a. Los valores de los incrementos reflejan la asignación de recursos al crecimiento, minimizando los sesgos ocasionados por pérdidas fortuitas de hojas o de altura.
- b. A es la altura en mm y H el número de hojas. Los subíndices de A y H se refieren al número de censo; se realizó un total de 9 censos. A₀ y H₀ son la altura y el número de hojas iniciales (del primer censo) respectivamente.

Diseño de las cruzas

Se eligieron individuos que en años anteriores (1987 y 1988) produjeron un alto número de flores (C.A. Domínguez, no publ.), lo cual se tomo como indicador de que producirían suficientes flores para realizar las polinizaciones manuales en 1989. Los individuos seleccionados presentan una variación importante en tamaño (diámetro basal de las partes vivas).

El experimento se inició a finales de la sequía en mayo de 1989. La floración de los individuos elegidos se indujo mediante riegos realizados cada tercer día, a partir de los días 6 y 12 de mayo para la CRUZA I y la CRUZA II respectivamente. Los riegos se efectuaron con cubetas, acarreando agua desde bidones de 200 l colocados en las cercanías de las plantas. A cada planta se le vertían aproximadamente 20 l de agua en el primer riego y 10 l en los siguientes. De esta manera a la planta no le faltaría agua para la floración, la producción de hojas y maduración de los frutos (Domínguez 1990).

Además de regar las plantas que funcionarían como receptores de polen, se regaron cinco plantas del morfo contrario. Con ello se crearon las condiciones para que las flores no polinizadas manualmente fueran polinizadas por abejas y otros polinizadores naturales. (Experimentos de riego en años anteriores mostraron que la producción de frutos no difiere entre plantas localizadas en

parches de cinco o más individuos y plantas que florecieron naturalmente; Domínguez 1990.) De esta manera se evitó que los frutos resultantes de la polinización manual se vieran favorecidos por la ausencia de otros frutos que compitieran por los recursos maternos. Un total de 128 plantas fueron regadas hasta los días de floración en cada juego de cruza, pero únicamente los dieciséis individuos receptores se continuaron regando hasta la maduración de su último fruto.

Polinización manual

Debido a la gran cantidad de trabajo y al lapso tan corto para realizarlo, se requirió de un equipo de siete personas para efectuar las polinizaciones manuales. A cada quien se le dotó de pinzas de relojero para manipular los estambres, un pequeño frasco de plástico para transportar las flores donadoras de polen y alcohol etílico (96%) para esterilizar las pinzas en cada cambio de donador de polen.

Las polinizaciones se realizaron durante los primeros dos días de floración de las plantas (15, 16 y 21, 22 de mayo para el primero y segundo juego de cruza respectivamente), entre las 0900 y 1400 h, horario determinado por la disponibilidad de suficiente polen en las anteras y por la receptividad de los estigmas (Domínguez 1990).

La tarde anterior a la floración se embolsaron botones (utilizando bolsas de papel "Pollen-tector No.1140/OT") en los individuos receptores y donadores de polen. Al día siguiente, se colectaron flores de cada donador y se transportaron en los frascos de plástico hasta los individuos receptores. En cada uno de estos, se quitaban las bolsas de algunas ramas y se procedía a polinizar evitando la intromisión de insectos polinizadores. En la gran mayoría de los casos, se utilizó más de un donador en las diferentes flores de una rama y en cada fascículo de flores. La finalidad de hacerlo así fue repartir a los donadores en varias partes de la planta. De lo contrario, los efectos del donador estarían confundidos con los posibles efectos de la rama que aprovisionó de recursos a su progenie. En seguida se marcaban las flores con pequeñas placas metálicas de colores, de manera que se pudiera saber la identidad del donador de polen utilizado. Durante su polinización, las flores del morfo *Thrum* fueron emasculadas para facilitar el acceso a los estigmas.

Tan pronto se terminaban de polinizar las flores de una rama, se cubrían nuevamente con una bolsa para evitar que recibieran polen de otros donadores. Se trabajó en cada receptor hasta terminar de cruzarlo con todos los donadores con el objeto de minimizar diferencias en el tiempo de polinización. Se tomó la precaución de limpiar las pinzas con alcohol cada vez que se cambiaba de donador para evitar la mezcla de polen de varios donadores en una sola flor. Las bolsas que cubrían las flores polinizadas fueron retiradas al día siguiente de la polinización cuando los estigmas habían perdido su receptividad.

Posteriormente se observó que había ortópteros que comían los frutos verdes, por lo cual se cubrieron las ramas utilizadas con bolsas de tul blanco. Las bolsas también sirvieron para evitar que las aves u otros animales (depredadores o dispersores) se llevaran los frutos maduros antes de ser colectados.

Una vez que los frutos empezaron a madurar, se hicieron recorridos matutinos diarios para colectarlos. Solamente se extraían aquellos frutos de color rojo intenso. Antes de que transcurrieran dos horas, se transportaban al laboratorio para ser pesados en una balanza analítica (Sartorius 2442). Las semillas se despulparon, pesaron y sembraron en pequeñas macetas de cartón comprimido ("Jiffy pots") conforme los frutos maduraban. De esta manera se podrían detectar las posibles ventajas de una pronta maduración sobre el desarrollo y la supervivencia de la progenie. Las macetas se mantuvieron dentro de un laboratorio a temperatura ambiente hasta la germinación de las semillas. Se hicieron registros diarios de la maduración de los frutos y de la germinación de las semillas sembradas.

Aparte de colectar los frutos generados por polinización manual, en cada receptor se colectaron 17 frutos (máxima cosecha en la polinización manual) producidos por polinización natural y fueron sometidos al procedimiento descrito anteriormente. Se consideró que estos frutos serían útiles como un control para la detección de los posibles efectos de la manipulación.

Cuando la mayoría de las semillas había germinado, se transplantaron a una exclusión en el campo (similar a condiciones naturales). Se deshirió un área de 5.5 m x 5.5 m y se instaló una tienda de malla de mosquitero de las mismas dimensiones (y una altura de 1.7 m) en un sitio cercano a las instalaciones de la estación (unos 40m al NE de éstas). Las macetas se enterraron en el suelo hasta que la orilla quedara al nivel de la superficie. La posición de las plántulas fue asignada de manera aleatoria. Una vez transplantadas solamente se hicieron riegos en la exclusión durante la primera semana, pues la temporada de lluvias ya había comenzado.

A partir del trasplante se realizaron censos en los cuales se registraba la altura, el número de hojas y la supervivencia de las plántulas. Al principio los censos se realizaron cada semana, y posteriormente se fueron espaciando a dos, tres y finalmente cuatro semanas. Se realizó un total de ocho censos en 1989 y uno en 1990, éste último al comienzo de la temporada de lluvias. Los atributos medidos fueron elegidos por ser estimadores del vigor de las plantas y por tanto componentes de la adecuación. Se ha considerado que el censo realizado después de la sequía es muy importante por constituir un filtro selectivo severo.

La evaluación de las diferencias entre individuos y entre morfos en el desempeño de su polen se realizó a través de cultivos *in vitro* del polen de los mismos donadores utilizados en las polinizaciones manuales. El muestreo de polen de cada donador se realizó paralelamente a las polinizaciones manuales. Se tomaron al azar diez flores de cada donador y se frotaron sus anteras varias veces sobre una capa de agar y portaobjetos preparados previamente

(ver Apéndice). Se utilizaron cuatro portaobjetos por cada donador. Los portaobjetos se transportaron dentro de cajas de petri para evitar en lo posible todo tipo de contaminaciones.

En cada caso el cultivo se inició al momento de quedar el polen en contacto con el agar. Como el muestreo de polen no fue simultáneo sino secuencial, la fijación se realizó en el mismo orden a fin de minimizar las diferencias en tiempo de cultivo. El cultivo se llevó a cabo dentro de un laboratorio de temperatura controlada (20°C).

Después de 30 horas, los cultivos se fijaron en FAA y se microfotografiaron cuatro campos distintos de cada preparación (American Optical; 4x). Se procuró que estos campos fueran lo más representativo posible de toda la preparación.

Posteriormente se obtuvo la proporción de germinación y la longitud de los tubos polínicos en cada fotografía. La primera se obtuvo contando el número de tubos polínicos y dividiéndolo entre el total de granos de polen en la fotografía. El número de granos contados por cada donador varió entre 549 y 1391 para los donadores Thrum, y entre 597 y 1655 para los donadores Pin (el total de granos de polen contados fue 5382 y 5821 para donadores Thrum y Pin respectivamente). La longitud se obtuvo digitalizando las imágenes fotográficas de los tubos polínicos en una computadora HP-9000. Se midieron de 54 a 158 tubos polínicos por cada donador Thrum, y de 83 a 120 por cada donador Pin (una muestra total de 642 y 609 tubos polínicos de donadores Thrum y Pin respectivamente). A partir de estos datos es posible comparar la tasa de crecimiento de los tubos polínicos (dado que se trata de longitudes que alcanzaron los tubos polínicos a un cierto tiempo) y la proporción de polen germinado entre los diferentes donadores.

Análisis de datos

Los datos obtenidos se analizaron mediante modelos lineares generalizados (GLIM 3.77 Royal Statistical Society of London 1985). Estos análisis se realizaron separadamente para cada componente de adecuación dentro de cada juego de cruza. El programa utilizado permite el análisis de variables cuya distribución no es normal, en cuyo caso se asigna una función logarítmica ($\ln y$) o logit ($e^y/[1+e^y]$) a la variable dependiente según se trate de distribuciones Poisson o binomial respectivamente. La distribución Poisson se utiliza cuando la variable dependiente es discreta (i.e. conteos) y la binomial cuando se trata de proporciones. En ambos casos se reportan valores de X^2 . Para la detección de efectos maternos y paternos, los factores considerados en los análisis fueron el receptor y el donador de polen. De manera separada se realizaron análisis para detectar efectos del morfo.

RESULTADOS

En esta sección se presentan: 1) los efectos de los receptores (efectos maternos en sentido amplio), de los donadores (efectos paternos) y de su interacción (efectos de la familia) sobre los componentes de adecuación; 2) los efectos del donador de polen y de su morfo sobre la proporción de polen germinado y sobre la longitud de los tubos polínicos; 3) los efectos del morfo de los progenitores sobre los componentes de adecuación y 4) los efectos del morfo de los receptores sobre los componentes de adecuación de la progenie resultante de la polinización natural.

Efectos maternos y paternos

En la Tabla 6 se muestran los resultados de las cruza entre receptores Thrum y donadores Pin (CRUZA I). Se observa una predominancia de efectos maternos (8 de 12 casos). Únicamente en la germinación, la altura final, el incremento de altura y la supervivencia no son patentes los efectos maternos. Los efectos paternos fueron significativos únicamente en el número y peso de las semillas producidas (2 de 12 casos). También se encontraron efectos de la interacción sobre el peso de las semillas, el tiempo a la germinación, el número final de hojas y el incremento en número de hojas (4 de 8 casos).

Los resultados de las cruza entre receptores Pin y donadores Thrum (CRUZA II) se muestran de la misma manera en la Tabla 7. Nuevamente predominan los efectos maternos (9 de 12 casos), con excepción de la altura final, el incremento en altura y la supervivencia. Sólo se detectaron efectos del donador en germinación y número de hojas (2 de 12 casos). Los efectos de la interacción de los progenitores sólo son significativos en el número de hojas de las plántulas (1 de 8 casos).

El hecho de que existan más casos de efectos maternos que paternos indica que es más importante la identidad de la madre que la del padre. Además, siempre que hubo efectos paternos, también hubo efectos maternos y estos últimos siempre explican una mayor proporción de la varianza (Tablas 6 y 7; ver el valor correspondiente de r^2 o del estadístico). En total, sólo hubo cuatro casos (de un total de 24) en que la varianza explicada por los donadores fue mayor que la de los receptores (Tablas 6 y 7), pero no fueron significativos: germinación y supervivencia (CRUZA I); altura final y supervivencia (CRUZA II). Por otro lado, en ambas CRUZAS, se detectaron efectos maternos sobre las mismas variables (excepto la proporción de semillas germinadas), lo cual no ocurrió con los efectos paternos. Los componentes de adecuación que muestran efectos del progenitor paterno en la CRUZA I son distintos de aquellos con efectos paternos en la CRUZA II.

Es probable que un componente de los efectos maternos sea el diámetro basal de las plantas. Se detectó una correlación del diámetro basal y la eficiencia en la producción de semillas ($r^2=0.10$, $X^2=28.13$, g.l.=1, $p<0.001$), pero indiscutiblemente, la

TABLA 6. Efectos maternos, paternos y de su interacción sobre los doce componentes de adecuación analizados, en la CRUZA I (Receptores Thrun x Donadores Pin). En esta tabla y las siguientes sólo se muestra el valor de r^2 cuando el estadístico es significativo.

COMPONENTE ADECUACION	PLANTA MATERNA			PLANTA PATERNA			PLANTA MATERNA x PATERNA			n
	estadístico	p	r^2	estadístico	p	r^2	estadístico	p	r^2	
FRUTOS										
INICIADOS ^b	24.81	< 0.001	0.34	9.074	NS ^c	- - -	- - -	- - -	- - -	30
SEMILLAS										
PRODUCIDAS ^b	64.84	< 0.001	0.46	25.1	< 0.001	0.18	- - -	- - -	- - -	30
MADURACION ^b	39.94	< 0.001	0.26	1.031	NS	- - -	7.287	NS	- - -	324
PESO FRUTOS ^a	83.704	< 0.001	0.56	0.272	NS	- - -	1.613	NS	- - -	330
PESO SEMILLAS ^a	133.51	< 0.001	0.65	3.379	< 0.02	0.02	2.554	< 0.002	0.05	330
GERMINACION ^b	2.92	NS	- - -	7.25	NS	- - -	- - -	- - -	- - -	30
TIEMPO GERMIN. ^b	23.17	< 0.001	0.09	6.598	NS	- - -	27.74	< 0.05	0.11	270
ALTURA FINAL ^a	1.404	NS	- - -	0.792	NS	- - -	0.982	NS	- - -	227
INCREM. ALTURA ^a	1.579	NS	- - -	0.89	NS	- - -	0.975	NS	- - -	227
# HOJAS FINAL ^b	33.499	< 0.001	0.06	1.13	NS	- - -	70.84	< 0.001	0.12	227
INCREM. HOJAS ^b	28.9	< 0.001	0.1	3.414	NS	- - -	38.94	< 0.001	0.13	227
SUPERVIVENCIA ^b	6.52	NS	- - -	8.82	NS	- - -	- - -	- - -	- - -	27

a. En la columna del estadístico se reportan los valores de F.

b. En la columna del estadístico se reportan los valores de X^2 .

c. $0.05 < p < 0.10$

El modelo lineal generalizado que se usó para las dos primeras variables (frutos iniciados y semillas producidas) es:

$$Y = \text{CONSTANTE} + \text{RECEPTOR} + \text{DONADOR}$$

En las demás variables se incluyó la interacción entre ambos factores:

$$Y = \text{CONSTANTE} + \text{RECEPTOR} + \text{DONADOR} + \text{RECEPTOR} \times \text{DONADOR}$$

TABLA 7. Efectos maternos, paternos y de su interacción sobre los doce componentes de adecuación analizados, en la CRUZA II (Receptores Pln x Donadores Thrum).

