

131

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

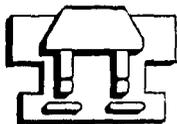


FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA

"POLINIZACION NATURAL, SISTEMA DE
APAREAMIENTO Y EXITO REPRODUCTIVO DE
Ceiba grandiflora EN UN BOSQUE TROPICAL
CADUCIFOLIO DE MEXICO".

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
LICENCIADO EN BIOLOGIA
P R E S E N T A ,
CAROLINA PALACIOS GUEVARA

ASESOR: DR. MAURICIO QUESADA AVENDAÑO



IZTACALA

ESTADO DE MEXICO

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2002



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La vida se va...y sin embargo continua. Janise

*La sencillez consiste en hacer el viaje
de la vida sólo con el equipaje
necesario. Charles Dudley.*

*Lo mejor es salir de la vida como de una
fiesta, ni sediento ni bebido. Aristóteles.*

*La vida, pensó el hombre desnudo,
era un infierno, con algunos atisbos
de antiguos felices paraísos. Italo
Calvino*

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

INDICE

* Agradecimientos	2
* Resumen	3
* Introducción	4
* Antecedentes	
Estudios sobre cargas de polen en relación con la progenie.	6
Estudios sobre sistemas de apareamiento de algunas Bombacáceas.	8
* Objetivos	10
* Material y métodos	
Área de estudio	12
Descripción de la especie	13
Sistema de apareamiento	14
Polinización natural	16
Seguimiento de la fenología	19
* Resultados	
Polinización natural y sistema de apareamiento	20
Polinización natural y vigor de la progenie	22
Fenología	25
* Discusión	27
Conclusiones	32
* Sugerencias	32
* Literatura citada	33

AGRADECIMIENTOS

Agradezco sinceramente al Dr. Mauricio Quesada Avendaño por haber aceptado ser mi asesor en este trabajo, y darme tantas bases académicas, pero más por enseñarme a conservar la sonrisa en el rostro a pesar de las adversidades. A la Dr. Kathy Stoner por su amistad, confianza y hospitalidad en cada momento.

A las colaboraciones tan valiosas de mis sinodales Dr. Rafael Lira Saade, Dr. Osvaldo Téllez Valdez, M. en C. Gerardo Ortiz Montiel y M. en C. Leonor Abundíz Bonilla, además, de que junto con otros profesores ayudaron a mi formación personal y profesional.

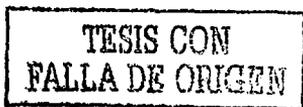
A mi familia, por esperarme, aguantarme en casa y apoyarme cada uno a su manera en este proyecto.

A mis amigas Elena Ocampo y Clara E. Nieto, por tantos años de amistad, compartiendo todo lo que somos y espero, lo que seremos.

A Gabriel por tu amor, apoyo incondicional, tu protección y todo lo que tenemos. T.A.

No podían faltar mis adorados chameños, Ivonne Herrerías y Víctor Rosas, por formar esa bonita familia que me apoyo tanto; a Paty y Angeles por nuestra valiosa amistad, llena de complicidad, sinceridad y aventuras; a todas las personas que afortunadamente se cruzaron en mi camino en el transcurso de mi trabajo Juli, Foco, Karina, Hugo, Doug, Rogelio, Rentón y Claudia, porque sin su ayuda profesional y personal no habría salido de tanto bache. A los "gatos" Mireca, Liss, Erin y Daniel, porque siempre estuvieron en las buenas y en las malas. Sin nunca olvidarlos a los cuixmalos Tamia y Alejandro, porque aunque lejos por unos km, para alegrías y lágrimas siempre me brindaron una sonrisa.

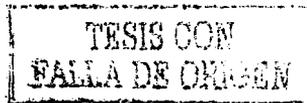
Agradezco también a PROBETEL por el apoyo económico otorgado para la realización de esta tesis en el periodo de junio-noviembre 2001.



RESUMEN

La mayoría de estudios sobre árboles tropicales se han centrado en la descripción de patrones fenológicos y reproductivos de poblaciones en bosques húmedos y secos.

Uno de los factores que regulan el éxito reproductivo de plantas está asociado a la cantidad de polen que transfieren los polinizadores a los estigmas de las flores y la cantidad de los donadores de polen influye en la producción de frutos viables y el número de semillas por fruto. Este trabajo sugiere que el sistema de apareamiento de *Ceiba grandiflora* es predominantemente por medio de exocruzamiento, además que existe una diferencia entre las cargas de polen que reciben individuos en ambientes perturbados y en bosque continuo. También se encontró una relación positiva entre el número de granos de polen con el número de semillas producidas por fruto. Además, de una relación positiva entre el desempeño de la progenie y la cantidad de polen en el estigma. Por lo que estos resultados muestran la importancia de la interacción de los polinizadores, el hábitat y la planta, como modelo para conocer algunos los parámetros que influyen en su reproducción.



INTRODUCCIÓN

La mayoría de estudios sobre árboles tropicales se han centrado en la descripción de patrones fenológicos y reproductivos de poblaciones en bosques húmedos y secos. (Frankie y Bradleigh Vinson, 1996 en Ganeshaiah, K.N., R. Uma Shaanker y K.S Bawa, 2001; Bullock 1995; Kress y Beach, 1994; Baum, 1995). Estos estudios, han encontrado que el hermafroditismo es el sistema sexual predominante en árboles tropicales y que la mayoría de especies son polinizadas por animales (Bawa et al., 1985a y 1985b; Bertin y Sullivan, 1988; Lloyd, 1992; Kress y Beach, 1994).

En general, en los ambientes tropicales se favorece el exocruzamiento debido a que predomina la auto incompatibilidad (Bawa, et al., 1985a y 1985b; Bullock 1986; Hamrick y Murawski, 1990; Kress y Beach, 1994). Sin embargo, se conoce poco sobre los factores que afectan el éxito reproductivo y el sistema de apareamiento de árboles tropicales (Koptur, 1984; Bawa et al., 1985a; Lloyd, 1992). Estudiar estos aspectos es fundamental para la conservación del bosque tropical y los recursos genéticos forestales de estos ecosistemas amenazados por la explotación humana.

Uno de los factores que regulan el éxito reproductivo de plantas está asociado a la cantidad de polen que transfieren los polinizadores a los estigmas de las flores. Se ha comprobado que cargas pequeñas de polen en el estigma, producen una menor cantidad de semillas por fruto, tienen mayor probabilidad de aborción temprana de frutos y tienden a producir progenie con menor vigor (Snow, 1982; Garwood y Hortvitz, 1985; Winsor,

et al, 1987; Stephenson, et al, 1988; Schlichting, 1990; Stephenson, et al, 1995; Niesenbaum, 1999)

También se ha demostrado que la identidad de los donadores de polen influye en la producción de frutos viables y el número de semillas por fruto. En algunas especies se ha observado que la auto polinización o el apareamiento entre parientes reduce la probabilidad de fertilización y la producción de semillas y frutos, debido al sistema de apareamiento de la especie o debido a factores asociados a endogamia (Bertin y Sullivan, 1988; Lloyd, 1992; Montalvo 1992; Plitmann, 1993; Baum, 1995; Stephenson, et al, 1995; Cruzan y Barret, 1996; Levin, 1996; Stephenson. et al, 2000)

El presente estudio tiene como propósito determinar, en condiciones de polinización natural, la relación de las cargas de polen depositados en el estigma con el éxito reproductivo y el vigor de la progenie del árbol tropical *Ceiba grandiflora*. Además se describe el sistema de apareamiento de esta especie por medio de cruza manuales.

