

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO



Facultad de Ciencias

ROBO DE NÉCTAR Y SUS EFECTOS EN LA  
INTERACCIÓN ENTRE COLIBRÍES Y *Bouvardia  
ternifolia* (RUBIACEAE): PRUEBAS  
EXPERIMENTALES

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

B I Ó L O G O

P R E S E N T A

LUIS ANTONIO SALINAS ESQUIVEL



FACULTAD DE CIENCIAS  
UNAM

DIRECTOR DE TESIS: DR. CARLOS ALBERTO LARA RODRÍGUEZ

2007



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.

## **DEDICATORIA**

**Agradezco a mis padres por todo el apoyo que me otorgaron y que sin el no hubiera realizado el presente trabajo.**

**A Itzel por que juntos con nuestro mutuo apoyo aprendimos y logramos muchas cosas lo cual incluye éste trabajo.**

## **AGRADECIMIENTOS**

**A mi asesor el Dr. Carlos Alberto Lara Rodríguez que fue parte fundamental en la realización de éste trabajo.**

**A mis sinodales, Dra. María del Coro Arizmendi Arriaga, Dra. María del sol Robledo y Monterrubio, la M en B. María Eugenia Muñiz Díaz de León, y a la M en C Fabiola Ramírez Corona, a todos ellos por sus sugerencias y comentarios realizados para afinar el trabajo escrito.**

**A la Dra. Margarita Martínez-Gómez por su a poyo y motivación.**

## ÍNDICE

<b>1. RESUMEN</b>	
<b>2. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>6</b>
<b>3. ANTECEDENTES.....</b>	<b>8</b>
<b>4. OBJETIVOS.....</b>	<b>10</b>
<b>5. METODOLOGÍA.....</b>	<b>11</b>
<b>6. RESULTADOS.....</b>	<b>16</b>
<b>7. DISCUSIÓN.....</b>	<b>28</b>
<b>8. CONCLUSIÓN.....</b>	<b>32</b>
<b>9. REFERENCIAS.....</b>	<b>33</b>

**Resumen.** Los beneficios mutuos causados por la interacción entre plantas y colibríes, tales como las recompensas ofrecidas por las plantas y el transporte de polen efectuado por los colibríes, son comúnmente explotados por organismos antagonistas que no proveen ningún beneficio a los participantes de la interacción. El néctar de las flores visitadas por colibríes es usualmente explotado de forma ilegítima por organismos como abejas, abejorros, ácaros florales y otras aves, conocidos comúnmente como “robadores de néctar”. Estos organismos pueden afectar directa e indirectamente la adecuación de las plantas al alterar también el comportamiento de forrajeo de los colibríes. El significado ecológico de los antagonistas en la interacción entre plantas y colibríes es escasamente conocido. El propósito de este trabajo fue investigar el efecto del robo de néctar en la interacción entre el arbusto distílico *Bouvardia ternifolia* (Cav.) Schlecht y sus colibríes visitantes. Al simular diferentes intensidades de robo de néctar y a través de experimentos de polinización, se evaluaron (1) los cambios en el comportamiento de forrajeo de los colibríes visitantes, (2) se exploraron las diferencias entre los morfos florales, y (3) se analizó el efecto del robo de néctar en los patrones de polinización y el éxito reproductivo de esta especie de planta. Los resultados demostraron que en plantas de ambos morfos, los niveles altos de remoción de néctar estuvieron relacionados con una disminución en el número de flores visitadas, el incremento en los tiempos de arribo de los colibríes visitantes, y la disminución en la disponibilidad subsiguiente de néctar. Los experimentos de polinización mostraron que la producción de semillas en ambos morfos fue reducida significativamente por el robo de néctar. En general, las plantas con flores de estilos largos (morfo pin) tuvieron los efectos más negativos a lo largo del estudio. Estos resultados sugieren que los robadores de néctar pueden afectar directamente los patrones de forrajeo de los colibríes y reducir la adecuación de las plantas.

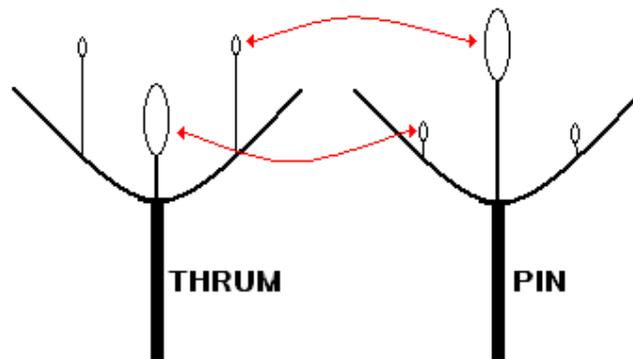
## 1. INTRODUCCIÓN

Los mutualismos son interacciones de explotación recíproca, que proveen beneficios para ambas especies participantes (Bronstein 2001). Sin embargo, la variación continua es inherente a todos los aspectos de estas interacciones, incluyendo la efectividad para conferir beneficios a las diferentes especies asociadas o individuos dentro de una especie participante (Parker 1995). Por consecuencia, los costos y beneficios de las interacciones mutualistas no son estáticos, y un cambio en la magnitud de estos puede cambiar el grado en el cual una asociación se mantiene mutuamente benéfica. Entre los principales factores que influyen sobre la condicionalidad de resultados en un mutualismo está la aparición de individuos o especies externos a la interacción, pero que la explotan de manera antagonista sin conferir ningún beneficio o pago mutualista (Bronstein 1994).

Cuando este tipo de antagonistas explotan interacciones entre plantas y sus polinizadores y afectan rasgos relevantes al sistema de polinización, tales como las recompensas florales (néctar y/o polen, entre otras), las preferencias de los polinizadores pueden ser alteradas por la influencia directa o indirecta de estos antagonistas. Por ejemplo, algunos estudios han demostrado que los individuos que roban néctar, pueden afectar la variabilidad de este recurso y modificar aspectos del comportamiento de forrajeo de los polinizadores, y subsecuentemente alterar el flujo de polen y éxito reproductivo de las plantas (Irwin & Brody 1998, Lara & Ornelas 2002, Irwin & Maloof 2002). Sin embargo, la generalidad de estos resultados no ha sido profundamente estudiada y demostrada para todos los sistemas de polinización por animales.

El presente trabajo está dirigido a esta línea de investigación, la cual se enfoca en la interacción entre robadores de néctar, colibríes y sus plantas. A través de una

aproximación experimental, en este estudio se evalúa el impacto simulado del robo de néctar en la interacción entre colibríes y el arbusto distílico *Bouvardia ternifolia* (Rubiaceae). La distilia, dimorfismo floral que se distingue por posicionamiento recíproco de anteras y estilos (Darwin 1877; Barret 1992, 1990) (Figura 1), caracteriza a un fenómeno promotor de la exocruza llamado heterostilia; el cual se encuentra en flores polinizadas por animales. La familia Rubiaceae es la que posee un mayor número de géneros con este fenómeno (Ganders 1979, Barrett 1992). Las poblaciones heterostílicas pueden estar compuestas por plantas con dos (distilia) o tres (tristilia) según el posicionamiento de antera y estilos.



