



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE ECOLOGÍA

**Integración floral fenotípica en
plantas con sistemas de polinización
especializados**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGÍA AMBIENTAL)**

P R E S E N T A

VIOLETA MÉNDEZ SOLÍS

DIRECTOR DE TESIS:
DR. CÉSAR AUGUSTO DOMÍNGUEZ PÉREZ-TEJADA

COMITÉ TUTOR:
DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
DRA. MARTHA JUANA MARTÍNEZ GORDILLO

MÉXICO, D.F.

JUNIO, 2011



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.

AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por la beca otorgada con número de registro 262083 para realizar los estudios de maestría.

A mi director de tesis, el Dr. César Domínguez Pérez Tejada, y a los miembros del Comité Tutoral, la Dra. María del Coro Arizmendi y a la Dra. Martha Juana Martínez Gordillo por su paciencia y apoyo que me brindaron durante la realización de este trabajo.

*Dedico el esfuerzo de esta tesis
a mi mamá y a mi hermano Andrés
con todo mi cariño
por el camino andado
y por todo lo que nos falta por recorrer
Los quiero mucho!*

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A mi tutor, el Dr. César Domínguez, por darme la oportunidad de conocer y fascinarme con el mundo de la Ecología de la Polinización. He aprendido mucho de ti. Gracias por hacer de esta Taxónoma una Ecóloga y Bióloga Evolutiva.

A la Dra. Martha Martínez Gordillo, por todo tu apoyo con el que sé que siempre puedo contar, significa mucho para mí. Ha sido un enorme gusto seguir trabajando contigo y espero que continuemos por mucho tiempo.

A la Dra. María del Coro Arizmendi, por toda su ayuda, recomendaciones y disposición durante el proceso de la maestría. Gracias por sus sugerencias que me permitieron enriquecer la discusión de esta tesis.

Al personal de la Estación Científica Las Joyas, por todo el apoyo que me dieron durante la realización del trabajo de campo.

A mis ayudantes de campo Laura y Violeta, y a las alumnas de la Dra. Coro Elisa y Violeta, sin ustedes no hubiera disfrutado tanto mi estancia en Las Joyas.

A los miembros del laboratorio de interacción planta-animal:

Al Dr. Juan Fornoni, por las sugerencias que le dieron un giro importante a este trabajo y por su paciencia para responder a mis preguntas.

Al M. en C. Rubén Pérez por su apoyo durante el trabajo de campo y laboratorio. Gracias por todo Rubik.

A Paula Sosenski, por ser una parte importante en este trabajo. Gracias por enseñarme tanto como Bióloga y como amiga.

A mis compañeritas de cubil: Jessi, Fer, Lluvis, Lis, Karlita y Cori. Gracias porque encontré en ustedes a grandes amigas.

A Luz, Verito, Sofi, Blanca, Nora, Betza, Anguie, Etzel, Carlitos, Sergio, Miguel y Diego por siempre estar dispuestos a ayudarme.

INDICE

IINTRODUCCIÓN.....	1
Integración floral fenotípica. La influencia de los polinizadores sobre los atributos florales.....	4
El género <i>Salvia</i>	9
OBJETIVOS.....	15
MÉTODOS.....	15
Zona de estudio.....	15
Especies estudiadas.....	16
Frecuencia de visita de polinizadores.....	17
Morfología floral.....	18
Medición del éxito reproductivo.....	19
Análisis de los datos.....	19
Magnitud de la integración.....	19
Patrón de la integración.....	20
Análisis de selección multinivel.....	21
RESULTADOS.....	22
Frecuencia de visita de polinizadores.....	22
Magnitud de la integración.....	23
Patrón de la integración.....	26
Análisis de selección multinivel.....	27
DISCUSIÓN.....	28
CONCLUSIONES.....	34
LITERATURA CITADA.....	35
ANEXO 1.....	41

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismos de polinización. A. Planta del género *Helianthus*, la cual presenta un mecanismo generalizado de polinización. B. Planta del género *Salvia* cuyo mecanismo especializado de palanca de los estambres se ha descrito ampliamente.....3

Figura 2. Elementos de la integración floral fenotípica. a) Se muestran dos poblaciones con un patrón de correlación entre atributos diferente, pero igual magnitud de integración. b) Se presentan dos poblaciones con el mismo patrón de correlación pero diferente intensidad. El grosor de las líneas indica la intensidad de la correlación.....5