ANTECEDENTES

Estudios sobre cargas de polen en relación con la progenie.

Durante las últimas dos décadas, diversos estudios han determinado que la cantidad del polen que se deposita en las flores por medio de la polinización natural, influye en el éxito reproductivo y el vigor de la progenie. Por ejemplo, Stephenson et al., (1995), trabajando con *Cucurbita pepo* observaron que, cuando existe una carga grande de polen se produce hasta tres veces el número de frutos maduros que con cargas pequeñas. Molano-Flores et al., (1999) relacionaron la baja producción de frutos y de semillas en *Allium stellatum*, con una deficiente polinización (pequeñas cargas de polen en el estigma) de un año con respecto a otro (2.5-25.7 granos de polen en el estigma en 1993, y 1.9-8.3 en 1994).

Niesenbaum (1999) observa en *Mirabilis jalapa*, que la competencia del polen incrementa significativamente con el número de granos en el estigma, por lo que se abortan los frutos que son producidos por pocos granos de polen. En otro estudio, se demuestra que cargas pequeñas de polen en *Raphanus sativus*, dan como resultado, una reducción en el número de semillas por fruto (Marshall et al, 2000). Wipson et al., (2000) encuentran una relación positiva significativa entre la carga de polen que reciben los estigmas y la producción de semillas por fruto, en un trabajo experimental con *Cucurbita foetidissima*. Las cargas grandes de polen (>10000 granos por estigma) produjeron el 71% de frutos maduros en comparación con los tratamientos de cargas pequeñas (240-

360) y medianas (dos veces la carga de la pequeña) en las que se produce un 18% y 28% de los frutos maduros, respectivamente.

Uno de los pocos ejemplos tropicales que demuestra la relación entre la carga de polen que reciben los estigmas y la producción de frutos y semillas, se estudió en el árbol *Pachira quinata*. En esta especie, el promedio de granos de polen que se requieren para producir un fruto maduro es de 400, en contraste con los estigmas que reciben menos de 200 y cuyos frutos se abortan o nunca se desarrollan. Además, este estudio demuestra que la especie es principalmente exogámica y que presenta un sistema de incompatibilidad tardía que inhibe la autofertilización y controla la identidad de los padres de las semillas que se producen (Quesada et al., 2001). Con estos ejemplos se puede demostrar la importancia del efecto de las cargas de polen en el éxito reproductivo de varias especies de plantas.

La deposición del polen es un factor importante para una reproducción exitosa en diversas especies de plantas, el conocimiento de los efectos de las cargas de polen en la producción de frutos, el número y viabilidad de las semillas, puede aportar elementos que permitan entender mejor los sistemas de apareamiento de las diferentes especies de plantas.

El estudio de los sistemas de apareamientos se ha centrado principalmente en plantas anuales o cultivadas de clima templado (Koptur, 1984; Bertin y Sullivan, 1988; Stephenson et al, 2000), se han realizado pocos estudios que analicen los sistemas de

apareamiento en plantas tropicales. Uno de los grupos de plantas tropicales, del cual se han estudiado sus sistemas de apareamiento incluye a la familia Bombacaceae. En la siguiente sección se hace una revisión del conocimiento que se tiene acerca del sistema de apareamiento de varias especies de esta familia.

Estudios sobre sistemas de apareamiento de algunas Bombacáceas.

Por medio de estudios genéticos, polinizaciones artificiales y parámetros fenoiológicos, se han podido inferir los tipos de sistema de apareamiento de algunas especies de Bombacáceas. Por ejemplo, en *Quararibea asterolepis*, Murawski y Hamrick (1991) encontraron por medio de frecuencias génicas, que tenía una tasa de exocruzamiento del 100% y por ello concluyen que presenta un sistema de auto-incompatibilidad estricto. Otros ejemplos son los de *Ceiba pentandra* y *Cavanillesia platanifolia*. Murawski y Hamrick (1992a y 1992b) proponen que la floración masiva de estas especies promueve el endocruzamiento vía geitonogamia, a diferencia de otras especies de Bombacáceas con floración más prolongada. Igualmente, Toxopeus (1950) demostró por medio de cruza controladas que *Ceiba pentandra* tiene cierto grado de auto compatibilidad, sin embargo, Gribel et al. (1999) encuentran con cruza manuales y marcadores enzimáticos, que esta especie es auto-incompatible y requiere de exocruzamiento para la producción de frutos y semillas viables. Por lo que se podría deducir un sistema de apareamiento mixto.

En varias especies del genero *Adansonia*, el 75% de flores que se han polinizado mediante exocruzamientos manuales producen frutos, en contraste con los autopolinizados y no polinizados que abortan en un 100%, a pesar de que en los estilos de flores autopolinizadas los tubos polínicos penetran hasta sus respectivos ovarios. En este caso se sugiere que un sistema de incompatibilidad tardío o postcigótico controla la identidad de los padres que fertilizan los óvulos de esta especie (Baum, 1995).

Estos trabajos dan la pauta para conocer el sistema de apareamiento de *Ceiba grandiflora*, no solo como un ejemplo más, sino, como una aportación a la biología reproductiva de bosques tropicales.

OBJETIVOS

OBJETIVOS GENERALES

- Describir la fenología reproductiva y el sistema de apareamiento de *Ceiba grandiflora*.
- Comparar la biología reproductiva de árboles de *Ceiba grandiflora* en poblaciones naturales y hábitat perturbados.
- Relacionar la deposición de polen por polinización natural con el éxito reproductivo y el sistema de apareamiento de *Ceiba grandiflora*.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Describir la fenología de *Ceiba grandiflora* durante un año (2000-2001), la producción de flores y frutos, y la probabilidad de que las flores produzcan frutos.
- Describir el sistema de apareamiento de *C. grandiflora* por medio de polinizaciones manuales.

- Relacionar las cargas de polen que reciben las flores del árbol de *Ceiba grandiflora* por polinización natural con el éxito reproductivo femenino y el vigor de la progenie.
- Determinar si la competencia de polen es un fenómeno importante en la reproducción de *Ceiba grandiflora* y en el vigor de la progenie.
- Comparar estos parámetros entre árboles de poblaciones continuas e individuos de sitios perturbados.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio.

Este estudio se desarrolló en la estación de Biología Chamela y sus alrededores. La estación de Biología Chamela se localiza en el municipio de La Huerta, Jalisco, entre los 19° 30' N y 105° 03' O, a 2 Km de la costa del Pacífico. La estación pertenece a la reserva de la Biosfera Chamela-Cuixmala, la cual abarca 13 000 ha. Al norte se encuentra la Carretera Puerto Vallarta-Barra de Navidad, al sur el Río Cuixmala, la carretera federal 200 bordea el lado oeste de la reserva y en el borde este se encuentra el Arroyo Caimán.