COMPONENTE ADECUACION	PLANTA MATERNA			PLANTA PATERNA			PLANTA MATERNA x PATERNA			n
	estadístico	p	r ²	estadístico	p	r ²	estadístico	p	r ²	
FRUTOS										
INICIADOS ^b	23.08	< 0.005	0.27	1.58	NS	- - -	- - -	- - -	- - -	48
SEMILLAS										
PRODUCIDAS ^b	46.36	< 0.001	0.39	5.151	NS	- - -	- - -	- - -	- - -	48
MADURACION ^b	23.64	< 0.001	0.25	3.965	NS	- - -	5.826	NS	- - -	351
PESO FRUTOS ^a	12.116	< 0.001	0.18	0.911	NS	- - -	0.997	NS	- - -	348
PESO SEMILLAS ^a	19.522	< 0.001	0.25	2.201	NS	- - -	1.206	NS	- - -	348
GERMINACION ^b	12.89	< 0.05	0.29	11.34	< 0.05	0.26	- - -	- - -	- - -	35
TIEMPO GERMIN. ^b	17.86	< 0.005	0.07	7.523	NS ^c	- - -	14.152	NS	- - -	204
ALTURA FINAL ^a	0.191	NS	- - -	2.337	NS ^c	- - -	1.364	NS	- - -	247
INCREM. ALTURA ^a	0.138	NS	- - -	2.511	NS ^c	- - -	1.42	NS	- - -	247
# HOJAS FINAL ^b	84.21	< 0.001	0.2	14.88	< 0.025	0.04	32.64	< 0.025	0.08	246
INCREM. HOJAS ^b	22.98	< 0.001	0.13	8.141	NS	- - -	10.249	NS	- - -	246
SUPERVIVENCIA ^b	1.93	NS	- - -	4.82	NS	- - -	- - -	- - -	- - -	35

a. En la columna del estadístico se reportan los valores de F.

b. En la columna del estadístico se reportan los valores de X².

c. 0.05 < p < 0.10

El modelo lineal generalizado que se usó para las dos primeras variables (frutos iniciados y semillas producidas) es:

$$Y = \text{CONSTANTE} + \text{RECEPTOR} + \text{DONADOR}$$

En las demás variables se incluyó la interacción entre ambos factores:

$$Y = \text{CONSTANTE} + \text{RECEPTOR} + \text{DONADOR} + \text{RECEPTOR} \times \text{DONADOR}$$

proporción de la varianza que explica ese atributo es muy baja. Del mismo análisis se desprende que ni el diámetro basal del progenitor paterno ($X^2=2.32$, g.l.=1, $p>0.10$) ni la interacción de los diámetros basales de ambos progenitores tienen efectos sobre dicha variable ($X^2=1.38$, g.l.=1, $p>0.10$).

En la CRUZA I, los donadores Pin tienen efectos sobre dos componentes de la adecuación muy importantes en términos de selección natural: la producción de semillas, y el peso de éstas, que en muchas especies está relacionado con el desempeño posterior de los individuos y con su supervivencia (Careaga 1989, Winn 1985, Roach y Wulff 1987, Stanton 1984, Silvertown 1990 y referencias citadas en estos trabajos). Esto significa que hay algunos donadores Pin que producen más semillas que otros, y además, unos producen semillas más pesadas. En la CRUZA II, los donadores Thrum tienen efectos sobre la germinación de las semillas y sobre el número de hojas de las plántulas. El primer atributo refleja uno de los filtros de selección natural por los que pasan los individuos recién constituidos. Estos resultados muestran que la identidad del progenitor paterno es un factor de importancia moderada que influye sobre la fecundidad de la madre y el desempeño de la descendencia, y que este efecto es diferente entre los morfos. Esta importante diferencia se discute más adelante.

Cuando el efecto de la interacción resulta significativo, los efectos de receptores y donadores no son independientes. Es decir, un donador o receptor particular tendrá progeie con distintas características dependiendo de quién sea su pareja. Entonces, puede considerarse que hay diferencias entre las familias de hermanos completos con respecto al peso de las semillas, tiempo de emergencia, número final de hojas e incremento de éstas en la CRUZA I (Tabla 6), y sólo con respecto al número de hojas en la CRUZA II (Tabla 7).

Contrariamente a lo supuesto, la sequía constituyó un factor poco importante en la mortalidad de las plántulas. La mortalidad general de las plantas reclutadas fue bastante baja (0.016 ± 0.004 en 1989, antes de la sequía; 0.10 ± 0.01 en 1990, después de la sequía). No se detectaron efectos de la familia genética ni de progenitor alguno sobre los patrones de mortalidad de las plántulas. Probablemente esto se deba a que la exclusión evitó que muchos agentes de mortalidad natural operaran sobre las plántulas. Observaciones de plántulas en condiciones naturales mostraron que la mortalidad puede llegar al 98% (C.A. Domínguez *et al.* no publ.).

En síntesis, los resultados presentados en esta sección permiten afirmar que entre las plantas maternas hay diferencias en la eficiencia de producción de semillas, tanto entre los receptores Thrum como Pin. El caso de los donadores es distinto: sólo los donadores Pin muestran diferencias significativas en la eficiencia de producción de semillas.

Por otra parte, existen diferencias en la adecuación de la progeie dependientes de la identidad de sus progenitores maternos y paternos, pero no en todas las medidas de desempeño de las plántulas. Particularmente no los hay sobre la supervivencia. Predominan los efectos maternos y son muy escasos los paternos.

Además, aproximadamente el 30% de los casos analizados presentan efectos significativos de la interacción entre progenitores. Este hecho apoya la idea de que la complementariedad entre genotipos es un factor importante en el desempeño de la progenie (Charlesworth et al. 1987).

Germinación de polen y longitud de tubos polínicos.

Dentro de cada morfo, los seis donadores de polen difieren significativamente en la proporción de polen que germinó y en la tasa de crecimiento sus tubos polínicos (Tabla 8 y 9). También existen diferencias entre los morfos para ambos atributos: el polen de los donadores Pin tiene una mayor proporción de germinación y sus tubos polínicos muestran mayores tasas de crecimiento (Tabla 10). Este resultado apoya la idea de que los individuos Pin se desempeñan mejor como donadores de polen y los Thrum como receptores.

TABLA 8. Número de granos de polen en la muestra (T), número de granos de polen germinados (G), proporción de polen germinado y tasa de crecimiento de los tubos polínicos (longitud en mm a las 30 hrs de cultivo) de cada donador.

DONADOR	GRANOS DE POLEN		PROPORCION G/T	TASA DE CRECIMIENTO DE TUBOS POLÍNICOS	
	TOTAL	GERMINADOS		$\bar{X} \pm D.E.$	(n)
THRUM					
1	849	397	0.468	0.594 \pm 0.378	(91)
2	549	201	0.366	0.422 \pm 0.309	(81)
3	937	618	0.660	0.675 \pm 0.487	(105)
4	825	125	0.152	0.184 \pm 0.175	(54)
5	1391	372	0.267	0.255 \pm 0.130	(158)
6	831	494	0.594	0.290 \pm 0.189	(153)
TOTAL	5382	2207	0.410	0.395 \pm 0.340	(642)
PIN					
1	1655	531	0.321	0.549 \pm 0.215	(120)
2	1032	455	0.441	0.543 \pm 0.328	(95)
3	922	581	0.630	0.338 \pm 0.229	(109)
4	597	361	0.605	0.760 \pm 0.387	(83)
5	998	417	0.418	0.376 \pm 0.273	(106)
6	617	288	0.467	0.431 \pm 0.244	(96)
TOTAL	5821	2633	0.452	0.491 \pm 0.309	(609)

Para evaluar la relación entre la habilidad competitiva de los gametofitos de los donadores y la eficiencia en la producción de progenie y su desempeño, se realizaron análisis de correlación de Spearman entre la proporción de polen germinado y la tasa de crecimiento de los tubos polínicos contra la producción de frutos,

TABLA 9. Efectos del donador sobre la proporción de polen germinado y la longitud de los tubos polínicos. En cada caso se muestran por separado los resultados del polen proveniente de donadores Thrum y Pin.

COMPONENTE ADECUACION	MORFO DEL DONADOR	estadístico	p	r ¹	n
		GERMINACION DEL POLEN	THRUM	750.1 ^a	<< 0.001
	PIN	298.1 ^a	<< 0.001	0.26	92
CRECIMIENTO TUBO POLINICO	THRUM	168.075 ^b	< 0.0001	0.26	642
	PIN	103.267 ^b	< 0.0001	0.19	609

a. Estadístico X².

b. Estadístico H (prueba de Kruskal-Wallis).

El modelo lineal generalizado correspondiente a la proporción de germinación de polen y a la tasa de crecimiento de los tubos polínicos es:

$$Y = \text{CONSTANTE} + \text{DONADOR}$$

TABLA 10. Efectos del morfo del donador sobre la germinación del polen y la longitud de los tubos polínicos. En cada renglón se ha resaltado el valor significativamente más alto.

COMPONENTE ADECUACION	MORFO DEL DONADOR		estadístico	p	r ¹	n
	THRUM	PIN				
	$\bar{x} \pm \text{E.E.}$	$\bar{x} \pm \text{E.E.}$				
GERMINACION ^a	0.41 \pm 0.007	0.45 \pm 0.009	20.36 ^c	< 0.001	0.01	183
LONGITUD DEL TUBO POLINICO ^b	0.40 \pm 0.01	0.49 \pm 0.01	7.108 ^d	< 0.001	0.02	1251

a. Proporción: granos de polen germinados / total.

b. Longitud en mm a las 30 horas de cultivo.

c. Estadístico X².

d. Estadístico z (Aproximación normal de la prueba de Mann-Whitney).

El modelo lineal generalizado correspondiente a las dos variables es:

$$Y = \text{CONSTANTE} + \text{MORFO}$$

el peso de las semillas, la proporción de semillas germinadas, la altura y el incremento en altura de las plántulas, el número de hojas y el incremento de éste, y la proporción de sobrevivientes (utilizando los valores promedios de las variables para cada donador).

Los resultados de los cultivos *in vitro* permiten afirmar que existen diferencias en la proporción de polen que germina y en la tasa de crecimiento de los tubos polínicos entre los donadores de cada morfo. Sin embargo, los donadores con los mayores porcentajes de germinación de polen no son los mismos cuyos tubos polínicos alcanzan las mayores longitudes a un tiempo definido (Tabla 11). Tampoco hay correlación entre estos atributos y el resto de los componentes de adecuación (Tabla 11). Esto significa que la diferencia detectada entre los donadores en su habilidad gametofítica *in vitro* no tuvo consecuencias sobre los componentes de adecuación analizados.

Efecto del morfo de los progenitores.

En esta sección se hace una comparación de los resultados de las CRUZAS I y II con el objeto de evaluar la influencia del morfo de las plantas materna y paterna sobre los mismos componentes de adecuación considerados en las secciones anteriores. El morfo de los progenitores, ya sean donadores o receptores de polen, tiene un marcado efecto sobre el desempeño de la progenie. La Tabla 12 muestra las diferencias en los atributos analizados en función del morfo del receptor de polen (el valor mayor está resaltado). La combinación receptor Thrum / donador Pin (CRUZA I) tiene mayor éxito reproductivo (producción de semillas) que receptor Pin / donador Thrum (CRUZA II). Además, la progenie de la CRUZA I tiene un mejor desempeño que la de la CRUZA II (Tabla 12). Los receptores Thrum cruzados con donadores Pin producen frutos y semillas más pesados. Las semillas germinan en mayor proporción y las plántulas alcanzan mayores alturas y producen más hojas comparadas con la progenie de cruza entre receptores Pin y donadores Thrum.

En el caso del número de frutos iniciados se observa un comportamiento inverso, es decir, los receptores Thrum inician menos frutos que los receptores Pin a partir de un mismo número de flores polinizadas (Tabla 12). Esto podría deberse a dificultades en la polinización manual de los estigmas de flores Thrum, lo cual es factible por su morfología. Pese a todo, se observa una inversión en ese sesgo inicial y lo que resulta es que los receptores Thrum maduran más frutos que los Pin y por lo tanto su producción de semillas es mayor (Tabla 12).

Con el objeto de comparar los resultados del experimento de polinización manual con lo que ocurre cuando el polen es transferido por vectores naturales, en la Tabla 13 se muestra el efecto del morfo de los progenitores sobre los componentes de adecuación de la progenie producida por polinización "natural" durante la floración inducida. Se detectaron diferencias significativas en todos los componentes de adecuación excepto en el peso de las

TABLA 11. Coeficientes de correlación por intervalos de Spearman entre los componentes de adecuación relacionados con el desempeño gametofítico (*) de los donadores y los que reflejan el desempeño esporofítico de su progenie. Las correlaciones se hicieron entre los valores promedio de las variables para cada donador Thrum y Pin. Se ha resaltado la única correlación significativa. Entre paréntesis se anotan los valores correspondientes de p.

COMPONENTE DE ADECUACION	DONADORES THRUM		DONADORES PIN	
	GERMINACION POLEN*	CRECIMIENTO TUBOS POLINICOS*	GERMINACION POLEN*	CRECIMIENTO TUBOS POLINICOS*
PRODUCCION SEMILLAS	-0.77 (0.08)	-0.37 (0.41)	0.31 (0.48)	0.14 (0.75)
PESO SEMILLAS	-0.03 (0.95)	-0.31 (0.48)	0.03 (0.95)	-0.2 (0.65)
GERMINACION SEMILLAS	0.43 (0.34)	0.26 (0.56)	0.49 (0.28)	0.09 (0.85)
ALTURA FINAL	0.31 (0.48)	0.43 (0.34)	-0.31 (0.48)	0.26 (0.56)
INCREMENTO ALTURA	0.71 (0.11)	0.31 (0.48)	-0.31 (0.48)	0.26 (0.56)
NUMERO FINAL HOJAS	0.09 (0.85)	-0.09 (0.85)	-0.31 (0.48)	-0.6 (0.18)
INCREMENTO HOJAS	0.03 (0.95)	0.31 (0.48)	0.6 (0.18)	-0.89 (0.05)
SUPERVIENCIA	0.37 (0.41)	0.2 (0.65)	-0.77 (0.08)	-0.03 (0.95)
GERMINACION POLEN*		0.83 (0.06)		-0.26 (0.56)

TABLA 12. Efecto del morfo de los progenitores sobre los componentes de adecuación en los experimentos de polinización manual. En cada renglón se ha resaltado el valor que es significativamente más alto.