**Figura 1. Distilia, posicionamiento recíproco de anteras y estilos. El morfo formado por anteras cortas y estilo largo es llamado Pin y el morfo formado por anteras largas y estilo corto es llamado Thrum.**

El diseño experimental del presente trabajo fue conformado para evaluar (1) cambios en el comportamiento de forrajeo de los colibríes visitantes, (2) explorar diferencias entre los morfos florales, y (3) analizar el efecto del robo de néctar en los patrones de polinización y el éxito reproductivo de esta especie de planta.

## 2. ANTECEDENTES

La adecuación de la mayoría de las plantas polinizadas por animales es afectada no solo por los polinizadores mutualistas, sino además en una forma compleja por la acción simultánea y secuencial de varios antagonistas (revisión en Maloof & Inouye 2000). El néctar floral es la recompensa más comúnmente ofrecida en las angiospermas polinizadas por aves (Simpson & Neff 1983). Sin embargo, este recurso es además atractivo a otros visitantes florales que pueden “robar” la recompensa sin transferir polen entre las flores, lo que representa un costo neto para las plantas (Arizmendi *et al.* 1996, Irwin & Brody 1998, Lara & Ornelas 2001a).

El néctar de las flores polinizadas por colibríes es regularmente robado por una variedad de visitantes ilegítimos tales como abejas, hormigas, paserinos e incluso otros colibríes (McDade & Kinsman 1980, Arizmendi *et al.* 1996, Navarro 1999, Lara & Ornelas 2001a). Sin embargo, el “robador” de néctar más común en muchas de las flores polinizadas por colibríes son los ácaros florales (Colwell 2000).

La presencia de ácaros florales en plantas polinizadas por colibríes ha sido bien documentada (Colwell & Naeem 1994, Colwell 2000), pero el efecto entre los interactuantes aún ha sido poco explorado. Los ácaros florales se alimentan de polen y néctar de una gran variedad de especies de plantas polinizadas exclusivamente por colibríes (Colwell 1995, Paciorek *et al.* 1995, Lara & Ornelas 2001b). No todas las plantas polinizadas por colibríes hospedan ácaros florales, y las razones de ello son un misterio para la ciencia. Para dispersarse a nuevas flores, los ácaros suben al pico de un colibrí visitante y viajan en los nostrilos hasta que se realiza una nueva visita en otra inflorescencia u otra planta de la especie hospedera apropiada. La relación entre los ácaros florales y sus colibríes hospederos ha sido típicamente definida como forética;

sin embargo, se ha sugerido que el transporte mismo puede representar un costo energético para los colibríes y no se sabe si los ácaros producen algún daño dentro de los nostrilos. El consumo de néctar por ácaros puede reducir su disponibilidad para los colibríes (Colwell 1995, Lara & Ornelas 2001b) afectando indirectamente el éxito reproductivo de la planta hospedera (Lara & Ornelas 2001b). El volumen de néctar en flores de *Moussonia deppeana* (Gesneriaceae), una planta protándrica polinizada por el colibrí *Lampornis amethystinus*, disminuye hasta un 50% en presencia de ácaros florales (*Tropicoseius* sp. nov.), sin afectar la producción de semillas (Lara & Ornelas 2001b). Sin embargo, el consumo de néctar por ácaros puede influenciar los patrones de forrajeo de los colibríes visitantes, y esto puede afectar indirectamente la transmisión de polen (Lara & Ornelas 2002). El efecto negativo de los ácaros florales sobre el volumen de néctar parece ser un fenómeno generalizado en plantas polinizadas por colibríes cuyas flores duran varios días y producen volúmenes grandes de néctar (Lara & Ornelas 2003).

Las flores de la planta *Bouvardia ternifolia*, son típicamente hospederas de ácaros florales del género *Tropicoseius*, los cuales pueden llegar a consumir hasta el 60% del néctar disponible (Lara & Ornelas 2003), y además son polinizadas por colibríes. Estas características hacen de este sistema, un modelo ideal para explorar a través de la manipulación de la magnitud del impacto del robo de néctar, los efectos sobre la conducta de forrajeo de los colibríes visitantes, las consecuencias en el flujo de polen y el éxito reproductivo de las plantas hospederas.

### **3. OBJETIVO**

#### **3.1 Objetivo general**

Determinar experimentalmente la magnitud del efecto de distintos niveles de robo de néctar sobre la conducta de forrajeo de los colibríes visitantes y el éxito reproductivo en *Bouvardia ternifolia*.

#### **3.2 Objetivos particulares**

- 1) Determinar cambios conductuales en el forrajeo de las distintas especies de colibríes visitantes ante la simulación del robo de néctar
- 2) Evaluar la conducta de los colibríes en ambos morfos florales
- 3) Analizar experimentalmente el efecto conjunto del robo de néctar y distintos patrones de polinización en el éxito reproductivo de plantas de ambos morfos.

## 4. METODOLOGÍA

### 4.1 Sitio de estudio

El presente estudio fue realizado de Mayo a Agosto del 2005, en un área de aproximadamente 50 ha. de parches en floración de *Bouvardia ternifolia* (Rubiaceae), en el Parque Nacional “La Malinche” (19°6’N, 19°20’W; a 2,900 msnm). La vegetación en esta área natural protegida (45,711 ha) se encuentra compuesta principalmente por bosques de pino, encino y oyamel, y esta localizada a 80 km de la ciudad de Tlaxcala, Tlaxcala. La precipitación media anual es de 800 mm y la temperatura media anual es de 15°C. El clima es templado y húmedo la mayor parte del año, con una temporada seca y fría de Octubre a Marzo. La vegetación esta bien conservada y dominada por *Pinus montezumae* (Lamb.), *P. pseudostrobus* (Lindl), *Abies religiosa* (H.B.K) Cham. & Schlecht (Pinaceae), *Quercus laurina* (Humb.& Bonpl) y *Q. crassipes* (Humb.& Bonpl) (Díaz-Ojeda 1992).

### 4.2 Especie estudiada

*Bouvardia ternifolia* (Rubiaceae) es un arbusto dítilico autoincompatible, mide de 1-1.5 metros de altura; esta ampliamente distribuido en áreas abiertas de los bosques de Arizona, EUA, hasta el sur de México (Faivre 2000). Las flores presentan las corolas fusionadas, en forma de tubo y agrupadas en cimas terminales. Las flores con estilos largos tienen corolas mas cortas que las flores con estilos cortos. En La Malinche, su periodo de floración es de mayo-julio (Lara 2006). Las flores duran de 4-5 días y cambian de color de rojo escarlata a rojo pálido o rosa en el tercer día, y son hospederas de ácaros del género *Tropicoseius* (Lara & Ornelas 2003). Cinco especies de colibríes

son sus principales polinizadores en el sitio de estudio: *Hylocharis leucotis*, *Archilochus colubris*, *Eugenes fulgens*, *Colibri thalassinus* y *Lampornis clemenciae* (Lara 2006).

Para evaluar los potenciales efectos del robo de néctar sobre la atracción y conducta de colibríes que visitan a *Bouvardia*, y sus efectos directos e indirectos sobre el éxito reproductivo de sus morfos florales, se realizaron los experimentos a continuación descritos.