La orografía consta de lomeríos de 0 a 350msnm. Suelo esencialmente neutro (6.8+-15) derivados de basaltos o riolitas. Uno de los aspectos variables del ambiente en la tierra baja de los trópicos es el clima. El clima es del tipo Aw O (x') (el más seco de los cálidos subhúmedos) según Köppen modificado por García (1964) con una temperatura poco estacional, la cual va desde 15.9 °C a 32.2 °C. Las lluvias se presentan en periodos cortos (Julio a Octubre) y largos periodos de secas (de Noviembre a Mayo), con un promedio de precipitaciones anuales de 748 mm (Bullock, 1986)

Se distinguen siete tipos de vegetación en la reserva, de los cuales se encuentran mejor representados dos, el Bosque Tropical Caducifolio (Selva Baja Caducifolia) y Bosque Tropical Subcaducifolio (Selva Mediana Subperennifolia) (Miranda y Hernández

X, 1963; Rzedowsky, 1983). El Bosque Tropical Caducifolio posee la mayor extensión, presenta una estructura densa de árboles de 15 m en promedio, se caracterizan por la pérdida de sus hojas durante un período de 6 a 8 meses. Los otros cinco tipos son: Manglar, Vegetación riparia, Matorral xerófito, Vegetación secundaria, Palmar y cultivos.

También se utilizaron árboles en sitios perturbados ubicados desde el Km 59 al 107 de la carretera federal 200, Puerto Vallarta-Barra de Navidad, donde se presentan varios niveles de perturbación, por el establecimiento urbano, de potreros y/o cultivos.

Descripción de la especie de estudio

Ceiba grandiflora Rose

Ceiba grandiflora (Bombacaceae) fue descrita por Rose en 1895. Se conoce su distribución en el bosque tropical caducifolio de los estados de Jalisco y Colima, en altitudes de 300 a 900 msnm. También recibe el nombre común de "pochote", como otras ceibas regionales (*C. pentandra* y *C. aesculifolia*). Standley (1923), en su revisión de árboles y arbustos de México, la considera como un sinónimo de *C. aesculifolia*.

Ceiba grandiflora es un arbusto o árbol pequeño (< 12 m) su tronco tiene un diámetro hasta 60 cm. La corteza es gris y contiene fisuras y espinas a lo largo del tronco y en las ramas jóvenes. Las hojas son digitado compuestas, con pecíolos de 5.5 cm, 3-5

folíolos glabros en forma oblonga entera o poco aserrada, 5.5 cm de largo y 2.4 cm de ancho. Las flores hermafroditas, son actinomorfas con pétalos de color crema, glabros por dentro y tomentosos por fuera, de color amarillo o dorado; con floración en los meses de noviembre a junio, con un pico en diciembre y otro en febrero (observado en campo).

Las flores se localizan en el ápice de las ramas, son solitarias o geminadas; con 5 pétalos; pedúnculos 1.5- 2.5 cm; 5 estambres con filamentos de color crema, unidos en la base en un tubo corto y grueso; anteras de color amarillo canario; estilo glabro, ovario súpero. Los frutos son cápsulas elipsoides, con cáliz persistente de 5 valvas, pendulares, con el ápice agudo a obtuso, la cáscara del fruto es menos dura y de menor peso que la de *C. aesculifolia*. Los frutos tardan en madurar de 4 a 6 semanas y una vez abiertos persisten en las ramas dejando expuesto al viento un abundante algodón de color blanco en donde están embebidas las semillas, de color café oscuro. Esta especie presenta varias características de polinización quiropterofílica como es el color pálido, anthesis crepuscular, flores abiertas una noche, tiene abundante néctar, y las flores están expuestas en el ápice de las ramas.

Sistema de Apareamiento

Con el fin de conocer el sistema de apareamiento de *C. grandiflora*, se seleccionaron 10 individuos, basados en la accesibilidad de las flores, a los cuales se les aplicaron tres tratamientos. Un total de 32 flores fueron auto polinizadas manualmente.

24 flores exocruzadas con 1 donador y 42 flores con 5 donadores en los 10 individuos, durante el pico de floración en diciembre del 2000.

El polen para las cruzas, fue colectado de la antera en viales, tanto para un donador o como para la mezcla de 5, y se aplicó a los estigmas introduciendo cuidadosamente el estilo al vial, hasta saturar al estigma. Para las autocruzas se cortó el estambre y el polen se aplicó directamente al estigma, procurando quitar los estambres restantes después de aplicar el polen.

Para comprobar la viabilidad del polen de los donadores utilizados, se germinó el polen *in vitro* en el medio de cultivo propuesto por Brewbaker-Kwack (1963), pero modificado para *Ceiba grandiflora*. Este medio está compuesto de: 600mg/l de H_3BO_3 , sacarosa al 15%, 300mg/l de $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, 1.2 g/l de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ y 600mg de KNO_3 , con 1% de agar (Kerns y Inouye, 1993). Se colocó una gota de medio en un portaobjetos y con una aguja de disección se depositó una muestra de polen. Dieciséis horas después, se observó y contabilizando el polen germinado y no germinado utilizando un microscopio de contraste de fases (Zeiss, Germany). También se utilizó otra técnica independiente para corroborar el porcentaje de viabilidad de polen con tinción de acetocarmina (ácido acético glacial al 40% saturado de polvo de carmín). (Kerns y Inouye, 1993; Stone, et al, 1995)

Polinización natural

Para determinar la relación entre la cantidad de polen depositada sobre los estigmas por polinización natural y la producción de frutos y semillas, se marcaron 167 flores en condiciones naturales (131 flores de individuos en sitios perturbados y 37 de individuos en bosque continuo), de febrero a junio del 2001. Se establecieron como árboles en sitios perturbados, aquellos que se encontraban cerca de la carretera, rodeados por zonas agrícolas o ganaderas (aproximadamente de 6 a 90 Km fuera de la Estación de Biología Chamela); se consideraron individuos en bosque continuo, aquellos que estaban dentro de la Estación, así como a los de las playas Negritos y Careyes que se encuentran conectados con la Reserva de la Biosfera Chamela-Cuixmala. Para contabilizar el número de granos de polen en los estigmas, se colectaron los estilos de las flores después de 72 horas de la antesis. Estudios con otras especies de Bombacáceas demuestran que los tubos polínicos tardan en crecer por lo menos 24 h desde el estigma hasta el ovario (Quesada et al, 2001). Los estilos de las flores fueron fijados en FAA (100 ml formaldehído, 500 ml alcohol etílico, 50 ml de ácido acético glacial, 350 ml de agua destilada) y almacenados a temperatura ambiente. Se observaron los ovarios en desarrollo cada semana después del corte de los estilos, hasta la eventual abortión o producción de frutos maduros.

Los estilos colectados, tanto de polinizaciones artificiales como de condiciones naturales, se lavaron con agua destilada para quitar el exceso de FAA; se trataron con NaOH al 8 N para digerir y suavizar el tejido vegetal, aproximadamente durante 48

horas; posteriormente se lavaron vigorosamente con agua destilada, para después ser sumergidos en una solución de anilina azul al 1.2% en K_3PO_4 (tri-básico), almacenándolos por 48 horas en oscuridad (Martin, 1959). Se montaron en portaobjetos, cortándolos en tres porciones, fijándolos con cytoaseal y cubreobjetos. De una muestra de 10 flores, se contabilizó el número de óvulos.