COMPONENTE DE ADECUACION	MORFO DEL RECEPTOR					
	THRUM	PIN	estadístico	p	r ²	n
	$\bar{x} \pm E.E.$	$\bar{x} \pm E.E.$				
FRUTOS						
INICIADOS	0.73 ± 0.02	0.87 ± 0.01	47.180 ^b	< 0.001	0.50	13
PRODUCCION						
SEMILLAS	0.66 ± 0.02	0.49 ± 0.03	33.100 ^b	< 0.001	0.23	13
MADURACION	30.75 ± 0.31	29.17 ± 0.41	14.070 ^b	< 0.001	0.05	675
PESO FRUTOS	129.30 ± 1.22	120.08 ± 1.70	29.513 ^b	< 0.001	0.04	800
PESO SEMILLAS	42.99 ± 0.65	41.98 ± 0.41	6.180 ^b	< 0.05	0.01	800
GERMINACION	0.97 ± 0.01	0.92 ± 0.02	7.510 ^b	< 0.01	0.09	65
TIEMPO GERMIN.	12.55 ± 0.19	12.44 ± 0.28	0.19 ^b	NS	- - -	662
ALTURA FINAL	121.60 ± 2.32	112.40 ± 3.27	7.896 ^b	< 0.05	0.01	672
INCREM. ALTURA	123.20 ± 2.26	114.10 ± 3.18	8.133 ^b	< 0.01	0.09	672
# HOJAS FINAL	9.54 ± 0.17	8.24 ± 0.21	31.860 ^b	< 0.001	0.02	671
INCREM. # HOJAS	12.40 ± 0.20	11.22 ± 0.26	19.840 ^b	< 0.001	0.03	671
SUPERVIENCIA	0.90 ± 0.02	0.89 ± 0.02	0.180 ^b	NS	- - -	62

a. Estadístico F.
b. Estadístico X².

El modelo lineal generalizado utilizado para todas las variables es:

$$Y = \text{CONSTANTE} + \text{MORFO}$$

TABLA 13. Efecto del morfo de los progenitores sobre los componentes de adecuación de la progenie resultante de la polinización por vectores naturales durante la floración inducida. En cada renglón se ha resaltado el valor que es significativamente más alto.

COMPONENTE ADECUACION	MORFO DEL RECEPTOR		estadístico	p	r ²	n
	THRUM	PIN				
	$\bar{x} \pm E.E.$	$\bar{x} \pm E.E.$				
PESO FRUTOS	135.80 ± 2.11	117.86 ± 3.15	76.456 ^a	< 0.001	0.11	261
PESO SEMILLAS	42.18 ± 0.49	41.76 ± 0.74	0.727 ^{ab}	NS	- - -	258
MADURACION	28.96 ± 0.55	29.60 ± 0.77	0.728 ^b	NS	- - -	207
GERMINACION	0.96 ± 0.01	0.94 ± 0.03	0.43 ^b	NS	- - -	13
TIEMPO GERMIN.	11.65 ± 0.33	12.92 ± 0.53	6.528 ^b	< 0.025	0.04	200
ALTURA FINAL	127.70 ± 3.99	104.53 ± 5.97	15.071 ^a	< 0.001	0.07	195
INCREMENTO ALTURA	128.40 ± 3.90	106.18 ± 5.84	14.475 ^a	< 0.001	0.07	195
# HOJAS FINAL	10.28 ± 0.31	7.78 ± 0.39	33.19 ^a	< 0.001	0.08	195
INCREMENTO # HOJAS	12.76 ± 0.35	10.97 ± 0.47	12.874 ^a	< 0.001	0.06	195
SUPERVIVENCIA	0.90 ± 0.02	0.88 ± 0.04	0.31 ^b	NS	- - -	13

a. Valores del estadístico F.

b. Valores del estadístico χ^2 .

El modelo lineal generalizado utilizado para todas las variables es:

$$Y = \text{CONSTANTE} + \text{MORFO}$$

semillas, el tiempo de maduración del fruto, el porcentaje de germinación y la supervivencia. En todos los demás, la progenie de receptores Thrum se ve favorecida, o sea que pesan más los frutos, crecen mejor las plantas y tardan menos tiempo en germinar.

En síntesis, el éxito reproductivo de los individuos de E. havanense como donadores y como receptores de polen difiere según su morfo. Los individuos Thrum se desempeñan mejor como receptores y los Pin como donadores. Esta tendencia se mantiene tanto en la polinización manual como en la natural, aunque con ciertas diferencias. Además, este resultado coincide con los datos de producción de frutos por polinización manual y natural de dos años consecutivos, según los cuales los individuos Thrum se desempeñan mejor como receptores que los Pin (Dominguez 1990; Tabla 14).

TABLA 14. Comparación de la eficiencia en la producción de frutos iniciados (FI)^a y frutos maduros (FM)^b entre individuos de distinto morfo. (Modificada de Dominguez 1990.)

		Thrum	Pin	p	AÑO
POLINIZACION	FI	0.24	0.11	0.0002	1987
NATURAL	FI	0.27	0.18	0.0149	1988
POLINIZACION	FI	0.43	0.28	<0.005	1988
MANUAL	FM	0.68	0.39	<0.025	1988

a. No. frutos iniciados / No. flores

b. No. frutos maduros / No. frutos iniciados

Los resultados del presente estudio indican que hay factores intrínsecos a las plantas (fisiológicos) que hacen que los individuos Thrum funcionen mejor como receptores que los Pin. A pesar del sesgo ocasionado porque los receptores Pin iniciaron el desarrollo de un número mayor de frutos, esta tendencia se revierte y favorece la producción de semillas en los individuos Thrum. Además, en términos generales la progenie de receptores Thrum se desempeña mejor que la de los Pin. En cambio, los individuos Pin obtienen mayores valores para la proporción de polen que germina así como para la tasa de crecimiento de sus tubos polínicos (contrariamente a lo que se podría esperar por simples diferencias morfológicas en la longitud de los estilos que deben penetrar; Bertin 1988, Lewis 1979).

Diámetros basales

A pesar de la variación en el diámetro basal que muestran los individuos utilizados para el estudio, no se encontraron diferencias significativas entre las plantas que funcionaron como receptores y las que fueron donadores de polen ($F=0.42$, $p>0.50$). Tampoco hay diferencias entre individuos de distinto morfo ($F=0.18$,

p>0.50). Considerando estos resultados, las diferencias encontradas entre los morfos en el desempeño de las distintas funciones no pueden atribuirse al tamaño de las plantas usadas.

EXPERIMENTO II: ABORCION MANUAL

El segundo experimento está basado en los resultados de estudios anteriores sobre la capacidad de algunas plantas de seleccionar progenie por medio de aborción selectiva de semillas/frutos. Un patrón prevaletente en las angiospermas es la aborción de frutos en altos niveles (Sutherland y Delph 1984). En varios casos se ha comprobado que esta aborción no es azarosa con respecto a la "calidad" de los frutos (Bertin 1985, Lee y Bazzaz 1982, 1986, Stephenson y Winsor 1986) y a las consecuencias de este proceso sobre la adecuación de la progenie producida. La aborción selectiva puede considerarse un componente de la selección sexual (preferencia de las hembras), siempre que la preferencia esté basada en diferencias de la progenie debidas al progenitor paterno.

En *E. havanense*, el porcentaje más común de frutos (=semillas) abortados a partir del número de frutos iniciados es aproximadamente 60%. Si esta aborción fuera selectiva, entonces la selección sexual podría tener gran influencia en la evolución del sistema reproductivo de este arbusto. En esta parte del estudio se pretende investigar si la aborción en *E. havanense* es selectiva, resolviendo particularmente las siguientes preguntas:

1. ¿Existen diferencias entre los frutos y las semillas producidas en la planta después de una remoción aleatoria artificial, y los frutos y las semillas que se producen si se deja que ocurra aborción natural?
2. De haberlas, ¿tienen alguna consecuencia en el desempeño de las plántulas originadas?

METODO

Durante la floración natural de 1989 se eligieron y marcaron veinte plantas (diez de cada morfo) distribuidas a lo largo de cuatro veredas de la Estación. El principal criterio de elección fue que cada planta tuviera un par de ramas con un número similar de frutos verdes. En vista de que este requisito era difícil de cumplir, en algunos casos se usaron partes de ramas. En cada sitio se usó un número semejante de plantas de cada morfo para poder detectar posibles diferencias entre los morfos con respecto a la selectividad de la aborción, tratando de eliminar o atenuar los posibles efectos de sitio.

En cada planta se escogió un par de ramas de aproximadamente la misma longitud. El límite basal de las ramas se determinó buscando que cada una tuviera entre 60 y 80 frutos inmaduros (Fig. 4). Una vez delimitada la rama, se anotó el número exacto de frutos verdes que poseía. A los ocho días de la floración, se escogió una de las ramas para quitarle el 40% de los frutos que tenía inicialmente. La elección de la rama y de los frutos que se

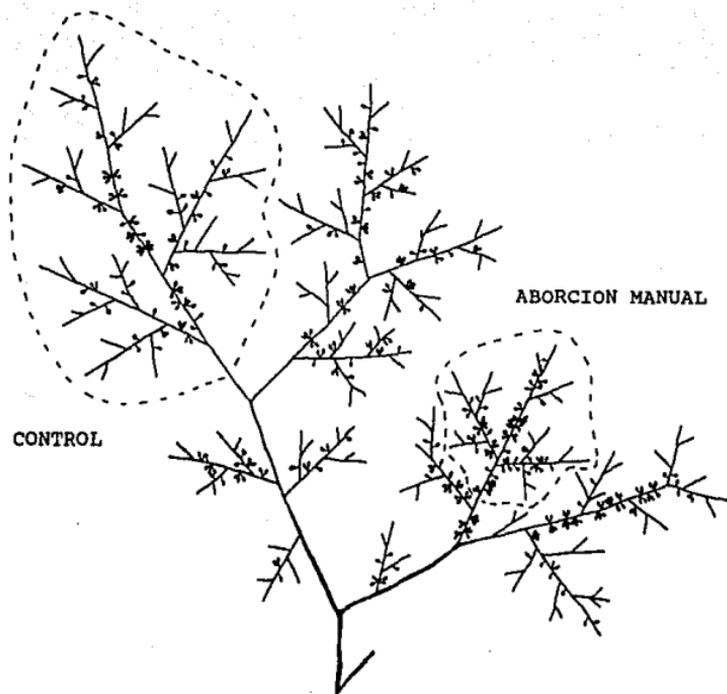


Figura 4. Esquema de un individuo de *Erythroxylum havanense* donde se señalan dos ramas con un número aproximadamente igual de frutos (se han suprimido las hojas por claridad). Sobre una de las ramas, elegida al azar, se realizó la remoción manual de frutos; la otra rama se dejó intacta y funcionó como control. (Para más detalles ver texto).

removerían fue aleatoria: para cada rama se utilizaron números aleatorios generados por computadora que indicaban el fruto que debía cortarse; los frutos se contaban en dirección acrópeta. Los frutos se desprendieron a mano dejando el pedúnculo adherido a la rama. Se optó por simular este nivel de aborción (40%) debido a que datos de la aborción natural en años anteriores (C.A. Domínguez no publ.) muestran que la frecuencia de plantas que abortan un porcentaje mayor de frutos es baja. Asimismo, la aborción más importante de frutos iniciados ocurre entre los cinco y los ocho días posteriores a la floración (C.A. Domínguez no publ.). Se esperaba que en las ramas manipuladas no hubiera aborción adicional. La otra rama de cada planta se dejó intacta para usarse como control. Se esperaba que la aborción que ocurriera en esta rama, reflejara la aborción natural de la planta.

Una vez que los frutos empezaron a madurar, se realizaron recorridos matutinos diarios para colectarlos (únicamente los de las ramas marcadas). Los frutos se pesaron y se descartaron las semillas depredadas (por un curculiónido no identificado; promedio de la proporción dañada de la cosecha: 0.21 ± 0.01). Las semillas sanas fueron pesadas y sembradas siguiendo el mismo procedimiento del primer experimento. Las semillas dañadas se descartaron.

Dado que ramas con el mismo número de frutos no necesariamente tienen la misma capacidad fotosintética y por tanto pueden variar en cuanto a la cantidad de recursos disponibles, se midió el diámetro de cada rama en su límite basal y se recolectaron todas las hojas que poseía a partir de ese nivel. La remoción de hojas se realizó al finalizar la colecta de todos los frutos de las dos ramas marcadas de cada planta, evitando así alteraciones en la asignación normal de recursos. Las hojas se secaron en un horno a 80°C y posteriormente se pesaron en una balanza analítica (Sartorius 2442). El diámetro basal de la rama y el peso seco de las hojas se han considerado como estimadores del potencial fotosintético de cada rama. Para evaluar posibles diferencias en dicho atributo entre las ramas experimentales y control dentro de cada individuo, se hizo un análisis pareado sobre el peso seco de las hojas y el diámetro de la rama (Zar 1974). En caso de encontrar diferencias significativas, sería necesario utilizar las variables mencionadas como covariables en los análisis del efecto del morfo y del tratamiento.

Cuatro semanas después del comienzo de la maduración (9 de agosto), las plántulas que emergieron se transplantaron al campo en un transecto de 36 m de largo en dirección N-S. Cada dos metros se dispusieron 20 tiestos de cartón comprimido ("Jiffy pots") con las plántulas previamente aleatorizadas con respecto al tratamiento, progenitor materno y morfo de éste. Se colocaron 10 plántulas de un lado del transecto y 10 del otro. Un total de 362 plántulas fueron sembradas en el transecto. Se prefirió sembrar a lo largo de un transecto por las siguientes razones: a) se muestrea una variedad de microambientes y se reducen los efectos de sitio; b) se perturba menos la comunidad vegetal; c) en un transecto las condiciones físicas son más semejantes a las naturales que en un área clareada.

Se realizaron seis censos en los cuales se midió la altura y se contó el número de hojas de cada plántula. Simultáneamente se obtuvo un registro de la mortalidad. Para cada fruto analizado se conoce el tiempo que tardó en madurar, el peso del fruto, si la semilla estaba parasitada o no, y en el caso de las semillas sanas, el peso de la semilla, el tiempo de germinación, la altura de la plántula y el número de hojas.

RESULTADOS

De acuerdo con análisis pareado para el peso seco de las hojas y el diámetro de la rama, en ninguna de estas variables hay diferencias entre las ramas utilizadas como control y las que se destinaron al tratamiento de aborción manual (Tabla 15). De acuerdo con esto, se consideró innecesario utilizar esas variables como covariables en los siguientes análisis.

TABLA 15. Comparación entre los promedios del diámetro basal y del peso seco de las hojas de las ramas control y experimental. En la columna "d" se muestra el promedio de las diferencias entre ramas que se usaron para el análisis pareado y los valores entre paréntesis corresponden a la desviación estándar (s).

	CONTROL	ABORCION MANUAL	\bar{d} (s)	t	p
DIAMETRO BASAL (mm)	5.20 ± 0.28	5.34 ± 0.26	-0.140 (1.232)	0.508	>0.50
PESO SECO DE HOJAS (g)	3.07 ± 0.52	2.66 ± 0.36	0.414 (2.284)	0.810	>0.20

Análisis de curvas de supervivencia

Los efectos del tratamiento y del morfo de las plantas sobre la producción de frutos, la germinación y la supervivencia se estudiaron mediante el análisis de las curvas de supervivencia. Estos análisis se realizaron para la progenie de ramas control y de aborción manual en plantas de ambos morfos a través de modelos lineales generalizados.

La ecuación general que describe el cambio en el número de individuos a lo largo del tiempo es:

$$\ln y = a + bt + ct'$$

donde: y es el número de individuos (frutos, semillas o plántulas); t es una variable continua que corresponde al tiempo; la ordenada al origen, a, corresponde al número inicial de frutos maduros; b

y c son los parámetros que definen la tasa de mortalidad y los cambios de ésta a través del tiempo respectivamente. El análisis usado permite evaluar los efectos de cada uno de los factores (tratamiento y morfo) sobre los parámetros del modelo (a, b y c). La hipótesis nula es que ni el tratamiento ni el morfo tienen efectos significativos sobre los parámetros del modelo.

