

11281



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMEDICAS
INSTITUTO DE ECOLOGIA

LA EVOLUCION DE LOS AJUSTES FACULTATIVOS
EN LA PROPORCION SEXUAL EN PLANTAS:
UN ESTUDIO CON *Begonia gracilis*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS
P R E S E N T A :
SERGIO LOPEZ MENDOZA

DIRECTOR DE TESIS: DR. CESAR A. DOMINGUEZ

MEXICO, D. F.

JULIO DE 2004.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

128

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

Contenido

Dedicatoria

Agradecimientos

Introducción general

Capítulo 1. Una revisión sobre la evolución de las proporciones sexuales en plantas con flores

Capítulo 2. Ajustes facultativos de la proporción sexual en la hierba perenne *Begonia gracilis*

Capítulo 3. Consecuencias de los ajustes facultativos en la adecuación masculina y femenina de *Begonia gracilis*

Capítulo 4. Evaluación de los costos de producir flores masculinas y femeninas en *Begonia gracilis*

Discusión general y conclusiones

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Scaylo López Madroza

FECHA: 18 de junio de 2004

FIRMA: Scaylo López Madroza

Dedicatoria

A mi Papá y mi abuela Timo

Para Lulú y Diego

*“Produce una inmensa tristeza pensar
que la naturaleza habla mientras
el género humano no escucha.”*

(Victor Hugo)

Agradecimientos

A mi director de tesis César A. Domínguez, por su valiosa asesoría en los momentos críticos y su amistad en todo momento.

A la UNAM por ser el sitio donde he aprendido valiosas lecciones, al CONACyT y la DGPA por el apoyo económico que hizo posible la realización de esta tesis, así como a Carolina Espinoza que siempre me ayudó con los tramites.

A los miembros de mi comité tutorial Hugh Drummond y Juan Pedro Laclette por sus observaciones y contribuciones durante el desarrollo de esta tesis.

A los sinodales César Domínguez, Martín Aluja, Hugh Drummond, Carlos Cordero, Rogelio Macías, Tere Valverde y Juan Núñez Farfán que revisaron meticulosamente este escrito y cuyas correcciones han contribuido a que este documento tenga pies y cabeza. Comparto con ellos los aciertos de mi tesis y asumo completamente la responsabilidad de los errores.

A mis compañeros del posgrado, por las horas de salón compartidas y la inolvidable experiencia durante el curso de campo: Ale, Ana Cecilia, Alicia, Lalo, Juan, Toño, Pablo, Alejandro, Noé, Derick y Ricardo.

A todos mis compañeros en el laboratorio de interacción planta animal, en especial quiero mencionar al Dr. Rodolfo Dirzo por su amistad y apoyo en los momentos críticos, a los técnicos Raúl Iván Martínez y Rubén Pérez Ishiwara quienes me facilitaron material tiempo y espacio para realizar mi trabajo.

A mis amigos Quetzal, Rodrigo, Juan Jaime, Lalo Cuevas, César Abarca, David y Javier por lo que me enseñan fuera de la UNAM.

A Diego y Lulú por su amor, paciencia y los momentos felices.

A mi Mamá y mis hermanos por su apoyo incondicional

Al resto de la familia porque siempre están al lado de uno.

Gracias

INTRODUCCIÓN GENERAL

INTRODUCCIÓN GENERAL

La teoría de asignación sexual es una rama muy importante de la teoría de historias de vida (Sterns 1992) y uno de los aspectos más interesantes de la reproducción sexual (Michiels *et al.* 1999). Esta teoría analiza los patrones de asignación de recursos hacia las funciones masculina y femenina en organismos dioicos (Fisher 1930, Hamilton 1967, Charnov 1982), hermafroditas secuenciales (Ghiselin 1969, Charnov 1982) y hermafroditas simultáneos (Charnov 1979, 1982, Charlesworth y Charlesworth 1981, Lloyd 1982). La teoría de asignación sexual ha estimulado un gran número de estudios empíricos. Sin embargo, revisiones recientes concluyen que hace falta más evidencia experimental para determinar qué factores son los que influyen en los cambios en la asignación sexual (Godfray y Werren 1996, Campbell 2000, Schärer y Ladurner 2003). Es decir, cuáles son los factores o estímulos que provocan que un individuo proporcione más recursos hacia un sexo en detrimento del otro sexo. Existe una tendencia hacia realizar estudios con organismos dioicos, particularmente en animales, mientras que hay relativamente menos trabajos con especies hermafroditas, con excepción de algunos estudios en plantas (Schärer y Ladurner 2003). Por lo anterior, resulta interesante poner a prueba las predicciones derivadas de la teoría de asignación en organismos como las plantas con flores, donde el 80% de las especies son cosexuales (Richards 1990).

El propósito de esta tesis fue evaluar las suposiciones y predicciones de la teoría de asignación sexual desarrollada por E. L. Charnov (1982). En este trabajo se estudió el fenómeno del ajuste facultativo en la proporción sexual y las consecuencias de este fenómeno sobre el éxito reproductivo de *Begonia gracilis* H.B.K., una hierba monoica perenne que crece en la reserva ecológica del Pedregal de San Ángel, México. *Begonia*

gracilis produce flores unisexuales y las inflorescencias generalmente están compuestas por un par de flores de cada sexo de color rosa y sin aroma al olfato humano (Castillo 1999). El fruto es una cápsula trilocular, dehiscente. Las semillas son pequeñas y numerosas, y se dispersan pasivamente alrededor de la planta madre, lo que propicia una distribución agregada (Castillo 1999). Las flores masculinas son más longevas que las femeninas y aparecen primero en la temporada de floración (entre agosto y octubre). Ambos tipos de flores (masculina y femenina) son más viables en el día de antesis y la viabilidad disminuye conforme van envejeciendo (Castillo 1999). A partir de que se comienzan a producir las primeras flores, las plantas continúan creciendo y produciendo un par de flores por cada nudo. El pico de floración (mayor número de flores por unidad de área dentro de la temporada reproductiva) se alcanza alrededor del día 45, a partir de que aparecen las primeras flores (Castillo 1999). Las flores hembra de *B. gracilis* no presentan recompensa para los polinizadores, mientras que las flores macho ofrecen polen. Lo anterior promueve que las flores femeninas traten de mimetizar a las masculinas para ser visitadas por los polinizadores. Este tipo de polinización por engaño está mediada por el mimetismo floral entre las flores de cada sexo (Castillo 1999, Castillo *et al.* 2002, Caballero 2002). Por otra parte, la proporción sexual (número de flores masculinas con respecto a la suma de flores masculinas y femeninas) comienza muy sesgada hacia los machos y conforme avanza la temporada de floración aumenta la proporción de flores femeninas. Las características anteriores permiten que *B. gracilis* sea un sistema experimental en el que se pueden realizar manipulaciones al inicio de la temporada de floración y obtener resultados al final de la misma.

Esta tesis se divide en cuatro secciones. En el primer capítulo se presenta una revisión de la literatura sobre la proporción y la asignación sexual en plantas con flores.

Esta revisión divide los estudios donde se ha encontrado una proporción sexual estable (en términos evolutivos), de los trabajos donde se han reportado ajustes sobre la proporción sexual a corto plazo (respuestas ecológicas o proximales). Asimismo, se discuten los modelos y las hipótesis que se desprenden de la teoría de asignación sexual a la luz de la evidencia encontrada en los estudios revisados. La literatura revisada abarca desde el año de 1980, fecha en que se publica el trabajo seminal de Freeman *et al.* (1980), hasta la actualidad (2003). El segundo capítulo aborda el sistema de *B. gracilis* y trata sobre los ajustes en la proporción sexual como respuesta a la intensidad de la polinización, que representa la posibilidad de que las plantas realicen ajustes de corto plazo en respuesta al ambiente social, de manera similar a los ajustes que realizan los animales. El capítulo tres aborda el tema de las consecuencias de ajustar la proporción sexual en esta misma especie. Con este fin se simulan dos escenarios contrastantes: poblaciones artificiales sesgadas hacia los machos y hacia las hembras; en estos escenarios se evalúa el éxito reproductivo por la vía masculina (medido a través del flujo de marcas de polvos fluorescentes), el éxito reproductivo por la vía femenina (producción de semillas) y el éxito reproductivo total (masculino + femenino). El capítulo cuatro aborda el problema de estimar los costos de producir flores macho y hembra en *B. gracilis*. El enfoque de reasignación utilizado en este experimento permite evaluar los costos con base en los recursos que la planta asigna a la reproducción por cada vía y al crecimiento. Finalmente, se discuten algunas de las ideas sobre la teoría de asignación sexual en relación con datos de campo y la información bibliográfica y se plantean conclusiones en relación con los resultados de los experimentos realizados a la luz de la teoría actual.

Referencias

- Caballero, H. 2002. **El papel del mimetismo floral en la polinización por engaño: Un estudio experimental en *Begonia gracilis* HBK (Begoniaceae)**. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Campbell, DR. 2000. Experimental test of sex-allocation in plants. *Trends in Ecology and Evolution*, 15 (6): 227-232.
- Castillo, RA. 1999. **Selección dependiente de la frecuencia en plantas: Polinización por engaño en *Begonia gracilis* HBK (Begoniaceae)**. Tesis doctoral. Instituto de Ecología UACPyP-CCH, UNAM. México.
- Castillo, R., Cordero, C. y Dominguez, CA. 2002. Are reward polymorphisms subject to frequency- and density-dependent selection? Evidence from a monoecious species pollinated by deceit. *Journal of Evolutionary Biology* 15: 544-552.
- Charlesworth, D y Charlesworth, B. 1981. Allocation of resources to male and female functions. *Biological Journal of the Linnean Society*, 15: 57-74.
- Charnov, EL. 1979. Simultaneous hermaphroditism and sexual selection. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 76: 2480-2484.
- Charnov, EL. 1982. **The Theory of Sex Allocation**. New Jersey, Princenton University Press.
- Fisher, RA. 1930. **The Genetical Theory of Natural Selection**. Oxford, Clarendo.
- Freeman, DC; Harper, KT y Charnov, EL. 1980. Sex changes in plants: Old and new observations and new hypotheses. *Oecologia* 47: 222-232.

- Ghiselin, MT. 1969. The evolution of hermaphroditism among animals. *Quarterly Review of Biology*, 44: 189-208.
- Godfray, HCJ y Werren, JH. 1996. Recent developments in sex ratio studies. *Trends in Ecology and Evolution*, 11 (1): 59-63.
- Hamilton, WD. 1967. Extraordinary sex ratios. *Science*, 156: 477-488.
- Lloyd, DG. 1982. Selection of combined versus separate sexes in seed plants. *American Naturalist*, 120: 571-585.
- Michiels, NK; Beukeboom, LW; Greeff, JM y Pemberton, AJ. 1999. Individual control over reproduction: an underestimated element in the maintenance of sex? *Journal of Evolutionary Biology*, 12: 1036-1039.
- Richards, A. J. 1990. **Plant Breeding Systems**. Cambridge University Press, Cambridge.
- Sterns, SC. 1992. **The Evolution of Life Histories**. Oxford University Press.

Capítulo 1

UNA REVISIÓN SOBRE LA EVOLUCIÓN DE LA PROPORCIONES SEXUALES EN PLANTAS CON FLORES

AJUSTES FACULTATIVOS EN PLANTAS: UNA REVISIÓN SOBRE LA EVOLUCIÓN DE LAS PROPORCIONES SEXUALES EN PLANTAS CON FLORES

1.- Diversidad de sistemas reproductivos en plantas con flores.

El sexo en las plantas puede describirse en términos de la distribución de los órganos sexuales a diferentes niveles (Tabla 1). A nivel de flores están las hermafroditas o perfectas, que contienen ambas funciones sexuales, y las flores unisexuales estaminadas (macho) o pistiladas (hembra). A nivel de individuo algunas especies de plantas están compuestas solamente por individuos con flores hermafroditas. Otras especies son monoicas, es decir que los individuos tienen flores unisexuales de los dos sexos ⁷⁸. Existen especies que tienen individuos con flores perfectas y flores pistiladas (ginomonoicas ¹¹⁷), mientras que otras tienen individuos con flores perfectas y flores estaminadas (andromonoicas ^{11,48,139}). Unas cuantas especies son dioicas ^{46,97} o ginodioicas ⁸⁰ (individuos hembra e individuos hermafroditas), y muy pocas son androdioicas (individuos macho y hermafrodita) ¹³⁹, subdioicas ⁸⁷ (individuos macho, hembra y ginomonoicos generalmente, aunque puede haber otras posibilidades ¹¹⁷) o trioicas ⁵³ (individuos macho, hembra y hermafroditas).

Desde el punto de vista funcional los sistemas reproductivos de las plantas pueden agruparse en dos tipos ¹⁹. En primer lugar están las poblaciones monomórficas, que presentan variación continua en la adecuación relativa que cada planta obtiene por donar polen (vía masculina) y por producir semillas (vía femenina). Dentro de este grupo están las plantas hermafroditas, monoicas, ginomonoicas y andromonoicas. En contraste, están las poblaciones con polimorfismos. Los morfos pueden ser estrictamente unisexuales (dioicos), o bien puede haber un morfo hermafrodita y el otro hembra (ginodioicos), o macho (androdioicos), o tres morfos, macho, hembra y hermafrodita (trioico) y macho, hembra, ginomonoico (subdioico).

2.- La teoría de asignación sexual.

La proporción sexual se define como el número de machos con respecto al número machos y hembras que hay en un grupo o población. A partir de que Darwin ³⁵ observó que muchas poblaciones de animales presentan igual número de hembras que de machos (proporción sexual 1:1), Fisher ⁵² elaboró el siguiente argumento para explicar esta observación. En una población con pocas hembras, los individuos con tendencia heredable de producir más progenie del sexo escaso (hembras, en este caso) producen descendientes con mayor éxito reproductivo. Lo anterior produce un incremento en la frecuencia de los genes que causan la sobreproducción de hembras en la población, por lo que este sexo se vuelve común. Conforme la proporción sexual se aproxima a la situación en que hay igual número de machos y de hembras, declina la intensidad de la selección sobre los genes que producen el sexo escaso. Y en este escenario (1:1) ya no hay ventajas selectivas. El argumento funciona igual, independientemente de cuál sea el sexo escaso al inicio, por lo que se predice una proporción sexual de 1:1 como el único resultado evolutivamente estable y supone que los costos de producir un macho son iguales a los de producir una hembra (Fig. 1).

En caso de que existan costos diferenciales de producir machos y hembras (por ejemplo, que un sexo sea más grande que el otro), la teoría predice que la asignación sexual (la cantidad total de recursos destinados a cada sexo) evolutivamente estable (aquella estrategia de asignación que no puede ser invadida y desplazada de la población) es aquella que proporciona igual cantidad de recursos hacia la función masculina y femenina, aunque genere una proporción sexual diferente a 1:1. Usualmente se asume que la proporción sexual y la asignación sexual están estrechamente relacionadas y en muchos casos se utilizan indistintamente ambos términos. Sin embargo, es importante hacer la distinción para evitar confusiones, sobre todo cuando los costos entre sexos son diferentes. Además, la teoría puede predecir como los individuos hermafroditas dividen sus recursos entre función masculina y femenina, porque se basa en el concepto económico de gasto de recursos y

se concentra en la inversión de los progenitores, por lo que no se considera lo que sucede una vez que la asignación ha terminado. Por ejemplo, si hay mortalidad diferencial entre los sexos la teoría no considera este efecto sobre la proporción sexual primaria.

La propuesta original de Fisher asume que las poblaciones son infinitamente grandes, que los apareamientos son aleatorios y que los progenitores tienen control sobre la proporción sexual, y los casos en que no se cumplen estos supuestos han dado lugar a predicciones y confirmaciones de la teoría general. Hamilton⁶³ modeló el efecto de la competencia y el apareamiento entre individuos emparentados para explicar por qué algunas especies de avispas parasitoides tienen proporciones sexuales sesgadas hacia las hembras. Cuando los hermanos compiten entre ellos por un número limitado de parejas, la selección natural debería favorecer a los padres que inviertan sus recursos en producir más hijas para disminuir la competencia entre hermanos. Esto ocurriría produciendo un solo hijo que fecunde a sus hermanas. En el caso de las plantas, se menciona que la endogamia es uno de los factores involucrados en la evolución de las proporciones sexuales^{3,19,25,29,30,69}. Cuando la tasa de autopolinización es alta y la depresión por endogamia es relativamente baja ($\delta < 0.5$), los modelos predicen que la estrategia más exitosa para las plantas sería sesgar su proporción sexual hacia las hembras³⁸ debido a que se requiere poco polen para fertilizar los óvulos disponibles en la planta. En contraste, los escenarios que incrementan la exogamia, como una alta disponibilidad de polinizadores, favorecen una inversión en polen más alta ya que de esta manera compiten más eficientemente contra el polen de otras plantas para fertilizar los óvulos disponibles en la población. Existe evidencia de estrategias que las plantas adoptan para evitar la endogamia o que disminuyen la competencia local por parejas. Estas estrategias son respuestas de corto plazo, por lo que se consideran como proximales o ecológicas, mientras que los patrones de producción de polen *versus* óvulos son respuestas evolutivas que han sido modeladas a lo largo del tiempo.

Por otra parte, en términos de la competencia local por recursos, Freeman *et al.*⁵⁶ propusieron un modelo en el que el “estrés” induce a la masculinización, mientras que las situaciones más favorables favorecen la producción de hembras o la asignación hacia la función femenina. Por “estrés” se refiere a las condiciones que reducen el crecimiento, la capacidad de asignar recursos a la reproducción y la disminución de la supervivencia individual. Obviamente este modelo supone que los costos de producir machos son diferentes a los de producir hembras, por lo que se esperaría que la proporción sexual primaria estuviera sesgada hacia el sexo “más costoso de producir”, generalmente el sexo femenino^{29,44}, en los sitios favorables (con alta disponibilidad de recursos). Es importante considerar, en términos de este modelo, que los recursos se refieren a la disponibilidad de luz, agua y los nutrientes en el suelo, así como a la condición general de la planta (estatus fisiológico). Se esperaría que las plantas con mejor condición, es decir que disponen de más recursos almacenados (generalmente las plantas más grandes en edad o tamaño), sesguen su asignación sexual hacia la función femenina; mientras que se esperaría que las plantas pequeñas o las que ocurren en los sitios con limitación de recursos tengan sesgos hacia la función masculina.

Asimismo, Hamilton también resaltó que la proporción sexual óptima para un gen particular puede depender de la forma como se hereda. Por ejemplo, debido a que el citoplasma presente en el gameto masculino no se incorpora al cigoto, los machos representan un final evolutivo para cualquier elemento genético que resida en el citoplasma (DNA mitocondrial y de cloroplastos principalmente), y por tanto para estos genes sería más ventajosa una proporción sexual sesgada hacia las hembras. En contraste, para un gen que se transmite por el cromosoma *Y*, la progenie femenina representa un final evolutivo, por lo que sería más ventajosa una proporción sexual sesgada hacia los machos. Si tanto los genes citoplasmáticos como los genes en los cromosomas sexuales influyen la asignación sexual, entonces el supuesto fisheriano del control parental no se cumple y se predicen desviaciones marcadas de la proporción 1:1. Para el caso de las plantas, Lewis⁵⁵ propuso un modelo en el que los genes

citoplasmáticos (heredados por vía materna) controlan la proporción sexual y hacen que sus portadores produzcan únicamente hembras. Estos genes deberían tener una adecuación mayor que los genes citoplasmáticos que produzcan una mezcla de hijos e hijas. Bajo control citoplasmático la población evolucionará hacia proporciones sexuales extremadamente sesgadas hacia las hembras. Otros modelos suponen que la herencia de la esterilidad masculina es nuclear, por lo que las hembras deberían producir el doble de descendencia que las plantas hermafroditas como compensación por la pérdida de la adecuación por la vía masculina, lo que redundaría en una proporción de al menos dos hembras por cada hermafrodita, aunque la proporción sexual en el equilibrio depende de la relación entre la adecuación de hembras y hermafroditas. Un tercer tipo de modelos supone que la herencia es núcleo-citoplasmática (i.e. depende de la interacción de los genes del núcleo y del citoplasma). Bajo este esquema, se esperaría que las poblaciones mostraran sesgos hacia hembras, sesgos hacia hermafroditas o proporciones 1:1, dependiendo de la fase del ciclo entre genes de la esterilidad y restauradores de la función masculina en que se encuentre la población.

Por su parte, Trivers y Willard ¹²⁹ plantearon que la proporción sexual producida por un individuo también puede estar sujeta a la acción de la selección. La idea general considera cualquier situación en la que haya diferentes ganancias en adecuación por invertir en la prole de un sexo o del otro. El modelo predice sesgos en la proporción sexual si uno de los sexos gana más adecuación por inversión parental extra que el otro sexo. Por lo tanto, los padres que dispongan de una cantidad relativamente mayor de recursos deberían sesgar su asignación hacia el sexo que tenga más éxito reproductivo. Y se puede extender la idea a muchas situaciones en que una variable ambiental tenga diferentes efectos sobre el valor reproductivo de hijas e hijos. La flexibilidad en la proporción sexual también puede esperarse cuando los costos de producir hijos e hijas dependen de las circunstancias en que son producidos. Charnov ²⁹ propuso un modelo en el que la relación entre la inversión de recursos y la función de adecuación no siempre es lineal, lo que permite que evolucionen proporciones

sexuales sesgadas hacia uno de los sexos (Fig. 2) y también predice la evolución de ajustes de corto plazo (escala ecológica) en la asignación sexual cuando el ambiente es muy heterogéneo. Precisamente, el argumento puede extenderse para predecir en qué momento debería cambiar de un sexo al otro un hermafrodita secuencial. En el caso de las plantas, está el modelo del hermafroditismo secuencial, para las especies que cambian de sexo a través de su vida y para las que se predice el tiempo y orden del cambio de una función sexual hacia la otra ²⁹, respuestas que se presentan únicamente en escala de tiempo ecológico. En teoría existen dos escenarios posibles que favorecen diferentes estrategias de cambio de sexo (Fig. 3). En el primer caso, cuando la competencia entre granos de polen es poco intensa, la selección favorece a las plantas que funcionan como machos cuando son pequeños y que cambian a la función femenina cuando son más grandes; y se denominan protándricas. Se esperaría que las plantas en mejores condiciones (generalmente las plantas más grandes en edad y tamaño) hicieran el cambio lo más pronto posible hacia la función femenina porque pueden pagar el costo de producir frutos y semillas y así obtener mayor adecuación por esta vía. Por otro lado, cuando la competencia entre granos de polen es muy intensa, la selección favorece a las plantas que funcionan como hembras cuando son pequeñas y que cambian de sexo conforme van creciendo y se denominan protóginas. Un problema muy común en este tipo de sistemas es que el tamaño y el tiempo generalmente están relacionados (Charnov ²⁹), por lo que se utiliza indistintamente la edad o el tamaño de los individuos. El “ambiente social” (término comúnmente utilizado en la literatura zoológica y que se refiere al vecindario de consortes potenciales en el contexto de las plantas) también influye en los cambios en la asignación sexual que ocurren a corto plazo. Charnov ²⁹ menciona que se desconocen trabajos que hayan evaluado tales efectos en plantas superiores, pero que algunos estudios en animales, hongos, algas y helechos han documentado cambios en la sexualidad inducidos por el ambiente social. Por esta razón es factible suponer que el ambiente social también afecta los patrones de asignación sexual en las angiospermas. Dentro de este contexto se considera

que el ambiente social tiene al menos dos componentes, la densidad de flores, que influye en la probabilidad de que los polinizadores visiten una flor ^{4,5}, y la proporción sexual operacional (proporción de machos y hembras para la reproducción en una población particular). La proporción sexual operacional influye en la probabilidad de un individuo para reproducirse por la vía masculina o femenina. Si la proporción está sesgada hacia las hembras, entonces la selección natural debería favorecer a los individuos que asignen más recursos hacia la función masculina y viceversa. De tal forma que la planta maximiza la probabilidad de donar y recibir polen en un contexto social particular ⁸¹. En relación con la teoría de asignación sexual ²⁹, tanto la densidad como la proporción sexual operacional afectan la forma de las curvas de adecuación dentro de la escala de tiempo ecológico. Es decir, los ajustes sobre la asignación sexual son respuestas proximales que ocurren de una temporada reproductiva a la siguiente, e inclusive dentro de la misma temporada. Sin embargo, en el campo de la botánica poco se ha estudiado sobre los ajustes en la proporción sexual como respuesta al ambiente reproductivo.

Por otra parte, a pesar de que el tema de la reproducción de las plantas ha recibido mucha atención, todavía no está claro por qué las plantas han evolucionado sistemas reproductivos tan diversos ¹⁹. Una interpretación basada en la teoría de asignación sexual aplicada a las plantas es que la selección natural ha modelado diferentes estrategias de asignación hacia las funciones sexuales, y cada sistema reproductivo representa una estrategia reproductiva que maximiza la adecuación en un contexto dado. Sin embargo, las predicciones de los modelos derivados de la teoría de asignación sexual han sido evaluadas en múltiples ocasiones usando a los animales como sistema de estudio ^{29,108}. Esta situación contrasta con la de las plantas, ya que el número de estudios que exploran la evolución de la asignación sexual en plantas es muy reducido en comparación al de los animales. Esta situación es desafortunada ya que las plantas presentan una gran variación en sus patrones de asignación sexual, y por lo tanto ofrecen la oportunidad de explorar los factores que modifican las

expectativas fisherianas. Por tanto, el objetivo de esta revisión es resaltar la enorme variedad en que las plantas expresan la sexualidad en el contexto de la teoría de asignación sexual y sus implicaciones sobre la evolución de los sistemas reproductivos de las angiospermas. La revisión abarca desde 1980, fecha en que Freeman *et al.*⁵⁶ hicieron una revisión crítica de la literatura sobre este tema, hasta la actualidad (noviembre de 2003). Aunque también se incluyen algunas referencias anteriores a 1980 que son relevantes. Además, se analiza la frecuencia de especies en las que se cumple la predicción del modelo de Fisher, así como en los casos que hay sesgos en la asignación sexual. En el caso de las especies donde existen sesgos en la asignación sexual, se analizan las diferentes hipótesis ofrecidas para explicar esos sesgos. Los datos encontrados en la literatura se agrupan en cuatro modelos básicos: 1) limitación de recursos, 2) endogamia, 3) hermafroditismo secuencial y 4) ajustes en respuesta al ambiente social. Por último, se discute la importancia de la teoría de asignación sexual y su relación con los sistemas reproductivos en las plantas, a la luz de los patrones encontrados en esta revisión.

3.- Métodos para estimar asignación sexual en plantas.

Sistemas reproductivos con polimorfismo sexual. En el caso de los sistemas polimórficos, la asignación sexual se estima por medio de la proporción de morfos en la población. Por ejemplo, en las especies dioicas se utiliza la proporción de machos con respecto al total, en las especies giondioicas se utiliza la proporción de hembras, en las especies androdioicas se utiliza la proporción de machos y en las especies trioicas se utiliza la proporción de machos, hembras y hermafroditas. Este método se puede aplicar siempre y cuando no existan diferencias al producir machos y hembras. En el caso de algunas especies dioicas, se conoce el mecanismo de determinación sexual que puede estar determinado por cromosomas sexuales^{64,71}, varios genes^{8,50} o por el ambiente⁴¹. En las especies que cuentan con marcadores moleculares para al menos una de las funciones sexuales (e. g., *Actinidia*

chinensis, *Distichlis spicata*, *Rumex acetosa*, *Salix viminalis* y *Silene latifolia*), ha sido posible evaluar la proporción sexual primaria (a nivel de semillas), aunque son pocos los casos.

Sistemas reproductivos sin polimorfismo sexual. Debido a que en los sistemas monomórficos la proporción sexual no es un buen estimador de la asignación sexual, se han utilizado diferentes métodos para evaluar la inversión que hace una planta hacia cada una de las funciones sexuales^{39,40,69}. El peso total del androceo vs. el gineceo es el estimador de la asignación sexual utilizado con mayor frecuencia en los estudios de plantas cosexuales (individuos que tienen tanto la función femenina como la masculina). No obstante, hay otras medidas como el contenido de carbono, nitrógeno o agua que también han sido utilizadas. Un problema con estas estimaciones es que los costos accesorios de cada sexo (para atraer polinizadores o dispersar semillas, por ejemplo) están confundidos en las mediciones. Los trabajos en sistemas monoicos presentan menos complicaciones para estimar el costo de cada función ya que las flores son unisexuales y los costos accesorios quedan incluidos en cada tipo de flor. Cruden³⁴ sugiere que el cociente polen/óvulo es un buen descriptor del sistema reproductivo que también puede utilizarse para estimar los costos de asignación en particular en las plantas hermafroditas. Klinkhamer y De Jong⁶⁹ sugieren que más que determinar la asignación sexual exacta se necesita establecer cómo es la correlación genética entre las funciones sexuales (sí esta correlación es negativa entonces existe un compromiso, *trade-off* en inglés) mediante manipulación experimental. En este sentido, el método de remoción de una de las funciones sexuales permite analizar si los recursos asignados a una función sexual no quedan disponibles para el otro sexo. Este método consiste en manipular a las plantas mediante la remoción de una de las funciones sexuales para que los recursos que ya no son utilizados por la función sexual removida, queden disponibles para ser reasignados hacia la otra función sexual o hacia crecimiento y mantenimiento.

4.- Evidencias.