#### **4.3 Robo de néctar y conducta de forrajeo en colibríes**

Para evaluar el efecto que tiene el robo de néctar sobre la atracción y conducta de los colibríes en *Bouvardia*, el 27 de Mayo del 2005 (durante el pico de floración de esta especie), tres grupos de plantas de cada morfo, con semejante talla y despliegue floral (1-1.20 m altura y 50-60 flores abiertas) en ese momento ( $N= 5$  plantas/grupo/morfo), se eligieron aleatoriamente. Todas las plantas de los tres grupos fueron marcadas con cinta de un color distintivo y cada grupo fue sometido a un nivel distinto de remoción de néctar o robo. De esta manera, para cada morfo hubo un grupo de plantas cuyas flores fueron sometidas a un nivel de: (1) remoción intensa (100%), es decir todas las flores de ese grupo fueron sometidas a remoción, (2) remoción media (50%), en donde solo la mitad de las flores de cada planta recibieron remoción, y (3) remoción baja, donde sólo el 10% de sus flores fue manipulado. Las remociones se realizaron solo una vez durante la mañana (0800 h). El néctar fue extraído con micropipetas graduadas (5 $\mu$ l). La concentración de azúcar (porcentaje de sucrosa) fue determinado con un refractómetro portátil (American optical 10431, Buffalo, New York, USA; rango de concentración de 0°-50° escala BRIX). La cantidad de azúcar producido fue expresado en miligramos (Kearns e Inouye 1993).

Las flores de numerosas especies de plantas, tienen la capacidad de producir néctar después de la visita previa de un polinizador, fenómenos conocido como rellenado de néctar (“nectar replenishment”) (Cruden et al. 1983). Para determinar la capacidad de rellenado de néctar en la plantas de ambos morfos sometidas a los distintos niveles de remoción, 4 horas después de aplicados los tratamientos, 10 flores de cada planta fueron seleccionadas para la cuantificación de sus volumen y concentración de néctar utilizando el protocolo previamente descrito.

Después de finalizadas las remociones en todas las plantas utilizadas, se realizaron observaciones sobre la conducta de forrajeo de los colibríes visitantes en un periodo continuo de 0900-1800 h (por ser el pico de actividad de los colibríes). Las observaciones se llevaron a cabo cerca de las plantas focales. Se registró el inicio de las observaciones como el tiempo cero, y subsecuentemente los eventos de forrajeo como minutos a partir del tiempo de inicio. Un evento fue definido como el arribo de un colibrí hacia alguna de las flores de las plantas focales. En cada planta, se registró el (1) tiempo inicial de la observación, (2) el tiempo hasta que un colibrí visitará la planta focal, (3) la especie de colibrí visitante, (4) el morfo floral de la planta visitada, (5) el nivel de robo de la planta visitada, y (6) el número de flores visitadas.

#### **4.4 Robo de néctar, polinización y éxito reproductivo**

Para investigar como la pérdida de néctar afecta los patrones de transferencia de polen y en consecuencia como esto afecta el éxito reproductivo de ambos morfos se realizaron los siguientes experimentos. El 15 y 16 de Junio 2005, se realizó un experimento de polinización. Para ello, 90 botones florales a punto de abrir fueron seleccionados y embolsados con bolsas de tul, de las plantas utilizadas para las remociones y observaciones de colibríes ( $N=15$  flores/nivel de robo/morfo). Al siguiente día,

polinizaciones manuales fueron llevadas a cabo en las flores previamente marcadas, utilizando anteras de flores de uno o dos días de longevidad, colectadas de un solo individuo del morfo opuesto para minimizar posibles efectos genéticos y simplificar el diseño experimental. Las polinizaciones se realizaron al frotar una antera sobre un pistilo de una flor seleccionada. Las flores recibieron una, dos y tres inserciones dependiendo del tratamiento de intensidad de polinización ( $N=5$  flores/intensidad de polinización/intensidad de robo/morfo). Después de realizadas las polinizaciones, las flores permanecieron embolsadas hasta la producción de frutos, los cuales fueron posteriormente colectados y sus semillas cuantificadas.

Debido a que el robo de néctar puede ser constante a lo largo de la vida de una flor, y los colibríes pueden responder a estos cambios en la disponibilidad de néctar y en consecuencia afectar la polinización, el 5 de Agosto del 2005, 15 plantas por morfo fueron seleccionadas y de ellas 5 botones a punto de abrir fueron marcados y embolsados. Al día siguiente, las flores fueron sometidas a distintos niveles de remoción de néctar durante dos días consecutivos, con uno (0900 h), dos (1000 y 1600 h) y cuatro eventos de remoción por día (0800, 1000, 1200, 1400 hrs) (25 flores/nivel de néctar/morfo). Al tercer día (cuando las flores son receptivas), se aplicó polinización manual (una sola frotada entre anteras y pistilo) utilizando el protocolo de polinización arriba descrito. Después de las cruces las flores permanecieron marcadas hasta la fructificación y después fueron cosechados los frutos y cuantificado su número de semillas.

#### **4.5 Análisis estadísticos**

La variación en el número de flores visitadas por los colibríes en plantas de ambos morfos sometidas a los distintos niveles de robo fue analizada a través de un ANDEVA

de dos vías (Zar 1999). En el modelo morfo, nivel de robo y sus interacciones fueron factores fijos, y el número de flores visitadas fue la variable dependiente. Pruebas Post hoc (Fisher test) fueron realizadas para examinar diferencias entre morfos y plantas con distintos niveles de robo en el número de flores visitadas por colibríes.

Utilizamos un análisis de sobrevivencia (Muenchow 1986) para evaluar las visitas de colibríes debido a que los periodos de observación fueron muy cortos para que todos los posibles eventos ocurran. Para estos datos, el tiempo actual de ocurrencia no es conocido, solamente una mínima longitud de tiempo durante el cual los eventos no ocurrieron (datos censurados). Si un evento ocurrió para una planta dada, entonces se vuelve un evento no censurado, y si nunca ocurrió, se vuelve dato censurado. Usamos el método no-paramétrico Kaplan-Meier product-limit para el análisis de la probabilidad de que un colibrí no haya visitado una planta 360 minutos después de iniciada la observación, y el estadístico logrank (Mantel-Cox) se usó para probar diferencias en las visitas realizadas por especie de colibrí, sexo, horario de observación y tipo de parche (de acuerdo al número de flores y plantas).

La variación en la producción de néctar y concentración de azúcar entre morfos después de los tratamientos de remoción (rellenado de néctar) fue analizada mediante ANDEVAs de dos factores (Zar 1999).

Los análisis de la producción semillas por fruto en plantas de ambos morfos y sometidas a los tratamientos de robo de néctar y polinización, fueron realizados utilizando ANDEVAs de tres y dos factores (Zar 1999).

Los datos fueron transformados al  $\log_{10}(x + 1)$  o raíz cuadrada antes de los análisis para cumplir con los requerimientos de los análisis paramétricos (Zar 1999), pero los datos sin transformar son reportados. Todos los análisis estadísticos se realizaron

utilizando los paquetes estadísticos StatView y SuperANOVA (Abacus Concepts 1989, 1999).