El primer modelo que se consideró tiene como punto de partida el número de frutos maduros en las ramas de cada tratamiento y morfo. El modelo ajustado fue altamente significativo ($X^2=1432.63$, g.l.=21, $p<0.001$) y explica el 67.4% de la varianza. El análisis detectó efectos significativos del tratamiento sobre la ordenada al origen, siendo ésta mayor para las ramas control ($X^2=30.77$, g.l.=1, $p<0.001$). Por otro lado, el morfo tiene efectos sobre la ordenada ($X^2=12.13$, g.l.=1, $p<0.001$), sobre la pendiente ($X^2=4.33$, g.l.=1, $p<0.05$) y sobre la curvatura ($X^2=6.8$, g.l.=1, $p<0.01$). El valor para la ordenada al origen es mayor en las plantas Pin, sin embargo, su pendiente es más negativa.

De acuerdo con estos resultados, las diferencias iniciales entre tratamientos se mantienen a lo largo del tiempo, pues se trata de curvas paralelas (Fig. 5). En cambio, las diferencias iniciales entre morfos desaparecen, pues aunque las plantas Pin producen más progenie, ésta presenta una mortalidad aparentemente mayor (pero véase en seguida).

Un segundo modelo que toma como punto de partida el número de semillas que germinaron no detectó efectos del tratamiento ni del morfo sobre los parámetros del modelo. Esto permite afirmar que el desempeño de las plántulas a partir de la germinación es independiente de estos factores. Por otra parte, es una evidencia de que la mayor "mortalidad" de la progenie de las plantas Pin es, en realidad, una menor tasa de germinación.

En los dos modelos presentados anteriormente se incluyen los frutos parasitados, pero si se descartan, el patrón descrito no se altera. En relación al tratamiento, este era un resultado esperable, ya que no hubo diferencias entre ramas control y de aborción manual en el nivel de daño ($X^2=2.46$, g.l.=1, $p>0.10$). Sin embargo, sí hubo diferencias entre morfos ($X^2=16.830$, g.l.=1, $p<0.001$): debido a los curculiónidos, las plantas Pin perdieron el 51% de su cosecha mientras que las Thrum sólo el 37%. Esta diferencia no parece ser importante en términos demográficos puesto que no se observa una compensación en el resultado final.

Dado que el número inicial de frutos antes de la aplicación del tratamiento no era diferente entre las ramas control y aquellas a las que se les aplicó aborción manual ($F=4.250$, $p>0.05$), el resultado encontrado indica que las diferencias entre los tratamientos se deben a diferencias en el nivel de aborción. Con el objeto de evaluar con detalle el proceso de aborción, se hicieron análisis de la eficiencia en la producción de frutos (No. frutos maduros/No. frutos iniciados). Dichos análisis se realizaron con los residuales de un ajuste entre la eficiencia en la producción de frutos y los distintos individuos, lo cual elimina la varianza debida a las plantas maternas.

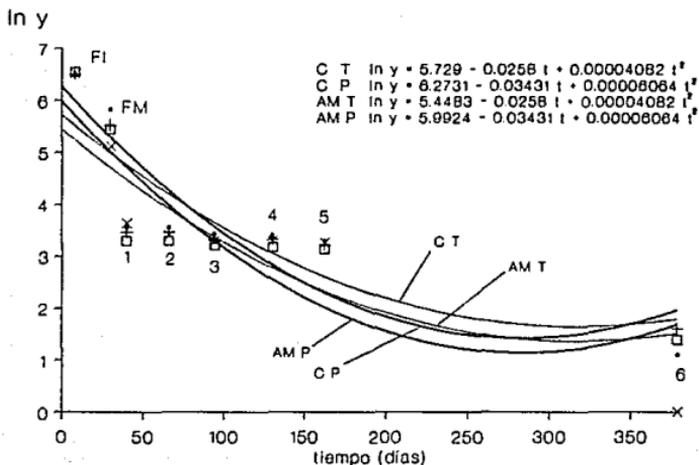


Figura 5. Curvas de sobrevivencia de la progenie de las ramas control (C) y de aborción manual (AM) de individuos Thrum (T) y Pin (P). Se muestra el logaritmo del número de individuos en cada etapa (FI=frutos iniciados, FM=frutos maduros, números del 1 al 6 indican censos realizados en distintas fechas) mediante los siguientes símbolos para los individuos Thrum: + ramas control, x ramas de aborción manual; y para los individuos Pin: . ramas control, x ramas de aborción manual. Las ecuaciones mostradas corresponden a los ajustes de las curvas de sobrevivencia, representadas en la gráfica por líneas continuas.

Al comparar el nivel de aborción manual contra el natural, se observó que la aborción manual (40%) fue significativamente menor que la aborción natural (55.6%; $F=12.619$, $p<0.005$). Esto significa que la cantidad de frutos que se dejaron en las ramas de aborción manual (60%) es mayor de lo que hubiera quedado en condiciones naturales (45.4%). Sin embargo, en las ramas de aborción manual hubo una aborción natural posterior del 46.1% que no difiere de la que hubo en las ramas control (55.6%; $F=0.572$, $p>0.10$). El resultado global es que las ramas de aborción manual produjeron menos frutos ($F=21.252$, $p<0.001$; Fig. 5) ya que además de los frutos removidos en el experimento, hubo un nivel de aborción similar al de las ramas control.

Análisis del desempeño de la progenie

Los efectos del tratamiento de aborción y del morfo de la planta se analizaron para los atributos del desempeño de la progenie mediante dos modelos para cada variable. El primero es un modelo de dos factores fijos (MORfo y TRAtamiento) y uno aleatorio (INDividuo). El factor individuo fue anidado dentro del morfo, ya que una planta dada sólo puede tener un morfo. A partir de este modelo se estimaron los efectos del morfo, del individuo, del tratamiento y de la interacción entre el morfo y el tratamiento:

$$Y = \text{CONSTANTE} + \text{MOR} + \text{IND dentro de MOR} + \text{TRA} + (\text{MOR} \times \text{TRA})$$

Además, se construyó un segundo modelo no anidado para probar la interacción entre tratamiento e individuo:

$$Y = \text{CONSTANTE} + \text{IND} + \text{TRA} + (\text{IND} \times \text{TRA}).$$

La Tabla 16.a. muestra los resultados del análisis anidado. Se observa que sólo hay diferencias significativas entre tratamientos en el tiempo de maduración de los frutos, el peso de los frutos y el peso de las semillas. En los tres casos, la proporción de la varianza explicada por el tratamiento es muy baja. El factor que explica la mayor parte de la varianza es el individuo. De hecho, hay diferencias significativas entre individuos para todos los atributos excepto el incremento en el número de hojas.

El efecto del morfo es significativo sobre el tiempo de maduración y el de germinación. Este factor también explica una parte muy pequeña de la varianza de cada variable, pero mayor que el tratamiento. La interacción entre el morfo y el tratamiento tiene efectos significativos sobre el tiempo de maduración y el peso de los frutos, pero su r^2 es también muy pequeña.

Los resultados del segundo modelo (Tabla 16.b.) son consistentes con los que se acaban de describir. Basta con añadir que la interacción del individuo por el tratamiento fue significativa para los mismos atributos que el tratamiento. La interacción individuo-tratamiento puede ser significativa si el comportamiento global (i.e. sin distinguir entre tratamientos) de un individuo para

cierta variable, muestra algún cambio al distinguir en él la respuesta de las ramas control de las de aborción manual. Un intento por representar esto gráficamente se muestra en la Figura 6. Este cambio puede ser en el mismo sentido del patrón general indicado por el factor tratamiento. En tal caso, el individuo en cuestión es uno de los que definen ese patrón (véase Fig. 6. a, b y c). Por otro lado, el cambio puede ser inverso al patrón general seguido por la mayoría de los individuos con respecto al tratamiento (véase Fig. 6. b y c). En otras palabras, esos individuos responden de manera distinta a la remoción manual de frutos. Estos comportamientos "anómalos" serían preocupantes si fueran frecuentes, pero en la Figura 6 se observa que sólo tres individuos discrepan del patrón general en distintas variables.

La Tabla 17 muestra una comparación entre morfos y tratamientos para las variables en que hubo diferencias significativas. Los frutos de las ramas control maduran antes que los de las ramas de aborción manual. Los frutos y las semillas de las ramas control son más pesados que los de las ramas de aborción manual. A primera vista, estos resultados consistentes podrían sugerir que la progenie de las ramas control supera en calidad a la de las ramas de aborción manual. Sin embargo, el análisis de las curvas de supervivencia ha mostrado que estas diferencias no tienen efecto sobre el reclutamiento ni la supervivencia de la progenie de ramas de ambos tratamientos.

Por otra parte, los efectos del morfo no son consistentes entre sí, pues aún cuando los frutos de plantas Pin tardan menos en madurar, sus semillas toman más tiempo para germinar. Estas diferencias debidas al morfo de los progenitores no tienen efecto sobre la supervivencia de las plántulas. En resumen, las diferencias entre tratamientos y entre morfos, así como su interacción no tienen efecto en el reclutamiento, crecimiento y supervivencia de la progenie, como se aprecia en el análisis de los patrones de supervivencia.

TABLA 16.a. Resultados del análisis del modelo anidado. Los factores son: el morfo (MOR) de los Individuos (Thrum/Pin), el individuo particular (IND) anidado en MOR, el tratamiento (TRA; Control/Aborción Manual) y las dos posibles interacciones. Las variables de respuesta corresponden a los principales componentes de adecuación de la progenie de las plantas.

FACTOR	TMAD ^a		PFRU ^b		PSEM ^b	
	estadístico	r ²	estadístico	r ²	estadístico	r ²
MOR	113.6***	0.18	2.923	-	2.042	-
IND(en MOR)	357.7***	0.55	19.604***	0.36	17.181***	0.36
TRA	4.039*	0.006	20.990***	0.02	5.381*	0.006
MORxTRA	7.641**	0.01	17.530***	0.02	2.698	-

FACTOR	TGER ^a		IALT ^b		IHOJ ^a	
	estadístico	r ²	estadístico	r ²	estadístico	r ²
MOR	6.397*	0.08	1.544	-	0.522	-
IND(en MOR)	40.03***	0.52	4.028***	0.46	7.906	-
TRA	0.0005	-	0.058	-	0.079	-
MORxTRA	0.152	-	0.320	-	0.250	-

TABLA 16.b. Resultados del análisis del modelo no anidado, donde se prueba el efecto de la interacción entre el individuo (IND) y el tratamiento (TRA).

FACTOR	TMAD ^a		PFRU ^b		PSEM ^b	
	estadístico	r ²	estadístico	r ²	estadístico	r ²
IND	471.3***	0.73	25.248***	0.42	19.912***	0.40
TRA	4.039*	0.006	24.549***	0.02	5.912*	0.006
INDxTRA	67.72**	0.10	6.783***	0.11	3.936***	0.07

FACTOR	TGER ^a		IALT ^b		IHOJ ^a	
	estadístico	r ²	estadístico	r ²	estadístico	r ²
IND	46.43***	0.60	3.885***	0.50	8.429	-
TRA	0.0005	-	0.054	-	0.079	-
INDxTRA	4.705	-	0.316	-	2.955	-

TMAD = tiempo de maduración; PFRU = peso del fruto; PSEM = peso de la semilla; TGER = tiempo de germinación; IALT = incremento en altura; IHOJ = incremento en el número de hojas.

* p<0.05

** p<0.01

*** p<0.001

a. Valor de X² en la columna del estadístico.

b. Valor de F en la columna del estadístico.

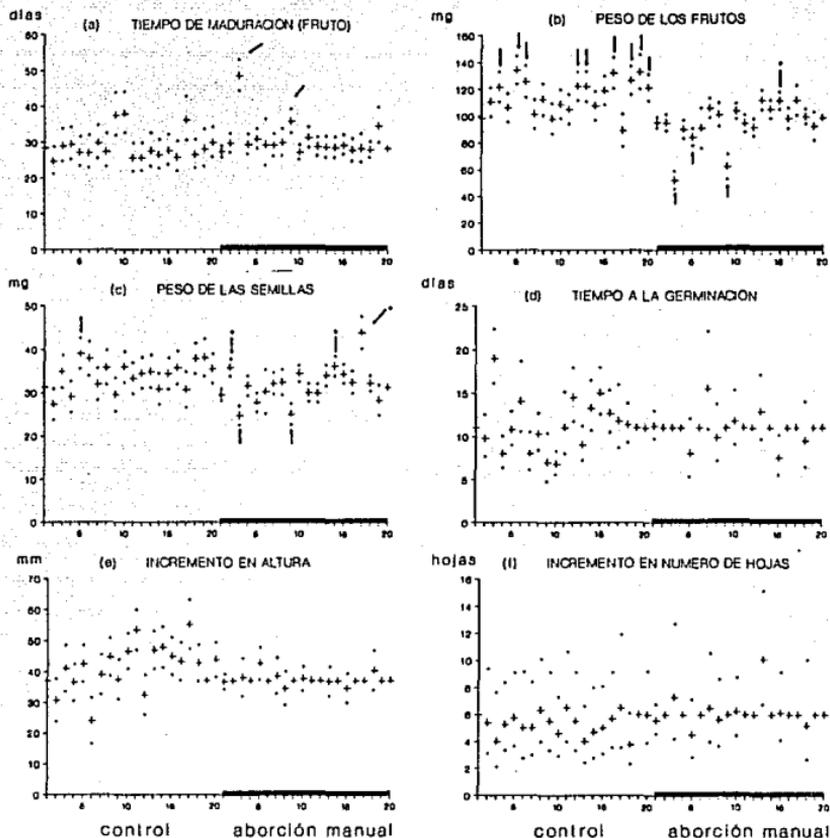
TABLA 17. Comparación entre los tratamientos (Control y Aborción Manual) y entre los morfos (Thrum y Pin) para aquellos componentes de adecuación donde se encontraron diferencias significativas.

COMPONENTE DE ADECUACION	CONTROL	ABORCION MANUAL	p	THRUM	PIN	p	n
	$\bar{x} \pm E.E.$	$\bar{x} \pm E.E.$		$\bar{x} \pm E.E.$	$\bar{x} \pm E.E.$		
TMAD	30.88 \pm 0.41	33.87 \pm 0.55	*	32.17 \pm 0.36	27.15 \pm 0.44	**	535
PFRU	112.40 \pm 1.35	103.85 \pm 1.64	**	-----	-----	--	521
PSEM	33.17 \pm 0.42	31.46 \pm 0.50	*	-----	-----	--	538
TGER	-----	-----	--	9.70 \pm 0.53	11.56 \pm 0.84	*	79

* p < 0,05

** p < 0,001

Se utilizan las mismas abreviaturas que en la tabla anterior.



individuo - tratamiento

Figura 6. Promedio (\pm e.e.) de los valores "individuo \times tratamiento" para los seis atributos analizados. Los números en las abscisas corresponden a los distintos individuos. Cada uno aparece dos veces, una por su rama control y otra por su rama de aborción manual (en este caso marcados con una barra). Las únicas variables con efectos significativos de la interacción son el tiempo de maduración del fruto, el peso del fruto y el peso de la semilla. En esos casos se marcaron: i) con una flecha, los individuos que difieren del promedio, pero en la misma dirección que se grupo de tratamiento y ii) con un asterisco, aquellos que muestran un comportamiento inverso al del patrón general.