Sistemas con polimorfismo sexual. En este trabajo se revisaron 144 referencias bibliográficas, de las que 36 citas correspondieron a trabajos teóricos, mientras que el resto contenía datos sobre asignación sexual en plantas. De estos trabajos se obtuvo una muestra de 126 especies repartidas en 36 familias. En las plantas dioicas se observó que 51.7% de las especies no presentan sesgos en la proporción sexual (Tabla 2). El porcentaje restante de las especies se reparte entre las que presentan sesgos hacia los machos (28%) o hacia las hembras (20.3). Aunque una de las explicaciones más obvias es que los sesgos se deben a costos diferentes entre los sexos, existe evidencia de que la disponibilidad de recursos ^{9,21,106} y el ataque por parásitos ²⁸ o herbívoros ^{29,57,109} afectan de manera diferencial a los machos y las hembras. Obviamente, este enfoque no considera que la variable relevante en términos de la teoría de asignación sexual sea la proporción sexual primaria que en el caso de las plantas corresponde a la proporción sexual de las semillas.

Los estudios realizados con especies ginodioicas en los que se analizó la evolución de la proporción sexual (hembra / hermafroditas + hembras) constituyen un caso muy interesante ya que los genes involucrados en la determinación sexual no se transmiten por igual en los machos y las hembras. De las 18 especies estudiadas (Cuevas, E. y Abarca, C. com. pers.), se encontró que en tres especies (*Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare* y *Lobelia sifilitica*) hay más hembras que hermafroditas, en otras tres (*Daphne laureola*, *Orchradenus baccatus* y *Sidalcea hendersonii*) la proporción es 1:1, mientras que en las 12 especies restantes hay más hermafroditas que hembras (Tabla 2). Aunque el número de estudios relacionados con las proporciones sexuales de especies ginodioicas no es muy grande, la variación en la proporciones sexuales demuestra que el sistema ginodioico es muy dinámico y que no existe una estrategia de asignación única.

En lo que respecta al sistema androdioico, Pannell ¹⁰¹ sugiere que la proporción sexual depende de que la densidad poblacional sea alta y la tasa de autopolinización sea baja. Por lo que se esperaría una frecuencia de machos entre el 30 y 50%. Las proporciones encontradas en *Schizopepon*

bryoniaefolius, *Mercurialis annua* y *Phillyrea angustifolia* concuerdan con la propuesta de Pannell¹⁰¹ (Tabla 2). Sin embargo, en un estudio de Valissiliadis *et al*¹³¹, se reportó que hay poblaciones con sesgos hacia los machos en *Phillyrea angustifolia*. En ese trabajo los autores proponen que la alta frecuencia de machos se debe a la diferenciación sexual entre machos y hermafroditas que previene la evolución hacia el hermafroditismo, cuando la densidad poblacional es baja y se relaja la competencia entre granos de polen, que a su vez reduce el costo del compromiso (*trade-off*) entre funciones sexuales para las plantas hermafroditas. Otra explicación alternativa propone que están ligados los loci que producen la esterilidad femenina y la autoincompatibilidad, lo que favorece una mayor frecuencia de machos.

El sistema trioico, uno de los más raros entre las plantas con flores¹³⁹, está representado sólo por las especies *Spinacea oleracea* y *Steneocereus pringle* en esta revisión. En el caso de *Spinacea oleracea*, se observó un sesgo hacia los machos en la progenie producida, como respuesta a los tratamientos de retrasos en el tiempo de la polinización en las plantas parentales⁹⁴ (Tabla 2), este resultado se puede interpretar como un ajuste facultativo en respuesta al ambiente social.

Sistemas monomórficos. Más del 21% de las especies hermafroditas estudiadas en esta revisión no presenta sesgos en la asignación sexual (Tabla 3), mientras que aproximadamente el 50% de las especies presenta sesgos hacia la función masculina y más del 21% presenta sesgos hacia la función femenina. En las plantas monoicas estudiadas, el 53% de las especies presentó sesgos en la asignación hacia la función masculina. En el 38.9% se registraron sesgos hacia la función femenina, y solamente 8.1% de las especies estudiadas no presentó sesgos en la asignación.

En relación con los sistemas ginomonoicos (asignación entre flores hembra *versus* hermafroditas) se encontró que en 16 especies del género *Aster*²² no hubo sesgos en la asignación entre flores hembra *vs.* hermafroditas (Tabla 3), en contraste cerca del 60% de las especies andromonoicas (flores macho *versus* hermafroditas) presentan más flores macho que flores hermafroditas y en casi el 47% no hubo

diferencias en la producción de flores macho y hermafroditas. Las plantas subdioicas también presentan variación en la asignación sexual. En las especies del género *Scleropogon* hay sesgos hacia las flores hembra, sesgos hacia las flores masculinas y sesgos hacia las flores hermafroditas ¹¹. En *Astilbe biternata* y *Silene acaulis* se observó la misma proporción de machos, hembras y hermafroditas ^{87,98}, mientras que en *Tupeia antarctica* de la familia Loranthaceae⁷⁵, *Myrica gale* ⁷⁸ y *Atriplex amnicole* ¹²⁴ se reportaron más hembras. A continuación se presentan los casos en que no se cumple la predicción fisheriana de igual asignación de recursos a cada función sexual, de acuerdo con el modelo particular que explica los sesgos observados.

Limitación de recursos (Freeman *et al.* ⁵⁶). Este modelo establece que una función sexual es más costosa que la otra, por lo que se predicen sesgos hacia la función “barata” en los sitios con poca disponibilidad de recursos o cuando la planta no tiene una buena condición (ya sea por edad, herbivoría o patógenos). El patrón general es que en los sitios con alta disponibilidad de recursos y una baja intensidad de ataque por herbívoros se observaron sesgos hacia las hembras, mientras que en sitios con pocos recursos y mucha herbivoría los sesgos generalmente son hacia los machos, lo que apoya las predicciones de la teoría de asignación sexual. Asimismo, las plantas pequeñas generalmente asignan más recursos hacia la función masculina. Esta predicción se cumple en 77% de las especies dioicas (Tabla 4), mientras que en dos especies (5.5%) se encontró el patrón contrario (sesgos hacia los machos en sitios con alta disponibilidad de recursos). En ocho especies (16.8%) no se encontró relación entre el efecto de los factores abióticos y la proporción sexual. En las plantas ginodioicas (5/6 especies = 83.3%) y androdioicas (una especie) también se encontró evidencia a favor del modelo de la limitación de recursos (Tabla 4). En tres especies hermafroditas, en el 94.5% (52 de 55) de las especies monoicas y el 33.3% (1 de 3) de las andromonoicas se encontró evidencia a favor de cambios en la asignación sexual como respuesta a la limitación de recursos, mientras que en

las 16 especies ginomonoicas del género *Aster* no se encontró evidencia a favor de este modelo (Tabla 5)²². En el caso de las subdioicas se encontró evidencia a favor en un trabajo⁷⁵, mientras que en otro estudio hay evidencia en contra (Tabla 5)⁹⁸. En relación con la condición de la planta, las especies analizadas representan alrededor de una tercera parte menos en relación con los trabajos que analizan el efecto de los factores abióticos (44 contra 122). En las plantas dioicas (58.8%) y ginodioicas (tres especies) la evidencia apoya la predicción del modelo de la condición de la planta (Tabla 4) que establece que el tamaño y la edad afectan los sesgos en la asignación sexual. En las especies hermafroditas (83.3%), andromonoicas (tres especies) y subdioicas (una especie) se presenta evidencia a favor de este modelo (Tabla 5). En las plantas monoicas 12 de 14 especies (85.7%) también presentan evidencia a favor.

Endogamia (Hamilton⁶³). Cuando la δ es alta la teoría predice que el sexo que se dispersa más es al que se le deben asignar más recursos debido a que la dispersión a mayores distancias disminuye la probabilidad de sufrir los efectos negativos de la endogamia⁶⁰. La predicción de que la mejor estrategia es invertir menos recursos en machos, cuando el nivel de endogamia es alto y la tasa de depresión por endogamia (δ) es baja, es apoyada por una especie androdioica (*Schizopepon bryoniaefolius*)⁹, pero no se encontró evidencia en la especie ginodioica *Echium vulgare*¹¹¹ (Tabla 4). En el 99% de las especies de plantas hermafroditas, una especie monoica (*Begonia semiovata*)³ y una especie andromonoica (*Trevoa quinquenervia*)⁹² también se encontró evidencia a favor de las predicciones de este modelo (Tabla 5). El patrón general es que las plantas que se autopolinizan invierten menos en la función masculina, mientras que en las plantas exógamas estudiadas la asignación es más equitativa. Debido a que los factores que influyen en la dispersión del polen y semillas varían en escalas espaciales y temporales es posible suponer que este tipo de respuestas no solo sean de largo plazo sino que también sean respuestas proximales o de escala de tiempo ecológico. Por ejemplo, si las semillas se dispersan más, entonces se esperarían sesgos hacia la función

femenina; en contraste, si el polen se dispersa a mayores distancias, entonces se esperarían sesgos hacia la función masculina. La evidencia de este modelo está representada por el caso de tres especies dioica (Tabla 4), dos especies hermafrodita, dos especies andromonoicas (Tabla 5) y 46% de las especies monoicas en las que se pusieron a prueba las predicciones de este modelo. Según este modelo se favorecen cambios en la asignación hacia el sexo que se dispersa más lejos. Se reportan sesgos en la asignación hacia el sexo que se dispersa menos en 18 especies monoicas (evidencia en contra). Y por último, en ocho especies monoicas se encontró que no hay relación entre el sexo que se dispersa más y los cambios en los patrones de asignación sexual ⁶⁰.

Hermafroditismo secuencial (Charnov ²⁹). Este modelo predice la evolución hacia la protándria cuando la competencia entre granos de polen es baja. Por lo que la selección favorece a los individuos que se reproducen por la vía femenina cuando son pequeños y luego cambian a la función masculina cuando son grandes. Esta predicción es apoyada por una especie ginodioica (Tabla 4) ¹⁶, ocho especies monoicas, ocho especies andromonoicas y el 59.5% (28 de 47) de las especies hermafroditas (Tabla 5). También se encontró evidencia de plantas protóginas. En una especie hermafrodita (*Symplocarpus renifolius*) y una especie andromonoica (*Pseudocymopterus montanus*) se encontró evidencia de que las plantas grandes comienzan siendo hembras y cambian muy tarde en la temporada reproductiva hacia la función masculina o permanecen como hembras, mientras que no se encontró evidencia en una especie monoica (*Grayia brandegei*) y una especies andromonoica (*Tilia japonica*).

Ambiente social (Trivers y Willard ¹²⁹, Charnov ²⁹). En relación con los ajustes facultativos como respuesta al ambiente social, se tiene evidencia de cambios en plantas androdioicas ¹⁰² en respuesta a la densidad de flores, mientras que no se encontró evidencia en plantas dioicas ⁸³ (Tabla 4). Por otra parte, hay evidencia correlativa entre la proporción sexual de la progenie y los padres en *Silene vulgaris* ⁹⁰, mientras que en *Silene latifolia* Purrington ¹¹⁰ reporta que la posición de la flor (basal vs. distal) que fue polinizada no afecta la proporción sexual de la progenie. En *Rumex acetosa*

Correns, Lopez y Domínguez⁸¹ reportaron que a intensidad alta de polinización se producen sesgos hacia la función femenina. En el caso de *Spinacea oleracea*, Miglia y Freeman⁹⁴ encontraron sesgos hacia los machos en la progenie cuando hay retrasos en la polinización de las plantas parentales. En *Pistacia lentiscos*, Verdu y Garcia-Fayos¹³³ reportaron que a baja densidad de individuos (una estimación de la densidad de polen que los autores utilizaron) hay más hembras y que la frecuencia de hembras disminuye, hasta ser de 1:1, conforme se incrementa la densidad. En todos estos casos no se evalúa explícitamente el efecto del ambiente social, aunque si puede haber un efecto, como lo demuestra el trabajo con *Begonia gracilis*⁸¹ en el que se analizó el efecto de la proporción sexual operacional (intensidad de polinización) sobre la proporción sexual floral.

5.- Discusión.

¿En qué medida se cumple la predicción de Fisher⁵² en las plantas con flores y qué explica los sesgos en la asignación sexual? Por lo general, se asume que en las especies hermafroditas la asignación hacia cada función sexual es igual (50% de los recursos disponibles para cada sexo). Sin embargo, los resultados de esta revisión muestran que en más del 40% de las especies dioicas no se cumple la predicción derivada del modelo de Fisher, en casi el 80% de las especies hermafroditas se presentan sesgos en la asignación, mientras que sólo el 8.7% de las especies monoicas presenta asignación sexual 1:1.

En 28 de las especies dioicas que presentan sesgos en la proporción sexual, estos últimos se deben al ambiente abiótico, mientras que en 10 especies el factor es biótico. En las plantas monoicas se ha comprobado que los factores abióticos influyen en los sesgos hacia la función masculina (52 especies), mientras que en 23 especies se han relacionado los sesgos en la asignación sexual como estrategia para disminuir la competencia local por pareja. La mayoría de los cambios en la asignación sexual se presentan a escala de tiempo ecológica, por lo que se pueden considerar como ajustes

facultativos en respuesta al ambiente abiótico. El clima, la humedad y riqueza del suelo, así como la intensidad luminosa son los factores abióticos que predicen los cambios en la asignación sexual ²⁹, mientras que la herbivoría y el daño por patógenos son los factores bióticos más comunes. En el caso de las plantas hermafroditas el principal factor que explica los patrones de asignación sexual es la endogamia. En este caso, los patrones encontrados han sido modelados a lo largo del tiempo por lo que se pueden considerar como evolutivamente estables.

¿Qué tan lábiles son las plantas con flores en su expresión sexual? En al menos 67 de las especies incluidas en esta revisión se han reportado cambios en la asignación sexual de una temporada reproductiva a otra, e incluso dentro de la misma temporada, lo que sugiere que las plantas son muy lábiles en su expresión sexual.

Un avance importante en relación con las revisiones de Freeman *et al.*⁵⁶ y Polincansky ¹⁰⁸ es que la gran mayoría de los trabajos revisados sugiere interpretaciones evolutivas dentro del contexto de la teoría de asignación ^{2,26,120}. Antes de los estudios de Freeman *et al.*^{55,56} y Lloyd ⁷⁸ las explicaciones de los sesgos estaban basadas en conceptos fisiológicos y no adaptativos. Los resultados de esta revisión muestran que hay más evidencia a favor de modelo de la limitación de recursos y el efecto de la endogamia sobre la evolución de la asignación sexual en las plantas con flores, aunque la información sobre los otros factores se ha ido incrementando recientemente. Esto implica que conforme se incrementa el número de estudios se podrán establecer patrones más robustos sobre el efecto de diferentes factores en la evolución de la asignación sexual.

Por otra parte, en la literatura revisada se reportan diferentes formas de estimar los costos de las funciones sexuales (asignación), de tal forma que se complica realizar comparaciones a pesar de que las estimaciones estén en términos relativos. Se ha propuesto el método de reasignación, es decir, simular individuos “mutantes” que carezcan de una de las funciones sexuales y evaluar la reasignación de recursos, con el fin de solventar algunos de los problemas que implica la estimación

del costo de las funciones sexuales ^{37,39}, así como determinar en si existen compromisos entre las funciones sexuales. En la medida en que se utilice este método para un mayor número de especies, será posible establecer comparaciones y tendencias sobre el costo de cada sexo. Sin embargo, la evidencia actual apoya la idea de que la función femenina es más costosa que la masculina ⁴⁴ si se considera el esfuerzo de producir frutos y semillas.

Otro avance importante en relación con trabajos anteriores ^{56,78,108} es que ahora se cuenta con más datos sobre los mecanismos de determinación sexual en plantas. Por ejemplo, en *Salix biminalis* ⁸ y *Silene alba* ¹²⁷ se ha propuesto un mecanismo de múltiples loci independientes, mientras que en *Actinidia chinensis* ⁶⁴ se ha propuesto un mecanismo heterogamético, XX (hembras) XY (machos), similar al de los mamíferos. Además, se resalta la necesidad de definir a los sistemas reproductivos con base en el género funcional propuesto por Lloyd ⁷⁸, es decir en términos de la contribución genética por cada vía sexual, más que en términos de las estructuras morfológicas. En al menos siete especies descritas previamente como hermafroditas los estudios sobre la reproducción sexual mostraron que son ginodioicas ^{15,138}, androdioicas ⁷ y andromonoicas ⁷⁰ en términos funcionales. En las plantas de *Pernettya rigida* se ha reportado que funcionalmente son dioicas aunque morfológicamente sean hermafroditas ⁹, tal como sucede con *Thalictrum pubescens* ³⁷ y *Chassalia corallioides* ¹⁰⁰. Hay que remarcar que los trabajos teóricos están concentrados en simulaciones de distintos escenarios. Por ejemplo, el efecto del vector de polen y la geometría floral ^{23,118}, condición de la planta y disponibilidad de recursos ^{27,65,69}, compromisos entre componentes de historias de vida ^{69,120,141,142,143} y tasa de entrecruzamiento o distancias de dispersión entre polen y semillas ^{38,39,44,68}. Los modelos que tienen que ver con ajustes en la asignación sexual como respuesta a la densidad y a la proporción sexual en la población han sido poco estudiados ⁸¹. Algunos trabajos encontrados en esta revisión muestran evidencia de la capacidad de las plantas de ajustar la asignación sexual de manera facultativa, aunque los autores no interpretan sus datos dentro del contexto de la teoría de asignación

sexual y el efecto del ambiente social sobre los ajustes facultativos. Considero que el campo de los ajustes facultativos en la asignación sexual puede ser muy fértil si se estudiase un mayor número de especies; por ejemplo en las monoicas, para determinar el efecto del ambiente social. El primer paso es demostrar que las plantas pueden “evaluar” el entorno social en el que se encuentran, y con base en esta información, estimar la proporción sexual operacional y en consecuencia, ajustar la asignación sexual que maximice el éxito reproductivo en un contexto particular.

6.- Literatura citada.

1. Abe, T; Yamashita, N; Tanaka, N; Kushima, H. 2002. Sex ratio variation of *Bischofia javanica* bl. (Euphorbiaceae) between native habitat, Okinawa (Ryukyu islands), and invaded habitat, Ogasawara (Bonin islands). *International Journal of Plant Sciences* 163: 1011-1016.
2. Affre, L; Thompson, JD; Debussche, M. 1995. The reproductive biology of the mediterranean endemic *Cyclamen balearicum* Willk (Primulaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 118: 309-330.
3. Agren, J; Schemske, DW. 1995. Sex allocation in the monoecious herb *Begonia semiovata*. *Evolution* 49: 121-130.
4. Ahman, I. 1997. Growth, herbivory and disease in relation to gender in *Salix viminalis* L. *Oecologia* 111: 61-68.
5. Aizen, MA. 1997. Influence of local floral density and sex ratio on pollen receipt and seed output: Empirical and experimental results in dichogamous *Alstroemeria aurea* (Alstroemeriaceae). *Oecologia* 111: 404-412.
6. Aizen, MA. 2001. Flower sex ratio, pollinator abundance, and the seasonal pollination dynamics of a protandrous plant. *Ecology* 82: 127-144.
7. Akimoto, J; Fukuhara, T; Kikuzawa, K. 1999. Sex ratios and genetic variation in a functionally androdioecious species, *Schizopepon bryoniaefolius* (Cucurbitaceae). *American Journal of Botany* 86: 880-886.
8. Alstrom-Rapaport, C; Lascoux, M; Gullberg, U. 1997. Sex determination and sex ratio in the dioecious shrub *Salix viminalis* L. *Theoretical and Applied Genetics* 94: 493-497.

9. Anderson, GJ; Bernardello, G; Lopez, P; Stuessy, TF; Crawford, DJ. 2000. Dioecy and wind pollination in *Pernettya rigida* (Ericaceae) of the Juan Fernandez Islands. *Botanical Journal of the Linnean Society* 132: 121-141.
10. Andersson, S. 2003. Sex allocation trade-offs in *Nigelia sativa* (Rannunculaceae) examined with flower manipulation experiments. *Evolutionary Ecology* 17: 125-138.
11. Anton, AM; Connor, HE; Astegiano, ME. 1998. Taxonomy and floral biology of *Scleropogon* (Eragrostideae: Gramineae). *Plant Species Biology* 13: 35-50.
12. Arntz, AM; Vozar, EM; Delph, LF. 2002. Serial adjustment in allocation to reproduction: Effects of photosynthetic genotype. *International Journal of Plant Sciences* 163: 591-597.
13. Ashman, TL. 1999. Determinants of sex allocation in a gynodioecious wild strawberry: Implications for the evolution of dioecy and sexual dimorphism. *Journal of Evolutionary Biology* 12: 648-661.
14. Ashman, TL. 2003. Constrains in the evolution of males and sexual dimorphism: Field estimates of genetic architecture of reproductive traits in the three populations of gynodioecious *Fragaria virginiana*. *Evolution* 57: 2012-2025.
15. Ashman, TL; Baker, I. 1992. Variation in floral sex allocation with time of season and currency. *Ecology* 73: 1237-1243.
16. Ashman, TL; Diefenderfer, C. 2001. **Sex ratio represents a unique context for selection on attractive traits: Consequences for the evolution of sexual dimorphism.** *American Naturalist* 157: 334-347.
17. Ashman, TL; Pacyna, J; Diefenderfer, C; Leftwich, T. 2001. Size-dependent sex allocation in a gynodioecious wild strawberry: The effects of sex morph and inflorescence architecture. *International Journal of Plant Sciences* 162: 327-334.
18. Avila-Sakar, G; Krupnick, GA; Stephenson, AG. 2001. Growth and resource allocation in *Cucurbita pepo* Ssp. *texana*: Effects of fruit removal. *International Journal of Plant Sciences* 162: 1089-1095.
19. Barrett, SCH. 2002. The evolution of plant sexual diversity. *Nature Reviews Genetics* 3: 274 - 284.
20. Belaoussoff, S; Shore, JS. 1995. Floral correlates and fitness consequences of mating system variation in *Turnera ulmifolia*. *Evolution* 49: 545-556.
21. Bertiller, MB; Sain, CL; Bisigato, AJ; Coronato, FR; Ares, JO; Graff, P. 2002. Spatial sex segregation in the dioecious grass *Poa ligularis* in northern Patagonia: The role of environmental patchiness. *Biodiversity and Conservation* 11: 69-84.

22. Bertin, RI; Kerwin, MA. 1998. Floral sex ratios and gynomonoecy in Aster (Asteraceae). *American Journal of Botany* 85: 235-244.
23. Bickel, AM; Freeman, DC. 1993. Effects of pollen vector and plant geometry on floral sex ratio in monoecious plants. *American Midland Naturalist* 130: 239-247.
24. Bram, MR; Quinn, JA. 2000. Sex expression, sex-specific traits, and the effects of salinity on growth and reproduction of *Amaranthus cannabinus* (Amaranthaceae), a dioecious annual. *American Journal of Botany* 87: 1609-1618.
25. Brunet, J; Charlesworth, D. 1995. Floral sex allocation in sequentially blooming plants. *Evolution* 49: 70-79.
26. Campbell, DR. 1998. Variation in lifetime male fitness in *Ipomopsis aggregata*: Tests of sex allocation theory. *American Naturalist* 152: 338-353.
27. Campbell, DR. 2000. Experimental test of sex-allocation in plants. *Trends in Ecology and Evolution* 15: 227-232.
28. Carlsson-Graner, U; Elmqvist, T; Agren, J; Gardfjell, H; Ingvarsson, P. 1998. Floral sex ratios, disease and seed set in dioecious *Silene dioica*. *Journal of Ecology* 86: 79-91.
29. Charnov, E L. 1982. **The theory of sex allocation**. New Jersey, Princeton University Press.
30. Charnov, E L. 1976. Why be an hermaphrodite? *Nature* 263: 125-126.
31. Charnov, E L. 1987. On sex allocation and selfing in higher plants. *Evolutionary Ecology* 1: 30-36.
32. Cibils, AF; Swift, DM; Hart, RH. 2003. Female-biased herbivory in fourwing saltbush browsed by cattle. *Journal of Range Management* 56: 47-51.
33. Cid-Benevento, CR. 1987. Relative effects of light, soil moisture availability and vegetative size on sex ratio of two monoecious woodland annual herbs: *Acalypha rhomboidea* (Euphorbiaceae) and *Pilea pumila* (Urticaceae). *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 114: 293-306.
34. Cruden, RW. 1977. Pollen-Ovule ratios: A conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution* 31: 32-46.
35. Darwin, C. 1871. **The descent of man, and selection in relation to sex**. London John Murray.
36. Darwin, C. 1877. **The different forms of flowers on plants of the same species**. London John Murray.
37. Davis, SL. 2002. Allocation to floral structures in *Thalictrum pubescens* (Ranunculaceae), a cryptically dioecious species. *Annals of Botany* 90: 119-126.

38. De Jong, TJ; Klinkhamer, PGL; Rademaker, MCJ. 1999. How geitonogamous selfing affects sex allocation in hermaphrodite plants. *Journal of Evolutionary Biology* 12: 166-176.
39. De Jong, TJ; Van Batenburg, FHD; Van Dijk, J. 2002. Seed sex ratio in dioecious plants depends on relative dispersal of pollen and seeds: An example using a chessboard simulation model. *Journal of Evolutionary Biology* 15: 373-379.
40. De Jong, TJ; Klinkhamer, PGL. 2002. Sex ratios in dioecious plants. *En: Sex ratios: Concepts and research methods*. Ian Hardy (ed.) Cambridge University Press.
41. Decker, KL; Pilson, D. 1999. Biased sex ratios in the dioecious annual *Croton texensis* (Euphorbiaceae) are not due to environmental sex determination. *American Journal of Botany* 87: 221-229.
42. Delesalle, VA; Mazer, SJ. 2002. The neighborhood matters: Effects of neighbor number and sibling (or kin) competition on floral traits in *Spergularia marina* (Caryophyllaceae). *Evolution* 56: 2406-2413.
43. Delesalle, VA; Mooreside, PD. 1995. Estimating the cost of allocation to male and female functions in a monoecious cucurbit, *Lagenaria siceraria*. *Oecologia* 102: 9-16.
44. Delph, LF. 2003. Sexual dimorphism in gender plasticity and its consequences for breeding system evolution. *Evolution and Development* 5: 34-39.
45. Dormann, CF; Skarpe, C. 2002. Flowering, growth and defense in the two sexes: Consequences of herbivore exclusion for *Salix polaris*. *Functional Ecology* 16: 649-656.
46. Dupont, YL; Kato, M. 1999. Sex ratio variation in dioecious plant species: A comparative ecological study of six species of *Lindera* (Lauraceae). *Nordic Journal of Botany* 19: 529-540.
47. Elle, E. 1999. Sex allocation and reproductive success in the andromonoecious perennial *Solanum carolinense* (Solanaceae). I. Female success. *American Journal of Botany* 86: 278-286.
48. Elle, E; Meagher, TR. 2000. Sex allocation and reproductive success in the andromonoecious perennial *Solanum carolinense* (Solanaceae). II. Paternity and functional gender. *American Naturalist* 156: 622-636.
49. Emms, SK; Stratton, DA; Snow, AA. 1997. The effect of inflorescence size on male fitness: Experimental tests in the andromonoecious lily, *Zigadenus paniculatus*. *Evolution* 51: 1481-1489.
50. Eppley, SM; Stanton, ML; Grosberg, RK. 1998. **Intrapopulation sex ratio variation in the salt grass *Distichlis spicata***. *American Naturalist* 152: 659-670.

51. Espirito-Santo, MM; Madeira, BG; Neves, FS; Faria, ML; Fagundes, M; Fernandes, GW. 2003. Sexual differences in reproductive phenology and their consequences for the demography of *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae), a dioecious tropical shrub. *Annals of Botany* 91: 13-19.
52. Fisher, RA. 1930. **The genetical theory of natural selection.** Oxford Clarendo.
53. Fleming, T.H; Maurice, S; Buchman, S.L; Tuttle, M.D. 1994. Reproductive biology and relative male and female fitness in a trioecious cactus, *Pachycereus pringlei* (Cactaceae). *American Journal of Botany* 81: 858-867.
54. Forfang, AS; Olesen, JM. 1998. Male-biased sex ratio and promiscuous pollination in the dioecious island tree *Laurus azorica* (Lauraceae). *Plant Systematics and Evolution* 212: 143-157.
55. Frank, SA. 1990. Sex allocation theory for birds and mammals. *Annual Review of Ecology and Systematics* 21:13-55.
56. Freeman, DC; Harper, KT; Charnov, EL. 1980. Sex changes in plants: Old and new observations and new hypotheses. *Oecologia* 47: 222-232.
57. Freeman, DC; MacArthur, ED. 1984. The relative influences of mortality, nonflowering, and sex change on the sex ratios of six *Atriplex* species. *Botanical Gazette* 145: 385-394.
58. Freeman, DC; MacArthur, ED; Harper, KT; Blauer, C. 1981. Influence of environment on the floral sex ratio of monoecious plants. *Evolution* 35: 194-197.
59. Galen, C. 2000. High and dry: Drought stress, sex-allocation trade-offs, and selection on flower size in the alpine wildflower *Polemonium viscosum* (Polemoniaceae). *American Naturalist* 156: 72-83.
60. Ganeshiah, KN; Uma Shannker, R. 1991. Floral sex ratios in monoecious species-Why are trees more male-biased than herbs. *Current Science* 60: 319-321.
61. Gigord, L; Lavigne, C; Shykoff, JA; Atlan, A. 1999. Evidence for effects of restorer genes on male and female reproductive functions of hermaphrodites in the gynodioecious species *Thymus vulgaris* L. *Journal of Evolutionary Biology* 12: 596-604.
62. Graff, A. 1999. Population sex structure and reproductive fitness in gynodioecious *Sidalcea malviflora* (Malvaceae). *Evolution* 53: 1714-1722.
63. Hamilton, WD. 1967. Extraordinary sex ratios. *Science* 156: 477-488.
64. Harvey, CF; Gill, GP; Fraser, LG; McNeilage, MA. 1997. Sex determination in Actinidia. 1. Sex-linked markers and progeny sex ratio in diploid *A. chinensis*. *Sexual Plant Reproduction* 10: 149-154.
65. Houssard, C; Thompson, JD; Escarre, J. 1994. Do sex-related differences in response to environmental variation influence the sex-ratio in the dioecious *Rumex acetosella*. *Oikos* 70: 80-90.