Los estilos tratados se observaron al microscopio de luz epifluorescente (Zeiss, Germany), y se contabilizó el número de granos de polen depositados en el estigma y el número de tubos polínicos reconocidos a lo largo del estilo. Sin embargo, en la mayoría de los casos, fue difícil identificar los tubos polínicos ya que estaban embebidos en el tejido vascular y no fue posible seguirlos. Para establecer la relación entre las cargas de polen y la producción de frutos y su relación con el hábitat de los árboles, se utilizó un análisis de regresión logística (LOGISTIC, SAS, 1995) donde la variable de respuesta fue la producción de frutos, con dos niveles: (1) Flores que produjeron fruto y (2) Flores que abortaron. Con dos variables independientes, hábitat y número de granos de polen.

Para relacionar el número de semillas viables con el número de granos de polen obtenido por polinización natural, se colectaron los frutos de los estilos analizados, y se contaron el número de semillas viables y abortadas. Para determinar la relación entre el número de semillas producidas por fruto y el número de granos de polen encontrados en el estigma se utilizó un análisis de regresión (REG; SAS, 1995)

Para el análisis de vigor de la progenie, se obtuvo una muestra de 15 semillas por fruto de 20 frutos producidos por las flores a las que se les colectó el estilo y que fueron utilizadas en la sección anterior. Las semillas se germinaron en suelo orgánico en bolsas de plástico, colocadas al azar, en una exclusión (bloque de 30 macetas por 10) a temperatura ambiente y riego diario, durante el mes de agosto 2001. Para conocer la relación entre las cargas de polen y el tiempo de germinación y desarrollo se contabilizó el tiempo que tardaron en germinar y el desarrollo de cotiledones. Para obtener crecimiento por ganancia de masa y relacionarlo con las cargas de polen, se cosecharon las plántulas (40 días después de la germinación), pesando en seco las raíces, tallos y las hojas, y se midió el área foliar en cm^2 de cada individuo. Para medir el área foliar se tomaron fotos digitales de cada hoja y se calculó el área de cada una por medio de un analizador de imágenes. (Sigma SCAN PRO, 1999).

Para relacionar los días de germinación con la carga de polen, se utilizó un análisis de ANOVA de dos factores con la carga como variable dependiente con dos niveles: (1) Carga de 45 a 245 granos de polen, (2) Carga de 260 a 637. El criterio utilizado para obtener estas dos categorías está basado en la carga mínima promedio de polen de las flores que en su mayoría abortan (i.e. 45 a 245 granos) o produjeron fruto (i.e. 260 a 637 granos). Se utilizó el mismo modelo y niveles para relacionar los días de expansión de cotiledones. El área foliar como variable dependiente, se relacionó con la carga de polen, con un análisis de ANOVA de dos factores (carga y peso de semilla), pues se observó una distribución normal de los valores.(GLM; SAS, 1995) Para

establecer la relación entre la biomasa y la carga de polen, se usó un análisis de ANOVA de dos factores (carga y peso de semilla) (GLM; SAS, 1995)

Seguimiento de la fenología

Con la finalidad de describir la fenología floral de *Ceiba grandiflora*, 84 individuos ubicados en bosque continuo, fueron visitados cada dos semanas, desde noviembre del 2000 hasta junio del 2001 y 64 individuos de sitios perturbados de enero a junio del 2001. Se contabilizó el número de botones tempranos, botones con los pétalos poco expuestos y los que abrirían en uno o dos días, así como los que abrirían esa noche; También el número de flores abiertas esa noche, número de cáliz con estilos, frutos iniciados y maduros, además de los abiertos.

RESULTADOS

Polinización natural y sistema de apareamiento.

De las flores polinizadas artificialmente, el 7.1% de las que recibieron la mezcla de 5 donadores produjeron frutos; por su parte las cruizas con un donador sólo el 16.6 % produjeron fruto y sólo el 3.12% de las flores auto polinizadas (Cuadro 1) Por otro lado, se comprobó la viabilidad del polen de los donadores pues el 98% se tiñeron con acetocarmina y 69% mostraron germinación y crecimiento de tubo polínico *in vitro*.

Cuadro 1. Comparación de éxito reproductivo entre cruizas artificiales y polinización natural de *Celba grandiflora*.

Tratamiento	Cargas de polen	Hora de polinización	No. flores	Producción de frutos	Semillas por fruto
Auto polinización	100%	7:30-9:30PM	32	3.1%	66
Cruizas con un donador	100%	7:30-9:30PM	24	16.7 %	41
Cruizas con 5 donadores	1/5 parte de cada donador	7:30-9:30PM	42	7.1 %	37
Condiciones naturales	?	?	Aislados 131 Bosque 37	0.8 % 1.3%	53 56

En los estilos polinizados naturalmente se observo de febrero a mayo 2001, además de polen de *Ceiba*, la presencia de polen de *Stenocereus standleyi*, *Cleome spinosa* o *Crataeva*, *Cucurbita sp.* y *Agave colimana*, además de 2 morfoespecies. El tamaño promedio del polen de *C. grandiflora* (Fig. 1) fue de 77 μ , con un rango entre 46 μ y 93 μ . Se observaron tricomas estrellado, para adherencia en el estigma (Fig.2 y 3), así como estomas a lo largo del estilo.

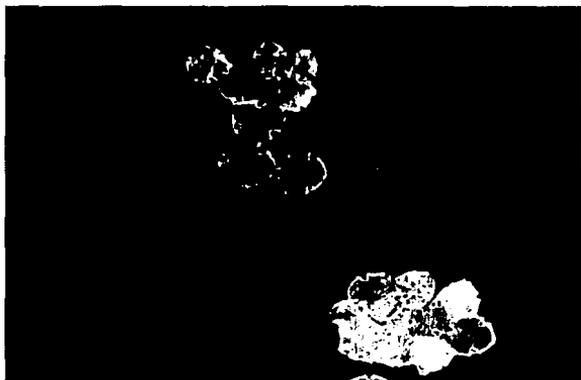


Fig.1. Polen de *Ceiba grandiflora* teñidos con la técnica de Martín (1959), observados en microscopio de luz epifluorescente (Zeiss) (objetivo 40x)

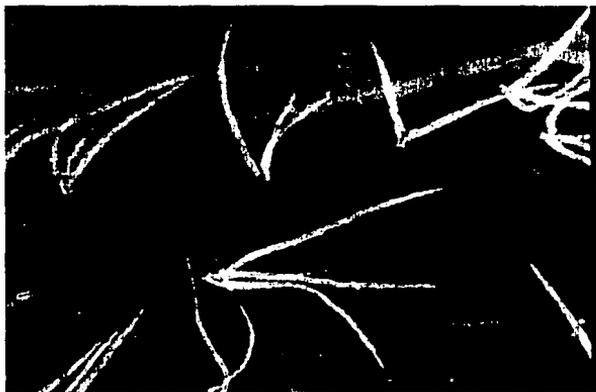


Fig.2. Tricomas del estilo de *C. grandiflora* teñidos con la técnica de Martín (1959), observados en microscopio de luz epifluorescente (Zeiss) (objetivo 40x)