DISCUSION

En este capítulo se discuten los resultados de los dos experimentos de forma integrada, con especial énfasis en la importancia de los efectos maternos y paternos con respecto a la aborción selectiva y a la evolución del sistema reproductivo de E. havanense. En este ámbito, se discute el papel de la selección sexual, los conflictos familiares y las interacciones con diversos gremios de animales.

Uno de los resultados más consistentes de ambos experimentos es que en la mayoría de los atributos analizados se presentan efectos maternos que explican la mayor parte de la varianza de cada atributo (Tablas 6 y 7). Los efectos maternos han sido definidos como "la contribución no-genética del progenitor femenino al fenotipo de su progenie" (Roach y Wulff 1987) e incluyen efectos endospermicos, citoplásmicos y del fenotipo (o ambiente) materno. En el presente trabajo no se ha distinguido entre estos efectos y la contribución genética del progenitor materno al genotipo de su progenie, por lo que el término se usa en su sentido más amplio (efectos genéticos y no-genéticos).

En E. havanense, los efectos maternos son menos patentes conforme las plántulas avanzan en su desarrollo. Por ejemplo, están ausentes en la altura final, el incremento en altura y la supervivencia de las plántulas hasta el primer año de edad. Al menos para la producción de frutos, los efectos maternos se deben parcialmente al tamaño de las plantas, pero la proporción de la varianza explicada es muy pequeña. Este hecho le resta importancia al componente del ambiente materno dentro de los efectos maternos para el caso de este arbusto. Es posible que al menos para la supervivencia, la ausencia de efectos maternos se deba a la baja mortalidad registrada en general (experimento de familias genéticas).

Varios estudios han mostrado que los efectos maternos tienen gran influencia en las etapas tempranas (semilla - plántula) pero van disminuyendo con la edad de la progenie (ver Primack y Kang 1989). Los efectos citoplásmicos y genéticos nucleares son los más perdurables (Bertin 1988, Roach y Wulff 1987, Schmitt y Antonovics 1986). Generalmente no se detectan efectos maternos en etapas posteriores a la germinación (Roach y Wulff 1987). En un estudio de cruza controladas con Anthoxanthum odoratum, se encontraron importantes efectos maternos sobre el porcentaje de germinación, pero estos desaparecieron al analizar la supervivencia, 1.5 años después (Schmitt y Antonovics 1986). Estos resultados son compatibles con lo que ocurrió al menos en un tipo de CRUZA en E. havanense (Tabla 7).

En función de los estudios referidos en el párrafo anterior, este comportamiento en E. havanense podría deberse a que los efectos maternos fueran principalmente endospermicos o del ambiente materno, y no citoplásmicos ni genéticos nucleares. Un análisis preliminar de heredabilidad mostró que al menos el peso de la

semilla tiene un componente materno heredable ($h^2=1.24$, $F=50.70$, $p<0.001$ en la CRUZA I; $h^2=0.97$, $F=17.29$, $p<0.001$ en la CRUZA II). Esta es una indicación de que una parte importante de los efectos maternos son genéticos aditivos. Otra manera de diferenciar entre los efectos maternos genéticos y no genéticos sería sembrando familias genéticas en diferentes ambientes. Si los efectos maternos son genéticos o citoplásmicos, se esperaría que las diferencias entre hermanos de una misma familia (al menos medios hermanos por vía materna) en cada ambiente fueran menores que entre hermanos de diferente familia (distinto progenitor materno) (Ver Falconer 1981, Lawrence 1984).

Los efectos del progenitor paterno están ausentes en la mayoría de los atributos analizados. El hecho de que, en contraste, existan efectos paternos sobre la eficiencia en la producción de semillas en la CRUZA I podría interpretarse como una consecuencia del fenómeno de aborción selectiva basado en la contribución genética de los padres. También podría ser el resultado de la competencia entre embriones, probablemente más intensa entre la progenie de diferentes donadores en una misma planta materna. Existiría la posibilidad de que la variación en el éxito reproductivo de los donadores se debiera a que existen diferentes grados de parentesco entre ellos y las plantas maternas (Charlesworth y Charlesworth 1987a, Coles y Fowler 1976, Levin 1989b, 1984, Park y Fowler 1982, Sobrevilla 1988, Waser y Price 1983, 1989). En muchas plantas herbáceas, el polen y las semillas se mueven muy poco de la planta que las produce, y por lo tanto la distancia física entre las plantas está correlacionada con la distancia genética (Handel 1983, Levin 1981, 1989a Levin y Kerster 1974, Slatkin 1985, Waser y Price 1983). De acuerdo con esto, se esperaría que las cruzas entre plantas cercanas tuvieran una menor eficiencia en la producción de frutos que las cruzas de plantas alejadas entre sí. El riesgo de compartir alelos deletéreos aumenta con el grado de parentesco (es decir con el inverso de la distancia). Un análisis de correlación para la distancia entre progenitores y la eficiencia en la producción de semillas mostró que dicha relación no se da en el caso de E. havanense ($r^2=0.0007$, $X^2=0.20$, g.l.=1, $p>0.50$, $n=78$), ni si siquiera incluyendo un término cuadrático de la distancia ($r^2=0.0009$, $X^2=0.25$, g.l.=2 $p>0.75$, $n=78$). Este resultado sugiere que las diferencias de eficiencia en la producción de semillas no se deben al grado de parentesco entre los consortes. Desde luego, esta afirmación está sujeta a la veracidad de la correlación entre distancia física y genética.

La falta de efectos paternos sobre el desempeño de la progenie es un resultado que concuerda con los obtenidos para Raphanus raphanistrum, donde los progenitores paternos en general no tuvieron efecto sobre el número de óvulos fecundados, el número de semillas por fruto y el peso de los frutos y las semillas (Mazer 1987a). De modo similar, en Anthoxanthum odoratum no se presentan diferencias entre progenitores masculinos con respecto al porcen-

taje de germinación y a la supervivencia de la progenie (Schmitt y Antonovics 1986).

En un estudio de familias genéticas, Marshall y Whittaker (1989) atribuyeron la dificultad de detectar efectos paternos al hecho de que realizaron cruza entre muy pocos donadores de polen (3) y muchas plantas maternas (10). Su diseño permite un muestreo más eficiente de la variabilidad genética de las plantas maternas que de la correspondiente a los donadores de polen. En el presente trabajo, este desequilibrio tan marcado no existe ya que en el diseño se incluyeron ocho receptores y seis donadores en cada cruza. Difícilmente se puede atribuir la falta de efectos paternos a un submuestreo de donadores de polen, pues esto también se hubiera reflejado en la detección de efectos maternos.

Se ha sugerido que los efectos paternos, aun cuando sean de poca magnitud, podrían tener consecuencias sobre la adecuación de las plantas en condiciones de campo, a pesar de que haya fuertes efectos del ambiente donde crecen (Marshall y Whittaker 1989). Los resultados del experimento de familias genéticas con E. havanense no revelan la existencia de efectos genéticos sobre la supervivencia de las plántulas en condiciones relativamente controladas (exclusión). Podría esperarse que sin la exclusión, es decir en condiciones más aproximadas a las naturales, se volverían patentes los efectos maternos y/o paternos sobre la supervivencia de las plántulas ya que estarían expuestos a toda una serie de factores de mortandad (Primack y Kang 1989). Sin embargo, para detectar esos efectos genéticos se requeriría un tamaño de muestra extraordinariamente grande. Si se considera la mortalidad que ocurrió entre la progenie del experimento de abortos manual en condiciones naturales, que fue del 93%, se necesitarían alrededor de 8230 plántulas para iniciar el experimento. Una alternativa sería incorporar en forma controlada varios de los factores naturales de mortalidad (i.e. no excluir insectos herbívoros, pero sí ungulados, etc.).

Aunque se encontró variación genética para algunos componentes del desempeño de la progenie asociada a la identidad del progenitor paterno, ésta se puede considerar neutra debido a que no tuvo consecuencias sobre la supervivencia de las plántulas. Sin embargo, el hecho de que algunos donadores Pin sean más eficientes en la producción de semillas que otros establece una discrepancia inicial en el número de hijos, que se mantiene a lo largo del tiempo. Por lo tanto, si esta característica es heredable, aquellos individuos que la posean serán favorecidos por la selección natural. El efecto de este fenómeno es el mismo que el de la selección sexual, ya que está directamente relacionado con la habilidad de los padres para producir descendencia.

Es difícil establecer si lo que está ocurriendo se debe únicamente a diferencias en la habilidad para acumular recursos entre los embriones procreados por diferentes padres (Mazer 1987b), o bien, si la madre tiene la capacidad de reconocer en los embriones su componente genético paterno y entonces provocar activamente la abscción diferencial de los frutos. Estrictamente sólo éste último fenómeno correspondería a la selección sexual.

La diferencia en la habilidad para producir progenie observada en los donadores Pin, no es patente en los donadores Thrum. Este hallazgo podría interpretarse como una evidencia de la especialización en las funciones sexuales entre los morfos de E. havanense (ver más adelante).

El estudio del polen mostró que no hay correlación entre el desempeño gametofítico y el esporofítico de los donadores de polen. Estos resultados contrastan con los obtenidos en otras especies como Raphanus sativus (Marshall y Whittaker 1989) Zea mays (Mulcahy 1971, 1974), Dianthus chinensis (Mulcahy y Mulcahy 1975) y Petunia hybrida (Mulcahy et al. 1975) entre otras (ver también Hill y Lord 1988 y referencias citadas ahí). En este aspecto, los resultados del presente estudio coinciden con los de Raphanus raphanistrum, donde a pesar de haber diferencias significativas entre donadores para el crecimiento de los tubos polínicos in vitro, no hubo correlación con caracteres que reflejan el desempeño esporofítico, como el número de semillas viables y su peso (Mazer 1987a).

Otros estudios han mostrado que existe una baja correlación entre el desempeño in vivo e in vitro del polen (Cruzan 1990, Fenster y Sork 1988, Mazer 1987a, también ver citas en Bertin 1988). Los estudios preferibles son in vivo, aunque una de sus desventajas es que los resultados son afectados por la interacción con el estigma y se dificulta determinar la calidad de los donadores de polen. Sin embargo, el desempeño de la función masculina no puede considerarse aisladamente pues el éxito de los granos de polen depende del genotipo, de la condición fisiológica y del ambiente materno. Se ha demostrado que el estigma juega un papel preponderante en la rapidez de la germinación del polen (Levin 1975, Waser et al. 1987, Bertin 1988). Las bajas correlaciones encontradas en otras especies entre los desempeños in vivo e in vitro son un reflejo de la interacción entre los donadores y las diferentes plantas maternas. Aunque no siempre es posible, la realización de estudios in vivo e in vitro es la única alternativa para obtener las ventajas de ambos enfoques. Los cultivos in vivo deben hacerse en varias hembras para poder separar los efectos de los distintos receptores y de la interacción entre donador y receptor.

Uno de los factores que puede afectar el porcentaje de germinación tanto in vivo como in vitro es el tamaño de la carga de polen. En Costus quanaensis las cargas grandes tienen mayores porcentajes de germinación que las chicas (Schemske y Fenster 1983). Se encontraron efectos similares en Lycopersicon (in vivo; Homby y Charles 1966) y en Brassica oleracea (in vitro; Roberts et al. 1983). Al parecer este efecto del tamaño de la carga está relacionado con la concentración de Ca^{2+} liberado al medio por los gametofitos masculinos en desarrollo, aunque esto no tiene por qué cumplirse para todas las especies (Bertin 1988).

El patrón anteriormente descrito se presenta también cuando se utilizan cargas mixtas (polen mezclado de diferentes donadores; Bertin 1985, Mazer et al. 1986, Marshall y Ellstrand 1986). Se ha propuesto que esta es una consecuencia de la gran competencia que

se establece entre los granos de polen de diferente genotipo. Desgraciadamente, en el presente estudio no fue posible realizar un experimento con cargas mixtas debido a que no se cuenta con marcadores genéticos en esta especie. Al usar cargas mixtas hubiera sido imposible conocer la identidad de los progenitores de cada descendiente y por tanto las familias genéticas serían irreconocibles. Existen métodos para marcar semillas a través de inyecciones de compuestos radiactivos en la planta materna (Winn 1989). La aplicación de estas técnicas para el marcaje de granos de polen puede facilitar estudios como el mencionado anteriormente.

Sin la evidencia de una correlación entre el comportamiento in vivo e in vitro, no se puede asegurar que los donadores Pin tengan una ventaja sobre los donadores Thrum en la habilidad competitiva de sus gametofitos masculinos. De cualquier manera, dado un medio uniforme, las aptitudes de los gametofitos masculinos son diferentes entre donadores y entre morfos. El estudio de la germinación y crecimiento de los tubos polínicos muestra que existe variación en las características relacionadas con el desempeño masculino y por lo tanto se tiene el potencial para que actúe la selección sexual (competencia entre machos). Estudios in vivo serían de gran utilidad para corroborar los resultados encontrados aquí. Dado el sistema de incompatibilidad de E. havanense sería irrelevante poner polen de ambos morfos sobre un mismo tipo de estigma. Más bien se trataría de comparar, entre distintos individuos de un mismo morfo, el porcentaje de germinación de polen y el crecimiento de los tubos polínicos en sus estigmas correspondientes.

Hasta este punto se han tratado los efectos maternos por un lado y los paternos por otro. No obstante, debe recordarse que la complementariedad de ambos puede ser crucial en el éxito (adecuación) de un genotipo-fenotipo dado (Charlesworth et al. 1987). El hecho de que en la CRUZA I sea significativo el efecto de la interacción de los progenitores para componentes de adecuación como el peso de la semilla, el tiempo de emergencia de la plántula y la producción de hojas sugiere que entre los receptores Thrum y los donadores Pin es importante la complementariedad de genotipos. Este fenómeno tradicionalmente ha sido descartado como un indicio de que ocurra selección sexual (e.g. Bertin 1985) debido; en parte, a que en el caso de los animales, no se podría explicar la evolución de caracteres sexuales secundarios desadaptativos si la elección de pareja operara así. Sin embargo, un efecto significativo de la interacción entre progenitores puede considerarse como una elección relativa de pareja en las plantas, donde no existe la dificultad de explicar atributos desadaptativos. Es plausible que un factor importante en dicha complementariedad sea la interacción entre los granos de polen y los tejidos esporofíticos donde germinan y crecen sus tubos polínicos.

Desde el punto de vista de los conflictos familiares, se puede considerar que el efecto significativo de la interacción entre progenitores es un reflejo de que la habilidad de los embriones para acumular recursos varía dependiendo del ambiente materno en

que se encuentre. La capacidad de las plantas maternas para contrarrestar la demanda egoísta de recursos que hacen los embriones puede variar según el genotipo de estos. En otras palabras, los embriones pueden poseer genes que les permitan acumular recursos a expensas de sus hermanos con una eficiencia distinta dependiendo del individuo materno en el que se desarrollan (Ver Mazer 1987b, Uma Shaanker et al. 1988).