66. Ishii, HS; Sakai, S. 2002. Temporal variation in floral display size and individual floral sex allocation in racemes of *Nartheccium asiaticum* (Liliaceae). *American Journal of Botany* 89: 441-446.
67. Ito, E; Kikuzawa, K. 2000. Differentiation of the timing of flower abortion in *Tilia japonica*. *Plant Species Biology* 15: 179-186.
68. Kaul, V; Sharma, N; Koul, AK. 2002. Reproductive effort and sex allocation strategy in *Commelina benghalensis* L, a common monsoon weed. *Botanical Journal of the Linnean Society* 140: 403-413.
69. Klinkhamer, PGL; De Jong, TJ. . 2002. Sex allocation in hermaphrodite plants. En: **Sex ratios: Concepts and research methods**. Ian Hardy (ed.) Cambridge University Press.
70. Koelewijn, HP; Hunscheid, MPH. 2000. Intraspecific variation in sex allocation in hermaphroditic *Plantago coronopus* (L.). *Journal of Evolutionary Biology* 13: 302-315.
71. Korpelainen, H. 2002. **A genetic method to resolve gender complements investigations on sex ratios in *Rumex acetosa***. *Molecular Ecology* 11: 2151-2156.
72. Krupnik, GA; Weiss, AE. 1998. Floral herbivore effect on the sex expression of an andromonoecious plant, *Isomeris arborea* (Capparaceae). *Plant Ecology* 134: 151-162.
73. Kudo, G; Maeda, T. 1998. Size-dependent variation of phenotypic gender and functional gender of a spring ephemeral, *Anemone debilis* Fisch. *Plant Species Biology* 13: 69-76.
74. Kudo, G; Maeda, T; Narita, K. 2001. Variation in floral sex allocation and reproductive success within inflorescences of *Corydalis ambigua* (Fumariaceae): Pollination efficiency or resource limitation? *Journal of Ecology* 89: 48-56.
75. Ladley, JJ; Kelly, D; Robertson, AW. 1997. Explosive flowering, nectar production, breeding systems, and pollinators of New Zealand mistletoes (Loranthaceae). *New Zealand Journal of Botany* 35: 345-360.
76. Le Corff, J; Agren, J; Schemske, DW. 1998. Floral display, pollinator discrimination, and female reproductive success in two monoecious *Begonia* species. *Ecology* 79: 1610-1619
77. Liston, A. H; Reimberg, L. H; Elias, T. S. 1990. Functional androdioecy in the flowering plant *Datisca glomerata*. *Nature* 343: 641-642.
78. Lloyd, DG. 1981. The distribution of sex in *Myrica gale*. *Plant Systematics and Evolution* 138: 29-45.
79. Lloyd, DG. 1982. Selection of combined versus separate sexes in seed plants. *American Naturalist* 120: 571-585.
80. Lopes, AV; Machado, IC. 1998. Floral biology and reproductive ecology of *Clusia nemorosa* (Clusiaceae) in northeastern Brazil. *Plant Systematics and Evolution* 213: 71-90.

81. López, S; Domínguez CA. 2003. Sex choice in plants: facultative adjustment of the sex ratio in the perennial herb *Begonia gracilis*. *Journal of Evolutionary Biology* 16: 1177-1185.
82. Lowenberg, GJ. 1997. Effects of floral herbivory, limited pollination and intrinsic plant characteristics on phenotypic gender in *Sanicula arctopoides*. *Oecologia* 109: 279-285.
83. Lyons, EE; Miller, D; Meagher, TR. 1994. Evolutionary dynamics of sex ratio and gender dimorphism in *Silene latifolia*: I. Environmental effects. *Journal of Heredity* 85: 196-203.
84. Lyons, EE; Shah-Mahoney, N; Lombard, LA. 1995. Evolutionary dynamics of sex ratio and gender dimorphism in *Silene latifolia*: II. Sex ratio and flowering status in a potentially male-biased population. *Journal of Heredity*, 86: 107-113.
85. Manicacci, D; Couvet, D; Belhassen, E; Gouyon, PH; Atlan, A. 1996. Founder effects and sex ratio in the gynodioecious *Thymus vulgaris* L. *Molecular Ecology* 5: 63-72.
86. Marques, AR; Fernandes, GW; Reis, IA; Assuncao, RM. 2002. Distribution of adult male and female *Baccharis concinna* (Asteraceae) in the rupestrian fields of Serra Do Cipo, Brazil. *Plant Biology* 4: 94-103.
87. Maurice, S; Desfeux, C; Mignot, A; Henry, JP. 1998. Is *Silene acaulis* (Caryophyllaceae) a trioecious species? Reproductive biology of two subspecies. *Canadian Journal of Botany* 76: 478-485.
88. Mazer, SJ; Dawson, KA. 2001. Size-dependence sex allocation within flowers of the annual herb *Clarkia unguiculata* (Onagraceae): Ontogenetic and among-plant variation. *American Journal of Botany*, 88: 819-831.
89. Mazer, SJ; Delesalle, VA. 1998. Contrasting variation within and covariation between gender-related traits in autogamous versus outcrossing species: Alternative evolutionary predictions. *Evolutionary Ecology* 12: 403-425.
90. McCauley, DE; Brock, MT. 1998. Frequency-dependent fitness in *Silene vulgaris*, a gynodioecious plant. *Evolution* 52: 30-36.
91. McKone, MJ; Lund, CP; O'Brien, JM. 1998. Reproductive biology of two dominant prairie grasses (*Andropogon gerardii* and *Sorghastrum nutans*, Poaceae): Male-biased sex allocation in wind-pollinated plants? *American Journal of Botany* 85: 776-783.
92. Medan, D; D'Ambrogio, AC. 1998. Reproductive biology of the andromonoecious shrub *Trevoa quinquenervia* (Rhamnaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 126: 191-206.
93. Mendez, M. 1999. Modification of phenotypic and functional gender in the monoecious *Arum italicum* (Araceae). *American Journal of Botany* 85: 225-234.

94. Miglia, KJ; Freeman, DC. 1996. Delayed pollination, stigma length, sex expression and progeny sex ratio in spinach, *Spinacea oleracea* (Chenopodiaceae). *American Journal of Botany* 83: 326-332.
95. Ng, SC; Corlett, RT. 2000. Comparative reproductive biology of the six species of *Rhododendron* (Ericaceae) in Hong Kong, South China. *Canadian Journal of Botany* 78: 221-229.
96. Ngulube, MR; Hall, JB; Maghembe, JA. 1998. Reproductive ecology of *Uapaca kirkiana* (Euphorbiaceae) in Malawi, southern Africa. *Journal of Tropical Ecology* 14: 743-760.
97. Nicotra, AB. 1998. Sex ratio variation and spatial distribution of *Siparuna grandiflora*, a tropical dioecious shrub. *Oecologia* 115: 102-113.
98. Olson, MS. 2001. Patterns of fruit production in the subdioecious plant *Astilbe biternata* (Saxifragaceae). *Journal of Ecology* 89: 600-607.
99. Osunkoya, OO. 2000. Population structure and breeding biology in relation to conservation in the dioecious *Gardenia actinocarpa* (Rubiaceae) – A rare shrub of North Queensland rainforest. *Biological Conservation* 88: 347-359.
100. Pailler, T; Humeau, L; Figier, J; Thompson, JD. 1998. Reproductive trait variation in the functionally dioecious and morphologically heterostylous island endemic *Chassalia corallioides* (Rubiaceae). *Biological Journal of the Linnean Society* 64: 297-313.
101. Pannell, J. 1997. Widespread functional androdioecy in *Mercurialis annua* L. (Euphorbiaceae). *Biological Journal of the Linnean Society* 61: 95-116.
102. Pannell, J. 1997. Variation in sex ratios and sex allocation in androdioecious *Mercurialis annua*. *Journal of Ecology* 85: 57-69.
103. Pannell, JR; Ojeda, F. 2000. Patterns of flowering and sex-ratio variation in the Mediterranean shrub *Phillyrea angustifolia* (Oleaceae): Implications for the maintenance of males with hermaphrodites. *Ecology Letters* 3: 495-502.
104. Pendleton, RL; Freeman, DC; McArthur, ED; Sanderson, SC. 2000. Gender specialization in heterodichogamous *Grayia brandegei* (Chenopodiaceae): Evidence for an alternative pathway to dioecy. *American Journal of Botany* 87: 508-516.
105. Percy, DM; Cronk, QCB. 1997. Conservation in relation to mating system in *Nesohedyotis arborea* (Rubiaceae), a rare endemic tree from St. Helena. *Biological Conservation* 80: 135-145.
106. Pickering, CM; Hill, W. 2002. Reproductive ecology and the effect of altitude on sex ratios in the dioecious herb *Aciphylla simplicifolia* (Apiaceae). *Australian Journal of Botany* 50: 289-300.

107. Polincansky, D. 1981. Sex choice and size advantage model in jack-in-the-pulpit (*Arisema triphyllum*). *Proceedings of the national Academy of Sciences (USA)* 78: 1306-1308.
108. Polincansky, D. 1982. Sex change en plants and animals. *Annual Review of Ecology and Systematics* 13: 471-495.
109. Predavec, M; Danell, K. 2001. The role of lemming herbivory in the sex ratio and shoot demography of willow populations. *Oikos* 92: 459-466.
110. Purrington, CB. 1993. Parental effects on progeny sex ratio, emergence, and flowering in *Silene latifolia* (Carophyllaceae). *Journal of Ecology* 81: 807-811.
111. Rademaker, MCJ; De Jong, TJ. 2000. Testing sex-allocation theory: Flowers vs seeds in hermaphrodite plants. *Oikos* 91: 115-122.
112. Rademaker, MCJ; Klinkhamer, PGL. 1999. Size-dependent sex allocation in *Cynoglossum officinale* for different genotypes under uniform favourable conditions. *Plant Biology* 1: 108-114.
113. Richardson, CR; Clay, K. 2001. Sex-ratio variation among *Arisaema* species with different patterns of gender diphasy. *Plant Species Biology* 16: 139-149.
114. Rottenberg, A. 2000. A field survey of dioecious plants in Israel: Sex ratio in seven rare species. *Botanical Journal of the Linnean Society* 134: 439-442.
115. Rottenberg, A. 1998. Sex ratio and gender stability in the dioecious plants of israel . *Botanical Journal of the Linnean Society* 128: 137-148.
116. Rowland, DL; Johnson, NC. 2001. Sexual demographics of riparian populations of *Populus deltoides*: Can mortality be predicted from a change in reproductive status? *Canadian Journal of Botany* 79: 702-710.
117. Sakai, AK; Weller, SG. 1999. Gender and sexual dimorphism in flowering plants: A review of terminology, biogeographic patterns, ecological correlates, and phylogenetic approaches. In: **Gender and sexual dimorphism in flowering plants**. Geber MA; Dawson TE; Delph LF. (eds). 1-31.
118. Sato, T. 2000. Effects of phenological constraints on sex allocation in cosexual monocarpic plants. *Oikos* 88: 309-318.
119. Schlessman, MA; Graceffa, LM. 2002. Protogyny, pollination, and sex expression of andromonoecious *Pseudocymopterus montanus* (Apiaceae, Apioideae). *International Journal of Plant Sciences* 163: 409-417.

120. Seger, J; Eckhart, V. M. 1996. Evolution of sexual systems and sex allocation in plants when growth and reproduction overlap. *Proceedings of the Royal Society of London - Biological Sciences* 263: 883-481.
121. Shykoff, JA; Kaltz, O. 1997. Effects of the anther smut fungus *Microbotryum violaceum* on host life-history patterns in *Silene latifolia* (Caryophyllaceae). *International Journal of Plant Sciences* 158: 164-171.
122. Sletvold, N. 2002. Effects of plant size on reproductive output and offspring performance in the facultative biennial *Digitalis purpurea*. *Journal of Ecology* 90: 958-966.
123. Soldaat, LL; Vetter, B; Klotz, S. 1997. Sex ratio in populations of *Silene otites* in relation to vegetation cover, population size and fungal infection. *Journal of Vegetation Science* 8: 697-702.
124. Strawbridge, M; Bell, RW; McComb, JA; Barrett-Lennard, EG. 1997. Influence of sex ratio and sexual lability on seed production in the dioecious perennial shrub *Atriplex amnicole* (Chenopodiaceae). *Australian Journal of Experimental Agriculture* 37: 661-666.
125. Sun, M. 1999. Cleistogamy in *Scutellaria indica* (Labiatae): effective mating system and population genetic structure. *Molecular Ecology* 8: 1285-1295.
126. Talamali, A; Bajji, M; Le Thomas, A; Kinet, JM; Dutuit, P. 2003. Flower architecture and sex determination: How does *Atriplex halimus* play with floral morphogenesis and sex genes? *New Phytologist* 157: 105113.
127. Taylor, DR. 1999. Genetics of sex ratio variation among natural populations of a dioecious plant. *Evolution* 53: 55-62.
128. Thompson, DI; Edwards, TJ. 2001. Breeding biology, resource partitioning and reproductive effort of a dioecious shrub, *Clusia pulchella* L. (Euphorbiaceae). *Plant Systematics and Evolution* 226: 13-22.
129. Trivers, RL; Willard, DE. 1973. Natural selection of parent ability to vary the sex ratio of offspring. *Science* 179: 90-92.
130. Uma Shaanker, R; Ganeshiah, KN. 1984. Age specific sex ratio in a monoecious species *Croton bonplandianum* Ball. *New Phytologist* 97: 523 531.
131. Valissiliadis, C. ,Saumitou-Laprade,P. , Lepart, J. , Viard, F. 2002. High Male reproductive success of hermaphrodites in the androdioecious *Phillyrea Angustifolia*. *Evolution*, 56: 1362-1373.
132. Vaughton, G. Ramsey,M . 2002. Evidence of gynodioecy and sex ratio variation in *Wurmbea biglandulosa* (Colchicaceae). *Plant Systematics and Evolution* 232: 167-179.

133. Verdu, M; Garcia-Fayos, P. 1998. Female biased sex ratios in *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae). *Plant Ecology* 135: 95-101.
134. Wada, N; Uemura, S. 2000. Size-dependent flowering behavior and heat production of a sequential hermaphrodite, *Symplocarpus renifolius* (Araceae). *American Journal of Botany* 87: 1489-1494.
135. Wells, MS; Lloyd, DG. 1991. Dichogamy, gender variation and bet-hedging in *Pseudowintera colorata*. *Evolutionary Ecology* 5: 310-326.
136. Wolfe, LM. 1998. Regulation of sex expression in desert and Mediterranean populations of an Andromonoecious plant (*Gagea chlorantha*, Liliaceae). *Israel Journal of Plant Sciences* 46: 17-25.
137. Wright, SI; Barrett, SCH. 1999. Size-dependent gender modification in a hermaphroditic perennial herb. *Proceedings of the Royal Society of London - Biological Sciences* 266: 225-232.
138. Yamashita, N; Abe, T. 2002. Size distribution, growth and inter-year variation in sex expression of *Bischofia javanica*, an invasive tree. *Annals of Botany* 90: 599-605.
139. Yampolsky, C; Yampolsky, H. 1922. Distribution of sex forms in the phanerogamic flora. *Bibliotheca Genetica* 3: 1-62.
140. Zhang, DY. 2000. Resource allocation and the evolution of self-fertilization in plants. *American Naturalist* 155: 187-199.
141. Zhang, DY; Jiang, XH. 2002. Size-dependent resource allocation and sex allocation in herbaceous perennial plants. *Journal of Evolutionary Biology* 15: 74-83.
142. Zhang, DY; Jiang, XH. 1994. Evolutionary stable reproductive strategies in sexual organisms: an integrated approach to life -history evolution and sex allocation. *American Naturalist* 144: 65-75.
143. Zhang, DY; Wang, G. 2000. Costly solicitation, timing of offspring conflict, and resource allocation in plants. *Annals of Botany* 86: 123-131.
144. Zimmermean, JK. 1991. Ecological correlates of labile sex expression in the orchid *Catasetum viridiflavum*. *Ecology* 72: 597-608.

Tabla 1.-Sistemas reproductivos en las plantas con flores. La sexualidad en la plantas puede describirse a nivel de flor y a nivel individual.

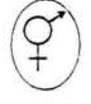
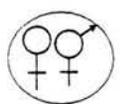
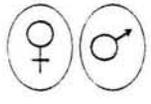
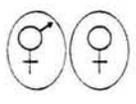
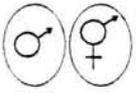
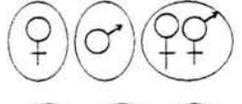
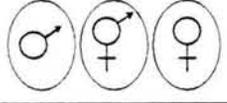
Nivel	Tipo	Función/descripción	Esquema
<i>Floral</i>	Perfecta (hermafrodita)	Donar y recibir polen	
	Unisexual	Recibir polen (femenina)	
	Unisexual	Donar polen (masculina)	
<i>Individual</i>	Hermafrodita	Individuos con flores perfectas	
	Monoico	Individuos con flores macho y hembra	
	Ginomonico	Individuos con flores perfectas y hembra	
	Andromonico	Individuos con flores perfectas y macho	
	Dioico	Individuos macho e individuos hembra	
	Ginodioico	Individuos hermafrodita e individuos hembra	
	Androdioico	Individuos hermafrodita e individuos macho	
	Subdioico	individuos macho, hembra y ginomonico	
	Trioico	individuos macho, hembra y hermafrodita	

Tabla 2.- Revisión de la proporción sexual ($\frac{\text{♀}}{\text{♂}+\text{♀}}$) en plantas con flores. Se presenta el número de especies con sesgos y sin sesgos en la proporción sexual para los sistemas reproductivos con polimorfismo sexual. Los valores entre paréntesis corresponden al porcentaje de especies. SR = sistema reproductivo, PS = proporción sexual, Dio = plantas dioicas, Gindio = plantas ginodioicas, Andio = plantas androdioicas y Trio = plantas trioicas.

SR \ PS	Dio	Gindio*	Andio	Trio
				
Sesgo a machos	32 (28.0)		1 (20)	1 (100)
1:1 (sin sesgo)	59 (51.7)	3 (16.6)	1 (20)	
Sesgo a hembras	23 (20.3)	3 (16.6)		
Sesgos a hermafroditas		12 (66.8)	3 (60)	
Total de especies	114	18	5	1

* Datos proporcionados por Eduardo Cuevas y César Abarca (com. pers.)

Tabla 3.- Revisión de la asignación sexual en plantas con flores. Se presenta el número de especies con sesgos y sin sesgos en la asignación sexual para los sistemas reproductivos monomórficos. Los valores entre paréntesis corresponden al porcentaje de especies. SR = sistema reproductivo, AS = asignación sexual, Her = plantas hermafroditas, Mon = plantas monoicas, Ginmon = plantas ginomonoicas, Anmon = plantas andromonoicas y Subdio = plantas Subdioicas.

SR \ AS	Her 	Mon 	Ginmon 	Anmon 	Subdio 
Sesgo a la función masculina	101 (56.7)	79 (53.0)		7 (53.8)	1 (12.5)
1:1 (sin sesgo)	39 (21.9)	12 (8.1)	16 (100)	6 (46.2)	3 (37.5)
Sesgo a la función femenina	38 (21.4)	58 (38.9)			4 (50)
Total de especies	178	149	16	13	8

Tabla 5.- Modelos que explican los cambios en la asignación sexual de plantas con flores. Los valores entre paréntesis corresponden al porcentaje de especies para los sistemas reproductivos monomórficos. SR = sistema reproductivo, Her = plantas hermafroditas, Mon = plantas monoicas, Ginmon = plantas ginomonoicas, Anmon = plantas andromonoicas y Subdio = plantas Subdioicas.

SR	Evidencia	Limitación de recursos		Endogamia		Hermafroditismo secuencial		Ajustes	
		Abióticos	Bióticos	Sensu stricto	Competencia local	Protandria	Protoginia	Densidad	% sexual
Her	A favor	3	5 (83.3)	108 (99)	2	28 (59.5)	1		
	En contra		1 (16.7)			1 (2.2)			
	Sin evidencia			1 (1)		18 (38.3)			
Mon	A favor	52 (94.5)	12 (85.7)	1	23 (46.9)	8			1 (50)
	En contra	1 (1.8)			18 (36.7)				
	Sin evidencia	2 (3.7)	2 (14.3)		8 (16.4)		1		1 (50)*
Ginmon	A favor								
	En contra								
	Sin evidencia	16							
Anmon	A favor	1 (33.3)	3	1	2	8	1 (50)		
	En contra	1 (33.3)							
	Sin evidencia	1 (33.3)					1 (50)		
Subdio	A favor	1 (50)	1						
	En contra								
	Sin evidencia	1 (50)							

Píe de figuras.

Figura 1.- Modelo de R. A. Fisher ⁵² sobre la proporción sexual óptima. a) En una condición donde hay más machos que hembras en la población (arriba a la izquierda), la selección natural favorece a los progenitores que asignan más recursos hacia la producción de hijas (grafica de arriba al centro) por lo que esta estrategia de asignación se vuelve la más frecuente y esto ocasiona una proporción sexual sin sesgo (en medio a la derecha). En otro escenario, la selección favorece a los progenitores que invierten más recursos en producir hijos (abajo a la izquierda), de tal forma que ahora la población tiende a una proporción de un macho por una hembra (1:1; en medio a la derecha) y en este escenario la selección favorece a los que asignan la mitad de sus recursos disponibles hacia cada sexo. b) Gráfica que describe los cambios en la proporción sexual en función del tiempo. Después de varias generaciones la proporción sexual tiende a 0.5 (1:1).

Figura 2.- Modelo del Valor Marginal desarrollado por E. Charnov ²⁹. Relación entre la asignación relativa a la función masculina (r) y femenina ($1-r$) y la adecuación relativa (W). La línea punteada corresponde a la adecuación femenina y la continua corresponde a la adecuación masculina. Los puntos blancos corresponden a la estrategia evolutivamente estable para cada valor de n que representa la mayor ganancia en adecuación total.

Figura 3.- Modelo del Hermafroditismo Secuencial desarrollado por E. Charnov ²⁹. Relación entre la edad o el tamaño y la adecuación relativa (W). La línea punteada corresponde a la adecuación femenina y la continua corresponde a la adecuación masculina. a) cuando la competencia entre machos es muy intensa, la selección natural favorece a los

individuos que se comportan como hembras cuando son pequeños y que cambian a machos cuando son grandes. El punto donde ambas funciones de adecuación se cruzan corresponde al tamaño esperado para realizar el cambio de sexo. b) Cuando la competencia entre machos no es muy intensa, la selección favorece a los individuos que se comportan primero como machos y luego cambian a hembras.

Figura 1

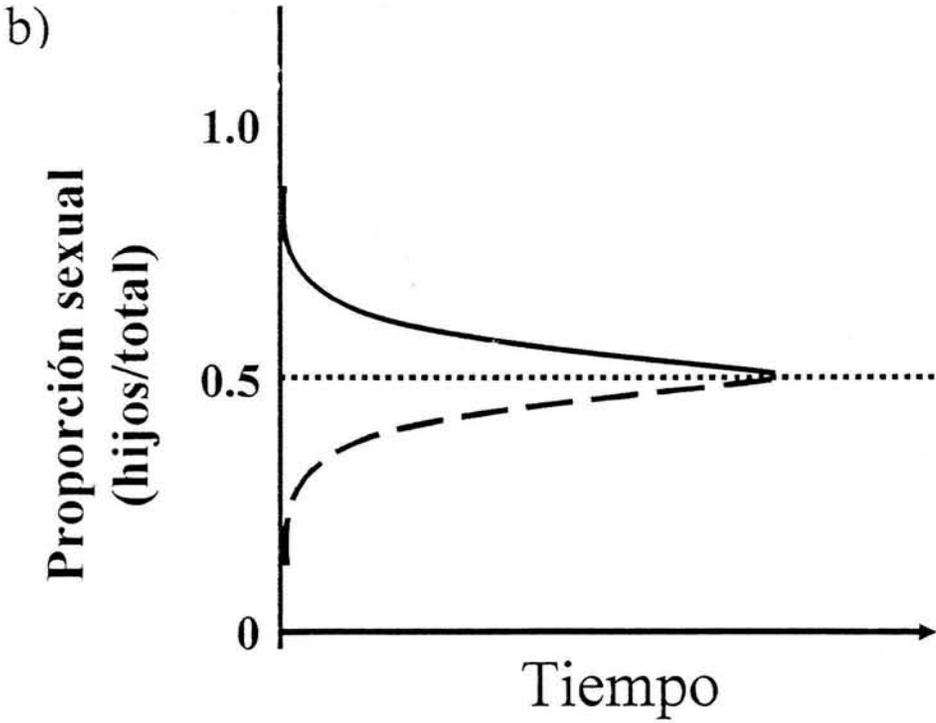
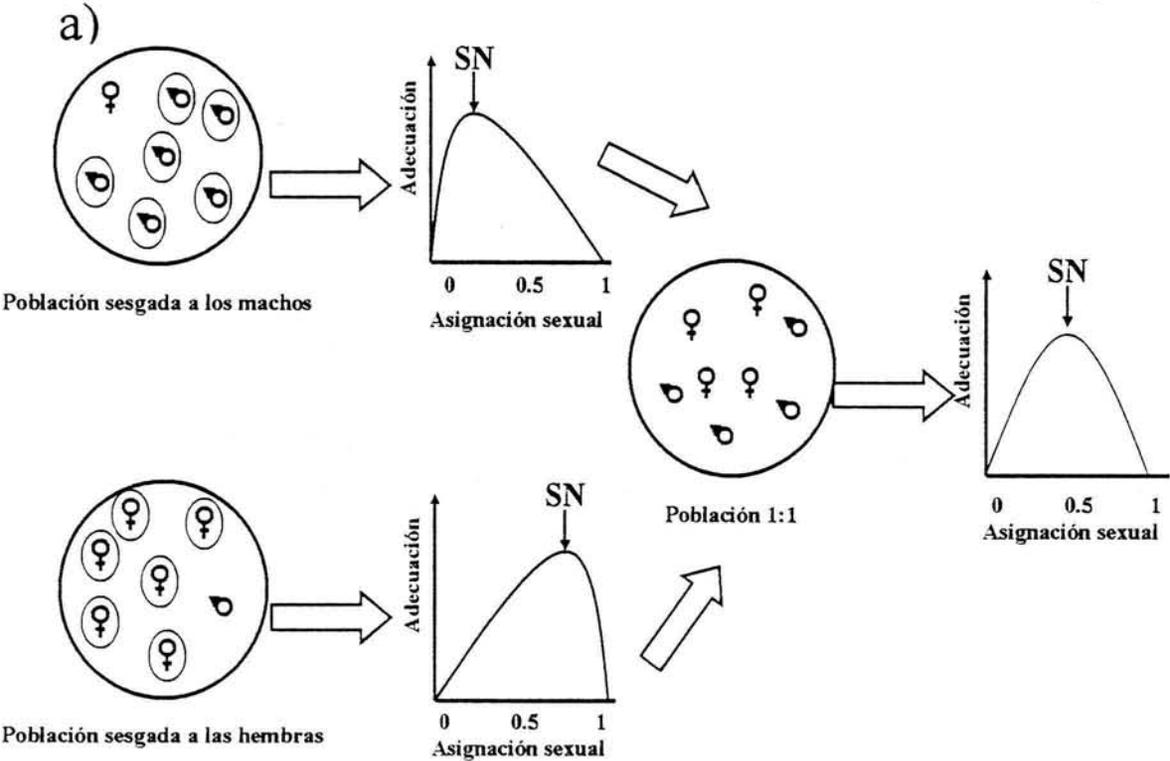


Figura 2

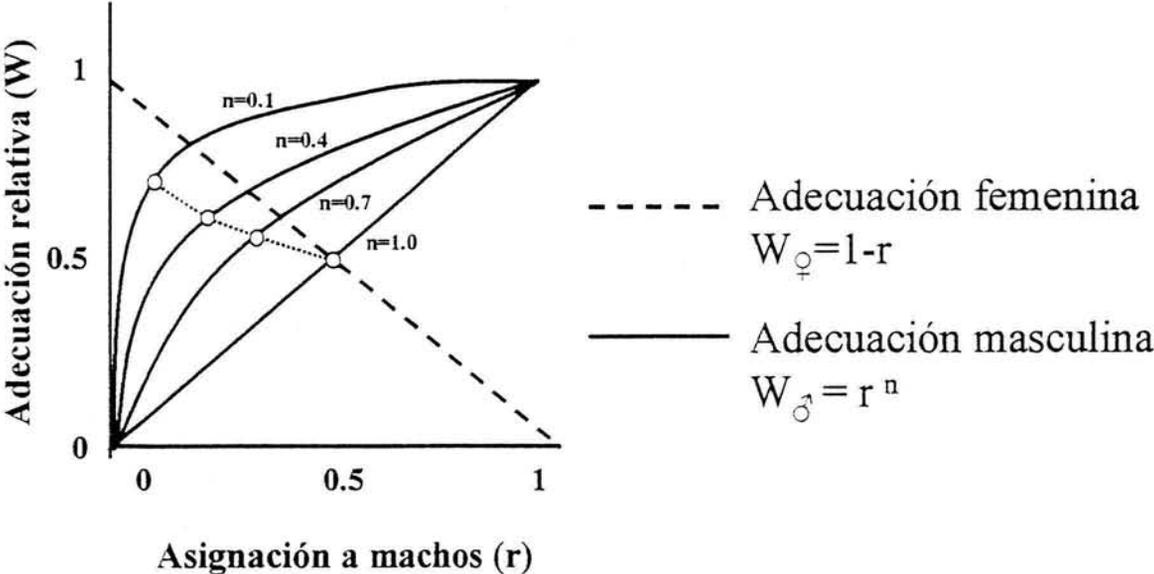
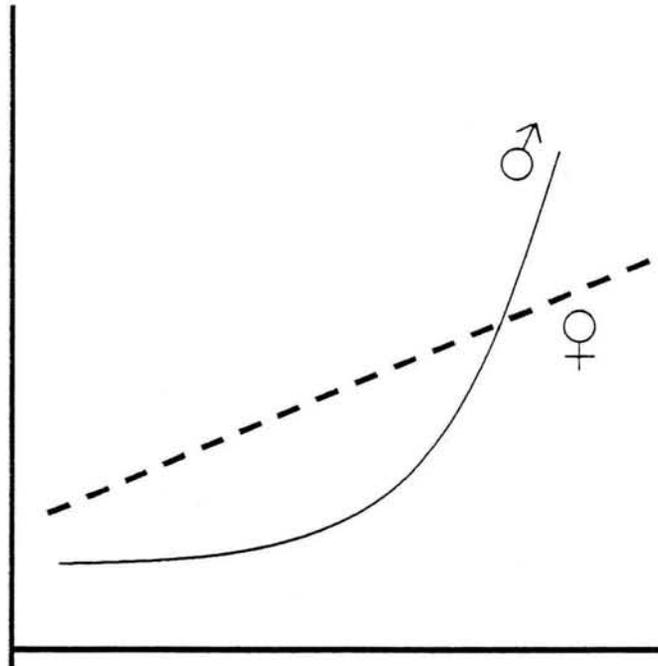


Figura 3

a)

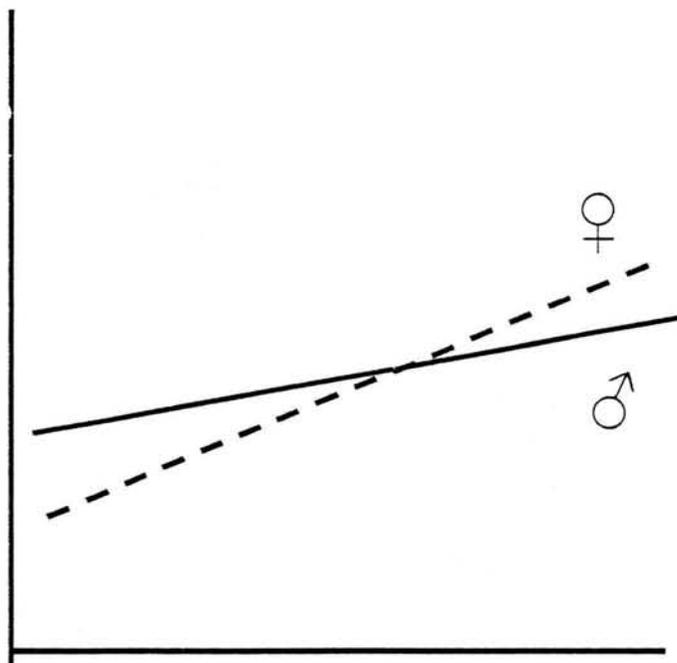
Adecuación relativa (W)



Edad o tamaño

b)

Adecuación relativa (W)



Edad o tamaño

Capítulo 2

AJUSTES FACULTATIVOS DE LA PROPORCIÓN SEXUAL EN LA HIERBA PERENNE *BEGONIA GRACILIS*

Sex choice in plants: facultative adjustment of the sex ratio in the perennial herb *Begonia gracilis*

S. LÓPEZ* & C. A. DOMÍNGUEZ*†

*Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F., Mexico

†Department of Ecology and Evolutionary Biology, University of California-Irvine, Irvine, CA 92607-2525, USA

Keywords:

Begonia;
deceit pollination;
facultative sex allocation;
sex choice;
sex ratio.