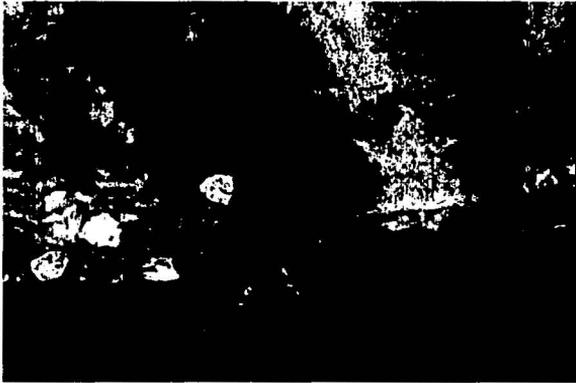


Fig.3. Polen de *C. grandiflora* inmersos en el estigma, teñidos con la técnica de Martín (1959) (Observados en un microscopio de luz epifluorescente (Zeiss), (objetivo 40x)

En condiciones naturales, el 1.3% de las flores en bosque continuo produjeron frutos y solo el 0.8% de las flores de árboles de sitios perturbados produjeron frutos.

Polinización natural y vigor de la progenie

La probabilidad que una flor produzca fruto esta determinada significativamente, por el número de granos de polen sobre el estigma (wald = 7.47; $g1 = 1$; $P < 0.0001$) El promedio del número de granos de polen de las flores que abortaron, como de las que se desarrollaron hasta fruto, se muestran en la Fig.4, donde se observa que las flores del bosque reciben un promedio más alto que las flores de árboles de sitios perturbados, tanto para la producción de frutos como para las que abortan.

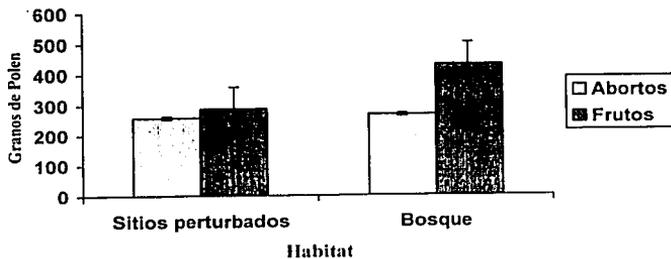


Fig.4. Promedios de granos de polen para las categorías de producción de frutos y hábitat.

Existe una relación positiva entre el número de granos de polen y el número de semillas en los frutos maduros (Fig. 5)

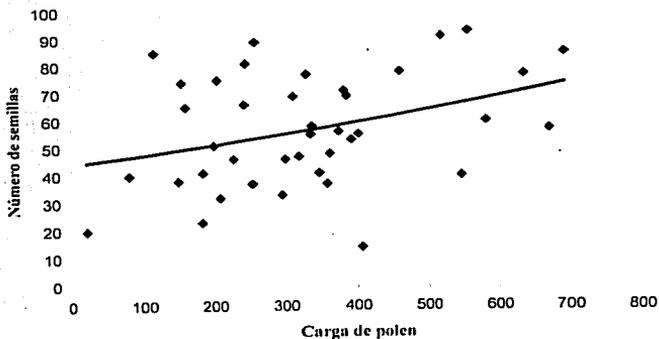
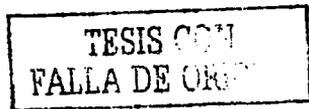


Fig.5. Relación de las cargas de polen y el número de semillas producidas por fruto.
 $[Semillas = 40.4 + 0.0513 (\text{granos de polen}) \quad r^2 = 0.11; \quad P < 0.015]$



En el análisis de vigor, se observa un decaimiento, en el número de semillas que logran desarrollarse de semilla a plántula en 40 días (Fig. 6).

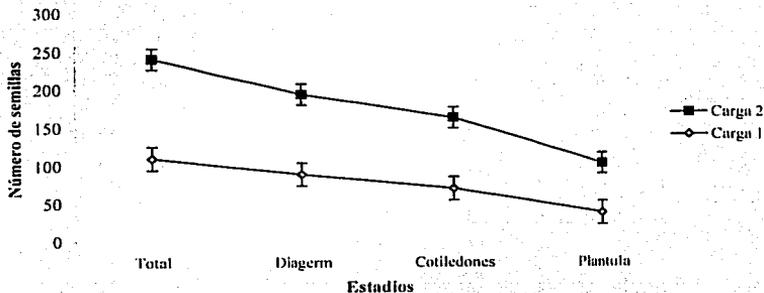


Fig. 6. Sobrevivencia de las semillas de *Celba grandiflora*; la carga 1 corresponde a 45-245 granos de polen y la carga 2 a 260 a 637.

El tiempo de germinación de las semillas no está relacionado con la carga de polen, ni con el peso de la semilla ($F_{2,101} = 0.00$; $P = 0.95$). El tiempo de expansión de los cotiledones, tampoco fue afectado por las diferentes cargas de polen en los estigmas. ($F_{2,101} = 0.58$; $P = 0.0067$) En contraste, las cargas de polen sí tuvieron un efecto significativo sobre el crecimiento en biomasa total ($F_{2,101} = 7.67$; $P = < 0.0001$). En la carga 1 (45 a 245 granos) produce una biomasa total baja (promedio 0.45g) en comparación con la carga 2 (260 a 637), donde el peso promedio es de 0.55g.

En el caso del área foliar, también se observó efecto significativo, de la carga de polen ($F = 2.91$; $P = < 0.0001$). Con la carga 1 el área foliar fue menor (promedio 61.17 cm^2) que en la carga 2 (promedio 73.65 cm^2)

Fenología.

La producción de frutos, fue calculada apartir del número de flores y frutos observados ($(\text{Frutos} / \text{Flores}) 100$). Con estos datos se hizo una estimación del número de botones, flores y frutos, por individuo, graficando en el eje de las x el número de días y en el eje de las y el número de flores, se contabilizó el número de flores, frutos y botones cada 15 días y se unieron los puntos, formando un polígono, del cual se calculó el área bajo la curva. Además se conoce un pico de floración primario, en el mes de diciembre.

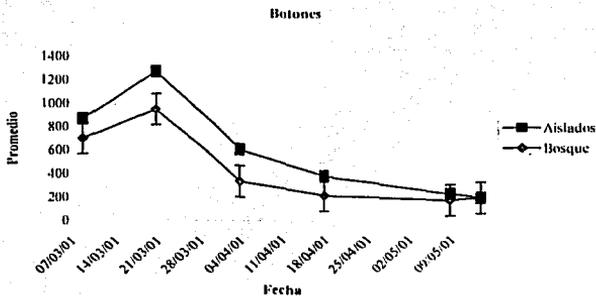


Fig. 7. Fenología de botones de individuos aislados y de bosque continuo.