Un resultado muy recurrente a lo largo de este trabajo ha sido la diferencia en el desempeño reproductivo entre las plantas de distinto morfo. De manera muy consistente el morfo Thrum desempeña mejor la función femenina y el morfo Pin, la masculina. Las evidencias incluyen la producción de semillas, el desempeño de la progenie y la habilidad gametofítica masculina in vitro. Las diferencias entre morfos no pueden atribuirse al tamaño de las plantas ya que no se encontraron diferencias en el diámetro basal entre plantas de distinto morfo ($F=1.832$, $p>0.50$, $n=27$).

En los resultados del segundo experimento se encuentra la única excepción a esta tendencia: el morfo Pin produjo una mayor cantidad de frutos maduros, es decir, desempeñó mejor la función femenina. El análisis mostró que la diferencia entre los morfos se estableció durante la aborción de los frutos, de manera que las plantas Thrum tuvieron mayores niveles de aborción. La discrepancia inicial fue revertida, ya que la progenie de plantas maternas Pin tuvo menor éxito en la germinación. El resultado de la aborción contrasta con todos los hallazgos anteriores. Datos obtenidos durante las floraciones naturales de 1987 y 1988, así como en floraciones inducidas en 1987, 1988 y 1989 mostraron una ventaja del morfo Thrum en la función femenina (Dominguez 1990 y este trabajo).

Con la información disponible hasta este momento, es aventurado proponer alguna explicación para este comportamiento supuestamente anómalo. Valdría la pena obtener datos para más años a fin de poder corroborar la tendencia mostrada hasta ahora o encontrar variaciones temporales en ese patrón. Los depredadores de semillas podrían ser importantes en la alteración de la tendencia general (ver más adelante).

Anteriormente se propuso que el sistema reproductivo de E. havanense se encuentra en las primeras fases de la transición de heterostilia a diecia (Dominguez 1990). Los resultados de este trabajo apoyan esa propuesta, sobre todo si se considera la gran cantidad de evidencias aportadas por el primer experimento, que apuntan en esa dirección: las plantas Thrum son más eficientes en la producción de frutos (función femenina), mientras que las plantas Pin presentan mayores porcentajes de germinación de polen y longitudes de los tubos polínicos (función masculina); la progenie de cruza entre receptores Thrum y donadores Pin es más vigorosa que la de las cruza recíprocas. Además, sólo en estas cruza se observaron fenómenos compatibles con una interpretación de competencia intrasexual (entre donadores) y/o preferencia de las hembras (aborción selectiva).

Existe la posibilidad de que aún cuando cada morfo tenga ganancias en adecuación diferentes por vía femenina y masculina (o sea una relación diferente de 1:1), no haya una evolución hacia la separación de las funciones sexuales. El cambio en el sistema reproductivo estará sujeto a la relación entre el costo de mantener las actividades reproductivas de ambos sexos y la ganancia en adecuación que éstas le reporten al individuo.

Se ha propuesto que en la ausencia de autogamia o depresión por endogamia, una mutación que ocasione la unisexualidad de un individuo (por esterilidad masculina o femenina) sólo se difundirá en la población si la adecuación del individuo unisexual es mayor que el doble de la adecuación que obtienen los hermafroditas por vía masculina o femenina (Charlesworth y Charlesworth 1978). Esta afirmación supone una contribución equitativa de ambas funciones sexuales a la adecuación total del individuo. Posiblemente dicha condición no se cumple en muchas especies hermafroditas (ver Barret 1980, Ganders 1975, Lloyd 1979). En términos más generales, puede esperarse la evolución de la unisexualidad de los individuos si los mutantes unisexuales tienen una ganancia en adecuación mayor que la suma de las ganancias netas en adecuación por vía masculina y femenina de los hermafroditas. El modelo mencionado propone la aparición de un mutante estéril para la función masculina (gino-dioicismo funcional) seguida de la aparición de mutantes estériles para la función femenina, que bajo los supuestos anteriores se esparcen en la población de hermafroditas (Charlesworth y Charlesworth 1978).

Dado que los depredadores de semillas presentan una respuesta numérica densodependiente (en relación a las semillas), es factible que reduzcan la adecuación por vía femenina del morfo que produzca más semillas (Dominguez 1990). Considerando esto, los depredadores de semillas podrían estar manteniendo en equilibrio el sistema heterostilístico de *E. havanense*. En consecuencia, la condición que plantea el modelo de Charlesworth y Charlesworth (1978) podría alcanzarse en años con una densidad muy baja de curculiónidos. Es posible que ocurra eso, sobre todo en una región de poca precipitación como Chamela, donde las fluctuaciones anuales y supra-anales en las poblaciones de insectos podrían ser grandes (Wolda 1978a, 1978b, 1990). Sin embargo, debido a esas mismas fluctuaciones sería difícil que ocurriera una evolución sostenida hacia la diecía, ya que las presiones selectivas estarían variando de un año a otro. Esto no descarta la posibilidad de que la transición del sistema reproductivo fuera pausada.

A reserva de que ocurra la condición planteada por el modelo, las evidencias aportadas por Dominguez (1990) sumadas a las del presente trabajo fortalecen la posibilidad de que esté ocurriendo una especialización de los morfos en diferentes funciones sexuales. Esta conclusión parece contradecir la tendencia general, pues se ha mencionado que es más probable las plantas Pin evolucionen hacia la función materna y que las Thrum adopten la función masculina. Sin embargo hay evidencias de ambos tipos de especialización en varias especies (*Nymphoides indica*, Barret 1980; *Mitchella repens*, Ganders 1975; *Cordia dentata* y *C. pringlei*, Lloyd 1979; Meagher y

Wyatt [no publ.] citado en Wyatt 1983; ver "Discusión" en Domínguez 1990).

La razón de que en *E. havanense* los individuos Pin desempeñen mejor la función masculina y los Thrum la femenina es desconocida. Es posible que, por azar, en el pasado los polinizadores hayan iniciado el flujo asimétrico de polen en ese sentido. Las plantas que tuvieran una asignación de recursos a las funciones sexuales acorde con la asimetría en el flujo de polen tendrían mayor adecuación: Una planta Thrum que desempeñara mejor la función femenina tendría mayor adecuación que una que tuviera una ganancia equitativa por las dos vías sexuales. Se puede hacer un planteamiento recíptico para las plantas Pin. Uno de los costos de este cambio en las especies hermafroditas autocompatibles es la reducción de los consortes posibles dentro de la población, pues el número quedaría reducido a la mitad (suponiendo una proporción de sexos 1:1). Para una especie heterostilica con incompatibilidad entre individuos del mismo morfo, no existe ese costo.

La interpretación de los resultados del experimento de aborción manual no es tan directa como la de otros trabajos (Stephenson y Winsor 1986), en los que claramente las ramas experimentales muestran menores niveles de aborción y producen progenie con un desempeño general deficiente. Los datos obtenidos en dichos estudios encajan bien dentro de un marco teórico según el cual, una de las causas de la aborción de frutos y semillas es la limitación de recursos a que está sujeta la función femenina (Stephenson 1981 y referencias citadas ahí). De acuerdo con esto, si la cantidad de recursos disponibles aumenta con respecto al número de frutos (condición que se cumple cuando se realiza una remoción manual de frutos), entonces la probabilidad de que un fruto sea abortado disminuye y se maduran frutos (semillas) de menor calidad (Fig. 7.a.). De esta manera, la adecuación de la planta materna aumenta porque produce un mayor número de hijos, aunque disminuye debido a que la proporción de la progenie que llega a la edad reproductiva es menor.

Alternativamente, es factible que haya plantas que presenten otra estrategia: maximizar su adecuación produciendo únicamente progenie con altas probabilidades de llegar a reproducirse. La adecuación de la planta materna disminuye debido a que una proporción de la progenie es abortada, pero aumenta ya que es muy probable que estos nuevos individuos tengan a su vez descendencia. (Fig. 7.c.).

En la Figura 7 se ilustran dos modelos de aborción selectiva correspondientes a las alternativas planteadas anteriormente. En el Modelo I (Fig. 7.a. y b.), el porcentaje de aborción disminuye al aumentar la cantidad proporcional de recursos, lo cual en una situación natural podría permitir que la calidad promedio de los frutos aumentara (si es que aquellos genotipos de menor calidad son compensados con un mayor aprovisionamiento de recursos), o por lo menos se mantuviera constante (Fig. 7.a.). Al realizar un experimento de aborción manual, se aumenta la cantidad de recursos por fruto (indicado en la figura por la flecha), pero las plantas

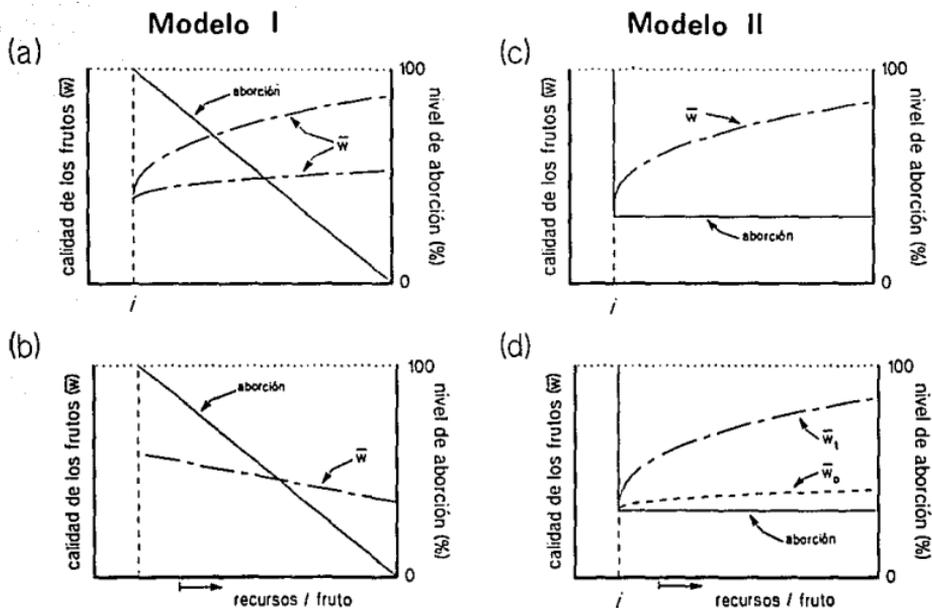


Figura 7. Modelos de aborción selectiva. Se ilustran los cambios en la calidad promedio de los frutos y en el porcentaje de aborción en función de la abundancia de recursos por fruto en una situación natural (a y c), y en un experimento de aborción manual (b y d). En el Modelo I, el porcentaje de aborción disminuye al aumentar la cantidad proporcional de recursos, lo que trae una disminución en la calidad promedio de la cosecha. En el Modelo II, existe un "umbral" de calidad de los frutos que se alcanza con un nivel constante de aborción de frutos. (Ver explicación detallada en el texto).

pierden oportunidad de seleccionar a la progenie que madura. En consecuencia, la calidad promedio de la cosecha disminuye (Fig. 7.b.). En el Modelo II, el nivel de aborción es constante independientemente de la disponibilidad de recursos por fruto. Al aumentar la cantidad de recursos por fruto, una planta puede aprovisionar mejor a cada fruto, lo cual incrementa la adecuación de estos (Fig. 7.c.). En un experimento de aborción manual, la planta no pierde la oportunidad de seleccionar a la progenie, pues aborta la de mala calidad aún después de una remoción manual aleatoria de frutos. Por lo tanto, la calidad promedio de la cosecha puede aumentar al disponer de una mayor proporción de recursos (w_i ; Fig. 7.d.).

Es posible que el comportamiento de *E. havanense* en Chamela, corresponda al Modelo II, ya que a pesar de la aborción manual en las ramas experimentales, ocurrió una aborción natural posterior. Sin embargo, no se puede descartar que el tiempo transcurrido entre la floración y la remoción manual de los frutos no haya sido el adecuado. Fisiológicamente, las plantas pudieron no haber "reconocido" una disponibilidad mayor de recursos debida a la aborción artificial de frutos. Es necesario explorar el efecto del tiempo al cual se realiza la remoción de frutos inmaduros sobre la respuesta de la planta en términos de aborción natural y calidad de la progenie.

Por otra parte de acuerdo con el Modelo II, se hubiera esperado que la progenie de las ramas de aborción manual fuera de mejor calidad que la de las ramas control. Dado que esto no se cumplió, puede especularse sobre la existencia de restricciones filogenéticas (embriológicas, fisiológicas, etc.) sobre características importantes al inicio del desarrollo de los individuos, principalmente el tamaño del fruto y/o la semilla. Sin embargo, los frutos y semillas de *E. rotundifolium* son más grandes (obs. pers.), lo cual pone en duda la especulación anterior. Además, ya se ha visto que, en *E. havanense*, el tamaño de las semillas no tiene efectos sobre la supervivencia de los individuos que originen.

Otra posibilidad es que el "umbral" de calidad de la progenie sea un óptimo regulado tanto por la cantidad de recursos disponibles como por la capacidad para ser eficientemente dispersados o bien la ocurrencia adecuada de los procesos fisiológicos que acontecen en la semilla: tasa de respiración, germinación, etc. Esto sólo podrá descartarse con investigaciones pertinentes a estos aspectos, principalmente sobre la fisiología del aprovisionamiento de recursos y la embriología de la especie.

Por último, es posible que en realidad si haya una función creciente en la calidad promedio de los frutos, pero tenga una pendiente muy pequeña (w_0 ; Fig. 7.d.). Así, al aumentar la cantidad de recursos por fruto, la diferencia en calidad de la progenie de ramas de aborción manual en comparación con la progenie de las ramas control es insignificante.

Para finalizar, a continuación se presentan algunas reflexiones generales sobre la evolución de los sistemas reproductivos. Se ha considerado que las principales fuerzas evolutivas que operan sobre los sistemas reproductivos son la selección natural: actuando

en contra de la endogamia y/o favoreciendo la asignación óptima de recursos a la reproducción por vía masculina y femenina; y la selección sexual (Bawa 1980, Bawa y Beach 1981, Charlesworth y Charlesworth 1981, Charnov 1979, Lloyd 1980, Mazer 1987b, Willson 1979). Aun cuando ha predominado un enfoque sobre las angiospermas, también es posible que estas fuerzas actúen en los sistemas reproductivos de las gimnospermas (Bawa 1980, Willson y Burley 1983, Zavada y Taylor 1986).

Las interacciones con animales de distintos gremios han llegado a tener una gran influencia sobre la evolución de los sistemas reproductivos (Harper 1977, Janzen 1970, Dirzo y Domínguez 1986, Domínguez 1990). En ocasiones los animales constituyen el agente mediante el cual actúan las fuerzas evolutivas antes mencionadas. Otras veces, pueden modificar el resultado de la acción de dichas fuerzas. Ambas alternativas podrían ocurrir simultáneamente si se considera la acción de diferentes gremios sobre alguna población particular de plantas.

Particularmente, este estudio mostró que los depredadores de semillas pueden alterar el éxito reproductivo de las plantas en forma diferencial dependiendo de su morfo. Otros gremios, como los herbívoros, cuyos efectos se observaron pero no se midieron, están involucrados de manera menos directa en la evolución del sistema reproductivo (excepto los depredadores de estructuras reproductivas). Algunos animales pueden tener una influencia negativa considerable sobre la supervivencia de las plántulas debido al pisoteo y al consumo que hacen de ellas. Hasta donde se pudo observar, en *E. havanense* la mortalidad de las plántulas es indiferente con respecto al morfo o tratamiento de sus progenitores.