Abstract

Sex allocation theory predicts that reproducing individuals will increase their fitness by facultatively adjusting their relative investment towards the rarer sex in response to population shifts in operational sex ratio (OSR). The evolution of facultative manipulation of sex ratio depends on the ability of the parents to track the conditions favouring skewed sex allocation and on the mechanism controlling sex allocation. In animals, which have well-developed sensorial mechanisms, facultative adjustment of sex ratios has been demonstrated on many occasions. In this paper, we show that plants have mechanisms that allow them to evaluate the population OSR. We simulated three different conditions of population OSR by manipulating the amount of pollen received by the female flowers of a monoecious herb, and examined the effect of this treatment on the allocation to male vs. female flowers. A shortage of pollen on the stigmas resulted in a more male-skewed sex allocation, whereas plants that experienced a relatively pollen rich environment tended to produce a more female-skewed sex allocation pattern. Our results for *Begonia gracilis* demonstrate that the individuals of this species are able to respond to the levels of pollination intensity experienced by their female flowers and adjust their patterns of sex allocation in accordance to the expectations of sex allocation theory.

Introduction

Fisher's (1930) theory of sex ratio predicts that natural selection would favour the evolution of equal parental allocation of resources into male and female functions. Under this formulation, gonochorous animals and dioecious plants are expected to produce roughly equal numbers of sons and daughters, and cosexual species to invest the same amount of resources in male and female functions. More recently, theoretical models and empirical studies have shown that the allocation of resources to male vs. female function may be sensitive to some ecological or social conditions and respond to the relative gains possible through either sex function (Hamilton,

1967; Trivers & Willard, 1973; Charnov, 1979, 1982; Frank, 1990). Skewed investments are expected: (i) when sex ratio at the population level deviates from parity causing frequency-dependent selection, (ii) when mating is nonrandom with respect to relatedness, (iii) when parents' condition affects the reproductive abilities of the offspring, and (iv) when the genes controlling sex allocation are not equally transmitted through each sexual function. In more general terms, a deviation from Fisherian (equal) sex allocation is expected when the fitness return on maternal investment is set by functions that differ in shape between the male and female functions (Charnov, 1979, 1982; Frank, 1990; Campbell, 2000). The expected direction of shift is towards that sex function which shows relatively larger reproductive gains (Charnov & Bull, 1977; Charnov, 1982; Frank, 1990). A more complicated situation arises when these curves change in time or from place to place. Under these conditions natural selection should favour

Correspondence: César A. Domínguez, Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología UNAM, A.P. 70-275, D.F. 04510, Mexico.
Tel.: +525-556-22-9039; fax: +525-556-16-1976;
e-mail: tejada@servidor.unam.mx

the evolution of the ability to alter the allocation to male vs. female function (facultative sex allocation) in response to particular environmental or life history situations (Charnov, 1982).

The evolution of facultative manipulation of sex allocation depends on the ability of the parent to track the conditions (physiological, ecological or social) favouring skewed sex allocations, and on the mechanism controlling sex allocation (Charnov, 1982; Frank, 1990). Studies on animal species have shown that maternal condition (Nager *et al.*, 1999), or the courtship experienced during the mating season (Olsson & Shine, 2001), may influence the patterns of sex allocation to sons and daughters (for recent reviews see Ellegren & Sheldon, 1997; Oddie, 1998; Sheldon, 1998). Haplodiploidy and paternal genome loss are perhaps the sex-determining mechanisms that allow the greatest flexibility in animals (Hamilton, 1967; Charnov, 1982; Varndell & Godfray, 1996). Evidence of facultative adjustments also exists in species in which sex is chromosomally determined although the mechanisms remain controversial. Plant literature has plenty of examples showing that in many species sex allocation responds to environmental or intrinsic conditions varying as a function of age, size, herbivore damage, disease, weather, nutritional condition and light (Freeman *et al.*, 1980, 1981; Charnov, 1982; Cid-Benevento, 1987; Deiph & Lloyd, 1991; Sakai & Weiler, 1991; Wells & Lloyd, 1991; Klinkhamer *et al.*, 1997; Lowenberg, 1997; McKone *et al.*, 1998; de Jong *et al.*, 1999). Most of the studies have concentrated on sex-allocation shifts in response to environmentally induced variation in spatial or parental resources. As noted by Werren & Charnov (1978) temporal variation in the population operational sex ratio (OSR; defined as the number of sexually active males in relation to the number of receptive females at any given time, Emlen & Oring, 1977), also produces a selective pressure favouring the evolution of facultative adjustments in the investment in male vs. the female function. Although examples of this phenomenon are known from the animal literature (reviewed in Olsson & Shine, 2001) and from some early studies in dioecious plants (Correns, 1928; Conn & Blum, 1981), no experimental attempts have been made to determine whether cosexual plants are able to respond to the variation in OSR by modifying their patterns of sex allocation to male and female flowers. Most cosexual plants fulfil the conditions established by Werren & Charnov (1978) for facultative sex allocation to evolve (overlapping generations, different and unpredictable changes in reproductive gain expectations for the two sexes, and parental ability to vary sex allocation in response to perturbations). Moreover, Charnov (1982, 1984) pointed out that the evolution of facultative sex allocation in dioecious and gonochorous (allocation to sons or daughters) or hermaphroditic (allocation to male vs. female function) organisms are theoretically equivalent. In addition,

theoretical models predict that inbreeding should produce a reduced investment in the male function of species with facultative sex allocation regardless of whether we are dealing with animals (mating between close relatives) or plants (self-compatibility) (see Hamilton, 1967; Charnov, 1982; Karlin & Lessard, 1986; Frank, 1990). Such a prediction has been supported in animals with facultative sex allocation in which an increase in the probability of sib mating (a form of inbreeding) produces a female-skewed progeny (Hamilton, 1967; Charnov, 1982; Godfray & Werren, 1996; Molbo & Parker, 1996).

Thus, the absence of examples in plants may reflect the common view that these organisms are not able to track the changes in OSR. In spite of the fact that plants lack the sensory capacities characteristic of animals (but see Callaway, 2002 and references therein), there are other mechanisms that could allow plants to track the variation in their social environment (the population OSR). Here we test the hypothesis that plants could use pollination success (the amount of pollen grains received on stigma) as a measure of the variation in the population OSR. High levels of pollination success could be indicative of a male-biased OSR, and thus any tendency to invest in the female function should be favoured. However, a shortage of pollen could be interpreted as a female-biased OSR, thus favouring the investment in the male function. This mechanism was first proposed for animals in the Werren & Charnov's perturbation model (1978), which suggests that a period of male rarity may induce a facultatively adjusted male-biased sex ratio.

There is already some evidence that plants may adjust their sex allocation patterns on the basis of the information provided by the fertilization success attained by their flowers. Early experiments with the dioecious *Silene alba*, *Rumex acetosa* (Correns, 1928) and *R. hastatulus* (Conn & Blum, 1981), demonstrated that light pollen loads resulted in a progeny sex ratio of 1 : 1 and heavy loads produced a progeny skewed towards females. In *Viola hirta* (Redbo-Torstensson & Berg, 1995) and *Oxalis acetosella* (Berg & Redbo-Torstensson, 1998), there was a negative relationship between the number of cleistogamous flowers and the fertilization success of the previous chasmogamous phase. As fertilization success of the outbreeding chasmogamous flowers is determined by the availability of pollen, the production of cleistogamous flowers could be interpreted as a response to the social environment (availability of matings) these plants face. Nonetheless, to our knowledge nobody has explored the possibility that plants respond to their social environment (defined as the OSR) by adjusting their patterns of sex allocation to male and female flowers. Monoecious species (individuals are characterized by the presence of both male and female flowers) are particularly useful to test this kind of hypothesis as male and female investments are separated in different flowers. Furthermore, although little is known about the sex allocation

mechanisms of monoecious species (Dellaporta & Calderon-Urrea, 1993), it is well known that plants with this reproductive system are capable of facultative adjustments in response to a variety of physical and biological stimuli (Freeman *et al.*, 1980; Charnov, 1982; Cid-Benevento, 1987; Lowenberg, 1997).

In this study, we use the monoecious perennial herb *Begonia gracilis* HBK (Begoniaceae) to test the hypothesis that plants may facultatively shift their sex allocation patterns in response to changes in the population OSR. We also tested whether these changes are consistent with the theoretical expectations derived from sex allocation theory. As OSR has a strong effect on the levels of pollination success in this species (Castillo, 1999; Castillo *et al.*, 2002), we used hand-pollination experiments in order to simulate three different levels of pollination intensity and looked for changes in the sex allocation patterns of plants under these treatments. Additionally, we wanted to control for two other factors that have the potential to affect the outcome of facultative sex allocation (Campbell, 2000). Our hypothesis predicts that under conditions of abundant pollination, plants should produce more female flowers. As the production of a female flower is linked to future costs associated with fruit maturation, we included a fertilization treatment (fertilizer addition) to guarantee that the production of more flowers was not precluded by a shortage of resources. However, it has repeatedly been shown that inbreeding produces a reduced investment in male function in animals with facultative sex allocation (Hamilton, 1967; Charnov, 1982; Godfray & Werren, 1996; Molbo & Parker, 1996), and because *B. gracilis* is a self-compatible species we tested whether or not the source of pollen (self and cross) affects the patterns of sex allocation.

Methods

Study species

The study was carried out in the Pedregal de San Angel ecological preserve, in Mexico City, where *B. gracilis* typically grows in discrete patches within more mesic gullies formed by lava. During the dry season, *B. gracilis* lacks aerial parts and individuals aestivate as subterranean corms. Growth is initiated in response to the first rains, and flowering takes place in early August to early October, 2–3 months after the onset of the rainy season. *Begonia gracilis* is a monopodial perennial herb that produces two or three initial vegetative nodes, followed by reproductive nodes each producing a single two-flowered inflorescence. Inflorescences are typically protandrous and plants produce an average of 9.7 (± 0.35 ; mean ± 1 SE hereafter) flowers in a given reproductive season (Castillo, 1999). Halictids are the main visitors to the female flowers of *B. gracilis* and they are probably the main pollen vectors of this species (Castillo, 1999; Castillo *et al.*, 2002).

As there is no synchronization among the inflorescences within a plant, the sex ratio of an individual depends on the timing of anthesis and on the longevity of individual flowers. Male flowers last longer than female flowers (4.9 ± 0.1 days, $n = 2821$ vs. 3.6 ± 0.1 days, $n = 2379$, respectively). Stigma receptivity and pollen viability diminish with flower age; the highest probability of set fruit occurs when female flowers are pollinated during the first day of anthesis with the pollen of a one-day old male flower (Castillo *et al.*, 2002). *Begonia gracilis* is self-compatible and depends on pollinators for pollen transfer and fruit production. Although *B. gracilis* is a self-compatible species, the foraging behaviour of pollinators suggests that most fruits are produced by outcross pollination. During a given foraging bout pollinators mostly visit very few flowers per plant (usually one), thus favouring the transfer of pollen between different individuals. Fruit-set under natural conditions is extremely low; only about 8% of the female flowers set fruit. Fruit-set increases by a factor of seven after hand pollination, indicating strong pollen limitation (Castillo *et al.*, 2002).

Previous studies have shown that the reproductive success of *B. gracilis* individuals is highly dependent on the population sex ratio (Castillo *et al.*, 2002). As *B. gracilis* is a deceit-pollinated species that only offers pollen as a reward for pollinators; male-biased populations produce the conditions maximizing reproductive success. Nonetheless, there is a strong heterogeneity among plants in their patterns of sex allocation. Although most individuals maintain a male-biased sex ratio throughout the reproductive season, other plants may show marked variations in their patterns of sex expression or even produce only female flowers (Castillo, 1999; Castillo *et al.*, 2002).

Facultative adjustment of sex allocation

To evaluate whether or not individuals of *B. gracilis* can 'estimate' the variation in OSR and respond by facultatively adjusting their patterns of sex allocation to male vs. female flowers, we designed a factorial experiment. We used three levels of pollination intensity, two levels of fertilization (with and without fertilizer) and two types of cross (self and cross) as factors in this experiment.

The plants used in these experiments were collected from the Pedregal preserve at the beginning of the growing season of July 1999, when they were just resuming growth after the dry season. Corms were planted in individual pots and maintained under greenhouse conditions ($n = 540$ plants). Before the beginning of flowering, we randomly assigned 14 plants to each of 12 treatments (168 plants, three levels of pollination, two levels of fertilization, two types of cross and 14 replicates each). The remaining 372 plants were used as pollen donors. We added 1.2 g of a commercial fertilizer (Osmocote) to all plants assigned to the fertilizing

treatment. Previous assays have demonstrated that the application of this fertilizer to *B. gracilis* individuals increases growth and fruit maturation. The position of each experimental plant within the greenhouse was randomly assigned and all plants were marked at the base of the first reproductive node with aluminium tags. This procedure allowed us to maintain a detailed record of the reproductive behaviour of each flower of every plant.

As the plants are hypothesized to 'estimate' the variation in OSR through the amount of pollen deposited on their stigmas, experimental plants were assigned to one of three treatments of pollination intensity (low, medium and high). The three levels of pollination intensity were established by pollinating each of the first three female flowers produced by the experimental plants with the pollen from one (low level treatment), eight (medium level treatment) or 16 (high level treatment) anthers from one male flower. As we always used 1-day-old male flowers as donors, most of the pollen were in the anther at the moment of hand pollination. Given that the number of anthers per male flower is $27 (\pm 0.9, n = 21)$, and the average number of ovules per female flower is $13\ 000 (\pm 901, n = 83)$, we are confident that our treatments produced different pollination intensities. Thus, by using the number of anthers we were able to standardize the amount of pollen deposited on each experimental stigma. The flowers used as pollen donors in the outcross treatment were randomly chosen from the remaining 372 potted plants. Once a plant was used as a pollen donor it was not used again. Given that *B. gracilis* is a protandrous species, male flowers were always available in the same plant for the self-pollination treatment.

Experimental hand pollinations were conducted from September 6 to 13, 1999. Depending on the treatment, we gently removed one, eight or 16 stamens from the selected male flower by using small scissors. The anthers were deposited on a clean microscope slide and cutting the anther wall we exposed pollen. All the pollen was collected with a fine paintbrush and then it was applied to the stigmatic surface. This procedure was repeated for all the experimental flowers ($n = 504$ flowers). All hand pollinations were performed on the first day of anthesis for both the donor and the recipient flowers.

Statistical analyses

Given that we pollinated the first three female flowers of each plant and we were unable to control for the number of male flowers at the moment of hand pollination, the initial sex ratio differed among the experimental plants. In order to deal with this difficulty, we followed two procedures. First, because we hypothesized that the predicted responses to the variation in pollination intensity should be expressed in the fine-tuning of the sex of the forthcoming flowers, we focused our attention on the sex ratio [male flowers/(male + female flowers)] of the

flowers produced *after* the application of the treatments. This variable was defined as adjusted sex ratio. Secondly, we accounted for the variation in the initial conditions by measuring the residuals resulting from a regression analysis between the initial sex ratio (the sex ratio at the moment of hand pollination) and the final sex ratio (estimated on the basis of the total number of flowers of each sex produced during the flowering season) for each plant. Residual values are the fraction of the variance in the final sex ratio not explained by the initial sex ratio, and thus they are a measure of the change in sex ratio independent of the initial conditions. This new variable was defined as sex allocation change. Residuals may take positive and negative values. A positive value indicates the production of male flowers, and thus a tendency to bias the sex ratio towards the male function. In contrast, the production of female flowers renders a negative residual, indicating a female bias.

The effects of pollination intensity, cross type, fertilization and their interactions on adjusted sex ratio and sex allocation change were evaluated by means of two independent factorial designs. As the error distribution of sex ratio is not normal, the factorial analysis of adjusted sex ratio and the regression between initial and final sex ratios were performed with the GLIM program using binomial error and logit as link function (Crawley, 1993). Sex allocation change fulfilled all the ANOVA assumptions, thus we used normal error and the identity function as the link function in this analysis (Crawley, 1993).

We further analysed the consequences of the application of the experimental treatments on the production of fruits of hand-pollinated flowers by using GLIM and the same factorial design.

Results

Factorial analysis of deviance explained 11.4% of the variance in adjusted sex ratio. Pollination intensity was the only significant variable affecting the variance in adjusted sex ratio (Table 1). Neither cross type, fertilization, nor their interactions had a significant effect. In accordance with our prediction, high levels of pollination produced a significant female-biased sex ratio adjustment (Fig. 1a). In contrast, when plants were pollinated with low and medium pollen loads, they produced a male-biased sex ratio (Fig. 1a). Analysis performed on sex allocation change produced similar results. There was a significant and linear relationship between the initial and final sex ratios ($F_{1,166} = 71.8, P < 0.001$). Initial sex ratio accounted for 30% of the variance in the final sex ratio. As revealed by factorial ANOVA, the only significant variable affecting the variance in sex allocation change was pollination intensity (Table 1). High levels of pollination produced a significant sex allocation change skewed towards the female function (negative). Plants under this treatment skewed their sex ratio towards the

Table 1 The results from the factorial analyses of deviance/variance of the effects of pollination level (PL), cross type (CT), fertilization (F) and their interactions on changes in adjusted sex ratio, sex allocation change (see Methods for details) and fruit production in *Begonia gracilis*.

Source	d.f.	Adjusted sex ratio*		Sex allocation change†		Fruits*	
		χ^2	P	F	P	χ^2	P
PL	2	16.21	0.0003	8.47	0.00032	4.18	0.017
CT	1	0.25	0.6179	0.35	0.55390	7.93	0.005
F	1	1.80	0.1793	0.18	0.67355	3.87	0.048
PL × CT	2	1.97	0.3734	2.09	0.12748	14.0	<0.001
PL × F	2	2.27	0.3212	3.20	0.05654	1.39	0.251
CT × F	1	0.09	0.7643	0.74	0.39847	2.34	0.113
PL × CT × F	2	5.45	0.0657	1.18	0.30926	0.64	0.526

*Analysis of deviance.

†Analysis of variance.

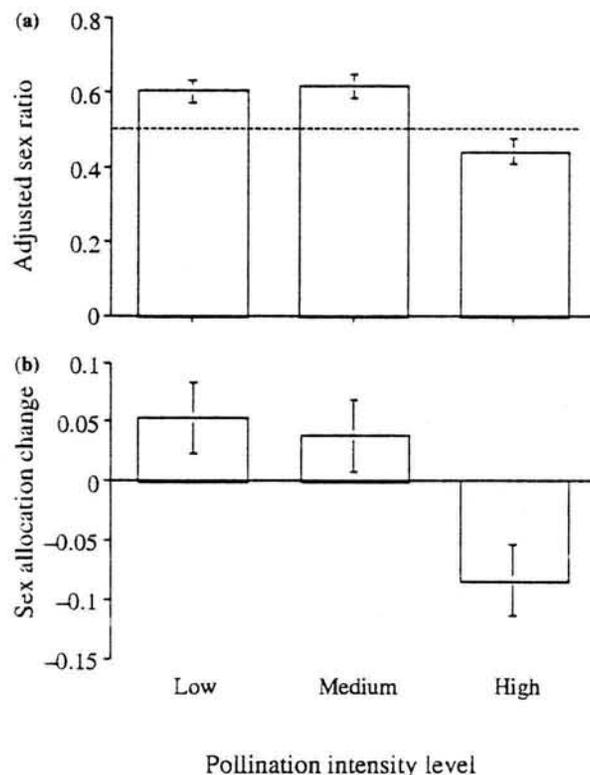


Fig. 1 Effects of the different pollination intensity treatments on adjusted sex ratio (a, dashed line represents equal allocation to male and female flowers), and on sex allocation change (b, the average change in sex ratio in relation to the initial sex ratio). When plants were exposed to relatively high levels of pollination intensity they responded by skewing their sex ratio towards the female function, whereas plants under low and intermediate levels of pollination intensity showed a significant bias towards the production of male flowers (mean \pm SE).

female function by almost 10% in relation to their initial sex ratio. Plants in the low and medium pollination intensity treatments produced a significant positive sex allocation change (Fig. 1b). Thus, these plants showed a tendency to overproduce male flowers.

There were no significant differences among treatments in the average number of flowers per plant, neither at the moment of hand pollination [6.4 (± 0.17), 6.5 (± 0.16) and 6.4 (± 0.17) flowers for the low, medium and high pollination intensity level treatments, respectively; $F_{2,165} = 0.12$, n.s.], nor in the number produced after the application of the experimental treatments [5.0 (± 0.36), 4.8 (± 0.36) and 5.0 (± 0.4) flowers for the low, medium and high pollination intensity level treatments, respectively; $F_{2,165} = 0.12$, n.s.]. Consequently, the effects of pollination intensity on adjusted sex ratio and sex allocation change were due to the production of different proportions of each sex flowers among treatments. Plants in the low and medium pollination intensity treatments produced significantly more male flowers than those in the high intensity treatment (Kruskal–Wallis test, $\chi^2 = 8.46$, $P < 0.05$), whereas plants pollinated with high pollen loads produced more female flowers than plants in the other two treatments (Kruskal–Wallis test, $\chi^2 = 6.66$, $P < 0.05$) (Fig. 2).

Fruit production was significantly affected by pollination level, cross type, fertilization, and the interaction

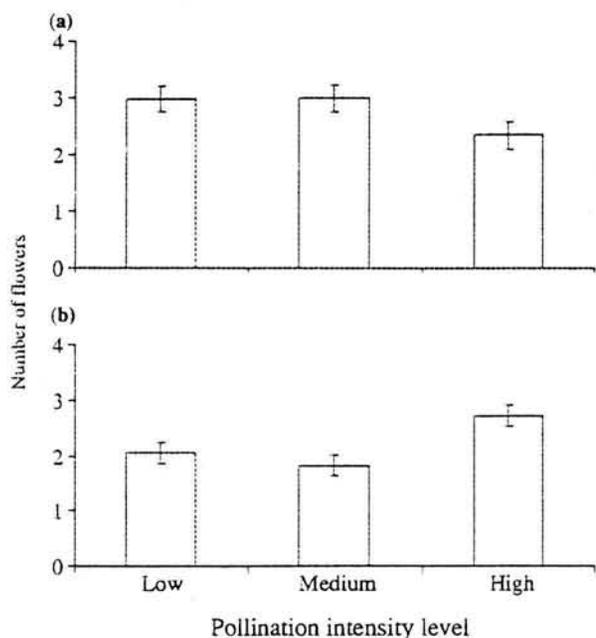


Fig. 2 Average number of male (a) and female flowers (b) produced after the application of three pollination intensity treatments. As the distributions of the number of male and female flowers were not normal, means and standard errors are presented for illustrative purposes.

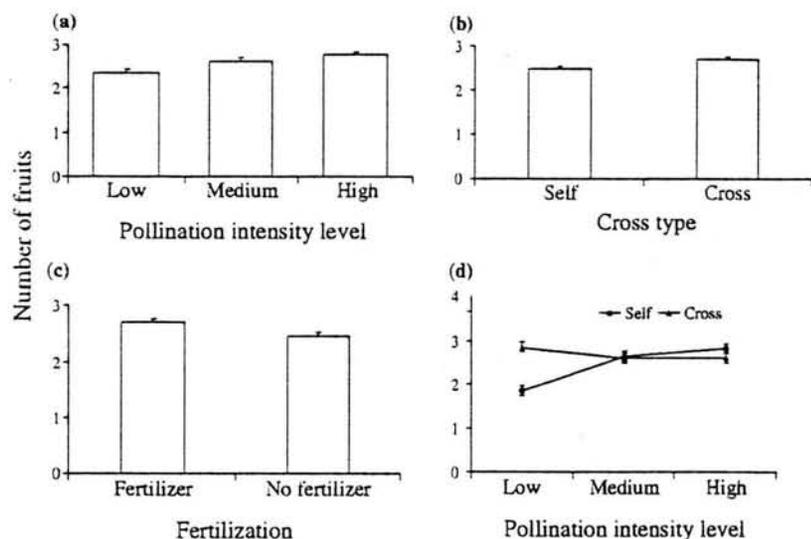


Fig. 3 Average number of fruits produced by plants subject to three levels of pollination intensity (a), two sources of pollen (b), with and without fertilizer (c), and the interaction between cross type and pollination level (d) (mean \pm SE).

between cross type and pollination level (Table 1). Plants in the low pollination intensity treatment produced fewer fruits than those in the other two treatments (Fig. 3a). Fruit production was also higher in plants pollinated with cross pollen (Fig. 3b), and in the fertilized ones (Fig. 3c). As indicated by the interaction term (cross type \times pollination level), plants in the low pollination intensity treatment produced fewer fruits than plants in any other treatment (Fig. 3d).

Discussion

The results of our experiments in *B. gracilis* were in accordance with the theoretical expectations derived from Werren & Charnov's (1978) perturbation model. Low and intermediate pollen loads resulted in male-skewed sex ratios (and male-biased sex allocation changes), whereas plants that experienced a relatively pollen rich environment tended to produce a female-skewed sex ratio and a female-biased sex allocation change.

The evolution of facultative sex allocation requires the ability to track changes in opportunities for successful reproduction through the male and female functions (Charnov, 1982). Our experiments suggested that the individuals of *B. gracilis* might use the levels of pollination intensity experienced by their female flowers to track the opportunities for mating. Not only did plants respond to the different pollination intensities, they also changed their patterns of sex allocation towards the sex function with the highest expected reproductive gain. Interestingly, these changes were not a simple consequence of different pollen sources or resource availabilities, as their lack of significance indicates. We found no effect of cross type (cross and self pollen) on sex allocation to male or female flowers. An intriguing result, as theoretical models (Hamilton, 1967; Charnov,

1982; Frank, 1990) and empirical studies with animals (Godfray & Werren, 1996; Molbo & Parker, 1996) have shown that inbreeding produces a female-biased facultative sex allocation. Moreover, the female-skewed sex ratio (and sex allocation change) observed in the high pollination intensity treatment argues against an explanation based on resource limitation. Flowers in this treatment were pollinated with high pollen loads that resulted in the highest fruit-set observed in this study. As female flowers are heavier than males (Castillo, 1999), and their production also involves the costs associated with fruit maturation, they are predicted to be more expensive for the plant. Under these circumstances a Fisherian argument would predict the production of more male (not female) flowers, as an excess of the cheaper sex is expected on the basis of equal allocation theory (Fisher, 1930; Charnov *et al.*, 1976; Charnov, 1982; Frank, 1990).