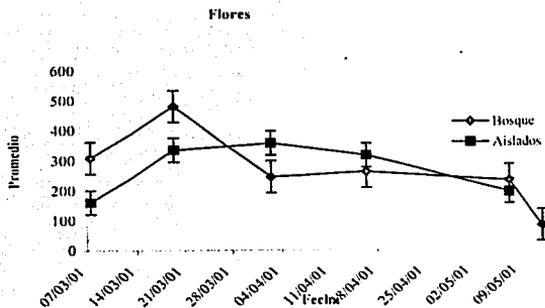


Fig. 8. Fenología de las flores de individuos aislados y de bosque continuo.

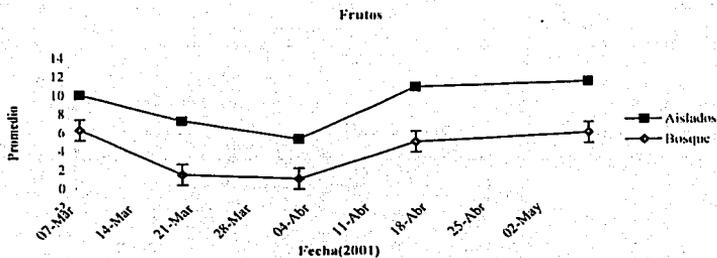


Fig. 9. Fenología de los frutos de individuos aislados y de bosque continuo.

En las Figs. 7-9, se pueden observar los picos de producción de botones, flores y frutos de *C. grandiflora*, entre los meses de marzo y mayo 2001. Los frutos tardan entre 4 y 6 semanas en desarrollarse, por lo que su máxima producción se da en mayo y decrece en el mes de junio.

DISCUSIÓN

Este trabajo sugiere que el sistema de apareamiento de *Ceiba grandiflora* es predominantemente por medio de exocruzamiento. Así mismo, que existe una diferencia entre las cargas de polen que reciben individuos en ambientes perturbados y en bosque continuo, este último recibe cargas más grandes de polen (>430 granos de polen para producir fruto) en comparación con lo observado en habitats aislados (287 granos de polen para producir fruto). También se encontró una relación positiva ($r^2=0.11$; $P < 0.015$) entre el número de granos de polen con el número de semillas producidas por fruto. Además, los resultados sugieren que existe competencia de polen en *Ceiba grandiflora* ya que la cantidad de polen esta positivamente relacionada con el desempeño de la progenie, en particular su área foliar y la biomasa en peso seco

Los resultados de este trabajo indican que las cruzas con un solo donador, tuvieron un alto porcentaje de producción de frutos, seguidas por las de 5 donadores y el tratamiento con polen propio fue el de menor producción de frutos. En otras especies tropicales como *Paquira quinata* y *Ceiba pentandra* (Gribbel et al, 1999; Quesada et al, 2001) se distingue este mismo mecanismo, en el cual tanto el polen propio y como el de otros individuos pueden ser depositados en el estigma y algunas veces crecer a lo largo del estilo, pero se observó, que el que obtiene mayor porcentaje de producción de frutos es cuando existe presencia de polen de otros individuos. Esto se puede deber, a que la interacción del polen incompatible y compatible puede afectar el comportamiento del polen compatible y su habilidad para producir, además de factores que pueden estar

asociados con la "elección" que hace la madre dependiendo el micro gametófito (Gribelet et al, 1999; Quesada et al, 2001).

Utilizando la misma comparación con *C. pentandra* y *P. quinata*, en *C. grandiflora* se producen más flores que frutos, en este caso solo el 1.3% en bosque continuo y el 0.8% en condiciones perturbadas, lo que podría deberse a varios factores. El primer factor puede ser la intensidad de los polinizadores que se acercan a individuos con un número grande de flores, lo que hace difícil que todas las flores sean polinizadas y fertilizadas, las no fertilizadas probablemente sean abortadas.

En el caso de las condiciones perturbadas, el recurso polen esta más limitado que en condiciones de bosque continuo, ya que en el primer caso reciben menos de 287 granos de polen para producir frutos y en el segundo caso más de 430 granos de polen. (Lloyd, 1980; Lee, 1988). Adicionalmente, la actividad de los polinizadores afecta a nivel genético a los individuos, ya que en condiciones de bosque continuo puede existir mayor probabilidad de fertilización con polen exocruzado que en condiciones perturbadas y como se mencionó esta especie es principalmente exogámica. por lo que se infiere que pueden "elegirse" los frutos con un número alto de semillas provenientes de padres lejanamente emparentados.

Por último, el hecho de que los dos porcentajes de producción de frutos sean bajos, puede estar implicados aspectos fisiológicos, lo que hace a los individuos tener

limitaciones de recursos para todas las flores fertilizadas provocando una mayor aborción en general. (Stephenson et al, 1995)

En *Ceiba grandiflora*, se observó una relación positiva en el tamaño de las cargas con el número de semillas. Esta relación entre cargas y el número de semillas puede deberse a que cuando hay cargas de polen grandes estimula la competencia de polen, logrando fertilizar mayor cantidad de óvulos. (Lee, 1988 en Lovett Doust y Lovett Doust, 1988; Stephenson et al, 1988; Shaanker y Ganeshaiah, en Hoch y Stephenson, 1995)

La relación positiva entre las cargas de polen y el vigor de la progenie, se determinó para diferentes parámetros de desempeño de la progenie. Así, mientras que en el peso de la semilla, el tiempo de germinación y expansión de cotiledones no hay una relación significativa con las cargas de polen, en las medidas de área foliar y biomasa total (peso seco) se observó un efecto significativo. En los primeros casos podría deberse a que el peso de la semilla y, por consiguiente, los primeros recursos que requiere una planta para germinar, se determinan por la calidad y la cantidad de recursos disponibles en la madre y no estar necesariamente, determinado por el microgametófito que las haya fertilizado. (Stephenson 1984; Stephenson, 1995; Lee, 1988; Schlichting et al, 1990)

Las plántulas provenientes de semillas producidas por cargas grandes de polen desarrollan una biomasa y área foliar mayor. Este resultado concuerda con varios trabajos donde se describe que cuando hay menor cantidad de polen en los estigmas hay menor competencia y por lo tanto la progenie producida es menos vigorosa y viceversa.

(Mulcahy, 1979; Stephenson et al., 1986; Schlichting et al, 1987; Winsor et al., 1987; Stephenson et al, 1988) esto se debe, a que se coincide en algunas expresiones de los genes en los microgametófitos y esporofitos por lo que en la competencia los que lograron fertilizar, son los de mayores ventajas genéticas. (Mulcahy, 1979; Casper, 1988; Quesada et al. 1991; Rocha y Stephenson, 1991)

En general, el número de semillas que logran germinar es mayor de la que logran desarrollarse hasta planta en 40 días. Esta condición se puede asociar al hecho de que en la etapa de germinación el individuo se encuentra más vulnerable a las condiciones externas (agua disponible, calidad del sustrato, invasión de parásitos, temperatura, etc.) por lo que es difícil que llegue a germinar, expandir cotiledones y a su vez hojas por lo que se reduce el número de semillas conforme pasa el tiempo expuesto a las condiciones del medio ambiente. (Harper, 1977; Lee, 1988)

La importancia de este trabajo, más que conocer algunos aspectos de la biología reproductiva de *C. grandiflora*, es mostrar que las relaciones ecológicas entre polinizadores y las plantas, pueden tener efectos evolutivos, ya que al ser preferentemente exogámica depende de la actividad de sus polinizadores para mantener su variación genética y por lo tanto mayor probabilidad de adaptarse a diversos habitats.