## 5. RESULTADOS

### **5.1 Comportamiento de forrajeo de colibríes**

Un total de 142 visitas de colibríes a las plantas sometidas a los distintos niveles de remoción de néctar fueron registradas durante las observaciones. Las especies de colibríes registradas visitando flores de esta especie de planta fueron *Archilochus colubris* (55 visitas), *Hylocharis leucotis* (62 visitas) y *Colibri thalassinus* (36 visitas). El 45.7 % de las visitas de colibríes se registraron en plantas del morfo thrum y el 54.3% en plantas del morfo pin (Cuadro 1). Las flores de plantas thrum fueron significativamente más visitadas que las de plantas pin ( $F_{1,184}=13.06$ ,  $P=0.0004$ ), y los colibríes observados realizaron un menor número de visitas en plantas de ambos morfos sometidas a niveles altos de remoción de néctar ( $F_{3,184}=2.75$ ,  $P=0.044$ ). La interacción entre morfo y nivel de remoción fue estadísticamente significativa ( $F_{3,184}=2.92$ ,  $P=0.036$ ), lo cual demuestra que ambos morfos reciben un determinado número de colibríes visitantes dependiendo de la intensidad del robo de néctar a la que son sometidas sus plantas (Figura 1, Cuadro 2). En consecuencia, la simulación de distintas intensidades de robo de néctar parece afectar directamente el número de flores que los colibríes visitan en ambos morfos.

Cuadro 1. Número de flores visitadas ( $\xi \pm e.e.$ ) por colibríes a plantas de cada morfo sometidas a distintos niveles de remoción.

Morfo (nivel de Remoción)	Número de flores visitadas	media	e.e.
Pin (control)	15	7	.535
Pin (baja)	19	6.947	.580
Pin (media)	39	6.359	.454
Pin (alta)	4	6.250	.250
Thrum (control)	16	10.50	.563
Thrum (baja)	14	9.071	1.179
Thrum (media)	28	10.607	.715
Thrum (alta)	7	5.714	1.128

Cuadro 2. Número de flores visitadas dependientes de morfo y nivel de remoción (ANDEVA de 2 factores)

Fuente de variación	g. l.	<i>F</i>	<i>P</i>
Morfo	1	13.068	<b>.0004</b>
Nivel de remoción	3	2.759	<b>.0448</b>
Morfo $\times$ Nivel de remoción	3	2.920	<b>.0364</b>
Error	134		

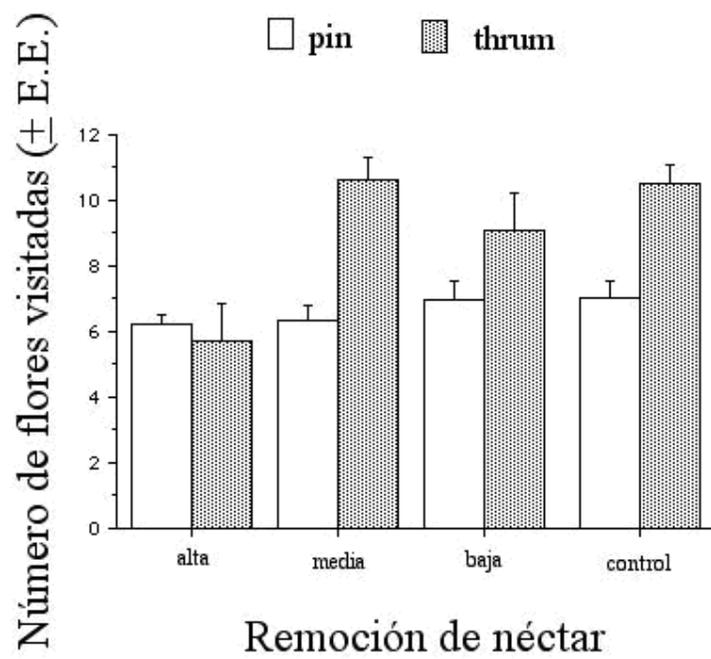
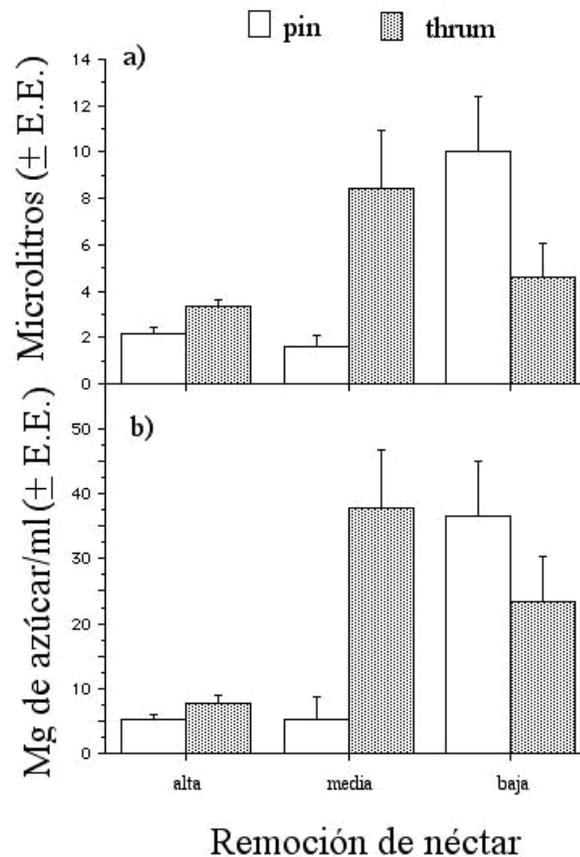


Figura 1. Número de flores visitadas por morfo y nivel de remoción de néctar.

El análisis sobre la variación en el volumen de néctar colectado 4 horas después de las remociones demostró que no existe un efecto significativo entre morfos ( $F_{1,294}=0.449$ ,  $P=0.503$ ), pero si de acuerdo al nivel de robo ( $F_{2,294}=4.31$ ,  $P=0.014$ ). Asimismo, la interacción entre los factores morfo y nivel de robo fue significativa ( $F_{2,294}=7.80$ ,  $P=0.0005$ , Figura 2a, Cuadro 3). Por su parte, la concentración de néctar fue distinta entre morfos ( $F_{1,294}=6.79$ ,  $P=0.009$ ), pero no entre niveles de robo ( $F_{2,294}=0.701$ ,  $P=0.497$ ). La interacción entre los factores morfo y nivel de robo fue significativa ( $F_{2,294}=9.67$ ,  $P=0.001$ , Figura 2b, Cuadro 4).



**Figura 2.** Distintos (a) volúmenes (microlitros) y (b) concentraciones de néctar (en mg de azúcar) en ambos morfos en distintos niveles de remoción de néctar.

Cuadro 3 Volúmenes de néctar obtenidos dependientes de morfo y nivel de remoción  
(ANDEVA de 2 factores).

Fuente de variación	g. l.	<i>F</i>	<i>P</i>
Morfo	1	.449	.5032
Nivel de remoción	2	4.314	<b>.0142</b>
Morfo × Nivel de remoción	2	7.802	<b>.0005</b>
Error	294		

Cuadro 4. Concentraciones de azúcar obtenidas dependientes de morfo y nivel de remoción  
(ANDEVA de 2 factores).