The above results suggest that instead of a response based on the effects of inbreeding or on the modification of the budget of resources produced by the different pollination intensities, the observed adjustments seem to directly respond to the stimulus produced by pollination intensity *per se*. This interpretation is in accordance with our observations that fecundity of *B. gracilis* is strongly pollinator limited, and that inbreeding depression was only apparent in combination with low pollen loads. Fruit-set increased 1.09 times after the addition of fertilizer, and it was 1.6 times higher in flowers pollinated with low loads of outcross pollen than in those self-pollinated. In contrast, previous experiments have shown that fruit production increases by a factor of seven after hand pollination (Castillo, 1999). Overall, these results suggest that pollinators, more than the availability of resources or inbreeding, are the main factor limiting the reproductive success of this species.

Under these circumstances, pollination intensity would be a better signal of the expected opportunities for reproduction because the available resources would rarely limit reproductive success.

Our results suggest that plants could use pollination intensity as a measure of the opportunities for reproduction through the male and female function (the OSR of the population). The variation in pollination intensity in field conditions may be accounted for by at least two factors, the availability of pollen, and/or the availability of pollinators. The interaction between these two sources of variation makes of pollination intensity an asymmetrical estimator of the opportunities for successful reproduction through each sexual function. High levels of pollination intensity require both the presence of pollen donors and pollinators, and consequently they do reflect an ecological scenario favouring a female-skewed sex allocation. Conversely, low levels of pollination intensity are an unreliable estimator because they may be produced either by pollinator limitation (even in the presence of pollen donors), or by a shortage of pollen (a female-skewed OSR). The best strategy under these circumstances may be one in which the magnitude of the response is a function of the reliability of the information. Any indication of a shortage of pollen (the unreliable signal) should produce a 'prudent' response (i.e. no response at all or a slight change). Alternatively, because a high level of pollination intensity is an accurate indication of the abundance of both pollen and pollinators, plants are expected to produce a stronger response to this stimulus. Our observation of a stronger response in the high pollination intensity treatment is in accordance with this idea. The sex allocation changes produced by both the intermediate and the low pollination intensity treatments were relatively low and similar to each other, suggesting that plants require an intense stimulus to produce a female-skewed sex allocation change. Furthermore, although plants in both the intermediate and high pollination intensity treatments produced the same number of fruits, only those that experienced an intense stimulus (high pollination intensity) skewed their patterns of sex allocation towards female function. Apparently, plants in the high pollination treatment adjusted their patterns of sex allocation on the basis of the larger reproductive gains expected from investing in the female function in a pollen rich environment.

There are at least two possible mechanisms through which *B. gracilis* could adjust its patterns of sex allocation: by inducing the differentiation of buds of the preferred sex, or by arresting the development of already differentiated buds. Although the 3.5 (± 0.06) days period we observed between the application of the experimental treatments and the anthesis of the first flower is long enough to induce the differentiation of new flowers (see Leins *et al.*, 1988), we think that the results of this study are better explained by the development arrest hypothesis. First,

B. gracilis produces a single two flowered inflorescence on each reproductive node. Although such inflorescences have the potential to produce one flower of each sex, single flowered inflorescences are very common. Secondly, the sex allocation adjustment we observed in this study resulted from the production of sex-skewed single flowered inflorescences, suggesting that it is not possible for plants to produce two flowers of the same sex in a single inflorescence. These observations suggest that there is a developmental constraint (limitations on the set of possible developmental states and their morphological expressions; Arnold, 1992) preventing a response based on flower differentiation. This mechanism would allow plants to facultatively adjust their sex ratio and could prevent the wastage of resources in flowers with relatively low reproductive expectations.

Finally, it is worth considering the results of this study on the basis of the pollination biology of this species. It has been shown elsewhere that the reproductive success of *B. gracilis* individuals is highly dependent on the population sex ratio (Castillo *et al.*, 2002). As pollen is the only reward for pollinators in this species, pollinator visitation to female flowers depends on the presence of the rewarding male flowers. An experimental study showed that the average fruit-set was 2.5 times higher in male than in female-biased populations (Castillo *et al.*, 2002). Consequently, the observation that most of the plants maintain a male-skewed sex ratio throughout the flowering season was interpreted as the result of pollinator-mediated frequency-dependent selection (Castillo *et al.*, 2002). It is possible that the ability to facultatively adjust sex allocation is favoured by the population male-biased sex ratio that results from deceit pollination. In this species, an excess of male flowers is required to attract pollinators (Castillo *et al.*, 2002) and most plants produce more male than female flowers. If the population bias were high enough to attract pollinators, a mutant individual that skewed its sex allocation to the production of female flowers would enjoy the benefits of being in a pollen rich population, and would reduce the costs associated with both the production of rewards and the negative effects of pollen competition (Bronstein, 2001). Given that fruit production in natural populations of *B. gracilis* is very low, any mechanism enhancing the reproductive output would be favoured by natural selection. Obviously, the reproductive success of individuals producing a female-skewed sex ratio is expected to depend on the frequency of male flowers in the population (frequency-dependent selection), because in a less male-biased situation plants should compete with each other for the service of pollinators through the production of male flowers. Both our finding of a female-skewed sex allocation change under a high pollination intensity treatment, and the low frequency of individuals with female-biased floral sex ratios (6.5%) in natural populations (Castillo, 1999), are in accordance with this interpretation.

Our results indicate that plants are able to facultatively adjust their patterns of sex allocation in response to the variation in the levels of pollination intensity. Although many studies have recognized that plants have the ability to alter their patterns of sex allocation (Freeman *et al.*, 1980; Charnov, 1982, 1984; Cid-Benevento, 1987; Lowenberg, 1997; Pannell, 1997), most of them have emphasized the role of environmental variables and/or plant condition. The results of our experiments provide empirical evidence for a potential mechanism allowing plants to measure their social environment, and suggest that social interactions may play an important role in the evolution of the reproductive systems of plants.

Acknowledgments

We thank Fernando Rosas, Horacio Paz, Raúl Iván Martínez and Rubén Pérez Ishiwara for field assistance and logistic support. Camille Barr, Leo Buss, Carlos Cordero, Theresa Culley, Rogelio Macías, Steve Frank, Stephen Weller and three anonymous reviewers made valuable comments on early drafts of the manuscript. This paper was written in partial fulfillment of the requirements for the PhD degree of SL at the Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). This study was supported by a grant from UNAM (IN204594) and by a sabbatical fellowship to CAD by CONACYT and UNAM.

References

- Arnold, S.J. 1992. Constraints in phenotypic evolution. *Am. Nat.* **140**: S85–S107.
- Berg, H. & Rechbo-Torstensson, P. 1998. Cleistogamy as a bet-hedging strategy in *Oxalis acetosella*, a perennial herb. *J. Ecol.* **86**: 491–500.
- Bronstein, J.L. 2001. The exploitation of mutualisms. *Ecol. Lett.* **4**: 277–287.
- Callaway, R.M. 2002. The detection of neighbors by plants. *Trends Ecol. Evol.* **17**: 104–105.
- Campbell, D. 2000. Experimental tests of sex-allocation theory in plants. *Trends Ecol. Evol.* **15**: 227–232.
- Castillo, R. 1999. Selección dependiente de la frecuencia en plantas: polinización por engaño en *Begonia gracilis* HBK (BEGONIACEAE). PhD thesis, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico.
- Castillo, R., Cordero, C. & Domínguez, C.A. 2002. Are reward polymorphisms subject to frequency- and density-dependent selection? Evidence from a monoecious species pollinated by deceit. *J. Evol. Biol.* **15**: 544–552.
- Charnov, E. 1979. Simultaneous hermaphroditism and sexual selection. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **76**: 2480–2484.
- Charnov, E. 1982. *The Theory of Sex Allocation*. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Charnov, E. 1984. Behavioural ecology of plants. In: *Behavioural Ecology: An Evolutionary Approach* (J. R. Krebs & N. B. Davies, eds), pp. 362–379. Sinauer Associates Inc., Sunderland, MA.
- Charnov, E. & Bull, J.J. 1977. When is sex environmental determined? *Nature* **266**: 828–830.
- Charnov, E., Maynard-Smith, J. & Bull, J.J. 1976. Why be an hermaphrodite? *Nature* **263**: 125–126.
- Cid-Benevento, C.R. 1987. Relative effects of light, soil moisture availability and vegetative size on sex ratio of two monoecious woodland annual herbs: *Acalypha rhomboidea* (Euphorbiaceae) and *Pilea pumila* (Urticaceae). *Bull. Torrey Bot. Club* **114**: 293–306.
- Conn, J.S. & Blum, U. 1981. Sex ratio of *Rumex hastatulus*: the effects of environmental factors and certation. *Evolution* **35**: 1108–1116.
- Correns, C. 1928. Bestimmung, Vererbung und Verteilung des Geschlechtes bei den höheren Pflanzen. *Handbuch der Vererbungslehre* **2**: 1–138.
- Crawley, M.J. 1993. *GLIM for Ecologists*. Blackwell, Oxford.
- Dellaporta, S.L. & Calderon-Urrea, A. 1993. Sex determination in flowering plants. *Plant Cell* **5**: 1241–1251.
- Delph, L.F. & Lloyd, D.G. 1991. Environmental and genetic control of gender in the dimorphic shrub *Hebe subalpina*. *Evolution* **45**: 1957–1964.
- Ellegren, H. & Sheldon, B.C. 1997. New tools for sex identification and the study of sex allocation in birds. *Trends Ecol. Evol.* **12**: 255–259.
- Emlen, S.T. & Oring, L.W. 1977. Ecology, sexual selection, and the evolution of mating systems. *Science* **197**: 215–223.
- Fisher, R.A. 1930. *The Genetical Theory of Natural Selection*. Oxford University Press, Oxford.
- Frank, S. 1990. Sex allocation theory for birds and mammals. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **21**: 13–55.
- Freeman, D.C., Harper, K.T. & Charnov, E.L. 1980. Sex change in plants: old and new observations, and new hypotheses. *Oecologia* **47**: 222–232.
- Freeman, D.C., MacArthur, E.D., Harper, K.T. & Blauer, C. 1981. The influence of environment on the floral sex ratio of monoecious plants. *Evolution* **35**: 194–197.
- Godfray, H.C.J. & Werren, J.H. 1996. Recent developments in sex ratio studies. *Trends Ecol. Evol.* **11**: 59–63.
- Hamilton, W.D. 1967. Extraordinary sex ratios. *Science* **156**: 477–488.
- de Jong, T.J., Klinkhamer, P.G.L. & Rademaker, M.C.J. 1999. How geitonogamous selfing affects sex allocation in hermaphrodite plants. *J. Evol. Biol.* **12**: 166–176.
- Karlin, S. & Lessard, S. 1986. *Theoretical Studies on Sex Ratio Evolution*. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Klinkhamer, P.G.L., de Jong, T.J. & Metz, H. 1997. Sex and size in cosexual plants. *Trends Ecol. Evol.* **12**: 260–265.
- Leins, P., Tucker, S.C. & Endress, P.K. (eds) 1988. *Aspects of Floral Development*. J. Cramer, Berlin.
- Lowenberg, G.J. 1997. Effects of floral herbivory, limited pollination, and intrinsic plant characteristics on phenotypic gender in *Sanicula arctopoides*. *Oecologia* **109**: 279–285.
- McKone, M.J., Lund, C.P. & O'Brien, J.M. 1998. Reproductive biology of two dominant prairie grasses (*Andropogon gerardii* and *Sorghastrum nutans*, Poaceae): male-biased sex allocation in wind-pollinated plants? *Am. J. Bot.* **85**: 776–783.
- Moibo, D. & Parker, E.D. 1996. Mating structure and sex ratio variation in a natural population of *Nasonia vitripennis*. *Proc. R. Soc. Lond. B* **263**: 1703–1709.
- Nager, R.G., Monaghan, P., Griffiths, R., Houston, D.C. & Dawson, R. 1999. Experimental demonstration that offspring

- sex ratio varies with maternal condition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**: 570–573.
- Oddie, K. 1998. Sex discrimination before birth. *Trends Ecol. Evol.* **13**: 130–131.
- Olsson, M. & Shine, R. 2001. Facultative sex allocation in snow skink lizards (*Niveoscincus microlepidotus*). *J. Evol. Biol.* **14**: 120–128.
- Pannell, J. 1997. Variation in sex ratios and sex allocation in androdioecious *Mercurialis annua*. *J. Ecol.* **85**: 57–69.
- Redbo-Torstensson, P. & Berg, H. 1995. Seasonal cleistogamy: a conditional strategy to provide reproductive assurance. *Acta Bot. Neerl.* **44**: 247–265.
- Sakai, A.K. & Weller, S.G. 1991. Ecological aspects of sex expression in subdioecious *Schiedea globosa* (Caryophyllaceae). *Am. J. Bot.* **78**: 1280–1288.
- Sheldon, B.C. 1998. Recent studies of avian sex ratios. *Heredity* **80**: 397–402.
- Trivers, R.L. & Willard, D.E. 1973. Natural selection of parent ability to vary sex ratio of the offspring. *Science* **179**: 90–92.
- Varndell, N.P. & Godfray, H.C.J. 1996. Facultative adjustment of the sex ratio in an insect (*Planococcus citri*, Pseudococcidae) with paternal genome loss. *Evolution* **50**: 2100–2105.
- Wells, M.S. & Lloyd, D.G. 1991. Dichogamy, gender variation and bet-hedging in *Pseudowintera colorata*. *Evol. Ecol.* **5**: 310–326.
- Werren, J.H. & Charnov, E. 1978. Facultative sex ratio and population dynamics. *Nature* **293**: 349–350.

Received 21 February 2003; revised 24 June 2003, accepted 18 July 2003

Capítulo 3

**CONSECUENCIAS DE LOS AJUSTES
FACULTATIVOS EN LA ADECUACIÓN
MASCULINA Y FEMENINA DE *BEGONIA*
*GRACILIS***

AJUSTES FACULTATIVOS EN PLANTAS: CONSECUENCIAS DE LOS AJUSTES EN LA ADECUACIÓN MASCULINA Y FEMENINA DE BEGONIA GRACILIS

1. Resumen

La teoría de asignación sexual predice que el éxito reproductivo de un individuo se incrementa al ajustar su inversión relativa hacia el sexo escaso, en respuesta a cambios en la proporción sexual operacional de la población (*PSO*, disponibilidad de parejas para reproducirse). La evolución de la manipulación facultativa de la proporción sexual depende de la habilidad de los progenitores para seguir las condiciones que favorecen sesgos en la asignación sexual y de los mecanismos que controlan la asignación sexual. En animales, se han demostrado ajustes facultativos de la proporción sexual en muchas ocasiones. Recientemente, se ha demostrado que las plantas también son capaces de realizar ajustes facultativos. Sin embargo, existen pocos estudios en los que se haya evaluado la contribución relativa de las funciones masculina y femenina a la adecuación de un individuo hermafrodita. En este capítulo, se presentan las consecuencias sobre el éxito reproductivo de realizar ajustes a la proporción sexual a nivel individual. Para este propósito, se simularon diferentes condiciones de *PSO* y se analizó el desempeño reproductivo de individuos con patrones contrastantes en la asignación sexual. Los resultados para *Begonia gracilis* demuestran que los individuos de esta especie con sesgos en su asignación de recursos hacia el sexo más escaso en la población, obtienen una mayor adecuación total de acuerdo a lo esperado por la teoría de asignación sexual.

2. Introducción

Según el modelo de Fisher (1930), el éxito reproductivo obtenido a través de cada una de las funciones sexuales debería ser una relación lineal de la cantidad de recursos que se invierte en

cada función. Bajo este supuesto se puede predecir que la asignación óptima de recursos hacia cada sexo es de un medio porque esta es la que maximiza el éxito reproductivo de un individuo (Fig. 1a). Aunque esta predicción fue demostrada en una gran cantidad de organismos como moscas (Burke y Little 1995), halcones (Anderson *et al.* 1997) y plantas (Bertin y Kerwin 1998), existen otros ejemplos que muestran una marcada desviación de la proporción Fisheriana. Charnov (1979) desarrolló un modelo que relaja algunos de los supuesto del modelo de Fisher, y propone que las curvas que describen el éxito reproductivo en función de la inversión de recursos no son lineales (Fig. 1b). Este modelo predice que la selección natural favorecerá sesgos en la inversión hacia una de las funciones sexuales cuando la forma de las curvas de adecuación difiera entre la función masculina y femenina y que el sesgo dependerá de las circunstancias ecológicas y sociales que afectan la forma de las curvas de adecuación para cada organismo (Charlesworth y Charlesworth 1981, Charnov 1982, Lloyd 1984, Charlesworth y Morgan 1991).

En el caso de las plantas, existe una gran cantidad de ejemplos de especies que sesgan la asignación de recursos hacia una de las funciones sexuales en respuesta condiciones del ambiente biótico y abiótico (Freeman y McArthur 1984, Freeman *et al.* 1981, Cid-Benevento 1987, Condon y Gilbert 1988, De Jong y Klinkhamer 1989, Méndez 1998). Durante los últimos años se ha realizado un esfuerzo por entender cuáles son los factores causales que producen estos desvíos de la asignación esperada según el modelo de Fisher. Los resultados demuestran que en muchos casos los nutrientes, la luz, el agua o la variación en el estado fisiológico de las plantas (edad o tamaño, herbivoría y patógenos) son responsables de los sesgos en la asignación sexual (Charnov y Bull 1977, Freeman *et al.* 1980, Kohn 1989, Prins *et al.* 1990, Uma-Shaanker y Ganeshiah 1991, Agren y Schemske 1995, Belaussoff y Shore 1995, DiFazio *et al.* 1996, Klinkhamer *et al.* 1997). También existe evidencia de que las plantas responden a su ambiente social modificando su asignación de recursos hacia las diferentes funciones sexuales (Correns 1929, López y

Domínguez 2003). Werren y Charnov (1978) desarrollaron un modelo que predice que la selección favorecerá sesgos en la asignación sexual hacia el sexo que incremente más la adecuación. Para poner a prueba esta teoría se requiere que los individuos sean capaces de alterar la asignación de recursos hacia cada sexo y que lo realicen en el momento oportuno. Además, un componente importante del modelo es que el ambiente sea impredecible. Por ejemplo, en las poblaciones donde el número de parejas para reproducirse varían entre temporadas reproductivas, e incluso dentro de una misma temporada, es posible que la selección favorezca a los individuos que realizan ajustes en la asignación sexual. En este contexto, se ha demostrado que si las flores femeninas de *Begonia gracilis* son polinizadas con una carga de polen baja, entonces se observa una asignación sesgada a la función masculina. En contraste, las plantas que experimentan un ambiente rico en polen asignan más recursos a la función femenina (López y Domínguez 2003). Un fenómeno similar sucede en *Rumex acetosa*, (Correns 1929) donde las cargas altas de polen producen sesgos en la progenie hacia las hembras. Lo último sugiere que las plantas son capaces de realizar ajustes facultativos sobre la asignación sexual.

A pesar de que todos los modelos suponen que estos ajustes son adaptativos, no existen trabajos que hayan evaluado el efecto de los cambios en la asignación de recursos hacia las funciones sexuales sobre el éxito reproductivo. En consecuencia, el objetivo de este trabajo es determinar si los ajustes facultativos de la asignación sexual que se observan en *B. gracilis* tienen consecuencias en el éxito reproductivo, es decir, si los ajustes tienen un valor adaptativo. Se esperaría entonces que las plantas que produzcan más flores femeninas en poblaciones con sesgo hacia las flores masculinas, tengan una mayor adecuación total en comparación con otras plantas. En el escenario contrario, en las poblaciones sesgadas hacia una mayor proporción de flores femeninas, una planta que produzca más flores masculinas debería tener ventajas reproductivas.

En resumen, se esperaría que las plantas que sesgan su asignación hacia la producción de flores del sexo más escaso tuvieran una mayor adecuación total.

En este capítulo se presentan los datos de experimentos realizados bajo condiciones naturales en los que se analizó el éxito reproductivo individual de plantas con diferente proporción sexual dentro de dos ambientes contrastantes con sesgos contrarios en la proporción sexual operacional.

3. Material y método

Begonia gracilis es una especie monoica que crece en las grietas formadas en las rocas basálticas, en microhábitats sombreados y húmedos de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel. Esta planta herbácea florece durante la temporada de lluvias entre los meses de agosto y septiembre. Es polinizada por diversos insectos, principalmente por abejas solitarias del género Halictidae. En general, produce un par de flores de cada sexo en cada nudo y se ha demostrado que es capaz de ajustar la asignación sexual de forma facultativa (López y Domínguez 2003). Con base en lo anterior, esta especie representa un sistema adecuado para evaluar las consecuencias reproductivas de los cambios en la asignación sexual (López y Domínguez, 2003).

3.1 Diseño experimental. Con el propósito de evaluar el desempeño de plantas con asignaciones a las funciones sexuales contrastantes y de producir condiciones extremas en la proporción sexual operacional (*PSO*), se generaron artificialmente parches de *B. gracilis* con una misma densidad de flores (60 flores/m²) y dos niveles de *PSO*. La primer condición simuló un sesgo hacia las hembras, de tal forma que había una flor masculina por cada tres flores femeninas (*PSO* = 1:3). Es decir, en total dentro del parche había 15 flores masculinas y 45 flores femeninas por m². La segunda condición simuló un sesgo hacia los machos, con tres flores masculinas por cada flor

femenina ($PSO = 3:1$) (i.e., 45 flores masculinas y 15 flores femeninas por m^2). Estos parches representaron poblaciones con diferente PSO . Cada parche estaba compuesto por un grupo variable de plantas periféricas y dos plantas focales con tres flores en antesis pero con diferente asignación sexual (AS) representada por distintas proporciones sexuales florales a nivel individual (Fig. 2): Una con un sesgo a la función femenina (una flor masculina por dos flores femeninas $AS = 0.33$) y otra con un sesgo a la función masculina (dos flores masculinas por una femenina $AS = 0.66$). Las plantas experimentales fueron colectadas de la Reserva del Pedregal de San Ángel y sembradas de manera individual en macetas de plástico ($N = 730$ plantas) el año anterior a la realización del experimento para que crecieran en condiciones ambientales similares y se mantuvieron aisladas dentro de una casa de sombra para evitar el daño por herbívoros o patógenos. Cada planta se colocó en una maceta de plástico de 10 cm de diámetro en la parte superior por 8 cm de alto. A cada planta se le agregó el mismo tipo de tierra negra sin hojarasca y previamente esterilizada. Las plantas se regaron a capacidad de campo cada tercer día durante el tiempo que permanecieron en la casa de sombra y antes de su traslado al campo.

Las poblaciones artificiales se establecieron en dos temporadas de floración, del 18 al 24 de agosto del año 2000 y del 20 al 29 de agosto del año 2002. En cada año se montaron ocho réplicas de cada tratamiento (16 poblaciones en total) debido a que no se disponía de más plantas para completar otras réplicas y que no se disponía de tiempo y personal para revisar diariamente todos los parches. Las plantas se colocaron en una zona plana dentro de la reserva, con vegetación escasa dominada por pastos de tamaño menor a 20 cm de altura. Dentro de cada parche, las plantas periféricas (plantas que se utilizaron para mantener constante la densidad y la PSO) se asignaron de manera aleatoria a cada una de las poblaciones experimentales debido a que no fue posible tener un número elevado de plantas de la misma edad o tamaño. El número de plantas de cada población experimental se ajustó de manera tal que siempre se mantuvo la PSO

constante y una densidad de 60 flores /m². Esta densidad de flores es suficientemente alta como para asegurar la visita por parte de los polinizadores (ver Castillo, 1999). En cada parche se eligieron dos plantas con tres flores recién abiertas que diferían en sus proporciones sexuales. Estas plantas fueron designadas como plantas focales y en ellas se registró la producción de frutos y la donación de polen. Durante todo el periodo experimental se contabilizó diariamente el número de flores y la proporción sexual de cada parche. Cuando fue necesario se agregaron o quitaron plantas periféricas en cada población artificial para mantener constante la densidad y la *PSO* (i.e., cuando las flores de alguna planta se marchitaban o se caían y había que reemplazarla). Las poblaciones experimentales se colocaron a 25 metros de distancia entre sí para minimizar el movimiento de polen entre los parches (Castillo *com. pers.*).

3.2 Estimación de la adecuación por la vía masculina. Con el objeto de evaluar el éxito reproductivo masculino de las plantas focales, se usaron polvos fluorescentes (Magruder Color Co.) para estimar la donación de polen (Castillo *et al.* 2002). En ausencia de marcadores moleculares para la paternidad, se ha demostrado que las marcas de polvos fluorescentes son indicadores confiables del movimiento de polen y polinizaciones efectivas (Campbell 2000). Durante cuatro días consecutivos, que coincidieron con el pico de floración de esta especie en el Pedregal de San Ángel, se aplicaron polvos fluorescentes a las anteras de las flores masculinas de las plantas focales. Se utilizó un color diferente para cada proporción sexual individual, naranja para las plantas focales con asignación sexual hacia la función femenina ($PSI = 0.33$) y amarillo para las plantas focales con asignación sexual hacia la función masculina ($PSI = 0.66$). Por la tarde (entre las 18 y 19:30 hrs) de cada día se revisaron los estigmas de todas las flores femeninas de las plantas periféricas en cada parche para buscar marcas de los polvos fluorescentes. Esta búsqueda se realizó con ayuda de una lámpara de luz negra. La luz negra resalta las marcas

fluorescentes que a simple vista son difíciles de distinguir. La donación de polen de cada planta focal se evaluó contando el número de marcas de polvo fluorescente que estaban en las flores femeninas de las plantas periféricas. Las flores que se registraron eran marcadas para evitar contarlas de nuevo al día siguiente. Al sumar el número de marcas encontradas por día se obtuvo el total de marcas por planta focal que corresponden al estimador del éxito reproductivo por la vía masculina, durante el tiempo que cada planta focal estuvo expuesta a la visita de los polinizadores. En algunas poblaciones experimentales las plantas focales sólo mantuvieron la proporción sexual durante cuatro días. Debido a esto, únicamente se utilizaron los datos de los primeros cuatro días del experimento para que el tiempo de duración fuera el mismo en todas las plantas focales.

3.3 Estimación de la adecuación por vía femenina. El éxito reproductivo femenino se midió a través de la producción de frutos por parche de las plantas focales. Sólo se utilizaron los frutos producidos por las flores femeninas que estuvieron abiertas durante la fase experimental, que coincidió con el tiempo de exposición de las flores masculinas. Esto último con la finalidad de tener estimaciones de la adecuación comparables a las de la función masculina. Al final del experimento se colectaron los frutos por planta focal y se contaron los frutos que produjeron semillas viables como estimador de la adecuación por la vía femenina.

3.4 Adecuación total. Para calcular la adecuación total de cada planta focal se contaron los frutos producidos en esa planta (vía femenina) y se sumó el número de marcas fluorescentes dejadas en las flores femeninas de las plantas periféricas (vía masculina), asumiendo que las marcas de polvos fluorescentes son equivalentes a la producción de frutos por vía masculina. Las estimaciones de la adecuación se realizaron dentro de la misma temporada de floración y sólo

corresponden al tiempo que se mantuvo la proporción sexual floral de cada planta focal. Aunque las plantas focales diferían en tamaño, edad y condición, el diseño de parcelas divididas permite analizar los efectos que no pudieron ser controlados experimentalmente.

3.5 Análisis estadísticos. Los datos se analizaron con un diseño de parcelas divididas usando el programa SAS (Versión 8) (Milliken y Johnson 1984). El modelo incluyó el año (2000 y 2002), la *PSO* (1:3 y 3:1), las réplicas (8 por cada año), la *AS* (0.33 y 0.66) y las interacciones como variables independientes. Como variables dependientes se utilizaron las adecuaciones por la vía masculina, femenina y total. Se utilizó un diseño de parcelas divididas porque los tratamientos pueden ser asignados a diferentes tamaños de unidades experimentales (año como muestra, *PSO* como sub-muestra y *AS* como sub-submuestra), además de que los tratamientos pueden ser asignados al azar dentro de las diferentes unidades experimentales (Milliken y Johnson 1984). Este tipo de análisis permite controlar la variación debida a las réplicas en caso de que los tratamientos no estuvieran asignados completamente al azar, pero no permite analizar la interacción entre sub-muestra y sub-submuestra.

4. Resultados

4.1 Adecuación masculina. Los resultados del análisis estadístico muestran que hubo un efecto significativo del año, la proporción sexual operacional (*PSO*), la asignación sexual (*AS*) y la interacción triple (año * *PSO* * *AS*) sobre la adecuación masculina (Tabla 1). En términos generales, la adecuación de las plantas focales fue más alta en el año 2002 que en el año 2000. La donación de polen de las plantas focales fue más alta en las poblaciones sesgadas hacia las hembras (*PSO* = 1:3) que en las poblaciones con sesgo hacia los machos (3:1) ya que en promedio (\pm un error estándar) tuvieron 2.68 (\pm 0.23) marcas contra 1.87 (\pm 0.23) (Fig. 3a). El

éxito reproductivo masculino de las plantas focales con sesgo hacia la función masculina fue mayor que el de las plantas con sesgo hacia la función femenina (3.15 ± 0.22 marcas contra 1.40 ± 0.22 , para AS de 0.66 y AS de 0.33 respectivamente; Fig. 3b). En términos de la interacción (año * PSO * AS) las plantas con $AS = 0.66$, dentro de poblaciones con PSO de 1:3, tuvieron la mayor adecuación masculina en ambos años (2000 y 2002) (Fig. 3c).