Además de que al comparar los efectos que tiene un hábitat aislado y uno natural sobre la biología reproductiva (específicamente deposición de polen), ayuda a establecer las probabilidades de éxito reproductivo y de colonización de una población, como en el

caso de *C. grandiflora* la que sirve como modelo para conocer la respuesta de esta y otras poblaciones a la fragmentación del bosque.

CONCLUSIONES

- *Ceiba grandiflora* es una especie predominantemente exogámica.
- Existen diferencias en las cargas de polen, entre individuos de sitios perturbados y continuos.
- El hábitat bosque, recibe mayor cantidad de polen, que el hábitat perturbado.
- Existe diferencia entre la producción de frutos entre individuos de sitios perturbados y continuos.
- El vigor de la progenie, se ve afectado por las cargas de polen, en crecimiento del área foliar y en el incremento de biomasa total.

SUGERENCIAS

Para conocer con mayor profundidad el sistema de apareamiento de la especie, deben realizarse mas repeticiones de los tratamientos. Así como, realizarlos en los dos picos de floración de la especie. Además de contrarrestar con datos moleculares.

Realizar experimentos donde se pueda relacionar a detalle las cargas de polen con el vigor en otras etapas.

LITERATURA CITADA.

Avendaño, R. S. 1998. **Bombacaceae**. Flora de Veracruz. Instituto de Ecología, Xalapa, Veracruz, México. Fascículo 107.

Baum, D.A. 1995. **The comparative pollination and floral Biology of Baobabs (*Adansonia-Bombacaceae*)**. *Annals Mo. Bot. Gard.* 82:322-348

Bawa, K. S. y C. J. Webb. 1984. **Flower, fruit and seed abortion in tropical forest trees: Implications for the evolution of paternal and maternal reproductive patterns**. *Amer. J. Bot.* 71(2): 736-751

Bawa, K.S., D.R Perry y J.H. Beach. 1985a. **Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees. I. Sexual systems and incompatibility mechanisms**. *Amer. J. Bot.* 72(3): 331-338.

Bawa, K.S., S.H. Bullock, D.R Perry, R.E. Coville y M.H. Grayum. 1985b. **Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees. II. Pollination systems**. *Amer. J. Bot.* 72(3): 346-356.

Bertin, R. 1982. **Paternity and fruit production in trumpet creeper (*Campis radicans*)** *Amer. Naturalist* 119: 694-709.

Bertin, R. y M. Sullivan. 1988. **Pollen interference and cryptic self-fertility in *Campsis radicans***. Amer. J. Bot. 75 (3):1140-1147.

Bookman, S.S. 1983. **Costs and benefits of flower abscission and fruit abortion in *Asclepias speciosa***. Ecology 64: 264-273.

Brewbaker, J.L. 1957. **Pollen cytology and self-incompatibility in plants**. J. Heredity. 48: 271-277

Brewbaker, J.L. y B.H. Kwack. 1963. **The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth**. Amer. J. Bot. 50(9): 747-858

Brown, E. y S. Kephart. 1999. **Variability in pollen load: Implications for reproduction and seedling vigor in a rare plant, *Silene douglasii* var. *orario***. Int. J. Plant. Sci. 160(6): 1145-1152

Bullock, S.H. 1986. **Climate of Chamela, Jalisco and trends in the south coastal region of México**. Arch. Met. Geograph. Biocl. Ser.B. 36: 297-316

Bullock, S.H., H.A. Mooney y E. Medina. 1995. **Seasonally dry tropical forests**. U.P. Cambridge.

Cascante-Marín, A. 1997. **La familia Bombacaceae (Malvales) en Costa Rica.**

Brenesia 47-48:17-36.

Casper, B.B. 1988. **Evidence for selective embryo abortion in *Crypantha flava*.** Amer.

Naturalist. 132: 318-326.

Charlesworth, D. 1988. **A comment on the evidence for pollen competition in plants**

its relationship to progeny fitness. Amer. Naturalist. 132: 298-302

Cruzan, M.B y S. C.H. Barrett. 1996. **Postpollination mechanisms influencing mating**

patterns and fecundity: an example from *Eichornia paniculata*. Amer. Naturalist.

147: 576-598.

Facgri, K y L. van der Pijl. 1971. **The principles of pollination ecology.** Pergamon

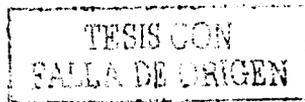
Press. 2ª edición. 285p.

Ganeshaiah, K.N., R. Uma Shaanker y K.S Bawa (eds). 2001. **Tropical ecosystems.**

Structure, Diversity and human welfare. Oxford y IBH Publishing Co. Pvt. Ltd. 785p.

Garwood, C.N y C. C. Horvitz. 1985. **Factors limiting fruit and seed production of**

temperate shrub, *Staphylea trifolia*. Amer. J. Bot. 72(3): 453-466



Gribel, R., P.E Gibbs y A.L. Quicroz. 1999. **Flowering phenology and pollination biology of *Ceiba pentandra* (Bombacaceae) in Central Amazonia.** J. Tropical Ecology 13:217-263

Hamrick, J.L., y D.A. Murawski. 1990. **The breeding structure of tropical tree populations.** Plant Species Biology 5:157-165.

Harper, J.L. 1977. **Population biology of plants.** Academic Press, Londres.

Hoch, P.C y A.G. Stephenson. 1995. **Experimental and Molecular approaches to plant Biosystematics.** Mo. Bot. Gard. Vol.53. 383 p.

Kerns, C.A. y D.W. Inouye. 1993. **Techniques for Pollination Biologists.** University Press of Colorado. 579 p.

Koptur, S. 1984. **Outcrossing and pollinator limitation of fruit set: breeding systems of Neotropical Inga trees (Fabaceae: Mimosoidaceae)** Evolution 38(5): 1130-1143

Kress, W.J. y J.H. Beach. 1994. **Flowering plant reproductive systems.** En *La Selva: Ecology and natural history of a neotropical rain forest.* L.A. McDade, K.S. Bawa, H.A. Hespenheide y G.S. Hartshorn. (eds.). The University of Chicago Press, Chicago. 161-182

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Lee, T.D. 1988. **Patterns of fruit and seed production.** En **Plant Reproductive Ecology.** Lovett Doust, J. y L. Lovett Doust. (eds). Oxford University Press. 179 p.

Levin, D. A. 1996. **The evolutionary significance of pseudo-fertility.** Amer. Naturalist. 148: 321-332.

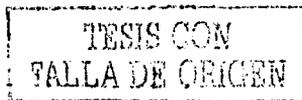
Lloyd, D.G. 1980. **Sexual strategies in plants I. An hypothesis of serial adjustment of maternal investment during one reproductive session.** New Phytol. 86: 69-80.

Lloyd, D.G. 1992. **Self- and cross- fertilization in plants II. The selection of self-fertilization.** Int. J. Plants 153: 358-369.