Fuente de variación	g. l.	<i>F</i>	<i>P</i>
Morfo	1	6.797	<b>.0096</b>
Nivel de remoción	2	.701	.4968
Morfo × Nivel de remoción	2	9.679	<b>.0001</b>
Error	294		

El análisis de los tiempos de llegada de colibríes a flores de ambos morfos sometidas a distintos niveles de robo de néctar indican que existe la misma probabilidad en el tiempo de que un colibrí visite a una planta de morfo pin o morfo thrum independientemente del nivel de robo de néctar al que se encuentre sometida (Log rank-Mantel Cox:  $X^2= 0.092$ , g.l.= 1,  $P= 0.761$ , Figura 3). Esto significa que no hay un efecto del morfo floral sobre los tiempos de llegada de los colibríes, y que la exploración de un posible efecto del tratamiento de remoción de néctar en los tiempos de llegada, podría realizarse eliminando el factor morfo floral del análisis de sobrevivencia. De este modo, al analizar los tiempos de llegada de colibríes independientemente del morfo visitado, y sólo considerando el tipo de intensidad de remoción de néctar de las plantas focales, se encontró que los colibríes visitan primero aquellas plantas con remoción baja de néctar y que los tiempos de llegada son más altos conforme la intensidad del robo incrementa (Log rank-Mantel Cox:  $X^2= 8.15$ , g.l.= 3,  $P< 0.05$ , Figura 4). Así, los colibríes al visitar las plantas con las distintas intensidades de robo, parecen responder negativamente en cuanto a los tiempos de realización de una nueva visita a la planta, en consecuencia, aquellas plantas con mayor intensidad de robo de néctar requerirán mayor tiempo para volver a recibir la visita de un colibrí, afectando potencialmente el flujo de polen entre sus flores. Los resultados descritos adelante sobre la simulación de estos cambios conductuales vistos como la intensidad de polinización en las flores de ambos morfos sometidas a distintas intensidades robo, parecen corroborar esta afirmación.

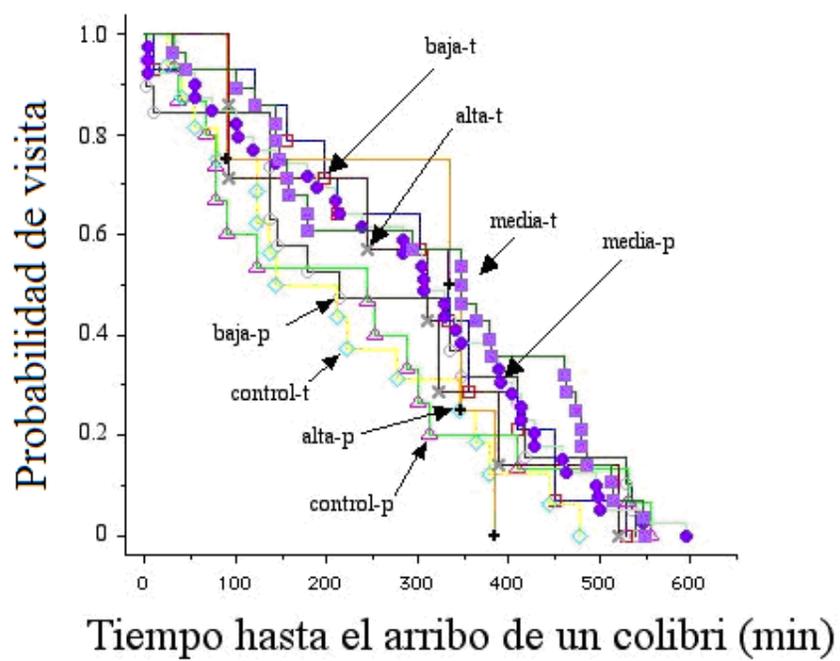


Figura 3. Tiempos de arribo de colibríes a los diferentes tratamientos de remoción de néctar.

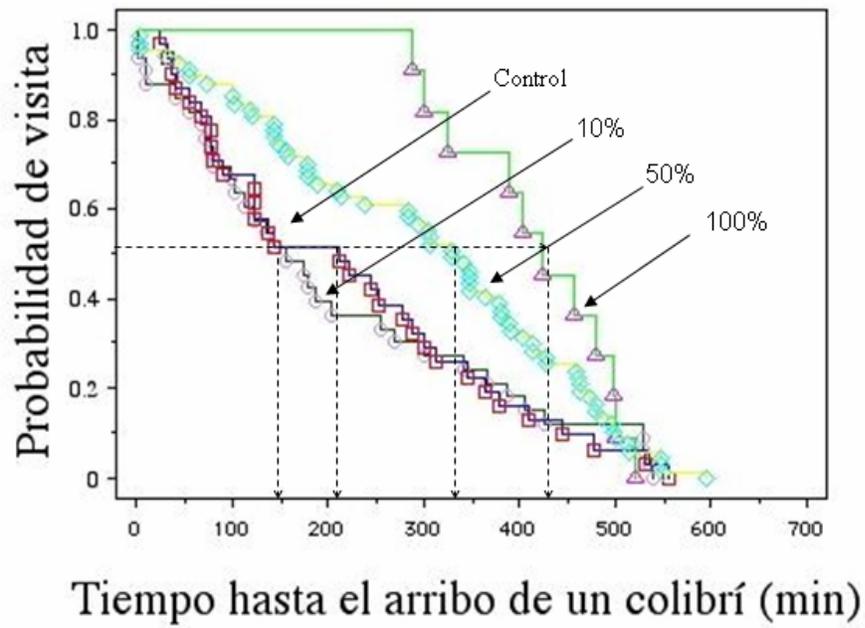


Figura 4. Análisis de sobrevivencia para los tiempos de llegada de los polinizadores a los diferentes tratamientos de remoción de néctar.

## **5.2 Robo, polinización y producción de semillas**

La manipulación artificial de distintos niveles de polinización y robo en flores de ambos morfos, demostró que la variación en el número de semillas por fruto cuantificada no es explicada por el morfo floral ( $F_{1,72}=0.39$ ,  $P=0.843$ ), ni por su interacción con la intensidad de polinización ( $F_{2,72}=2.86$ ,  $P=0.064$ ) e intensidad de robo ( $F_{2,72}=0.786$ ,  $P=0.460$ ), así como la interacción entre los tres factores ( $F_{4,72}=0.531$ ,  $P=0.730$ ). Sin embargo, el análisis realizado demostró que por si solos, los factores intensidad de polinización ( $F_{2,172}=115.06$ ,  $P=0.001$ ), intensidad de robo ( $F_{2,72}=62.67$ ,  $P=0.001$ ), y la interacción entre ambos factores ( $F_{4,72}=7.47$ ,  $P=0.001$ ), afectan significativamente el número de semillas en esta especie de planta (Figura 5, Cuadro 5).