4.2 Adecuación femenina. No se encontró un efecto significativo del año sobre la adecuación femenina (*fruti-set*), pero sí de la PSO , la AS y la interacción triple (año * PSO * AS) (Tabla 2). Las plantas focales de las poblaciones con sesgo a los machos (PSO de 3:1, 1.12 ± 0.08) produjeron más frutos que las plantas focales de las poblaciones con sesgo a las hembras (PSO de 1:3, 0.84 ± 0.08 ; Fig. 4a), mientras que las plantas con asignación sesgada hacia las hembras produjeron más frutos (AS de 0.33, 1.59 ± 0.08) que las plantas con asignación sesgada hacia los machos (AS de 0.66, 0.37 ± 0.08 ; Fig. 4b). Las plantas con $AS = 0.33$ presentaron la misma tendencia en ambos años (2000 y 2002) y en ambas condiciones de PSO (1:3 y 3:1) ya que produjeron más frutos que las plantas con $AS = 0.66$, aunque la adecuación más alta se presentó en el año 2000 dentro del parche sesgado hacia los machos (Fig. 4c).

4.3 Adecuación total. Se encontró un efecto significativo del año, la PSO , la PSI y la interacción triple (año * PSO * PSI) sobre la adecuación total de las plantas focales de *B. gracilis* (Tabla 3). La adecuación total fue más alta en los parches sesgados hacia las hembras ($PSO = 1:3$, 3.53 ± 0.25 ; Fig. 5a) y en las plantas con sesgo a la función masculina ($PSI = 0.66$ 3.53 ± 0.24 ; Fig. 5b). En ambos años, las plantas con sesgo contrario al de la PSO tuvieron mayor adecuación total. Es decir, en parches sesgados hacia las hembras (1:3) las plantas con mayor asignación a la función masculina ($AS = 0.66$) tuvieron mayor adecuación total que las plantas con asignación a la

función femenina ($AS = 0.33$), mientras que lo contrario ocurrió en los parches sesgados hacia los machos. Es decir, las plantas con sesgo a la función femenina en parches sesgados hacia los machos tuvieron mayor adecuación total.

5. Discusión y conclusiones

Los resultados de este trabajo sugieren que las plantas que modifican la asignación de recursos en favor de la función sexual menos abundante en la población tendrían una mayor adecuación total, en comparación con los individuos de la población que no realicen dicho ajuste. Lo anterior indica que en *B. gracilis* la habilidad de realizar ajustes facultativos sí tiene consecuencias sobre la adecuación y que la selección natural podría favorecer a los individuos que producen más flores del sexo escaso en la población. Aunque hay estudios que han evaluado la plasticidad en la asignación sexual en respuesta al tamaño del grupo reproductivo y la densidad de individuos en edad reproductiva (Schärer y Larduner 2003), esos trabajos son descriptivos (Raimondi y Martín 1991) y por lo tanto no controlan una serie de efectos que potencialmente pueden confundirse con las variables de interés (Trouvé *et al.* 1999). Recientemente ha habido un cambio de enfoque de trabajos descriptivos hacia trabajos experimentales para descubrir las causas detrás de los patrones de asignación sexual observados (Godfray y Werren, 1996, Campbell 2000). La evidencia encontrada en este trabajo no sólo corrobora lo que otros experimentos han encontrado acerca del efecto de la proporción sexual sobre la adecuación femenina para especies con dimorfismo sexual (Widen y Widen 1990, Ashman y Stanton 1991, McCauley y Brock 1998, Graff 1999, Ashman y Diefenderfer 2001, Castillo *et al.*, 2002), sino que al incluir estimaciones de la adecuación por la vía masculina, se puede evaluar la adecuación total de cada planta focal y su desempeño en diferentes contextos de proporción sexual operacional, así como la contribución de cada vía (donación de polen o producción de frutos) a la adecuación total.

Tal como lo predice la teoría de asignación sexual (Charnov 1982), las plantas focales que produjeron más flores del sexo más raro en la población tuvieron una mayor adecuación. Aunque la existencia de parches con más flores masculinas que femeninas es muy común en el campo, resulta interesante analizar el desempeño reproductivo en los parches sesgados hacia flores femeninas. En este caso, las plantas con asignaciones sesgadas hacia la función masculina tuvieron una adecuación muy alta. Si se construyeran las funciones de adecuación, con base en los datos de este experimento, tendríamos que la ganancia en adecuación por unidad de inversión en la función masculina será mayor que la ganancia por invertir en hembras en los parches sesgados hacia las hembras. Como resultado, la selección natural actuaría de manera más intensa en los parches sesgados hacia las hembras, favoreciendo a las plantas que asignen más recursos a la función masculina. En el otro escenario, la acción de la selección no sería tan intensa, debido a que las diferencias en adecuación por sesgar la asignación no son tan grandes. Lo anterior sugiere una asimetría entre la adecuación masculina y femenina que depende del ambiente reproductivo en el que un individuo se encuentra. En el caso particular de *B. gracilis*, tenemos que la presión de selección es más intensa en ambientes sesgados hacia las hembras, por lo que los cambios hacia la función masculina son más rápidos; en contraste, la selección es menos intensa cuando la población presenta un sesgo hacia los machos. Es decir, los cambios en la proporción sexual operacional hacia las flores femeninas son más lentos en este escenario porque las ganancias en adecuación son menores.

Excepto para la adecuación femenina, las diferencias entre años sugieren que este fenómeno es intrínsecamente variable. Se encontraron valores de adecuación más altos en el año 2002, lo que corrobora observaciones previas sobre el desempeño reproductivo de *B. gracilis* en condiciones naturales (Castillo 1999). Aunque las tendencias son similares en ambos años. Por otra parte, a pesar de que el experimento sólo duró un corto periodo dentro de la temporada de

floración, los resultados sugieren que la selección debería favorecer respuestas rápidas y variación en la velocidad de respuesta entre individuos, ya que en caso contrario llegaría un momento en que si todos cambian al mismo tiempo hacia la asignación que produce mayor adecuación, ya no habría ventajas de realizar los ajustes.

Los sesgos en la proporción sexual pueden reducir la competencia local por parejas entre individuos cercanamente emparentados. Además, en el caso de sesgos hacia las hembras la consecuencia es que se reduce el costo de producir machos (Michiels *et al.* 1999). Por otro lado, en el caso de que los sesgos se den hacia los machos, la adecuación ganada por la vía masculina compensa el costo de producirlos, lo que concuerda con los resultados de este trabajo. Charnov (1982) propuso que la distribución espacial de los individuos en parches, el ambiente social y las variaciones entre años (principalmente de temperatura y precipitación) son factores que pueden afectar la asignación sexual. En particular, hay algunas especies de plantas para las que se han detectado factores como el nivel de depredación de semillas, la tasa de entrecruzamiento, la capacidad de dispersión del polen, la disponibilidad de recursos y la historia reproductiva y el componente genético de la planta, que interactúan para regular los patrones de asignación sexual (Uma-Shaanker y Ganeshaiyah 1984, McKone y Tonkin 1986, McKone 1987, Cid-Benevento 1987). En el caso de *B. gracilis*, el sistema de polinización por engaño puede ser uno de los factores principales que afectan la asignación sexual, tal como sugieren Agren y Schemske (1995) y apoyan los datos de Castillo *et al.* (2002). En esta especie, se encontró que la proporción sexual operacional sesgada hacia los machos y la densidad alta de flores favorecen la tasa de visita de los polinizadores. Además, la evidencia encontrada en otras especies, que pertenecen a diferentes familias, como *Alstroemeria aurea* los datos sugieren que la proporción sexual del vecindario de una flor influye en su receptividad al polen (Aizen 1997). Conjuntando los datos anteriores y los resultados de este trabajo, se puede decir que la *PSO* influye sobre la capacidad

de donar polen o producir frutos en el sentido de las predicciones de la teoría de asignación sexual.

Por otra parte, es muy común encontrar variación dentro y entre plantas en la asignación a diferentes estructuras reproductivas en relación con el tiempo de apertura de una flor (Mazer *et al.* 1989, Ashman *et al.* 1993, Bertin y Sholes 1993). Sin embargo, en muchos casos los cambios en la asignación no parecen representar una respuesta adaptativa a cambios en el ambiente reproductivo (Diggle 1995, Aizen 2001). En el caso de *B. gracilis*, los resultados muestran que sí hay consecuencias en el éxito reproductivo de ajustar la proporción sexual. Sólo faltaría incorporar el componente hereditario de esta capacidad de ajustar la asignación sexual de manera facultativa para poder establecer la existencia de un patrón evolutivo.

6. Literatura citada

- Agren, J. y D. W. Schemske. 1995. Sex allocation in the monoecious herb *Begonia semiovata*. *Evolution* 49: 121-130.
- Aizen, M. A. 1997. Influence of local floral density and sex ratio on pollen receipt and seed output: empirical and experimental results in dichogamous *Alstroemeria aurea* (Alstroemeriaceae). *Oecologia* 111: 404-412.
- Aizen, M. A. 2001. Flower sex ratio, pollinator abundance, and the seasonal pollination dynamics of a protandrous plant. *Ecology* 82: 127-144.
- Anderson, D. J, J. Reeve y D. M. Bird. 1997. Sexual dimorphic eggs, nestling growth and sibling competition in American Kestrels *Falco sparverius*. *Functional Ecology* 11: 331-335.
- Ashman, T.-L. y M. L. Stanton. 1991. Seasonal variation in pollination dynamics of the sexual dimorphic species, *Sidalcea oregana* spp. *spicata* (Malvaceae). *Ecology* 72: 993-1003.

- Ashman, T.-L., L. F. Galloway y M. L. Stanton. 1993. Apparent vs. effective mating in an experimental population of *Raphanus sativus*. *Oecologia* 96: 102-107.
- Ashman, T.-L. y C. Diefendefter. 2001. Sex ratio represents a unique context for selection on attractive traits: Consequences for the evolution of sexual dimorphism. *The American Naturalist* 157: 334-347.
- Bateman, A. J. 1948. Analysis of data on sexual isolation. *Evolution* 3: 174-177.
- Bertin, R. I. y D. V. Sholes. 1993. Weather, pollination and the phenology of *Geranium maculatum*. *American Midland Naturalist* 129: 52-66.
- Bertin, R. I. y M. A. Kerwin. 1998. Floral sex ratio and gynodioecy in *Aster* (Asteraceae). *American Journal of Botany* 85: 235-244.
- Belausoff, S. y J. S. Shore. 1995. Floral correlates and fitness consequences of mating system variation in *Turnera ulmifolia*. *Evolution* 49: 545-556.
- Burke, R. L. y L. E. Little. *Drosophila* do not skew offspring sex ratio as predicted Trivers and Willard (Diptera: Drosophilidae). *Journal of Insect Behavior* 8: 231-239.
- Campbell, D. R. 2000. Experimental test of sex-allocation theory in plants. *Trends in Ecology and Evolution* 15: 227-232.
- Castillo, R. 1999. **Selección dependiente de la frecuencia en plantas: Polinización por engaño en *Begonia gracilis* HBK (BEGONIACEAE)**. Tesis de doctorado, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Castillo, R., Cordero, C. & Domínguez, C.A. 2002. Are reward polymorphisms subject to frequency- and density-dependent selection? Evidence from a monoecious species pollinated by deceit. *Journal of Evolutionary Biology* 15: 544-552
- Charlesworth, D. y B. Charlesworth. 1981. Allocation of resources to male and female functions in hermaphrodites. *Biological Journal of the Linnean Society* 15: 57-74.

- Charlesworth, D. y M. T. Morgan. 1991. Allocation of resources to sex function in flowering plants. *Philosophical Transaction of the Royal Society B*. 332: 91-102.
- Charnov, E. 1979. Simultaneous hermaphroditism and sexual selection. *Proceedings of the National Academy of Science (USA)* 76: 2480-2484.
- Charnov, E. L. 1982. **The Theory of Sex Allocation**. Princeton University Press, New Jersey.
- Charnov, E. L. y J. J Bull. 1977. When is sex environmentally determined? *Nature* 266: 828-830.
- Cid-Benevento, C. R. 1987. Relative effects of light, soil moisture availability and vegetative size on sex ratio of two monoecious woodland annual herbs: *Acalypha rhomboidea* (Euphorbiaceae) and *Pilea pumila* (Urticaceae). *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 114: 293-306.
- Condon, M. A. y L. E. Gilbert. 1988. Sex expression of *Gurania* y *Psiguria* (Cucurbitaceae): Neotropical vines that change sex. *American Journal of Botany* 75: 875-884.
- Correns, C. 1929. Bestimmung, Vererbung und Verteilung des Geschlechtes bei den höheren Pflanzen. *Handbuch der Vererbungswissenschaften* 2: 1-138.
- Difazio, S. P., N.C. Vance y M. V. Wilson. 1996. Variation in sex expression of *Taxus brevifolia* in western Oregon. *Canadian Journal of Botany Reveu Canadienne de Botanique* 74(12): 1943-1946.
- Diggle, P. K. 1995. Architectural effects and the interpretation of patterns of fruit and seed development. *Annual Review of Ecology and Systematics* 26: 531-552.
- Frank, S. A. 1990. Sex allocation theory for birds and mammals. *Annual Review of Ecology and Systematics* 21: 13-55.
- Freeman, D. C., K. T. Harper y E. L. Charnov. 1980. Sex change in plants: old and new observations, and new hypotheses. *Oecologia* 47: 222-232.

- Freeman, D. C. y E. D. MacArthur. 1984. The relative influence of mortality, non-flowering, and sex change on the floral sex ratio of six *Atriplex* species. *Botanical Gazette* 35: 194-197.
- Ganeshiah, K. N. y R. Uma Shaanker. 1991. Floral sex ratio in monoecious species-why are trees more male-biased than herbs? *Current Science*. 60: 319-321.
- Graff, A. 1999. Population sex structure and reproductive fitness in gynodioecious *Sidalcea malviflora malviflora* (Malvaceae). *Evolution* 53: 1714-1722.
- Godfray, H. C. J. y J. H. Werren. 1996. Recent developments in sex ratio studies. *Trends in Ecology and Evolution* 11: 59-63.
- Jong, T. J. de y P. G. L. Klinkhamer. 1989. Size-depending sex allocation in monocarpic, hermaphroditic plants. *Functional Ecology* 3: 201-206.
- Jong, T. J. de y P. G. L. Klinkhamer. 1994. Plant size and reproductive success through male and female function. *Journal of Ecology*. 82: 399-402.
- Klinkhamer P. G. L, T. J deJong, H. Metz. 1997. Sex and size in cosexual plants. *Trends in Ecology and Evolution* 12: 260-265.
- Kohn, J. R. 1989. Sex ratio, seed production, biomass allocation, and the cost of male function in *Cucurbita foetidissima* HBK (Cucurbitaceae). *Evolution* 43: 1424-1434.
- Lloyd, D.G. 1984. Gender allocations in outcrossing cosexual plants. In: R. Dirzo and J. Sarukhan (eds). **Plant Population Ecology**. Sinauer. Sunderland, MA.
- López, S. y C. A. Domínguez. 2003. Sex choice in plants: Facultative adjustment of the sex ratio in the perennial herb *Begonia gracilis*. *Journal of Evolutionary Biology* 16: 1177-1185.
- Mazer, S. J, R. R. Nakamura y M. L. Stanton. 1989. Seasonal changes in components of male and female reproductive success in *Raphanus sativus* L. (Brassicaceae). *Oecologia* 81: 373-383.

- McCauley, D. E. y M. T. Brock. 1998. Frequency-dependent fitness in *Silene vulgaris*, a gynodioecious plant. *Evolution* 52: 30-36.
- McKone, M. J. 1987. Sex allocation and outcrossing rate: a test of theoretical predictions using bromegrasses (*Bromus*). *Evolution* 41: 591-598.
- McKone, M. J. y D. W. Tonkyn. 1986. Intrapopulation gender variation in common ragweed (Asteraceae: *Ambrosia artemissifolia* L.), a monoecious annual herb. *Oecologia* 70: 63-67.
- McKone, M. J., C. P. Lund y J. M. O'brien. 1998. Reproductive biology of two dominant prairie grasses (*Andropogon gerardii* and *Sorghastrum nutan*, Poaceae): male-biased sex allocation in wind-pollinated plants? *American Journal of Botany*. 85: 776-783.
- Michiels, N. K., L. W. Beukeboom, J. M. Greef y A. J. Pemberton. 1999. Individual control over reproduction: an underestimated element in the maintenance of sex? *Journal of Evolutionary Biology* 12: 1036-1039.
- Milliken, G. A. y D. E. Johnson. 1984. **Analysis of Messy Data: Designed Experiments**. Van Nostrand Reinhold, Nueva York.
- Olivieri, I., D. Couvet y M. Slatkin. 1994. Allocation of reproductive effort in perennial plants under pollen-limitation. *American Naturalist*. 144: 373-394.
- Prins, A. H., K. Vrieling, P. G. L. Klinkhamer y T. J. de Jong. 1990. Flowering behavior of *Senecio jacobaea*: effects of nutrient availability and size-depending vernaliation. *Oikos* 59: 248-252.
- Raimondi, P. T. y J. E. Martin. 1991. Evidence that mating group size affects allocation of reproductive resources in a simultaneous hermaphrodite. *American Naturalist* 138: 1206-1217.
- Shärer, L. y P. Ladurner. 2003. Phenotypically plastic adjustment of sex allocation in a simultaneous hermaphrodite. *Proceedings of the Royal Society of London B* 270: 935-941.

- Sokal, R. R. y F. J. Rohlf. 1995. **Biometry**. Freeman & Co, Nueva York.
- Trouvé, S, J. Jourdane, F. Renaud, P. Durand, y S. Morand. 1999. Adaptive sex allocation in a simultaneous hermaphrodite. *Evolution* 53: 1599-1604.
- Uma-Shaanker, R. y K. N. Ganeshiah. 1984. Age-specific sex ratio in a monoecious species *Croton bonplandianum* Baill. *New Phytologist* 97: 523-531.
- Widen, B. y M. Widen. 1990. Pollen limitation and distance-dependent fecundity in females of the clonal gynodioecious herb *Glechoma hederaceae* (Lamiaceae). *Oecologia* 83: 191-196.

Tabla 1. Resultados del análisis estadístico (análisis de varianza en un diseño de parcelas divididas) para determinar el efecto del año, la proporción sexual operacional (*PSO*) y de la asignación sexual (*AS*) en el éxito reproductivo masculino de *Begonia gracilis*. Las letras resaltadas corresponden a los factores e interacciones que son significativas.

Fuente	R ²	gl	F	p
<i>modelo</i>	0.82	35,63	3.74	0.0003
<i>año</i>		1,7	26.35	0.0013
<i>pso</i>		1,14	14.52	0.0019
<i>año * pso</i>		1,14	3.09	0.1005
<i>as</i>		1,28	49.67	< 0.0001
<i>año * as</i>		1,28	0.57	0.4565
<i>año * pso * as</i>		2,28	29.31	< 0.0001

Tabla 2. Resultados del análisis estadístico (análisis de varianza en un diseño de parcelas divididas) para determinar el efecto del año, la proporción sexual poblacional y de la proporción sexual individual en el éxito reproductivo femenino de *Begonia gracilis*.

Fuente	R²	gl	F	p
<i>modelo</i>	0.85	35,63	4.45	< 0.0001
<i>año</i>		1,7	0.50	0.5040
<i>pso</i>		1,14	9.61	0.0078
<i>año * pso</i>		1,14	1.07	0.3160
<i>as</i>		1,28	112.07	< 0.0001
<i>año * as</i>		1,28	0.07	0.7880
<i>año * pso * as</i>		2,28	6.56	0.0046

Tabla 3. Resultados del análisis estadístico (análisis de varianza en un diseño de parcelas divididas) para determinar el efecto del año, la proporción sexual poblacional y de la proporción sexual individual en el éxito reproductivo total de *Begonia gracilis*.

Fuente	R ²	gl	F	p
<i>modelo</i>	0.81	35,63	3.49	0.0005
<i>año</i>		1,7	16.77	0.0046
<i>pso</i>		1,14	4.97	0.0427
<i>año * pso</i>		1,14	3.87	0.0693
<i>as</i>		1,28	5.20	0.0304
<i>año * as</i>		1,28	0.88	0.3558
<i>año * pso * as</i>		2,28	29.31	< 0.0001

Figura 1.- Modelo desarrollado por Charnov (1979). El eje X representa la asignación individual de recursos hacia la función masculina, mientras que los ejes Y representan la ganancia en adecuación por cada vía sexual ($W_{\text{♀}}$ = adecuación femenina, $W_{\text{♂}}$ = adecuación masculina). La línea continua representa la curva de adecuación para la función masculina y la línea punteada representa la curva de adecuación de la función femenina. A) Cuando la asignación óptima es igual a 1:1. B) Cuando la asignación óptima difiere de 1:1.

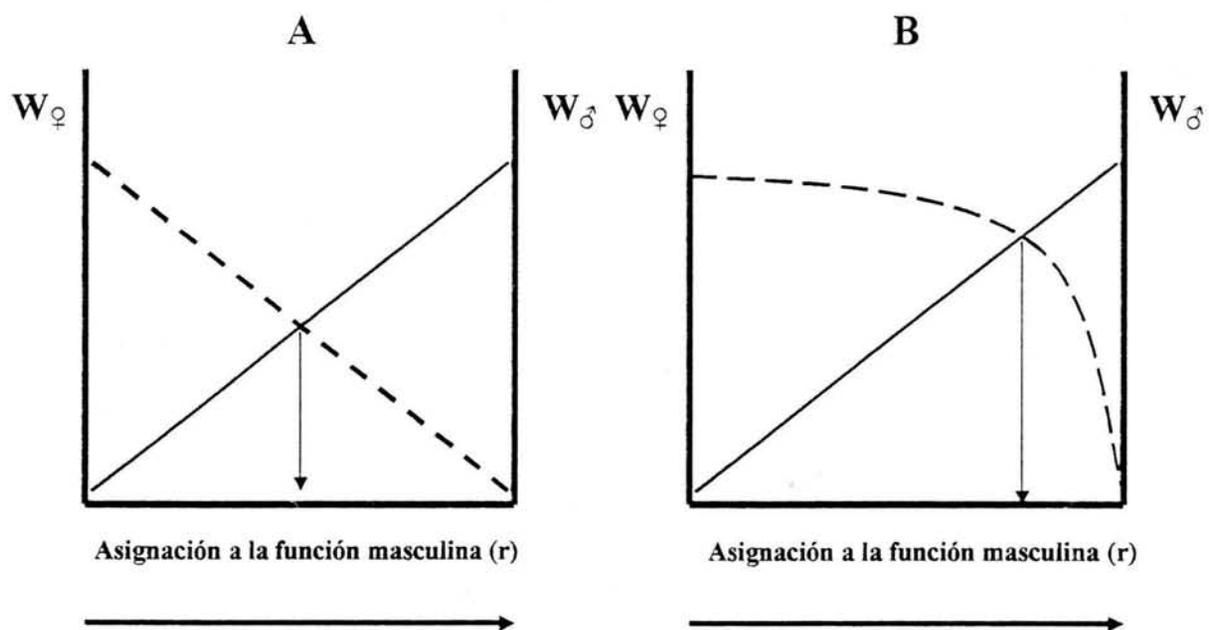
Figura 2.- Esquema del diseño experimental. Cada cuadro (fondo gris claro) representa a una población experimental con diferente proporción sexual operacional (PSO = ♂:♀). Los círculos grises representan a las plantas periféricas que se añadían o sustraían para mantener constante la densidad y la proporción sexual operacional de cada parche. Los círculos blancos representan a las flores focales con asignación sexual sesgada a la función femenina y los círculos negros representan a las plantas focales con asignación sexual sesgada a la función masculina.

Figura 3.- Efecto de las variables independientes sobre el éxito reproductivo por vía masculina de *Begonia gracilis*. a) Proporción sexual operacional (PSO), b) asignación sexual (AS), las barras representan el promedio (\pm un error estándar) de las plantas focales utilizadas en el experimento, c) interacción (año * PSO * AS). Las barras claras corresponden a AS = 0.33, las barras oscuras corresponden a AS = 0.66.

Figura 4.- Efecto de las variables independientes sobre el éxito reproductivo por vía femenina de *B. gracilis*. a) Proporción sexual operacional (PSO), b) asignación sexual (AS), c) interacción (año * PSO * AS).

Figura5.- Efecto de las variables independientes sobre el éxito reproductivo total de *B. gracilis*. a) Proporción sexual operacional (PSO), b) asignación sexual (AS), c) interacción (año * PSO * AS).