Marshall, D. L., J.J. Avritt, M. Shaner y R.L., Sauders. 2000. **Effects of pollen load size and composition on pollen donor performance in wild radish, *Raphanus sativus* (Brassicaceae).** Amer. J. Bot. 87(4): 1619-1627

Martin, F.W. 1959. **Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence.** Stain Techniques 34 : 125-128

Miranda, F. y E. Hernández-X. 1963. **Los tipos de vegetación de México y su clasificación.** Bol. Soc. Bot. México, 28: 29-179



- Mitchell, R.J. 1997. **Effects of pollination intensity on *Lesquerella fendleri* seed set variation among plants.** *Oecologia* 109: 282-288
- Molano-Flores, B., S.D. Hendrix y S.B. Heard. 1999. **The effect of population size on stigma pollen load, fruit set and seed set in *Allium stellatum* Ker. (Liliaceae).** *Int. J. Plant. Sci.* 169(4):753-757
- Montalvo, A. 1992. **Relative success of self and outcross pollen comparing mixed and single donor pollinations in *Aquilegia caerulea*.** *Evolution* 46(4):1181-1198
- Mulcahy, D.L. 1979. **The rise of the angiosperms: a geneecological factor.** *Science* 206:20-23.
- Mulcahy, D.L., G.B. Mulcahy y E. Ottaviano. 1978. **Further evidence that gametophic selection modifies the genetic quality of the sporophyte.** *Société Botanique Française, Actualités Botaniques* 1-2:57-60
- Mulcahy, D.L. y G.B. Mulcahy. 1987. **The effects of pollen competition.** *Amer. Scientist* 75:44-50.
- Murawski, D.A., y J.L. Hamrick. 1991. **The effect of density of flowering individuals on the mating system of nine tropical species.** *Heredity* 67:167-174.

Murawski, D.A., y J.L. Hamrick. 1992a. **The mating system of *Cavanillesia platanifolia* under extremes of flowering-tree density: a test of predictions.**

Biotropica 24:99-101.

Murawski, D.A., y J.L. Hamrick. 1992b. **Mating system and phenology of *Ceiba pentandra* (Bombacaceae) in central Panama.** J. Heredity 83:401-404.

Nakamura, R.R. 1988. **Seed abortion and seed size variation within fruits of *Phaseolus vulgaris*: pollen donors y resource limitation effects.** Amer. J. Bot. 75(7): 1003-1010.

Niesenbaum, R.A. 1999. **The effects of pollen load size and donor diversity on pollen performance, selective abortion, and progeny vigor in *Mirabilis jalapa*.** Amer. J. Bot. 86(2): 261-268

O-Salazar, K.A y R.C, R-Fernández. 2000. **Cambio en la abundancia y la utilización de recursos florales a través de un año en los murciélagos nectarívoros de la región en Chamela, Jalisco.** Tesis Lic. UNAM, ENEP Iztacala. 45p.

Plitmann, U. 1993. **Pollen tube attrition as related to breeding system in Brassicaceae.** Plant Systematics and Evolution 188:65-72.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ESTADO

DE LA UNIVERSIDAD

Quesada, M., C.D. Schlichting, J.A. Winsor y A.G. Stephenson. 1991. **Effects of genotype on pollen performance in *Cucurbita pepo***. Sexual Pl. Reproduction 4:208-214.

Quesada, M., E. J. Fuchs y J. A. Lobo. 2001. **Pollen load size, reproductive success and progeny kinship of natural pollinated flowers of tropical dry forest tree, *Pachira quinata* (Bombacaceae)**. Amer. J. Bot. 88(11):2113-2118.

Rocha, O. J. y A.G. Stephenson. 1991. **Effects of nonrandom seed abortion on progeny performance in *Phaseolus coccineus* L.** Evolution 45:1198-1208.

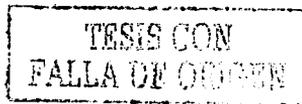
Rzedowski, J. 1986. **Vegetación de México**. Ed. Limusa. México. 432p.

SAS. 1995. **Logistic regression**. Version 6. Ed. 1. SAS Institute Inc.

Schlinthing, C.D., A.G. Stephenson, L.E. Davis y J.A. Winsor. 1987. **Pollen competition and offspring variance**. Evol. Trends Pl. 1: 35-39.

Schlichting, C.D., I. Small, A.G. Stephenson y J.A. Winsor. 1990. **Pollen loads and progeny vigor: the next generation**. Evolution. 44: 1358-1372

SigmaScan Pro. 1999. **SigmaScan Pro**. Version 5. Microsoft Corp.



Snow, A.A. 1982. **Pollination intensity and potential seed set in *Plassiflora vitifolia*.**

Oecologia 55:231-237

Standley, 1963. **Revisión de árboles y arbustos de México.**

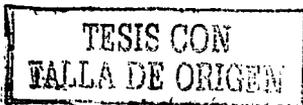
Stephenson, A.G. 1984. **The regulation of maternal investment in an indeterminate flowering plant (*Lotus corniculatus*).** Ecology 65: 113-121.

Stephenson, A.G. y J.A. Winsor. 1986. ***Lotus corniculatus* selectively aborts fruits resulting from self pollination.** Lotus Newslett 16:9-10.

Stephenson, A.G., B. Devlin y J.B. Horton. 1988. **The effects of seed number and prior fruit production in *Cucurbita pepo* (zucchini squash).** Ann. Bot. 62: 653-661.

Stephenson, A.G., M. Quesada, C.D. Schlichting y J.A. Winsor. 1995. **Consequences in variation in pollen size.** En C. Hosch y A.G. Stephenson (eds) **Experimental and molecular approaches to plant biosystematics.** 233-244. Mo. Bot. Gard., Saint Louis, Missouri.

Stephenson, A.G., S.V. Good y D.W. Vogler. 2000. **Interrelationships among inbreeding depression, plasticity in the self-incompatibility system, and the mating system of *Campanula rapunculoides* L (Campanulaceae).** Ann. Bot. 85: 211-219.



Stone, J.L., J.D. Thompson y S.J. Dent-Acosta. 1995. **Assement of pollen viability in hand-pollination experiments: A review.** Amer. J. Bot. 82(9): 1186-1197.

Toxopeus, H.J. 1950. **Kapok.** En *Die Landbouw in de Indische Archipel*. Vol. 3. C.J.J. van Hall, y C. van de Koppel. (eds). The Hague.

Uma Shaanker, R. y K. N. Ganeshaiah. 1990. **Pollen grain deposition patterns and stigma strategies in regulating seed number per pod in multi-ovulated species.** En K.S. Bawa y M. Hadley (eds). **Reproductive ecology of forest plants.** 165-178. Man and the Biosphere Series, Vol 7. Academic Press. New York.

Winsor, J. A., L. E. Davis y A.G. Stephenson. 1987. **The relationship between pollen load and fruit maturation and the effect of pollen load on offspring vigor in *Cucurbita pepo*.** Amer. Naturalist 129:643-656.

Winsor, J.A., S. Peretz y A.G. Stephenson. 2000. **Pollen competition in a natural population of *Cucurbita foetidissima* (Cucurbitaceae).** Amer. J. Bot. 87(4):527-532.