Asimismo, los resultados sobre el número de semillas producidos en plantas sometidas a distintos niveles de robo durante dos días consecutivos, pero polinizadas bajo la misma intensidad, demostraron un efecto significativo del factor morfo ( $F_{1,144}=19.28$ ,  $P=0.0001$ ), e intensidad de robo ( $F_{2,144}=64.71$ ,  $P=0.0001$ ), así como la interacción entre estos factores ( $F_{2,144}=6.44$ ,  $P=0.002$ , Figura 6, Cuadro 6). Los resultados demuestran que en plantas en donde se simula bajo nivel robo de néctar, ambos morfos producen números de semillas similares. Sin embargo, el éxito reproductivo comienza a disminuir ante intensidades medias y altas de robo de néctar en ambos morfos, aunque los efectos son mayores en flores del morfo thrum.

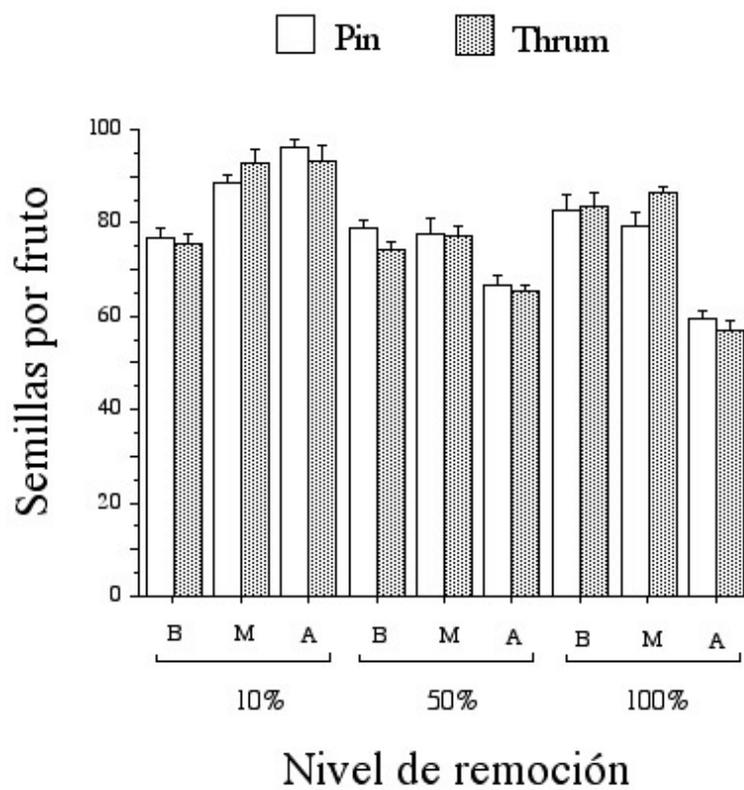


Figura 5. Número de semillas obtenidas en flores con una intensidad baja (B), media (M) y alta (A) de polinización, en plantas sometidas a distintos niveles de remoción de néctar.

Cuadro 5. Número de semillas obtenidas por la interacción entre planta-polinizador-robador (ANDEVA de 3 factores).

Fuente de variación	g.l.	<i>F</i>	<i>P</i>
Morfo	1	0.014	0.905
Nivel de remoción	2	63.321	<b>0.0001</b>
Intensidad de polinización	2	109.749	<b>0.0001</b>
Morfo × Nivel de remoción	2	0.872	<b>0.422</b>
Nivel de remoción × intensidad de polinización	2	2.939	<b>0.059</b>
Morfo × Intensidad de polinización	4	6.488	<b>0.0002</b>
Morfo × Nivel de remoción × Intensidad de polinización	4	0.502	0.734
Error	72		

Cuadro 6 Número de semillas obtenidas dependientes de morfo y tipo de remoción (ANDEVA de 2 factores).

Fuente de variación	g.l.	<i>F</i>	<i>P</i>
Morfo	1	18.307	<b>0.0001</b>
Tipo de remoción	2	65.228	<b>0.0001</b>
Morfo × Tipo de remoción	2	6.261	<b>0.002</b>
Error	144		

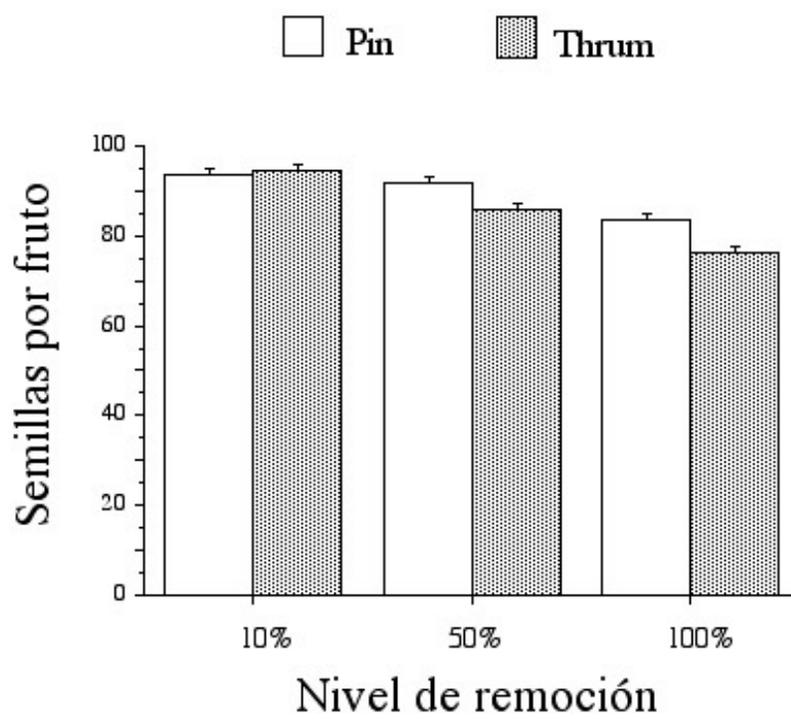


Figura 6. Número de semillas obtenidas por tratamiento de remoción de néctar.

## 6. DISCUSIÓN

En una revisión realizada por Maloof & Inouye (2000), se ha planteado que los robadores de néctar pueden provocar diversas respuestas conductuales en los polinizadores, que incluyen cambios en las distancias de vuelos entre plantas, el número de flores visitadas y los tiempos invertidos en las flores visitadas. Estas respuestas pueden influir la adecuación de las plantas y pueden tener una significativa consecuencia ecológica (Miller & Travis 1996). En un trabajo simulando el robo de néctar por ácaros florales, Lara & Ornelas (2001b) demostraron que los colibríes pueden cambiar sus patrones de visita a las flores robadas. En nuestro estudio, hemos demostrado que la simulación de robo de néctar en flores de *Bouvardia* influye fuertemente la conducta de los colibríes visitantes, lo cual afecta directamente la adecuación de las plantas robadas.

### **Respuestas de los colibríes a la disminución de néctar**

Se ha demostrado que los polinizadores disminuyen la frecuencia y duración de sus visitas a las flores que presentan menos néctar, y que estos cambios conductuales afectan negativamente la adecuación de las plantas (Schmid-Hempel 1985, Thompson 1988, Irwin & Brody 1999; 2000, Plowright *et al.* 1999, Robertson *et al.* 1999, González-Gómez & Valdivia 2005). En nuestro estudio, los colibríes reducen el número de flores visitadas en cada arribo, bajo condiciones de una alta remoción de néctar. Esto sugiere que los robadores en *Bouvardia* pueden jugar un papel negativo en la interacción entre esta planta y sus visitantes al alterar la conducta de su principal polinizador.