Figura 1



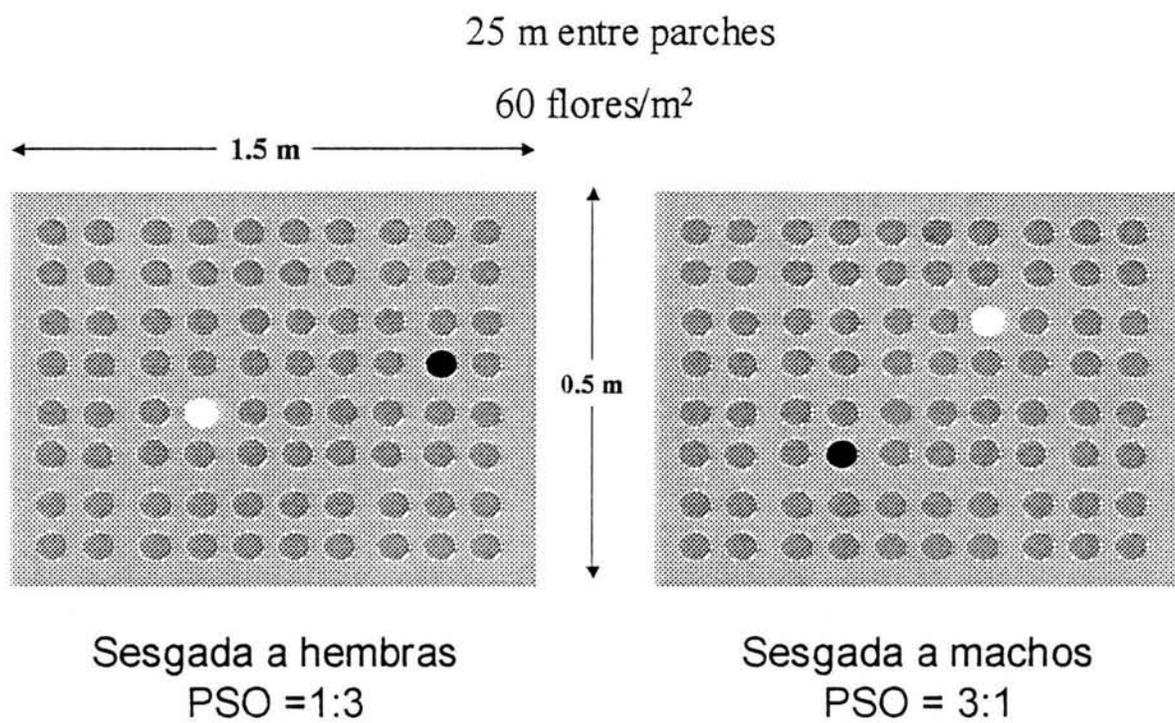


Figura 3

Adecuación masculina

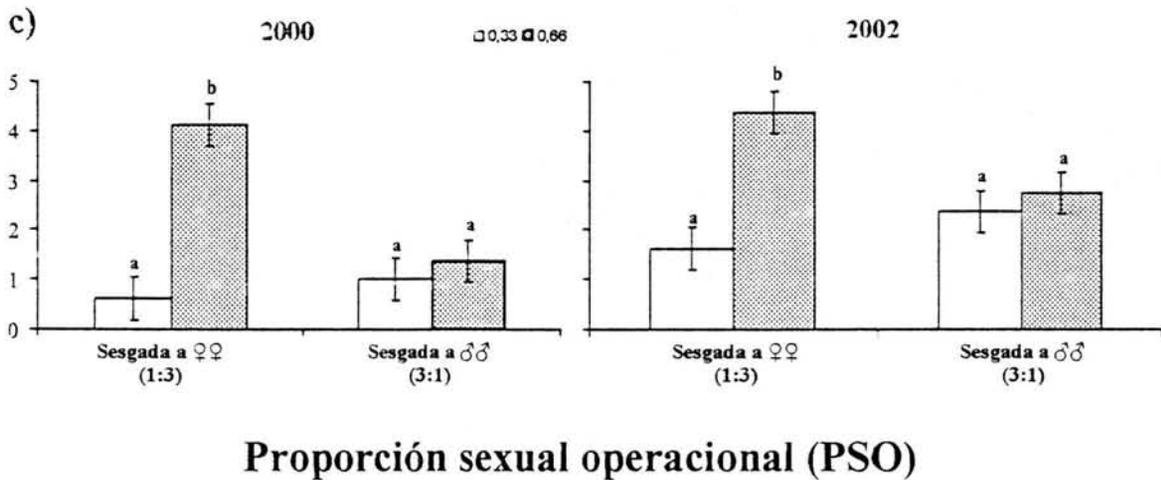
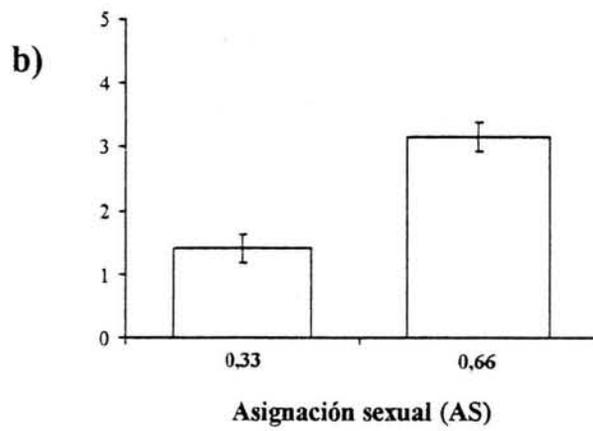
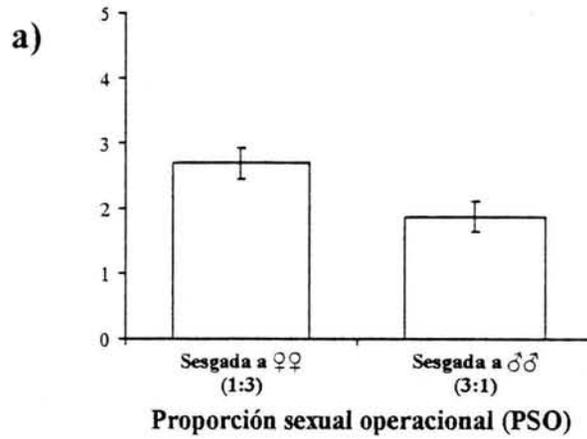
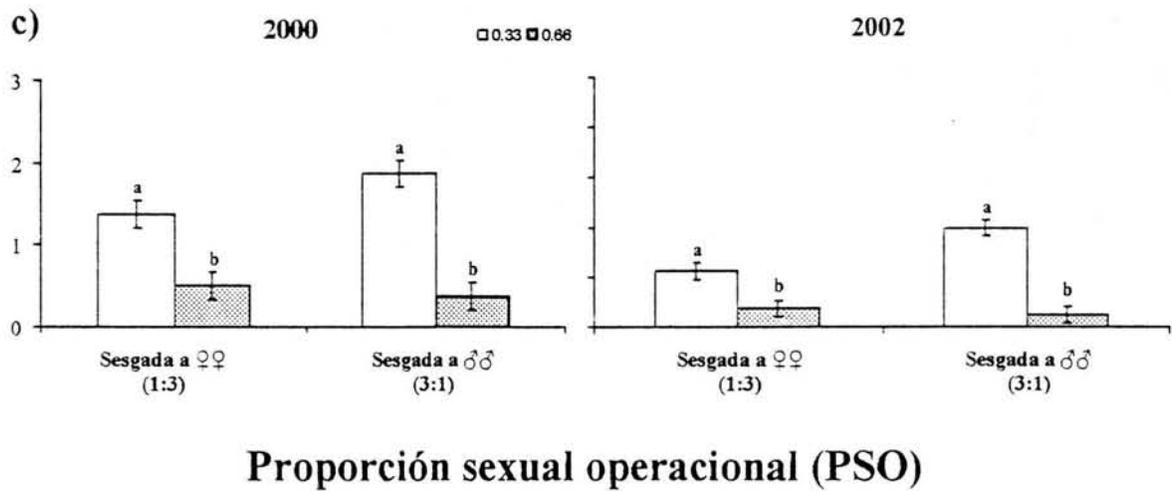
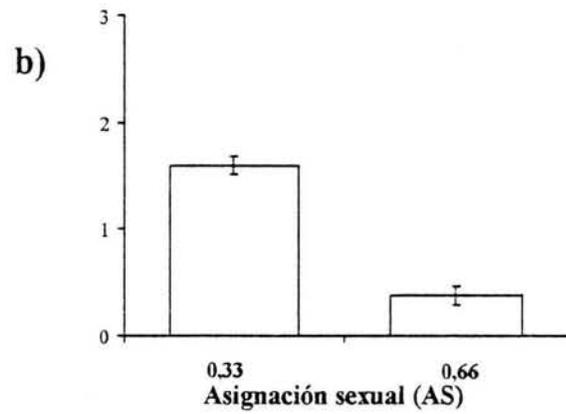
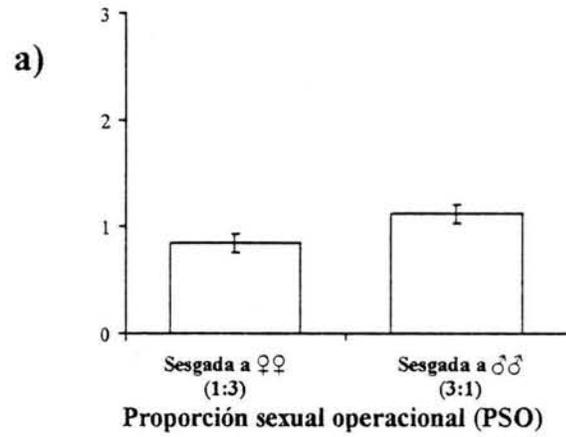
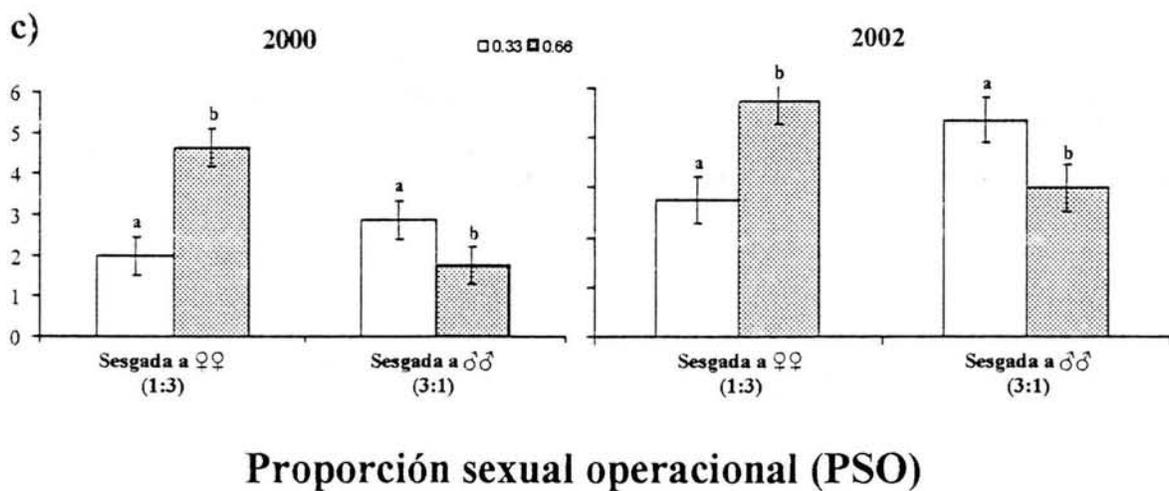
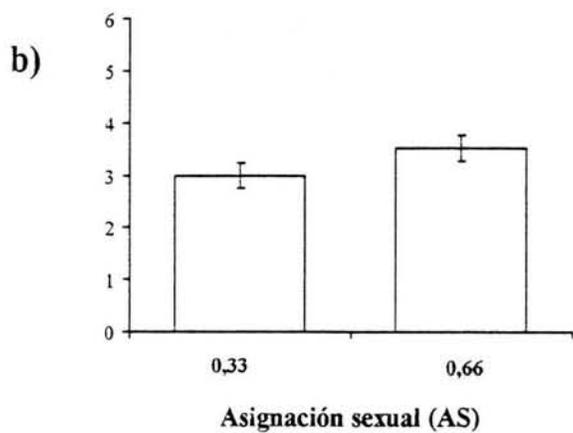
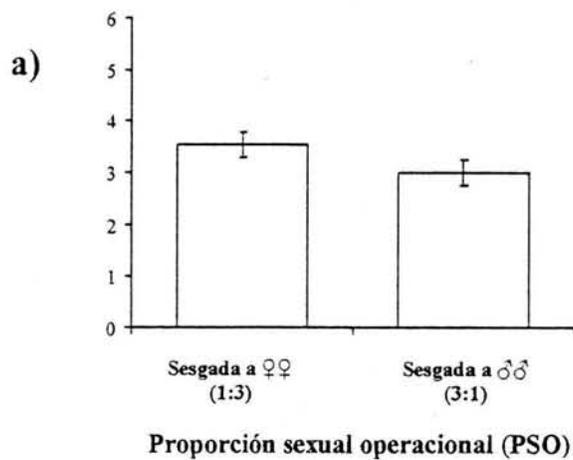


Figura 4

Adecuación femenina



Adecuación total



Capítulo 4

EVALUACIÓN DE LOS COSTOS DE PRODUCIR FLORES MASCULINAS Y FEMENINAS EN *BEGONIA GRACILIS*

AJUSTES FACULTATIVOS EN PLANTAS: EVALUACIÓN DE LOS COSTOS DE PRODUCIR FLORES MASCULINAS Y FEMENINAS EN *BEGONIA GRACILIS*

1. Resumen

Uno de los supuestos de la teoría de R. A. Fisher es que ambas funciones sexuales tienen el mismo costo en recursos. Sin embargo, existe evidencia sobre costos diferenciales entre la función masculina y femenina. En este capítulo se presenta la evidencia de que la función femenina (estimada mediante la producción de flores hembra) es más costosa que la masculina en términos de reproducción y crecimiento para la especie *Begonia gracilis*. Además se discuten las implicaciones que los costos diferenciales tienen sobre las predicciones de la proporción sexual esperada. Asimismo se discuten algunas de las implicaciones de la reasignación de recursos, en términos de la evolución de los ajustes facultativos.

2. Introducción

En 1930 R. A. Fisher desarrolló un modelo de selección dependiente de la frecuencia para explicar por qué la asignación sexual a la reproducción es de un medio de los recursos totales hacia cada sexo; lo que produce una proporción sexual de un macho por una hembra (1:1) y que es evolutivamente estable. Este modelo asume que las funciones sexuales (masculina y femenina) tienen el mismo costo para el organismo. Sin embargo, existen muchos ejemplos de poblaciones naturales que muestran desvíos de la proporción sexual esperada de un macho por cada hembra (ver la tabla 1 en Delph 1999), posiblemente porque cada sexo tiene un costo diferente. Por ejemplo, si producir un macho cuesta la mitad de lo que cuesta producir una hembra entonces la proporción sexual primaria esperada sería de 2:1. Este escenario mantiene la predicción de Fisher de igual asignación de recursos hacia cada sexo, siempre y cuando no exista mortalidad

diferencial entre los sexos u otros factores que provoque sesgos en la proporción sexual. Por lo tanto, es importante tener una estimación del costo de cada sexo para evaluar si los sesgos en la proporción 1:1 se deben únicamente a distintos costos entre los sexos o si hay otros factores involucrados en la asignación diferencial hacia cada una de las funciones sexuales (Campbell 2000).

Existen diferentes aproximaciones para medir el costo de las funciones sexuales en plantas. Los estudios sobre este tema originalmente se enfocaban a medir las tasas de pérdida y ganancia de carbono, en función de la remoción de una de los sexos. Este enfoque tiene algunos problemas porque las plantas no solo extraen, almacenan y utilizan carbono, sino también otros elementos. Además, las mediciones con base en el carbono pueden estar parcialmente sobrestimadas debido a que la actividad fotosintética de los tejidos verdes del ovario puede compensar parcialmente el uso de este elemento (Bazzaz *et al.* 1979, Ashman 1994). El agua y otros nutrientes como el nitrógeno también se han utilizado para evaluar las tasas de ganancia y pérdida de recursos (Bloom *et al.* 1985). Sin embargo, los métodos para estimar nitrógeno son muy costosos y poco informativos al comparar ambas funciones sexuales, debido a que la función femenina requiere de mayores cantidades de este nutriente, en comparación con la función masculina. La utilización de diferentes “monedas” para medir los costos de cada función sexual ha producido resultados contradictorios porque los costos varían en función del nutriente que se utilice como estimador (Lovett-Dust y Harper 1980). Además, una proporción significativa de los nutrientes invertidos en reproducción pueden recuperarse una vez que ha ocurrido el evento reproductivo, ya sea por lixiviación de nutrientes en la superficie de la flor o por degradación y reincorporación de nutrientes al interior de la flor, por lo que se producen sobrestimaciones del costo de las funciones sexuales (Chapin 1989). Otros intentos de cuantificar los costos se han enfocado hacia el análisis de la proporción de peso seco total que representan las estructuras florales de cada

sexo (Lloyd 1984, Charlesworth y Charlesworth 1987, Belaoussoff y Shore 1995, Campbell 1998, Delph 1999). Charlesworth y Charlesworth (1987) mencionan que las estructuras de atracción (pétalos, néctar, pigmentos, etc.) se deben considerar como costos accesorios a cada función sexual. Sin embargo, actualmente se discute qué atributos corresponden a qué función y cuáles son compartidos (Lovett-Dust y Harper 1980, Lloyd 1984, Delph 1999). El problema es que muchos estudios no consideran los costos asociados con atributos del despliegue floral y la dispersión de frutos y semillas (Southwick 1984). En resumen, los análisis del costo de las funciones sexuales en plantas se encuentran con el problema de establecer cuál es la “moneda” de cambio (Ashman y Baker 1992) y a qué función se le asignan los costos de algunas de las estructuras relacionadas con el despliegue floral, la atracción de polinizadores y la dispersión de frutos y semillas.

Una forma alternativa de medir los costos de producir cada sexo es mediante el enfoque de reasignación de recursos (Charlesworth y Charlesworth 1987). Esta aproximación consiste en remover tempranamente las estructuras masculinas o femeninas (Silvertown 1987, Delesalle y Mooreside 1995, Andersson 2003). Esta aproximación supone que los recursos utilizados por un sexo ya no están disponibles para el otro sexo, lo incrementa el poder para detectar situaciones en las que existen compromisos (*Trade-offs* en inglés) entre las funciones sexuales, además de que ofrece una oportunidad de simular una mutación que suprime la expresión de una de las dos funciones sexuales y evaluar su costo en términos de mantenimiento, supervivencia, crecimiento o reproducción de la planta (Andersson 2003). En comparación con otros métodos, la reasignación le permite a la planta determinar la “moneda” de cambio, es decir, que las plantas asignen los recursos que no utilizarán en un sexo hacia la producción de hojas (mantenimiento), alargamiento y producción de tallos (crecimiento), o producción de más flores (reproducción).

En el presente trabajo, se utilizó el método de reasignación de recursos para estimar los costos relativos de las funciones sexuales en *Begonia gracilis*, en términos de los costos de producir flores macho y hembra. Esta especie se caracteriza porque se observan sesgos hacia la función masculina en la mayoría de las poblaciones que crecen dentro de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel, México D. F. Es decir, En promedio hay más flores masculinas que femeninas en cada grupo de plantas. Asimismo, se ha demostrado que esta planta es capaz de realizar ajustes en su asignación sexual en función del ambiente social (López y Domínguez 2003). La presencia de un sesgo marcado en la proporción sexual, así como la habilidad para realizar ajustes facultativos, hacen de *B. gracilis* un candidato ideal para realizar estudios sobre la evolución de la proporción sexual en plantas con flores. *B. gracilis* es una planta monoica, lo que representa otra ventaja, debido a que las plantas monoicas tienen flores unisexuales y, por lo tanto, los costos de los accesorios quedan incluidos en el costo de producir cada tipo de flor (Silvertown 1987, Delesalle y Mooreside 1995, de Jong *et al.* 1999). Por ejemplo, los accesorios para atraer polinizadores y mover polen quedan asociados a las flores masculinas, mientras que los accesorios para dispersar semillas quedan asociados a las flores femeninas. En general, las flores masculinas de las plantas monoicas son más pequeñas, contienen menos biomasa y por lo tanto menos calorías y otros materiales (Lovett-Doust y Harper 1980), lo cual sugiere que pueden ser menos costosas en comparación con las flores femeninas.

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue determinar los costos de producir flores masculinas y femeninas en *B. gracilis*, utilizando el método de reasignación de recursos (Silvertown 1987). De acuerdo con la evidencia encontrada en otras especies de plantas y la teoría de asignación sexual, que predice que hay diferencias en los costos de producir cada sexo y que bajo limitación de recursos se producen más individuos del sexo menos costoso (Delesalle y Mooreside 1995), se esperaba que la respuesta más intensa, en términos de crecimiento y

reproducción, se diera en el tratamiento de remoción de la función femenina y sin limitación de recursos (plantas con fertilizante), mientras que la respuesta más débil se esperaría en el tratamiento control (sin remoción de las funciones sexuales) y con limitación de recursos (plantas sin fertilizante).

3. Material y método

Begonia gracilis HBK (Begoniaceae) es una planta herbácea perenne polinizada por abejas que crece en los lugares húmedos y sombríos de matorrales, pastizales y bosques (Rzedowski y Rzedowski 1985). Las plantas generalmente tienen un solo eje de crecimiento que produce una flor macho y una flor hembra en cada nudo, aunque en ocasiones puede producir tres o cuatro flores al mismo tiempo (Castillo 1999). Los botones de las flores femeninas son fácilmente reconocibles debido a que el ovario inmaduro es evidente. En contraste, los botones masculinos no presentan la protuberancia que corresponde al ovario inmaduro. Ambos tipo de botones aparecen en la planta y dos o tres días después se pueden diferenciar el sexo.

2.1 Diseño experimental. Para realizar el experimento de reasignación de recursos después de remover una de las funciones sexuales, se utilizó un diseño factorial de dos vías. El experimento incluyó tres tratamientos de remoción de los botones florales y dos tratamientos de fertilizante, generando 6 tratamientos producto de la interacción entre los tres grupos de remoción y los dos niveles de fertilizante. Dentro del tratamiento de remoción se generaron tres grupos de plantas. A las primeras se les podó el 100% de los botones florales masculinos (que simula cero por ciento de asignación a la función masculina), al segundo grupo se les podó el 100% de los botones femeninos (que simula cero por ciento de asignación a la función femenina), y el tercer grupo estuvo conformado por plantas control (a las que no se les podaron botones). Además se

aplicaron dos niveles de fertilizante, plantas con 1.2 gr. de fertilizante Osmocote (B&T Grower Supply Inc.) triple 17 NPK por maceta, con la finalidad de descartar que las respuestas observadas se debieran a limitación de recursos, y plantas sin fertilizante.

Las 523 plantas utilizadas en este experimento se colectaron en la reserva del Pedregal de San Ángel, México, D. F., a finales del mes de agosto de 1998 y se plantaron individualmente en macetas de plástico. Posteriormente, se asignaron 25 plantas en etapa reproductiva al azar a cada uno de los seis tratamientos, debido a que las condiciones entre plantas eran muy variables en edad y tamaño.

Una vez que aparecieron los primeros botones en cada una de las plantas (mediados de septiembre de 1998) y que se podía diferenciar el sexo de cada botón (entre dos y tres días a partir de que se comenzaba a formar el botón), los botones se removieron utilizando unas pinzas de relojero, procurando remover el botón desde la base para evitar que la planta se infectara. Este procedimiento se repitió cada vez que aparecía un nuevo botón y que se podía diferenciar el sexo al que correspondía durante los siguientes 15 días. Las variables de respuesta incluyeron el crecimiento y la reproducción (producción de nuevos botones entre el inicio y final de los tratamientos de remoción).

Las variables de crecimiento se midieron al inicio del experimento, dos días antes de comenzar a remover botones (día cero), y 25 días después. Cada planta se midió desde la base de la maceta hasta la punta del ápice del tallo principal en el día cero (tamaño inicial) y el día 25 (tamaño final). Así mismo, se contabilizó el número de entrenudos. La diferencia entre las medidas del inicio y final del experimento se consideraron como el incremento en tamaño y la producción de entrenudos respectivamente. En las variables de reproducción se contó el número de botones florales masculinos y femeninos que se produjeron entre el día que se removió el primer botón en cada planta y el 15 días después (botones iniciales). Una vez que se terminaron

los tratamientos de remoción, se contó el número de botones que se produjeron a partir del día 15 y 10 días después (día 25). La diferencia entre el número de botones al inicio y al final se consideró como la producción de botones de cada sexo. El experimento se realizó cerca del final de la temporada de floración (septiembre de 1998) dentro de una casa de sombra para mantener aisladas a las plantas de los herbívoros y de los polinizadores. Todas las plantas se regaron cada tercer día a capacidad de campo. El fertilizante se aplicó una vez que las plantas se transplantaron a cada maceta. Las plantas se colocaron en 5 mesas metálicas para invernadero, con 50 plantas por mesa. Para evitar que alguno de los tratamientos tuviera un efecto ambiental no controlado dentro de la casa de sombra (i.e., mayor insolación o humedad en unas mesas), las plantas se colocaron de manera azarosa, de tal forma que los seis tratamientos estaban presentes en cada una de las mesas utilizadas.

2.2. Análisis estadísticos. Los datos se analizaron con el programa de estadística GLIM (versión 3.77). Para la variable de incremento longitudinal (cm) se utilizó un análisis de varianza con distribución del error tipo gamma, debido a que no se registró crecimiento en algunos individuos. El error tipo gamma se puede utilizar cuando la distribución del error no es normal y está sesgada hacia valores pequeños debido a que muchos de los datos tienen valor cero. Se consideraron el tamaño inicial de las plantas y el número de botones removidos como covariables. El resto de las variables se analizó mediante un modelo lineal generalizado utilizando el error tipo Poisson debido a que son conteos (Crawley 1986). El número inicial de entrenudos y botones florales, así como el número de botones removidos, se utilizaron como covariables en el análisis de los entrenudos y los botones producidos respectivamente, debido a que no todas las plantas presentaron el mismo número de entrenudos y botones al inicio del experimento y para considerar el efecto de esta diferencia sobre la variación en los datos.

4. Resultados

En promedio se removieron 4.72 ± 0.38 (\pm un error estándar) botones masculinos y 4.12 ± 0.47 botones femeninos de las plantas experimentales durante los 15 días que duró el experimento, con la única diferencia de que los tratamientos de remoción de la función masculina comenzaron cuatro días antes, debido a que esta especie es protándrica y las flores masculinas son las primeras en desarrollarse. Se encontraron efectos significativos del tratamiento de remoción de botones, del fertilizante, así como de su interacción, sobre el incremento longitudinal (Tabla 1). El mayor incremento se observó en las plantas a las que se les quitaron los botones femeninos (Fig. 1a), y las plantas a las que se les agregó fertilizante crecieron más (Fig. 1b). Así mismo, las plantas sin botones femeninos y con fertilizante crecieron más que el resto de las plantas. En contraste, las plantas control y sin fertilizante fueron las que tuvieron el menor incremento en tamaño (Fig. 1c). En términos del número de botones removidos en cada tratamiento, no tuvo efectos significativos como covariable, por lo que las comparaciones entre tratamientos se realizaron directamente sobre los valores promedio del análisis estadístico. Las plantas a las que se les removieron los botones femeninos crecieron 2.4 veces más que las plantas sin botones masculinos, mientras que en relación con las plantas control (sin remoción de botones) crecieron 5 veces más. Las plantas con fertilizante crecieron 1.25 veces más que las plantas sin fertilizante. No se encontraron efectos significativos de la remoción, del fertilizante o de su interacción sobre el número de entrenudos producidos (Tabla 1).

Además del efecto sobre el crecimiento, el tratamiento de remoción y la aplicación de fertilizante también afectaron la asignación hacia la reproducción. Se produjeron más botones femeninos en las plantas a las que se les removieron los botones femeninos en comparación con

las plantas a las que se les removieron las flores masculinas y las plantas control (Fig. 2a). En términos de los botones femeninos producidos, las plantas sin la función femenina producen 1.3 botones más que las plantas sin la función masculina y 1.7 botones más que las plantas control. Así mismo, las plantas con fertilizante produjeron en promedio 1.3 botones femeninos más que las plantas sin fertilizante (Fig. 2b). En cuanto a la producción de botones florales masculinos, se encontró que no hubo diferencias significativas debidas a los tratamientos (Fig. 3). Aunque se observó que las plantas sin la función masculina produjeron 0.88 botones masculinos más que las plantas sin la función femenina, y 1.3 botones masculinos más que las plantas control.

5. Discusión y conclusiones

Los resultados de este trabajo sugieren que la función femenina es más costosa que la masculina en *B. gracilis*. En este caso, la remoción de los botones femeninos produjo un mayor crecimiento (incremento en el tamaño del tallo) y aumentó la producción de botones femeninos, con respecto a las plantas sin la función masculina y las plantas control. Esto concuerda con lo encontrado por Ågren y Schemske (1995) en *Begonia semiovata* donde el peso seco de las flores femeninas fue 2.24 veces mayor que el de las flores masculinas.

En teoría, una medida apropiada del costo relativo de cada sexo puede ser cuántos machos más se pueden producir si se deja de producir una hembra (Charnov 1982). Aunque la propuesta de Charnov está planteada en término de individuos producidos, el método de reasignación puede ser adecuado para estimar los costos de las funciones sexuales en organismos modulares como las plantas. Por ejemplo, algunos estudios han manipulado la inversión floral para determinar los costos de asignar recursos hacia la función masculina en detrimento de los recursos asignados hacia la función femenina (Silvertown 1987, Goldman 1991, Delesalle y Mooreside 1995, Avila-Sakar *et al.* 2001, Andersson 2003). Los resultados encontrados en esos estudios no son concluyentes, ya que algunos trabajos demuestran que sí hay un costo de alguna o ambas

funciones sobre el mantenimiento y la reproducción (Silvertown 1987, Deledalle y Mooreside 1995), mientras que en otros trabajos no hay evidencia de costos (Goldman 1991) e incluso se han encontrado respuestas opuestas a lo esperado por la teoría de asignación sexual (*i. e.* Avila-Sakar *et al.* 2001).

En este sentido, los resultados de este trabajo mostraron que las plantas de *B. gracilis* crecieron más cuando se removieron los botones femeninos y se les añadió fertilizante en comparación con el resto de los tratamientos, lo que concuerda con otros trabajos realizados con otras especies monoicas que utilizaron el método de reasignación de recursos y que también sugieren que la función femenina es más costosa (Uma-Shaanker y Ganeshaiyah 1984, Goldman 1991, Delesalle y Mooreside 1995). Además, la remoción de botones femeninos provocó un efecto de compensación, ya que las plantas produjeron más botones femeninos, lo que se puede interpretar como una asignación hacia la función femenina para asegurar la reproducción por esa vía.

En conjunto, los resultados de este trabajo sugieren que la respuesta de *B. gracilis* a la remoción de botones y a la adición de fertilizante, en términos de crecimiento y reproducción, puede estar limitada por los recursos disponibles y que los costos de las funciones sexuales varían dependiendo de la disponibilidad de recursos para cada planta, como sucede en otras especies del mismo género. Por ejemplo, en *Begonia franconis* la regulación de la expresión sexual está determinada por los nutrientes más que por el nivel de hormonas (Berghoef y Bruinsma 1980). Por otro lado, en *B. hiemalis* la humedad relativa, además de la disponibilidad de nutrientes, incrementa la producción de botones florales (Gislerød y Mortensen 1990). En el caso de *B. gracilis*, la disponibilidad de recursos cambia en función del sexo de los botones que se remueven de cada planta y de la disponibilidad de recursos en el ambiente, por lo que la diferencia de los

costos entre las funciones sexuales se puede incrementar si la limitación es mayor, o disminuir si hay muchos recursos disponibles.

Debido a que las flores femeninas son más costosas de producir que las masculinas, en el caso particular de *B. gracilis* se esperaría que las proporciones sexuales en las poblaciones naturales estuvieran sesgadas hacia la función masculina. En términos del crecimiento, la proporción esperada sería de 2.4 flores masculinas por cada flor femenina. En términos de reproducción la proporción esperada sería de 1.3 flores masculinas por cada flor femenina. Lo anterior concuerda con lo observado en parches de plantas que crecen en el Pedregal de San Angel (proporción sexual \approx 2:1) (Castillo *et al* 2002). Sin embargo, el trabajo de Castillo *et al* (2002) muestra que esta proporción está favorecida por la acción de la selección dependiente de las frecuencias en un sistema de polinización por engaño. En términos del modelo de Fisher, la cantidad de recursos que se asignan hacia cada función sexual es igual. Por lo tanto, si se observan desvíos de la proporción 1:1 estos se pueden deber a que los costos de las flores macho y hembra son diferenciales. Sin embargo, en *B. gracilis* se ha observado a nivel individual que hay distintas estrategias de asignación. Hay desde plantas que producen casi puras flores hembra, hasta plantas que sólo producen flores macho (Castillo *com. pers.*). Las observaciones de campo y trabajos experimentales muestran que las estrategias de asignación no son fijas y que las plantas pueden cambiar la asignación de manera facultativa (López y Domínguez, 2003), en términos del ambiente reproductivo en el que se encuentran, lo que lleva a incrementar su adecuación. Por una parte tenemos que la selección dependiente de las frecuencias en un sistema de polinización por engaño favorece sesgos hacia las flores macho, y que los costos diferenciales también favorecen sesgos hacia los machos. Sin embargo, si la proporción sexual de la población está sesgada a los machos, se esperaría que las plantas con capacidad de evaluar estos sesgos pudieran ajustar su

asignación de recursos hacia el sexo más escaso en la población, en este caso la función femenina. En este escenario se esperaría que evolucionara la capacidad de realizar ajustes facultativos sobre la asignación sexual.

Por otro lado, es importante conocer si la asignación de recursos hacia los botones florales es continua o si es discreta a lo largo del periodo floración. Dependiendo de cómo es la asignación, las plantas pueden tener más o menos probabilidades realizar cambios en la asignación sexual. La temporalidad con la que se asignan los recursos disponibles determina el tipo de experimento que se requiere para evaluar la producción de flores de cada sexo. En lo que se refiere a la capacidad de las plantas para realizar ajustes facultativos sobre la asignación sexual, se esperaría que los individuos con asignación continua tuvieran mayor capacidad de reasignar sus recursos en comparación con las plantas que los asignan de manera discreta, porque sería más costoso abortar un botón floral que ya tiene todos los recursos para formar una flor. En términos generales, los resultados de este trabajo apoyan la idea de que la función femenina es más costosa en relación con la masculina, que dependiendo de las diferencias de costos es posible predecir la proporción sexual esperada si se cumple la asignación sexual fisheriana y que dependiendo del mecanismo de reasignación de recursos (continuo o discreto) es posible esperar la evolución de los ajustes facultativos.

6. Literatura citada

- Agren, J. y Schemske D. W. 1995. Sex allocation in the monoecious herb *Begonia semiovata*. *Evolution* 49(1): 121-130.
- Andersson, S. 2003. Sex allocation trade-off in *Nigelia sativa* (Ranunculaceae) examined with flower manipulation experiments. *Evolutionary Ecology* 17: 125-138.