El ambiente abiótico puede afectar en gran medida la evolución del sistema reproductivo de las plantas, ya sea de manera directa o indirectamente a través de los animales que interactúan con ellas. La importancia de cada factor sobre la evolución de un atributo en particular puede variar temporal y espacialmente. Cuando la selección natural sea intensa se podrán observar tendencias en la evolución de dicho atributo en una escala ecológica de tiempo. Algunas características que se originen bajo tales presiones de selección, podrán reconocerse posteriormente como adaptaciones. Si la intensidad de la selección es baja, o bien los factores selectivos importantes cambian cualitativamente en el tiempo, los cambios en el atributo que se registren en la escala temporal ecológica podrán parecer una serie de variaciones aleatorias. En unos casos, dichas fluctuaciones pueden estar embebidas en una tendencia evolutiva real que sólo será patente en la escala de tiempo geológico. Entonces, los atributos de una especie dada (e.g. el sistema reproductivo) estarán determinados principalmente por su historia filogenética. Alternativamente, es conceptualizable el caso en que a escalas de tiempo geológico no exista ninguna tendencia evolutiva reconocible, pero sí las haya en la escala temporal ecológica. Procesos de este tipo podrían originar adaptaciones locales o efímeras en las poblaciones vegetales.

CONCLUSIONES

Los resultados del trabajo permiten concluir que en esta población de Erythroxylum havanense:

1. Existe el potencial para que ocurra competencia gametofítica entre donadores de polen.
2. Existe variación en el éxito reproductivo entre donadores de polen de morfo Pin, expresada en términos de la eficiencia en la producción de semillas. Esta variación se manifiesta como una aborción diferencial de los frutos producidos por diferentes plantas paternas.
3. Los resultados sugieren que hay aborción selectiva, donde el nivel de aborción está determinado principalmente por un umbral fijo de "calidad" de la progenie, y en segundo plano, por la cantidad de recursos disponibles.
4. Los efectos paternos y maternos, así como la aborción selectiva no tienen consecuencias sobre la supervivencia de la progenie. No obstante, estos fenómenos establecen diferencias en el número de descendientes producidos por cada progenitor, las cuales, considerando la primera afirmación, deberían mantenerse a lo largo del tiempo.
5. Existe una clara asimetría en el desempeño de las funciones sexuales por cada morfo. Los individuos de morfo Pin desempeñan mejor la función masculina, mientras que las plantas Thrum funcionan mejor como receptores de polen. Este hecho puede interpretarse como un proceso de transición actual de heterostilia a diecia.
6. La selección sexual y/o los conflictos familiares están involucrados en el funcionamiento y la evolución del sistema reproductivo de este arbusto. Sin embargo las interacciones con animales de diferentes gremios así como una serie de factores aleatorios pueden modificar o diluir la importancia de estos procesos.

RECOMENDACIONES PARA FUTURAS INVESTIGACIONES

Quedan por hacer varios estudios que aportarían información valiosa para entender la evolución del sistema reproductivo de Erythroxylum havanense. Con respecto a la competencia postcigótica entre donadores, deben incluirse experimentos para evaluar el desempeño gametofítico de los donadores de polen in vivo. Dado que todavía no hay manera de distinguir los tubos polínicos de diferentes donadores en un mismo pistilo, estos experimentos deberán hacerse con un solo donador por estigma. También es importante determinar si existe y cómo es la competencia gametofítica en los estigmas/estilos/ovarios. Esto puede abordarse mediante experimentos en los que se varíe el número de donadores y su proporción en las cargas de polen utilizadas para realizar polinizaciones manuales.

Un aspecto que ha faltado por investigar es la competencia precigótica entre donadores de polen. Probablemente lo más importante sea estudiar el flujo de polen. Las dificultades técnicas son grandes, la principal es la asignación de la paternidad de las semillas producidas. Hay varios métodos alternativos. Una posibilidad es obtener marcadores genéticos para ciertos donadores. La aplicación de marcadores radiactivos es una técnica aún no explorada para seguir polen (véase Winn 1989). El estudio de la conducta de los polinizadores y la colecta de organismos para verificar en qué partes de su cuerpo transportan polen de cada morfo brindarán información crucial acerca del flujo del polen. Otra posibilidad es realizar exclusiones experimentales con pares de plantas de distinto morfo y verificar la producción de frutos al variar las especies de polinizadores que se introducen. También existen técnicas cuantitativas (Meagher 1986), pero éstas suelen tener una resolución muy baja. Bertin (1988) hace una revisión bastante comprensiva de las posibilidades existentes para el estudio de la paternidad en las plantas.

Una técnica que ha sido utilizada exitosamente con especies heterostilicas es el conteo de polen de cada morfo sobre estigmas de ambos morfos. Este método aprovecha la diferencia de tamaños que existe entre el polen de cada morfo y podría implementarse a corto plazo en E. havanense por lo menos para saber cómo es el flujo de polen entre plantas de distinto morfo.

Las conclusiones de este estudio se enriquecerían mucho con los resultados que se obtengan al analizar los atributos reproductivos de la progenie cuando sea adulta (producción y peso de semillas) y el desempeño de la siguiente generación (F_2). Basta con esperar el tiempo necesario para que las plantas de la exclusión lleguen a su edad reproductiva. Mientras tanto, los estudios del sistema reproductivo de otras especies del mismo género en la misma zona, como E. mexicanum o E. rotundifolium, o bien de la misma especie (E. havanense) en diferentes localidades, en donde se hagan comparaciones de la forma de vida, fenología, sistema de polinización, compatibilidad, y condiciones ambientales a las que están expuestas las poblaciones pueden brindar infor-

mación relevante para la comprensión de la evolución del sistema reproductivo en el género o bien de la adaptación de éste a medios distintos en una misma especie.

Por otro lado, falta investigar a fondo el mecanismo fisiológico de la asignación de recursos a la reproducción, desde la floración hasta la maduración de los frutos, ya que juega un papel esencial en la aborción de frutos. En este contexto, se debería descartar experimentalmente la limitación de la fecundidad por falta de recursos mediante la adición de fertilizantes.

Otro experimento que puede aportar información sobre la asignación de recursos consistiría en hacer remociones de frutos de distinta intensidad (porcentaje) y a distintos tiempos después de la floración. De este modo, se podría saber si hay distintos patrones de aborción posterior a la remoción manual y cuál es su relación con la cantidad de recursos restantes. Habría que probar tratamientos en toda la planta y no sólo en ramas.

Finalmente, la estimación de la heredabilidad de algunas de las características consideradas en este trabajo como componentes de adecuación puede ser útil para determinar en qué grado podría afectar la selección natural (o sexual) el sistema reproductivo de *E. havanense*. Es posible que la selección natural opere sobre otras características de la historia de vida de esta especie, influyendo mucho más en su evolución.

BIBLIOGRAFIA

- Ayala, R. 1988. Abejas silvestres (Hymenoptera: Apoidea) de Chamela, Jalisco, México. *Folia Entomológica Mexicana* 77:395-493.
- Baker, H.G. 1983 An outline of the history of Anthecology, or pollination biology. In L. Real. (ed.). *Pollination Biology*. Academic Press, N.Y.
- Baker, H.G. 1986. Breeding systems of plants in relation to West African ecology. In G.W. Lawson (ed.) *Plant Ecology in West Africa*. John Wiley & Sons Ltd.
- Barrett, S.C.H. 1980. Dimorphic incompatibility and gender in *Nymphoides indica* (Menyanthaceae). *Can. J. Bot.* 58:1938-1942.
- Barrett, S.C.H. 1990. The evolution and adaptive significance of heterostily. *Trends in Ecology and Evolution* 5:144-148.
- Barrett, S.C.H., M.T. Morgan y B.C. Husband. 1989. The dissolution of a complex genetic polymorphism: the evolution of self-fertilization in tristylous *Eichornia paniculata* (Pontederiaceae). *Evolution* 43:1398-1416.
- Bateman, A.J. 1948. Intrasexual selection in *Drosophila*. *Heredity* 2:349-368.
- Bawa, K.S. 1980. Evolution of dioecy in flowering plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 11:15-39.
- Bawa, K.S. y J.H. Beach. 1981. Evolution of sexual systems in flowering plants. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 68:254-274.
- Beach, J.H. y K.S. Bawa. 1980. Role of pollinators in evolution of dioecy from distyly. *Evolution* 34:1138-1142.
- Bell, G. 1985. On the function of flowers. *Proc. R. Soc. London B* 224:223-265.
- Bertin, R.I. 1985. Nonrandom fruit production in *Campsis radicans*: between-year consistency and effects of prior pollination. *Am. Nat.* 126:750-759.
- Bertin, R.I. 1988. Paternity in plants. In J. Lovett Doust y L. Lovett Doust (eds.). *Plant Reproductive Ecology: Patterns and Strategies*. Oxford University Press, New York.
- Bir Badhur. 1970. Homostyly and heterostyly in *Oldenlandia umbellata* L. *J. Genet.* 60:192-198.

- Bold, H.C., C.J. Alexopoulos y T. Delevoryas. 1980. *Morphology of Plants and Fungi*. Harper & Row, New York.
- Bullock, S.H. 1986. Climate of Chamela, Jalisco, and trends in the south coastal region of México. *Arch. Met. Geoph. Biocl. Ser. B* 36:297-316.
- Bullock, S.H. y K.S. Bawa. 1981. Sexual dimorphism and annual flowering pattern in *Jacaratia dolichaula* (D Smith) Woodson (Caricaceae) in a Costa Rican rain forest. *Ecology* 62:1494-1504.
- Bullock, S.H. y J.A. Solís-Magallanes. 1990. Phenology of canopy trees of a tropical deciduous forest in México. *Biotrópica* 22:22-35.
- Britton, N.L. 1907. Erythroxylaceae. *North American Flora* 25:59-66.
- Careaga, S.A. 1989. Efecto de la variación en el tamaño de las semillas sobre el desempeño de plántulas de especies tropicales. Tesis Prof. Facultad de Ciencias, UNAM.
- Charlesworth, D. y B. Charlesworth. 1978. Population genetics of partial male-sterility and the evolution of monoecy and dioecy. *Heredity* 41:137-154.
- Charlesworth, D. y B. Charlesworth. 1981. Allocation of resources to male and female functions in hermaphrodites. *Biol. J. Linn. Soc.* 15:57-74.
- Charlesworth, D. y B. Charlesworth. 1987a. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 18:237-268.
- Charlesworth, D. y B. Charlesworth. 1987b. The effect of investment in attractive structures on allocation to male and female functions in plants. *Evolution* 41:948-968.
- Charlesworth, D., D.W. Schemske y V.L. Sork. 1987. The evolution of plant reproductive characters: Sexual versus natural selection. In S.C. Stearns (ed.). *The Evolution of Sex and its Consequences*. Birkhäuser-Verlag, Boston.
- Charnov, E.L. 1979. Behavioural Ecology of Plants. In J.R. Krebs y N.B. Davies (eds.). *Behavioural Ecology: An evolutionary approach*. Sinauer Associates, Inc. Pub., Massachusetts.
- Charnov, E.L. 1987. On sex allocation and selfing in higher plants. *Evol. Ecol.* 1:30-66.

- Charnov, E.L. 1988. "Prólogo" In J. Lovett Doust y L. Lovett Doust (eds.). *Plant Reproductive Ecology: Patterns and Strategies*. Oxford University Press, New York.
- Cody, M.L. 1966. A general theory of clutch size. *Evolution* 20:174-184.
- Coello-Coutiño, G. M.M. Martínez, P.A. Meléndez y B. Pazos. 1986. Incompatibilidad sexual y distilia en *Bouvardia ternifolia*. *Memorias del III Simposio de Ciencias en Sistemas Biológicos*. Facultad de Ciencias, UNAM.
- Coles, J.F. y D.P. Fowler. 1976. Inbreeding in neighboring trees in two white spruce populations. *Silv. Genet.* 25:29-34.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press, Great Britain.
- Cruzan, M.B. 1990. Variation in pollen size, fertilization ability, and postfertilization siring ability in *Erythronium grandiflorum*. *Evolution* 44:843-856.
- Darwin, C. 1859. *On the Origin of Species by Means of Natural Selection or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life*. John Murray, London.
- Darwin, C. 1876. *The Effects of Cross- and Self-fertilization in the Vegetable Kingdom*. John Murray, London.
- Darwin, C. 1877. *The Different Forms of Flowers on Plants of the Same Species*. Appleton, New York.
- Dirzo, R. 1984. Herbivory: A phytocentric overview. In R. Dirzo and J. Sarukhán, (eds.). *Perspectives on Plant Population Biology*. Sinauer, Sunderland, Massachusetts.
- Dirzo, R. y C.A. Domínguez. 1986. Seed shadows, seed predation and the advantages of dispersal. In A. Estrada y T.H. Fleming (eds.). *Frugivores and Seed Dispersal in the Tropics*. W. Junk Publishers, The Netherlands.
- Domínguez, C.A. 1985. *Ecología reproductiva de Croton suberosus (EUPHORBIACEAE)*. Tesis Prof., Fac. de Ciencias, UNAM.
- Domínguez, C.A. 1990. *Consecuencias ecológicas y evolutivas del patrón de floración sincrónica y masiva de Erythroxylum havanense Jacq. (ERYTHROXYLACEAE)*. Tesis Doctoral. UNAM, México.
- Endler, J.A. 1986. *Natural Selection in the Wild*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.

- Falconer, D.S. 1981. *Introduction to Quantitative Genetics*. Longman, London.
- Fenster, C.B. y V.L. Sork. 1988. Effect of crossing distance and male parent on in vivo pollen tube growth in *Chamaecrista fasciculata*. *Amer. J. Bot.* 75:1898-1903.
- Font-Quer, P. 1973. *Diccionario de Botánica*. Editorial Labor, S.A., Barcelona.
- Foster, A.S. y E.M. Gifford. 1974. *Comparative Morphology of Vascular Plants*. Freeman, San Francisco.
- Frankel, R. y E. Galun. 1977. *Pollination Mechanisms, Reproduction and Plant Breeding*. Springer-Verlag, New York.
- Ganders, F.R. 1975. Fecundity in distylous and self-incompatible homostylous plants of *Mitchella repens* (Rubiaceae). *Evolution* 29:186-188.
- Ganders, F.R. 1979a. The biology of heterostyly. *N. Z. J. Bot.* 17:607-635.
- Ganders, F.R. 1979b. Heterostyly in *Erythroxyllum coca* (Erythroxyllaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 78:11-20.
- García, E. 1988. *Modificaciones al sistema climático de Köppen*. Limusa, México.
- Gryj, E.O. 1990. *Dispersión de frutos del arbusto Erythroxyllum havanense Jacq. en Chamela, Jalisco*. Tesis Prof. Fac. de Ciencias, UNAM.
- Haig, D. 1987. Kin conflict in seed plants. *Trends in Ecology and Evolution* 2:337-340.
- Handel, S.N. 1983. *Pollination ecology, plant population structure, and gene flow in L. Real*. *Pollination Biology*. Academic Press, N.Y.
- Harper, J.L. 1977. *Population Biology of Plants*. Academic Press, London.
- Hill, J.P. y E.M. Lord. 1986. Dynamics of pollen tube growth in the wild radish, *Raphanus raphanistrum* (Brassicaceae). I. Order of Fertilization. *Evolution* 40:1328-1333.
- Homby, C.A. y W.B. Charles. 1966. Pollen germination as affected by variety and number of pollen grains. *Tomato Growers Cooperative* 16:11-12.