Las plantas de ambos morfos recibieron números similares de colibríes visitantes, aunque las flores de las plantas del morfo thrum fueron más visitadas que las del morfo pin. Sin embargo, las plantas de ambos morfos sometidas a niveles altos de remoción recibieron un menor número de flores visitadas. Esto significa que los colibríes responden negativamente al robo intenso de néctar, pero que la respuesta es diferencial con respecto al morfo floral afectado. Asimismo, aunque existe la misma probabilidad de recibir una visita en ambos morfos, las plantas sometidas a niveles altos de robo son visitadas mucho después, es decir los colibríes tardan más en regresar a las plantas robadas. En este sentido, aunque ambos morfos parecen rellenar néctar con la misma intensidad después de una remoción, las flores del morfo pin con mayor intensidad de robo, rellenan menos volumen de néctar y con menor concentración de azúcar. Este hecho, puede sugerir que los colibríes realizan menos visitas a las flores del morfo pin, debido a que las flores de este morfo tienen menor capacidad para rellenar néctar ante condiciones de robo de néctar intenso.

La variación entre flores en el volumen de néctar puede incrementar o reducir el número de visitas a la planta (Feinsinger *et al.* 1985), pero esto no es independiente de la habilidad del polinizador para discriminar contra flores con un bajo volumen de néctar (Hainsworth *et al.* 1983, Rathcke 1992). Nosotros hemos demostrado que los colibríes responden a cambios en la disponibilidad de néctar de flores donde el consumo de néctar por robadores fue simulado. Los colibríes pueden determinar a través de señales visuales el estatus del néctar de las flores antes de visitarlas (Gass & Montgomerie 1981) y discriminar en contra de flores robadas (por ejemplo que presenten la señal de perforación, ver por ejemplo Irwin & Brody 1998). Sin embargo, nuestros datos muestran que los colibríes no identifican las plantas con remoción de néctar antes de visitarlas. Esto no es sorprendente dado que muchas investigaciones han

encontrado que las aves deben probar las flores o plantas antes de conocer el estatus de sus recompensas. Sin embargo, es interesante porque las aves siguen revisitando flores con bajos niveles de recompensa. Una posible explicación para este resultado es que resulta menos costoso energéticamente visitar flores en plantas de poco néctar, que volar a nuevas plantas que pueden incluso tener menos néctar. Investigaciones futuras son necesarias para evaluar las estrategias de las plantas en sus patrones de presentación de néctar. Esto puede dar luz sobre como la conducta de los colibríes (por ejemplo la intensidad con que se prueba una flor) influye la producción de néctar y la transmisión de polen, y en consecuencia la adecuación de las plantas.

### **Efecto del robo en la reproducción de *Bouvardia ternifolia***

La variación en el volumen de néctar entre flores ha sido utilizada para probar ideas acerca del comportamiento de forrajeo de los colibríes (por ejemplo Feinsinger 1985). Sin embargo, el efecto conjunto entre los patrones de producción de néctar, comportamiento del polinizador y el éxito reproductivo de las plantas, ha sido raramente examinado (Rathcke 1992). Nosotros encontramos que el éxito reproductivo de *Bouvardia ternifolia* aumenta con el incremento de la intensidad de polinización, sin embargo nuestra metodología de polinización ignoró el contexto total de la planta. Es cierto que las consecuencias de adecuación no son únicamente producto de la baja disponibilidad de néctar en flores individuales, lo cual afecta directamente la exportación e importación de polen de las flores afectadas, sino que la atracción de la planta total y la tendencia de los polinizadores a moverse entre flores en la planta puede tener un efecto importante.

Aunque en este estudio evaluamos sólo las consecuencias en la adecuación femenina, la variación del néctar entre flores y la conducta territorial (como la observada en

*Hylocharis leucotis* en el sitio de estudio), pueden incrementar la revisitación de flores, y restringir los movimientos de colibríes entre flores. Con esta reducción en el área de forrajeo, se puede llegar a una limitada transferencia de polen (Zimmerman 1988), lo cual puede afectar negativamente la adecuación masculina de la planta (Waser & Price 1983). Sabemos que la adecuación de las plantas depende tanto de la exportación como de la importación de polen del morfo recíproco de las plantas robadas, pero un incremento en la revisitación a flores del morfo thrum y su disminución en las flores del morfo pin, puede alterar los procesos de polinización.

Por último, la remoción de néctar puede ser energéticamente costosa para muchas plantas (Navarro 1999, Ordano & Ornelas 2005). Pyke (1991) mostró que la producción de semillas en *Blandfordia nobilis* (Liliaceae) fue reducida después de remover néctar de plantas polinizadas manualmente. Navarro (1999) demostró que la remoción experimental incrementa el volumen total del néctar producido por cada flor de *Macleania bullata* (Ericaceae) sin afectar la concentración de azúcar. La secreción adicional de néctar puede conllevar un costo energético que reduce la producción de semillas. En nuestro estudio, a pesar de que ambos morfos parecen reponer el néctar removido con igual intensidad, las flores sometidas a niveles intensos de remoción, en particular las del morfo pin, reducen la cantidad y calidad del néctar ofrecido a los visitantes. Estas diferencias pueden explicar la disminución en el número e flores visitadas y el incremento en los tiempos de arribo a las plantas de este morfo.

Concluimos que las altas tasas de robo de néctar en *Bouvardia* afectan el forrajeo de los colibríes, y que estas respuestas conductuales pueden tener efectos negativos en el éxito reproductivo de las plantas.

## 7. CONCLUSIONES

Basados en los resultados obtenidos podemos concluir:

1. Niveles altos de robo de néctar en *Bouvardia* se relacionan con una disminución en el número de flores visitadas por colibríes, particularmente a flores del morfo pin.
2. Esta disminución en la intensidad de forrajeo, parece estar relacionada con la capacidad diferencial de rellenado de néctar registrada entre morfos.
3. Las flores del morfo pin sometidas a altos niveles de robo, disminuyen la cantidad y calidad del néctar rellenado.
4. Plantas de ambos morfos sometidas a niveles altos de robo, son visitadas más tarde por colibríes (en el tiempo) que plantas con poco robo.
5. Flores con alto robo de néctar y nivel de polinización bajo, producen menos semillas.
6. El robo de néctar afecta los resultados de la interacción entre *Bouvardia* y sus colibríes visitantes.