- Ashman, T.-L. 1994. A dynamic perspective on the physiological cost of reproduction in plants. *The American Naturalist* 144: 300-316.
- Ashman, T.-L. y I. Baker. 1992. Variation in floral sex allocation with time of season and currency. *Ecology* 73: 1237-1243.
- Avila-Sakar, G., Krupnik G. A. y Stephenson A. G. 2001. Growth and resources allocation in *Cucúrbita pepo* spp. *texana*: effects of fruit removal. *International Journal of Plant Sciences* 162: 1089-1095.
- Bazzaz, F. A., R. W. Carlson y J. L. Harper. 1979. Contribution to reproductive effort by photosynthesis of flowers and fruits. *Nature* 279: 554-555.
- Belaoussoff, S. y J. S. Shore. 1995. Floral correlates and fitness consequences of mating system variation in *Turnera ulmifolia*. *Evolution* 49: 545-556.
- Berghoef, J. y Bruinsma J. 1980. Nutritional rather than hormonal regulation of sexual expression in *Begonia franconis*. *Phytomorphology* 30: 231-236.
- Bloom, A. J, Chapin F. S. y Mooney H. A. 1985. Resource limitation in plants-An economical analogy. *Annual Review of Ecology and Systematic* 16:363-392.
- Bull, J. J. y Charnov E. L. 1988. How fundamental are Fisherian sex ratios? En: Harvey P. H. y Partridge L. (Eds.) **Oxford Survey In Evolutionary Biology**. Vol. 5.
- Campbell, D. R. 2000. Experimental tests of sex-allocation theory in plants. *Trends in Ecology and Evolution* 15: 227-232.
- Campbell, D. R. 1998. Variation in lifetime male fitness in *Ipomopsis aggregata*: Test of sex allocation theory. *The American Naturalist* 152: 338-353.
- Castillo, R. 1999. **Selección dependiente de la frecuencia en plantas: Polinización por engaño en *Begonia gracilis* HBK (Begoniaceae)**. Tesis doctoral. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F.

- Castillo, R., Cordero, C. y Domínguez C. A.. 2002. Are reward polymorphisms subject to frequency-and density-dependent selection? Evidence from a monoecious specie pollinated by deceit. *Journal of Evolutionary Biology* 15: 544-552.
- Chapin, F. S. III. 1989. The cost of tundra plant structures: evaluation of concepts and currencies. *The American Naturalist* 11: 233-260.
- Charnov, E. L. 1982. **The Theory of Sex Allocation**. Princeton University Press, New Jersey.
- Darwin, C. 1877. **The Different Forms of Flowers on Plants of the Same Species**. Appleton, Nueva York.
- Delesalle, V. A. y Mooreside P. D. 1995. Estimating the costs of allocation to male and female functions in a monoecious cucurbit, *Lagenaria siceraria*. *Oecologia* 102: 9-16.
- Delph, L. F. 1999. Sexual dimorphism in life history. En: Geber, M. A., Dawson, T. E. y Delph, L. F. (eds.) **Gender and Sexual Dimorphism in Flowering Plants**.. Springer, Nueva York.
- Fisher, R. A. 1930. **The Genetical Theory of Natural Selection**. Oxford University Press.
- Freeman, D. C., MacArthur E. D., Harper K. T. y Blauer C. 1981. The influence of environment on the floral sex ratio of monoecious plants. *Evolution* 35: 194-197.
- Gislerød, H. R. y Mortensen L. M. 1990. Relative humidity and nutrient concentration affect nutrient uptake and growth of *Begonia xhiemalis*. *HortSciences* 25: 524-526.
- de Jong, T. J., Klinkhamer P. G. L. y Rademaker M. C. J. 1999. How geitonogamous affects sex allocation in hermaphrodite plants. *Journal of Evolutionary Biology* 12: 166-176.
- Goldman, D. A. 1991. Minimal male-female tradeoffs in *Zizania palustris*, a monoecious annual grass. *American Journal of Botany* 89:441-446.

- Kessler, J. R. y Armitage A. M. 1992. Effects of shading on growth rate, flower initiation and flower development of *Begonia x semperflorens-cultorum*. *Journal of Horticultural Science* 67: 849-854.
- Klinkhamer, P. G. L., de Jong T. J. y Metz H. 1997. Sex and size in cosexual plants. *Trends in Ecology and Evolution* 12: 260-265.
- Lloyd, D. G. 1984. Gender allocations in outcrossing cosexual plants. 277-300. En: R. Dirzo y J. Sarukhán (Eds.) **Perspectives on Plant Population Ecology**. Sinauer. Sunderland, Massachusetts.
- Lovett-Dust, J. y Harper J. L. 1980. The resources cost of gender and maternal support in andromonoecious umbellifer, *Smyrniun olusatrum* L. *New Phytologist* 85: 251-264.
- López, S. y C. A. Domínguez. 2003. Sex choice in plants: Facultative adjustment of the sex ratio in the perennial herb *Begonia gracilis*. *Journal of Evolutionary Biology* 16: 1177-1185.
- Lowenberg, G. J. 1997. Effects of floral herbivory, limited pollination and intrinsic plant characteristics on phenotypic gender in *Sanicula arctopoides*. *Oecologia* 109: 279-285.
- Mortensen, L. M. 1990. Effects of temperature and light quality on growth and flowering of *Begonia xhiemalis* Fotsch. and *Campanula isophylla* Moretti. *Scientia Horticulturae* 44: 309-314.
- Rzedowski, J. y Rzedowski, G. C. 1985. **Flora Fanerogámica del Valle de México**. Vol. I. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN. México, D.F.
- Silvertown, J. 1987. The evolution of hermaphroditism. An experimental test of the resources model. *Oecologia* 72: 157-159.
- Uma-Shaanker, R. y Ganeshiah K. N. 1984. Age specific sex ratio in a monoecious species *Croton bonplandianum* Ball. *New Phytologist* 97: 523-531.

Wada, N y Uemura S. 2000. Size-dependent flowering behaviour and heat production of a sequential hermaphrodite, *Symplocarpus renifolia* (Araceae). *American Journal of Botany* 87: 1489-1494.

Tabla 1.- Resultado del análisis estadístico sobre el efecto de los tratamientos para estimar el costo de las funciones sexuales, en términos del crecimiento y la reproducción, de *Begonia gracilis*. Análisis de devianza sobre el incremento en la longitud del tallo, número de entrenudos y número de botones florales (masculinos y femeninos). Tamaño de muestra (N) = 150 plantas. Ajuste del modelo = r^2_{modelo} , grados de libertad = *gl*, Devianza = *D* y probabilidad de equivocarse al rechazar la hipótesis nula = *P*. El tamaño inicial de las plantas se utilizó como covariable del incremento en tamaño, el número inicial de entrenudos como covariable del número de entrenudos producidos, así como el número inicial de botones como covariable del número de botones producidos de cada sexo. Los valores resaltados (negritas) representan a los casos donde se rechazó la hipótesis nula.

Variable dependiente	Ajuste del modelo	Tratamiento			Fertilizante			Interacción			Covariable		
	r^2	<i>gl</i>	<i>D</i>	<i>P</i>	<i>gl</i>	<i>D</i>	<i>P</i>	<i>gl</i>	<i>D</i>	<i>P</i>	<i>gl</i>	<i>D</i>	<i>P</i>
<i>Incremento en tamaño*</i>	0.75	2,145	289.46	<0.0001	1,146	6.39	0.0125	2,143	40.39	<0.0001	1,143	5.76	0.0177
<i>Número de entrenudos</i>	0.64	2	1.17	0.5168	1	0.07	0.7873	2	1.04	0.5925	1	40.92	<0.0001
<i>Botones femeninos</i>	0.09	2	8.99	0.0115	1	3.00	0.0831	2	1.65	0.4382	1	0.18	0.6713
<i>Botones masculinos</i>	0.08	2	5.047	0.0801	1	0.048	0.8265	2	5.058	0.0797	1	1.30	0.2540

* Análisis de Varianza con distribución del error gamma.

Píe de figuras.

Figura 1. Efecto de la remoción de botones florales y la aplicación de fertilizante en el incremento en la longitud del tallo (promedio \pm error estándar) en *Begonia gracilis*. a) Tratamiento de remoción de botones florales, b) Efecto del fertilizante, c) interacción entre el tratamiento de remoción y la aplicación de fertilizante. Las barras claras corresponden a las plantas sin fertilizante, las barras oscuras corresponden a las plantas con fertilizante.

Figura 2. a) Efecto de la remoción de botones sobre la producción de botones femeninos ($\bar{X} \pm ee$) en *B. gracilis*. b) Efecto de la aplicación de fertilizante sobre la producción de botones femeninos ($\bar{X} \pm ee$) en *B. gracilis*.

Figura 1

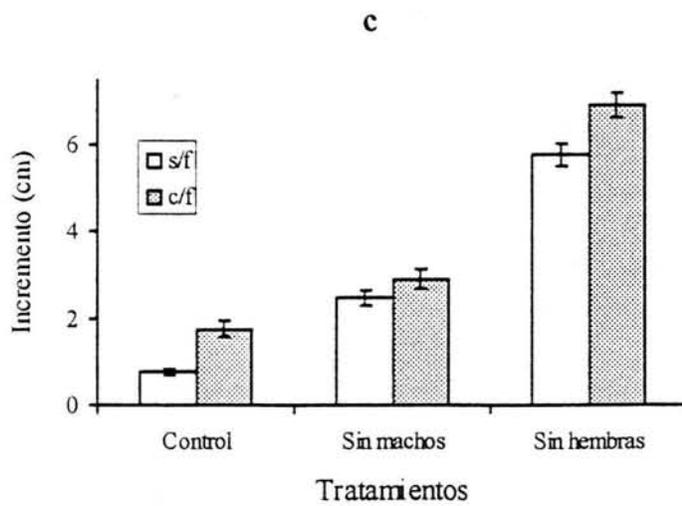
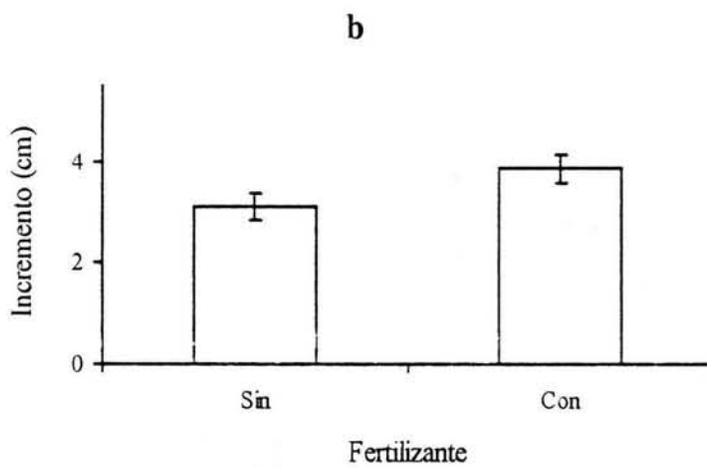
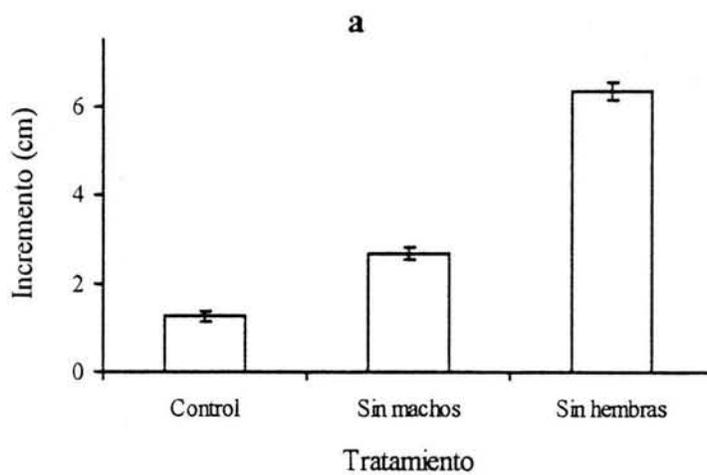
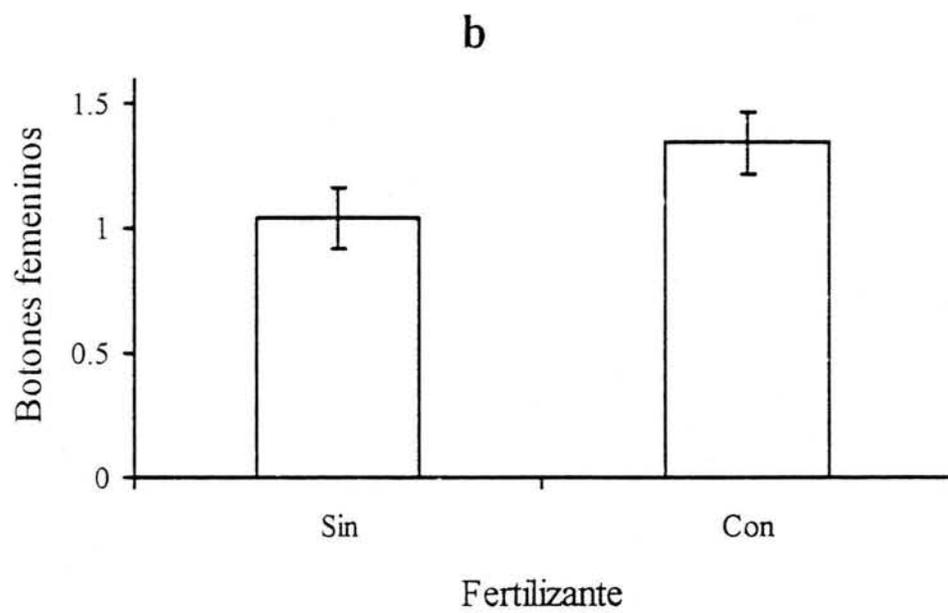
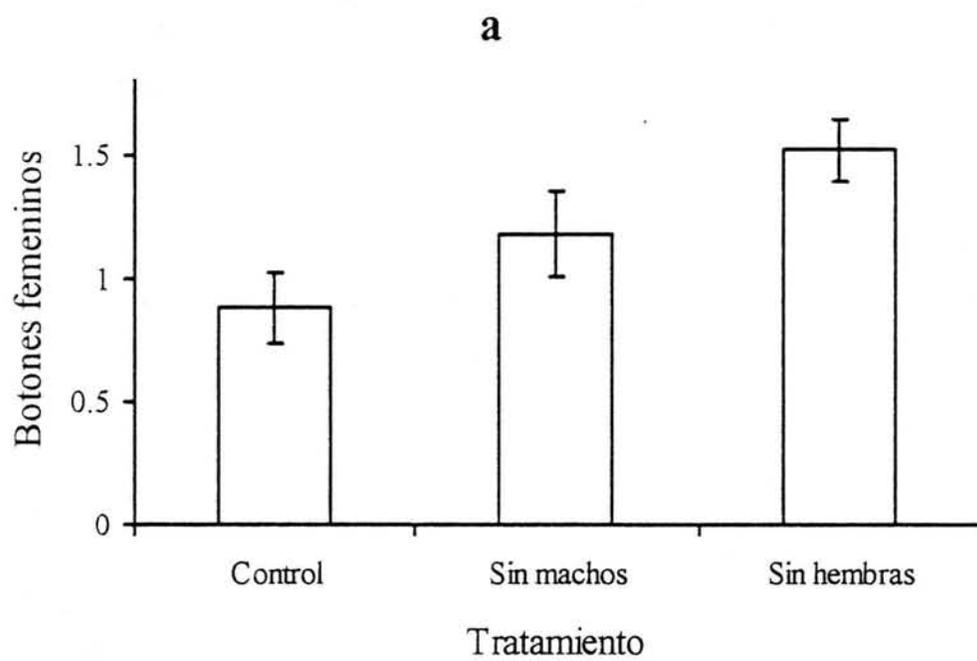


Figura 2



DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES

DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES

Desde la época de Fisher (1930), el problema de la evolución de la proporción sexual ha sido estudiado desde la perspectiva de que esta última es una variable evolutiva bajo control genético, usualmente con costos fijos y poca variación en la producción de hijos e hijas (Maynard-Smith 1980). Sin embargo, la teoría de asignación sexual (Charnov 1982) ha resaltado las condiciones (individuales y ambientales) que favorecen sesgos en la proporción sexual. Los resultados de la revisión bibliográfica en esta tesis, sobre los cambios en la proporción y asignación sexual en plantas con flores, muestran que en las especies dioicas el 50% tiene proporciones sexuales de 1:1, tal como predice el modelo de Fisher. Sin embargo existen especies que presentan sesgos hacia machos o hembras, que son resultado de una limitación de recursos. Con respecto a la asignación sexual, las plantas monoicas presentan sesgos hacia la función masculina que en general también están relacionados con la limitación de recursos. En ambientes ricos en recursos algunas especies de plantas presentan sesgos hacia las hembras, mientras que en ambientes pobres los sesgos son hacia los machos. En muchos casos, este patrón es resultado de la interacción entre las plantas y su ambiente a una escala de tiempo evolutivo. Sin embargo, uno de los aspectos relevantes de esta revisión es que las plantas tienen mucha plasticidad de respuesta a cambios en el ambiente en escala de tiempo ecológico, tal como muestra la revisión realizada por Policansky (1982) en la que además encuentra que el cambio de sexo en plantas está distribuido ampliamente, tanto a nivel taxonómico como a nivel geográfico. Por otra parte, en la revisión de esta tesis también se detectó que muchas de las especies a las que se les adjudicaba un sistema reproductivo en realidad funcionan como otro sistema. Por ejemplo, muchas de las especies descritas previamente como hermafroditas en realidad

se comportan como gino o androdioicas, lo que tiene implicaciones muy importantes al momento de realizar estudios sobre la biología reproductiva de una especie en particular, ya que las predicciones derivadas de la teoría de asignación sexual son específicas para cada tipo de sistema reproductivo. Por otra parte, los datos de la revisión en esta tesis muestran que las plantas monoicas y dioicas han sido más estudiadas que el resto de los sistemas reproductivos. Este sesgo puede deberse a que es más factible evaluar las proporciones sexuales y por lo tanto tener mejores estimaciones de cambios en la asignación sexual. Resalta el hecho de que hay relativamente pocos trabajos en plantas hermafroditas, que representa el sistema reproductivo más abundante (alrededor del 70% de las especies con flores). Es posible que la carencia de estudios en hermafroditas, con excepción de algunas especies como *Alstroemeria aurea*, *Corydalis ambigua*, *Trillium erectum* y *Trillium glandiflorum* entre otras, se deba a que es muy complicado establecer el costo de cada sexo cuando las estructuras reproductivas se encuentran en una misma flor y a que generalmente se asume que la asignación sexual en flores perfectas es igual para la función masculina que para la femenina.

Por otra parte, la teoría relacionada con el cambio de sexo se ha enfocado al éxito reproductivo relativo entre machos y hembras (Policansky 1982) y la relación costo-beneficio entre las ganancias en adecuación y el costo de realizar ajustes facultativos sobre la proporción sexual (West y Sheldon 2002) de manera similar a los ajustes que realizan los animales. Uno de los aspectos poco abordados en la literatura de la biología reproductiva de las plantas está relacionado con la capacidad de “comportarse”, tal como se aplica este concepto a los animales. En el capítulo uno se discutieron algunos patrones de asignación sexual como respuestas al ambiente social principalmente y por tanto como “patrones conductuales” en las plantas. Además, los resultados del experimento con diferentes

intensidades de polinización (Capítulo 2) demuestran que las plantas de *B. gracilis* tienen mecanismos que les permiten evaluar la proporción sexual operacional y pueden ajustar sus patrones de asignación de acuerdo con lo esperado por la teoría de asignación sexual. Cuando los niveles de polinización fueron bajos, se dio una asignación sesgada hacia la función masculina, mientras que cuando los niveles fueron altos se produjo un patrón de asignación más sesgado hacia la función femenina. Estos resultados soportan la idea de que las plantas evalúan su vecindario reproductivo y con base en esa información, pueden cambiar su asignación hacia la función sexual que tiene mayores expectativas de reproducirse.

Asimismo, los resultados de los experimentos que simulan el desempeño reproductivo de un individuo, con una asignación sexual específica en diferentes contextos de proporción sexual operacional (Capítulo 3), demuestran que existen ciertas consecuencias ante el ajuste de la asignación sexual en términos del éxito reproductivo. Los individuos con asignación sexual sesgada al sexo más escaso en la población obtuvieron una mayor adecuación total. Lo anterior apoya la idea de que realizar ajustes facultativos sí tiene consecuencias sobre el éxito reproductivo y por lo tanto es una estrategia adaptativa.

Los experimentos descritos en esta tesis para evaluar el costo de las dos funciones sexuales (Capítulo 4) sugieren que la función femenina es más costosa que la masculina en términos de crecimiento (incremento en el largo del tallo) y reproducción (producción de nuevos botones femeninos). Los resultados concuerdan con lo encontrado en otros trabajos sobre estimación de las funciones sexuales (Silvertown 1987, Ågren y Schemske 1995, Delesalle y Mooreside 1995), aunque existen otros trabajos donde no se ha encontrado esta tendencia (compromiso entre reproducción y crecimiento, mayor costo de la función femenina, i.e. Goldman 1991), o la evidencia sugiere que el costo de la función masculina

es mayor al de la femenina (*i. e.* Avila-Sakar *et al.* 2001). Sin embargo, el problema es que no hay una forma estandarizada de estimar los costos de las funciones sexuales, lo que dificulta las comparaciones y el establecimiento de patrones evolutivos. En este sentido, el método de reasignación de recursos puede ser una forma bastante precisa de estimar los costos de cada sexo.

En resumen, la teoría general de asignación sexual aborda ocho temas importantes que son: 1) *El principio de relatividad*. Este principio permite probar que un cambio en la proporción sexual es una adaptación, más que un simple efecto fisiológico. 2) *La sexualidad facultativa*. Que establece la dirección de los cambios en asignación de recursos hacia la función sexual con mayores ganancias reproductivas. 3) *Los modelos estructurados espacialmente*. Tanto el modelo de la competencia local por pareja como el de la competencia local por recursos consideran explícitamente movimientos espaciales de parte de los individuos de la población y sus consecuencias en la asignación sexual óptima. 4) *Control sobre la asignación sexual*. Que considera tanto a los mecanismos genéticos de determinación del sexo (elementos citoplasmáticos, cromosomas y autosomas) como a los mecanismos proximales (*i.e.* la abortición o el infanticidio). 5) *El papel de la historia en la evolución de la asignación sexual*. El análisis de las restricciones históricas permite conocer que tan factible sería el cambio de un tipo sexual a otro en diferentes linajes evolutivos. 6) *La asignación sexual y la coevolución*. Este tema aborda cómo las interacciones bióticas determinan la forma de las curvas de adecuación. 7) *Tipos sexuales y macroevolución*. Muchas de las preguntas sobre la macroevolución de las plantas superiores se discuten en términos de las ventajas de la protección del óvulo, eficiencia de polinización, y tamaño de las semillas y dispersión. Sin embargo poco se ha discutido en términos de la adecuación masculina o las diferencias en el apareamiento entre las

funciones masculinas y femeninas. 8) *Sistemas nuevos*. Aunque la teoría de asignación sexual está planteada en términos generales, existen algunos sistemas de estudio que han sido poco abordados, como las algas, los hongos, las bacterias y otros microorganismos, y que pudieran sugerir nuevas líneas de investigación sobre el tema de la asignación sexual. En esta tesis, se abordaron algunos de estos temas. En el Capítulo 1 se analizan los ajustes facultativos en términos de los sistemas reproductivos, pero se requiere de un análisis de la distribución de los sistemas reproductivos sobre la filogenia de las plantas con flores para poder ligar esta idea con las restricciones históricas. Este análisis ayudaría a entender en qué linajes la expresión sexual es más plástica y cuáles linajes tienen fuertes restricciones. Los Capítulos 2 y 3 muestran que hay un cambio de recursos hacia la función sexual que tiene mayores ganancias en adecuación (Charnov y Bull, 1977; Charnov 1982). Estos resultados se relacionan con el principio de relatividad, la sexualidad facultativa, los modelos que consideran la estructura poblacional en escala espacial y temporal, así como con el tema de la asignación sexual y la coevolución entre plantas y polinizadores.

En el Capítulo 2, se analizó específicamente el control que tienen las plantas de *Begonia gracilis* sobre la asignación sexual. Asimismo, se discutieron los posibles mecanismos de control. En esta especie de planta es posible que la aborción selectiva de los botones florales sea un mecanismo de control sobre la producción de flores macho y hembra.

Los estudios de Elle (1999) y Elle y Meagher (2000) evaluaron la adecuación por vía femenina y masculina, respectivamente. En el Capítulo 3 de esta tesis, se presenta uno de los primeros estudios en plantas monoicas en donde se ha evaluado tanto la adecuación por vía masculina como por la vía femenina, así como la adecuación total, en función de la asignación sexual y la proporción sexual operacional en condiciones naturales. Los datos

constante y una densidad de 60 flores /m². Esta densidad de flores es suficientemente alta como para asegurar la visita por parte de los polinizadores (ver Castillo, 1999). En cada parche se eligieron dos plantas con tres flores recién abiertas que diferían en sus proporciones sexuales. Estas plantas fueron designadas como plantas focales y en ellas se registró la producción de frutos y la donación de polen. Durante todo el periodo experimental se contabilizó diariamente el número de flores y la proporción sexual de cada parche. Cuando fue necesario se agregaron o quitaron plantas periféricas en cada población artificial para mantener constante la densidad y la *PSO* (i.e., cuando las flores de alguna planta se marchitaban o se caían y había que reemplazarla). Las poblaciones experimentales se colocaron a 25 metros de distancia entre sí para minimizar el movimiento de polen entre los parches (Castillo *com. pers.*).

3.2 Estimación de la adecuación por la vía masculina. Con el objeto de evaluar el éxito reproductivo masculino de las plantas focales, se usaron polvos fluorescentes (Magruder Color Co.) para estimar la donación de polen (Castillo *et al.* 2002). En ausencia de marcadores moleculares para la paternidad, se ha demostrado que las marcas de polvos fluorescentes son indicadores confiables del movimiento de polen y polinizaciones efectivas (Campbell 2000). Durante cuatro días consecutivos, que coincidieron con el pico de floración de esta especie en el Pedregal de San Ángel, se aplicaron polvos fluorescentes a las anteras de las flores masculinas de las plantas focales. Se utilizó un color diferente para cada proporción sexual individual, naranja para las plantas focales con asignación sexual hacia la función femenina (*PSI* = 0.33) y amarillo para las plantas focales con asignación sexual hacia la función masculina (*PSI* = 0.66). Por la tarde (entre las 18 y 19:30 hrs) de cada día se revisaron los estigmas de todas las flores femeninas de las plantas periféricas en cada parche para buscar marcas de los polvos fluorescentes. Esta búsqueda se realizó con ayuda de una lámpara de luz negra. La luz negra resalta las marcas

fluorescentes que a simple vista son difíciles de distinguir. La donación de polen de cada planta focal se evaluó contando el número de marcas de polvo fluorescente que estaban en las flores femeninas de las plantas periféricas. Las flores que se registraron eran marcadas para evitar contarlas de nuevo al día siguiente. Al sumar el número de marcas encontradas por día se obtuvo el total de marcas por planta focal que corresponden al estimador del éxito reproductivo por la vía masculina, durante el tiempo que cada planta focal estuvo expuesta a la visita de los polinizadores. En algunas poblaciones experimentales las plantas focales sólo mantuvieron la proporción sexual durante cuatro días. Debido a esto, únicamente se utilizaron los datos de los primeros cuatro días del experimento para que el tiempo de duración fuera el mismo en todas las plantas focales.

3.3 Estimación de la adecuación por vía femenina. El éxito reproductivo femenino se midió a través de la producción de frutos por parche de las plantas focales. Sólo se utilizaron los frutos producidos por las flores femeninas que estuvieron abiertas durante la fase experimental, que coincidió con el tiempo de exposición de las flores masculinas. Esto último con la finalidad de tener estimaciones de la adecuación comparables a las de la función masculina. Al final del experimento se colectaron los frutos por planta focal y se contaron los frutos que produjeron semillas viables como estimador de la adecuación por la vía femenina.

3.4 Adecuación total. Para calcular la adecuación total de cada planta focal se contaron los frutos producidos en esa planta (vía femenina) y se sumó el número de marcas fluorescentes dejadas en las flores femeninas de las plantas periféricas (vía masculina), asumiendo que las marcas de polvos fluorescentes son equivalentes a la producción de frutos por vía masculina. Las estimaciones de la adecuación se realizaron dentro de la misma temporada de floración y sólo

- Delesalle, V. A. y Mooreside P. D. 1995. Estimating the costs of allocation to male and female functions in a monoecious cucurbit, *Lagenaria siceraria*. *Oecologia* 102: 9-16.
- Elle, E. 1999. Sex allocation and reproductive success in the andromonoecious perennial *Solanum carolinense* (Solanaceae). I. Female success. *American Journal of Botany*, 86: 278-286.
- Elle, E. y Meagher, TR. 2000. Sex allocation and reproductive success in the andromonoecious perennial *Solanum carolinense* (Solanaceae). II. Paternity and functional gender. *American Naturalist*, 156: 622-636.
- Fisher, RA. 1930. **The Genetical Theory of Natural Selection**. Oxford, Clarendo.
- Goldman, D. A. 1991. Minimal male-female tradeoffs in *Zizania palustris*, a monoecious annual grass. *American Journal of Botany* 89:441-446.
- Maynard-Smith, J. 1980. A new theory of sexual investment. *Behavioural Ecology and Sociobiology* 7: 247-251.
- Policansky, D. 1982. Sex change in plants and animals. *Annual Review of Ecology and Systematics* 13: 471-495.
- Silvertown, J. 1987. The evolution of hermaphroditism. An experimental test of the resources model. *Oecologia* 72: 157-159.
- West, SA. y Sheldon, BC. 2002. Constrains in the evolution of sex ratio adjustments. *Science* 295: 1685-1688.