- Janzen, D.H. 1970. Herbivores and the number of tree species in tropical forests. *Am. Nat.* 940:501-528.
- Kalisz, S. 1989. Fitness consequences of mating system, seed weight, and emergence date in a winter annual, *Collinsia verna*. *Evolution* 43:1263-1272.
- Knudsen, J.W. 1966. *Biological techniques; collecting, preserving and illustrating plants and animals*. Harper & Row, New York.
- Lawrence, M.J. 1984. The genetical analysis of ecological traits In B. Shorrocks (ed.). *Evolutionary ecology: 23rd Symposium of The British Ecological Society*. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Lee, T.D. 1988. Patterns of fruit and seed production. In J. Lovett Doust y L. Lovett Doust (eds.). *Plant Reproductive Ecology: Patterns and Strategies*. Oxford University Press, New York.
- Lee, T.D. y F.A. Bazzaz. 1982. Regulation of the fruit maturation pattern in an annual legume, *Cassia fasciculata*. *Ecology* 63:1374-1388.
- Lee, T.D. y F.A. Bazzaz. 1986. Maternal regulation of fecundity: Non-random ovule abortion in *Cassia fasciculata* Michx., *Oecologia* 68:459-465.
- Levin, D.A. 1975. Gametophytic competition in *Phlox*. In D.L. Mulcahy (ed.). *Gamete competition in Plants and Animals*. North-Holland Publ. Co., Amsterdam.
- Levin, D.A. 1981. Gene flow versus dispersal in plants. *Ann. Missouri Bot. Gar.* 68:232-253.
- Levin, D.A. 1984. Inbreeding depression and proximity dependent crossing success in *Plox drummondii*. *Evolution* 38:116-127.
- Levin, D.A. 1989a. Proximity-dependent cross-compatibility in *Plox*. *Evolution* 43:1114-1116.
- Levin, D.A. 1989b. Inbreeding depression in partially self-fertilizing *Plox*. *Evolution* 43:1417-1423.
- Levin, D.A. y H.W. Kerster. 1974. Gene flow in seed plants. *Evol. Biol.* 7:139-220.
- Lewis, D. 1979. *Sexual Incompatibility in Plants*. Edward Arnold, Great Britain.
- Lloyd, D.G. 1979. Evolution towards dioecy in heterosylous populations. *Plant Syst. Evol.* 131:71-80.

- Lloyd, D.G. 1980. Sexual strategies in plants III. A quantitative method for describing the gender of plants. *N. Z. J. Bot.* 18:103-108.
- Lloyd, D.G. 1982. Selection of combined versus separate sexes in seed plants. *Amer. Nat.* 120:571-585
- Lloyd, D.G. 1984. Gender allocations in outcrossing cosexual plants. In R. Dirzo and J. Sarukhán, (eds.). *Perspectives on Plant Population Biology*. Sinauer, Sunderland, Massachusetts.
- Lloyd, D.G. 1987. Benefits and costs of biparental and uniparental reproduction in plants. In R.E. Michod y B. Levin (eds.). *The Evolution of Sex*. Sinauer Assoc., Sunderland, Massachusetts.
- Lloyd, D.G. y K.S. Bawa. 1984. Modification of the gender of seed plants in varying conditions. *Evol. Biol.* 17:255-338.
- Lloyd D.G. y J.M.A. Yates. 1982. Intrasexual selection and the segregation of pollen and stigmas in hermaphrodite plants, exemplified by *Wahlenbergia algomarginata* (Campanulaceae). *Evolution* 36:903-913.
- Lott, E.J., S.H. Bullock y J.A. Solis-Magallanes. 1987. Floristic diversity and structure of upland and arroyo forests of coastal Jalisco. *Biotropica* 19:228-235.
- Lott, E.J. 1985. Listados florísticos de México. III. La Estación de Biología Chamela, Jalisco. Instituto de Biología, UNAM.
- Lovett Doust, J. y L. Lovett Doust. 1988. Sociobiology of plants: An emerging synthesis. 1988. In J. Lovett Doust y L. Lovett Doust (eds.). *Plant Reproductive Ecology: Patterns and Strategies*. Oxford University Press, New York.
- Marshall, D.L. y N.C. Ellstrand. 1986. Sexual selection in *Raphanus sativus*: experimental data on nonrandom fertilization, maternal choice, and consequences of multiple paternity. *Am. Nat.* 127:446-461.
- Marshall, D.L. y K.L. Whittaker. 1989. Effects of pollen donor identity on offspring quality in wild radish, *Raphanus sativus*. *Amer. J. Bot.* 76:1081-1088.
- Mazer, S.J. 1987a. Parental effects on seed development and seed yield in *Raphanus raphanistrum*: Implications for natural and sexual selection. *Evolution* 41:355-371.

- Mazer, S.J. 1987b. Maternal investment and male reproductive success in angiosperms: parent-offspring conflict or sexual selection? *Biological Society of the Linnean Society* 30:115-133.
- Mazer, S.J., A.A. Snow y M.L. Stanton. 1986. Fertilization dynamics and parental effects on fruit development in *Raphanus raphanistrum*: Consequences for seed size variation. *Amer. J. Bot.* 73:501-511.
- Meagher, T.R. 1986. Analysis of paternity within a natural population of *Chamaelirium luteum*. I. Identification of most-likely male parents. *Am. Nat.* 128:199-215.
- Meagher, T.R. 1988. Sex determination in plants. In J. Lovett Doust y L. Lovett Doust (eds.). *Plant Reproductive Ecology: Patterns and Strategies*. Oxford University Press, New York.
- Mulcahy, D.L. 1971. A correlation between gametophytic and sporophytic characteristics in *Zea mays* L. *Science* 171:1155-1156.
- Mulcahy, D.L. 1974. Correlation between speed of pollen tube growth and seedling height in *Zea mays* L. *Nature* 249:491-493.
- Mulcahy, D.L. y G.B. Mulcahy. 1975. The influence of gametophytic competition on sporophytic quality of *Dianthus chinensis*. *Theoret. Appl. Genet.* 46:277-280.
- Mulcahy, D.L., G.B. Mulcahy y Ottaviano. 1975. The influence of gametophytic competition in *Petunia hybrida*. In D.L. Mulcahy (ed.) *Gamete competition in plants and animals*, North-Holland, Amsterdam.
- Narasimhan, R. 1963. Mass culture of pollen on cellophane-filter paper supports. *Stain Technology* 38:341-343.
- Ornduff, R. 1966. The origin of dioecism from heterostyly in *Nymphoides* (Menyanthaceae). *Evolution* 20:309-314.
- Ornduff, R. 1970. Incompatibility and pollen economy in *Jepsonia parryi*. *Amer. J. Bot.* 57:1036-1041.
- Ornduff, R. 1971. The reproductive system of *Jepsonia heterandra*. *Evolution* 25:300-311.
- Park, Y.S. y D.P. Fowler. 1982. Effects of inbreeding and genetic variances in a natural population of Tamarack (*Larix laricina* (Du Roi) K. Koch) in eastern Canada. *Silv. Genet.* 31:21-26.

- Pérez, N. 1990. Biología reproductiva y estructura genética de *Psychotria faxlucens* (Rubiaceae) en Los Tuxtlas, Veracruz. Tesis de Maestría en Ciencias (Biología), UNAM, México.
- Primack, R.B. y H. Kang. 1989. Measuring fitness and natural selection in wild plant populations. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 20:367-396.
- Roach, D.A. 1986. Timing of seed production and dispersal in *Geranium carolinianum*: effects on fitness. *Ecology* 67:572-576.
- Roach, D.A. y R.D. Wulff. 1987. Maternal effects in plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 18:209-235.
- Roberts, I.N., T.C. Gande, G. Harrod y H.G. Dickinson. 1983. Pollen-stigma interactions in *Brassica oleracea*: A new pollen germination medium and its use in elucidating the mechanism of selfincompatibility. *Theor. Appl. Genet.* 65:231-238.
- Rzedowski, J. 1978. *La vegetación de México*. Limusa, México.
- Schemske, D.W. y C. Fenster. 1983. Pollen-grain interactions in a neotropical *Costus*: effects of clump size and competitors. In D.L. Mulcahy y E. Ottaviano (eds.). *Pollen: Biology and Implications for Plant Breeding*. Elsevier, Amsterdam.
- Schmitt, J. y J. Antonovics. 1986. Experimental studies of the evolutionary significance of sexual reproduction. III. Maternal and paternal effects during seedling establishment. *Evolution* 4:817-829
- Silvertown, J. 1990. The paradox of seed size and adaptation. *Trends in Ecology and Evolution* 4:24-26.
- Slatkin, M. 1985. Gene flow in natural populations. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 16:393-430.
- Sobrevilla, C., N. Ramírez y N. Xena. 1983. Reproductive biology of *Palicourea fendleri* and *P. petiolaris* (Rubiaceae). *Biotropica* 15:161-169.
- Sobrevilla, C. 1988. Effects of distance between pollen donor and pollen recipient on fitness components in *Espeletia schultzii*. *Amer. J. Bot.* 75:701-724.
- Standley, P.C. 1923. *Trees and Shrubs of Mexico*. Contributions for the United States National Herbarium. 23:517-848.

- Stanton, M.L. 1984. Seed variation in wild radish: effects of seed size on components of seedling and adult fitness. *Evolution* 65:1105-1112.
- Stephenson, A.G. 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 12:253-279.
- Stephenson, A.G. y R.I. Bertin. 1983. Male competition, female choice and sexual selection in plants. In L. Real (ed.). *Pollination Biology*. Academic Press, N.Y.
- Stephenson, A.G. y J.A. Winsor. 1986. *Lotus corniculatus* regulates offspring quality through selective fruit abortion. *Evolution* 40:453-458.
- Sutherland, S. 1986. Patterns of fruit-set: what controls fruit-flower ratios in plants? *Evolution* 40:117-128.
- Sutherland, S. 1987. Why hermaphroditic plants produce many more flowers than fruits: experimental tests with *Agave mckelveyana*. *Evolution* 41:750-759.
- Sutherland, S. y L.F. Delph. 1984. On the importance of male fitness in plants: patterns of fruit-set. *Ecology* 65:1093-1104.
- Trivers, R.L. 1972. Parental investment and sexual selection. B. Campbell (ed.) *Sexual Selection and the Descent of Man*. Aldine Pub. Co., Chicago.
- Trivers, R.L. 1974. Parent-offspring conflict. *Amer. Zool.* 14:249-264.
- Uma Shaanker, R., K.N. Ganeshaiah y K.S. Bawa. 1988. Parent-offspring conflict, sibling rivalry, and brood size patterns in plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 19:177-205
- Waser, N.M. y M.V. Price. 1983. Optimal and actual outcrossing in plants, and the nature of plant-pollinator interaction. In C.E. Jones y R.J. Little (eds.). *Handbook of Experimental Pollination Biology*. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Waser, N.M. y M.V. Price. 1989. Optimal outcrossing in *Ipomopsis aggregata*: seed set and offspring fitness. *Evolution* 43:1097-1109.
- Waser, N.M., M.V. Price, A.M. Montalvo y R.N. Gray. 1987. Female mate choice in a perennial herbaceous wildflower *Delphinium nelsonii*. *Evol. Trends Plants* 1:29-33.

- Willis, J.C. 1973. **A Dictionary of the Flowering Plants and Ferns.** Cambridge University Press, Great Britain.
- Willson, M.F. 1979. Sexual selection in plants. *Am. Nat.* 113:777-790.
- Willson, M.F. 1990. Sexual selection in plants and animals. *Trends in Ecology and Evolution* 5:210-214.
- Willson, M.F. y N. Burley. 1983. **Mate Choice in Plants: Tactics, Mechanisms and Consequences.** Princeton University Press, New Jersey.
- Winn, A.A. 1985. Effects of seed size and microsite on seedling emergence of *Prunella vulgaris* in four habitats. *J. Ecol.* 73:831-840.
- Winn, A.A. 1989. Using radionuclide labels to determine the post-dispersal fate of seeds. *Trends in Ecology and Evolution* 4:1-2.
- Wolda, H. 1978a. Fluctuations in abundance of tropical insects. *Amer. Nat.* 112:1017-1045.
- Wolda, H. 1978b. Seasonal fluctuations in rainfall, food and abundance of tropical insects. *J. Anim. Ecol.* 47:369-381.
- Wolda, H. 1990. Estacionalidad de los Homoptera de la isla de Barro Colorado. In E.G. Leig, A.S. Rand y D.M. Windsor. **Ecología de un bosque tropical: ciclos estacionales y cambios a largo plazo.**
- Wulff, R.D. 1973. Intrapopulation variation in the germination of seeds in *Hyptis suaveolens*. *Ecology* 54:646-649.
- Wulff, R.D. 1986. Seed size variation in *Desmodium paniculatum*. II. Effects on seedling growth and physiological performance. *J. Ecology* 74:99-114.
- Wyatt, R. 1983. Pollinator-plant interactions and the evolution of breeding systems. In L. Real. (ed.). **Pollination Biology.** Academic Press, N.Y.
- Zar, J.H. 1974. **Biostatistical Analysis.** Prentice-Hall, Inc. New Jersey.
- Zavada, M.S. y T.N. Taylor. 1986. The role of self-incompatibility and sexual selection in the gymnosperm-angiosperm transition: a hypothesis. *Am. Nat.* 128:538-550.

APENDICE

MEDIO PARA CULTIVO DE POLEN in vitro

El medio utilizado para el cultivo de polen de Erythroxylum havanense es el mismo que usó Mazer (1987a) para el polen de Raphanus raphanistrum, salvo por una modificación.

agua	42.0 ml
sacarosa	10.5 g
agar bacteriológico	0.35 g
Ca(NO ₃) ₂	0.015 g
ácido bórico	0.01 g

Este medio se prepara haciendo ebulir la solución de las sustancias mencionadas. Inmediatamente después se vierte sobre los portaobjetos, procurando que quede una capa muy delgada. Estos se guardan individualmente dentro de cajas de petri, con un papel filtro húmedo previamente colocado. De esta manera se evitan, en lo posible, contaminaciones por hongos y bacterias. El período de incubación debe ser corto (30 a 40 horas como máximo), pues inevitablemente crecerán hongos. Una vez completada la incubación, las preparaciones se fijan con FAA y pueden sellarse con cubreobjetos y esmalte transparente. (Otras técnicas de cultivo de polen pueden consultarse en Narasinhham 1963).

Existen varias maneras de preparar FAA, dependiendo del organismo a fijar (ver Knudsen 1966). Para este caso, se utilizaron las proporciones recomendadas por C. Vázquez-Yáñez (com. pers.):

FAA (Formol - Acido Acético - Alcohol) 100 ml

formol (38.8%)	10 ml
a. acético (99.7%)	20 ml
alcohol absoluto	70 ml

* Mazer utiliza agarosa en vez de agar bacteriológico.