## 8. REFERENCIAS

- Abacus Concepts, Inc. 1989. SUPERANOVA. Abacus Concepts, Inc., Berkeley, California, USA.
- Abacus Concepts Inc. 1996. STATVIEW Reference Abacus Concepts, Inc., Berkeley, California, USA.
- Arizmendi MC, Domínguez CA, Dirzo R 1996. The role of an avian nectar robber and of hummingbird pollinators on the reproduction of two plant species. *Functional Ecology* 10:119-127.
- Barrett SCH 1990. The evolution and adaptative significance of heterostyly. *TREE* 5: 144 – 148.
- Barrett SCH 1992. Heterostylous genetic polymorphisms: model system for evolutionary analysis. En: Barrett SCH (ed) *Evolution and function of heterostyly*. Springer, Wien New York. pp. 1 – 24.
- Bronstein JL 1994. Conditional outcomes in mutualistic interactions. *Trends in Ecology and Evolution* 9:214-217.
- Bronstein JL 2001. The exploitation of mutualisms. *Ecology Letters* 4:277-282.
- Colwell RK 1995. Effects of nectar consumption by the hummingbird flower mite *Proctolaelaps kirmsei* on nectar availability in *Hamelia patens*. 27:206-217.
- Colwell RK 2000. Rensch's rule crosses the line: convergent allometry of sexual size dimorphism in hummingbirds and flower mites. *American Naturalist* 156:495-510.
- Colwell RK, Naeem S 1994. Life-history patterns of hummingbird flower mites in relation to host phenology and morphology. En: *Mites: ecological and evolutionary history patterns* (ed, Houck MA), Chapman & Hall, New York. Pp. 23-44.

- Cruden W, Hermann SM, Peterson S 1983. Patterns of nectar production and plant-animal coevolution. En: The biology of nectaries, (eds., B. Bentley y T. Elias). Columbia University Press, New York, New York, USA. Pp. 126-152.
- Darwin C 1877, The different forms of flowers on plants of the same species. Murray, London.
- Faivre AE 2000. Ontogenetic differences in heterostylous plants and implications for development from a herkogamous ancestor. *Evolution*. 54:847-858.
- Feinsinger P, Swarm LA, Wolfe JA 1985. Nectarfeeding birds on Trinidad and Tobago: comparison of diverse and depauperate guilds. *Ecol. Monogr.* 55:1-28.
- Ganders FR 1979. The biology of heterostyly. *New Zealand J. Bot.* 17: 607 – 635.
- Gass CL, Montgomerie RD 1981. Hummingbird foraging behavior: decision making and energy regulation. En: Foraging behavior: ecological, ethological, and psychological approaches A. C. Kamil & T D. Sargent, editors. Garland Press, New York, New York, USA. Pp. 159-164
- González-Gómez PL, Valdivia CE 2005. Direct and indirect effects of nectar robbing on the pollinating behavior of *Patagona gigas*(Trochilidae). *Biotropica* 693-696.
- Hainsworth FR, Mercier T, Wolf LL 1983. Floral arrangements and hummingbird feeding. *Oecologia* 58:225-229.
- Irwin RE, Brody AK 1998. Nectar robbing in *Ipomopsis aggregata*: effects on pollinator behavior and plant fitness. *Oecologia* 116:519-527.
- Irwin RE, Brody AK 1999. Nectar-robbing bumblebees reduce the fitness of *Ipomopsis aggregata* (Polemoniaceae). *Ecology* 80: 1703-1712.
- Irwin RE, Brody AK 2000. Consequences of nectar robbing for realized male function in a hummingbird-pollinated plant. *Ecology* 81: 2637-2643.
- Irwin RE, Maloof JE 2002. Variation in nectar robbing over time, space and species.

- Oecologia 133:525–533.
- Kearns, C. N. & D.W. Inouye, 1993. Techniques for pollination biologists. University Press of Colorado, Niwot.
- Lara C, Ornelas JF. 2001a. Preferential nectar robbing of flowers with long corollas: experimental studies of two hummingbirds visiting three plant species. Oecologia 128:263-273.
- Lara C, Ornelas JF. 2001b. Nectar “theft” by hummingbird flowers mites and its consequences for seed set in *Moussonia deppeana*. Functional Ecology 15:78-84.
- Lara C, Ornelas JF 2002. Effects of nectar theft by flower mites on hummingbird behavior and the reproductive success of their host plant, *Moussonia deppeana* (Gesneriaceae). Oikos 96:470-480
- Lara C, Ornelas JF 2003. Flower mites and nectar production in six hummingbird-pollinated plants with contrasting flower longevities. Canadian Journal of Botany 80:1216-1229.
- Lara C 2006. Temporal dynamics of flower use by hummingbirds in a highland temperate forest in México. Ecoscience 13:23-29.
- McDade LA, Kinsman S 1980. The impact of floral parasitism in two neotropical hummingbird-pollinated plant species. Evolution 34:954-958.
- Miller, T E., and J. Travis. 1996. The evolutionary role of indirect effects in communities. Ecology 77:1329-1335.
- Maloof JE, Inouye DW 2000. Are nectar robbers cheaters or mutualists? Ecology 81, 2651–2661.
- Muenchow G 1986. Ecological use of failure time analysis. Ecology 67: 246–250
- Navarro L 1999. Pollination ecology and effect of nectar removal in *Maclenia bullata* (Ericaceae). Biotropica 31:618-625.

- Ordano M, Ornelas JF 2005. The cost of nectar replenishment in two epiphytic bromeliads. *Journal of Tropical Ecology* 21:541-547.
- Pacioreck CB, Moyer R, Levin R, Halpen S 1995. Pollen consumption by the hummingbird flower mite *Proctolaelaps kirmsei* and possible fitness effects on *Hamelia patens*. *Biotropica* 27:258-262.
- Parker MA 1995. Plant fitness variation caused by different mutualist genotypes. *Ecology* 76:1525-1535.
- Plowright CMS, Cohen-Salmon D, Landry F, Simonds V 1999. Foraging for nectar and pollen on thistle flowers (*Cirsium vulgare*) and artificial flowers: how bumblebees (*Bombus impatiens*) respond to colony requirements. *Behaviour* 136: 951-963.
- Pyke, G. H. 1991. What does it cost a plant to produce floral nectar? *Nature* 350:58-59.
- Rathcke BJ 1992. Nectar distributions, pollinator behavior and plant reproductive success. In: *Effects of resource distribution on animal/plant interactions*. Hunter MD, Ohguishi T & Price PW (eds), Academic Press. Pp. 113-138.
- Robertson AW, Mountjoy C, Faulkner BE 1999. Bumblebee selection of *Mimulus guttatus* flowers: the effects of pollen quality and reward depletion. *Ecology* 80: 2594-2606.
- Simpson BB, Neff JL 1983. Evolution and diversity of floral rewards. In *Handbook of Experimental pollination biology* (eds) Jones CE & Little RJ. New York: Van Nostrand, Reinhold. Pp 142-159.
- Schmid-Hempel, P 1985. The influence of reward sequence on flight directionality in bees. *Anim. Behav.* 34: 831-837.
- Thomson, JD 1988. Effects of variation in inflorescence size and floral rewards on the visitation rates of traplining pollinators of *Aralia hispida*. *Evol. Ecol.* 2: 65-76.

Waser, NM, Price MV 1983. Optimal and actual outcrossing, and the nature of plant-animal interactions. En: Handbook of experimental pollination biology. Jones CE & Little R (eds). Van Nostrand-Reinhold. Pp. 341-359.

Zar JH 1999. Biostatistical Analysis. Fourth Edition. Prentice Hall, Inc.

Zimmerman, M. 1988. Pollination biology of montane plants: Relationship between rate of nectar production and standing crop. *Am.Midland Nat.* 120:50-57.