Figura 3. Efecto de la intensidad de las covarianzas genéticas sobre la dirección del cambio evolutivo en dos caracteres (Z_1 y Z_2). La flecha sólida indica el camino que sigue la población a través de las generaciones a lo largo del paisaje adaptativo hacia el óptimo. (a) En ocasiones, las covarianzas son tan intensas que el pico adaptativo nunca se alcanza, puesto que la dirección del cambio evolutivo (indicada por g_{max}) es diferente de la que seguiría la selección (β_0) hasta llegar al óptimo. (b) Escenario con más de un pico adaptativo, en donde la intensidad de las covarianzas incluso puede alejar a la población del pico adaptativo más cercano hacia uno distante.....7

Figura 4. Corte longitudinal de la flor de *Salvia pratensis*. Abreviaturas: c, cáliz; f, filamento; fl, doblez del labio inferior; fu, doblez del labio superior; ll, lóbulo lateral del labio inferior; md, lóbulo medio del labio inferior; nd, glándula de néctar; o, ovario; st, estaminodio; sla, balancín (porción inferior del conectivo alargado); sti, estigma; sty, estilo; t, teca; ul, labio superior; ula, porción superior del conectivo alargado), vl, haz vascular del estambre fértil; vu, haz vascular del estaminodio.....9

Figura 5. Mecanismo de palanca de los estambres de *Salvia*. (A) Estambres modificados en las flores del género. El tejido conectivo se alarga formando una estructura denominada balancín, que funciona como palanca. (B) En el momento en que el polinizador entra a la flor en busca de néctar, el balancín estorba en su camino, por lo que éste debe empujarlo para alcanzar la recompensa, provocando el descenso de las tecas, que adhieren el polen al dorso del polinizador. (C) Cuando el polinizador deja la flor, los estambres regresan a su posición original. Posteriormente, el polinizador se dirige a otra flor con su carga de polen en el dorso. (D) El polinizador se dirige a la siguiente flor que se encuentra en etapa femenina (el estigma presenta un tamaño mayor al de los estambres); debido a que el estilo se encuentra asociado a los estambres, cuando el polinizador acciona la palanca, el estigma desciende, entrando en contacto con el polen, y favoreciendo la fecundación.....10

Figura 6. Esquema que ilustra el ajuste morfológico preciso entre los caracteres de la flor de *Salvia pratensis* y su polinizador. Se observa a la abeja activando el mecanismo de palanca mientras succiona el néctar.....11

Figura 7. Variación morfológica entre síndromes de polinización en el género *Salvia*. A. *Salvia pratensis*. Flor melitófila caracterizada por un tubo de la corola corto, estambres insertos y corola azul. B. *Salvia iodantha Fernald*. Flor polinizada por insectos y aves. Presenta una morfología en probable transición de la melitofilia hacia la ornitofilia, con flores grandes, estambres exertos y corola anaranjada. C. *Salvia elegans*. Flor ornitófila que presenta el tubo de la corola alargado, estambres exertos y corola roja.....12

Figura 8. Variación morfológica entre especies ornitófilas del género *Salvia*. A. Flor que presenta el mecanismo de palanca clásico. El ave empuja el balancín, provocando el descenso de las tecas sobre la cabeza del polinizador. B. Flor con mecanismo de palanca inactivo y tecas exertas. El balancín se encuentra unido a la superficie superior del tubo de la corola, por lo que no hay posibilidad de movimiento del balancín. Las tecas entran en contacto directo con la cabeza del polinizador en el momento en que éste inserta su pico en busca del néctar.....13

Figura 9. Probables modificaciones morfológicas experimentadas por las flores del género *Salvia* durante la transición melitofilia-ornitofilia. A. Flor melitófila que presenta tubo de la corola corto, labio inferior grande y estambres insertos. B. Durante la transición el labio inferior de la corola se reduce, impidiendo el aterrizaje de las abejas, el tubo de la corola se alarga, haciendo inaccesible el néctar para los insectos y el balancín aumenta su tamaño, exponiendo las tecas. C. Flor ornitófila con el tubo de la corola alargado, el labio inferior reducido y las tecas exertas.....14

Figura 10. Ubicación de la Reserva de la Biosfera Sierra de Manantlán y la Estación Científica las Joyas.....16

Figura 11. Reserva de la Biósfera Sierra de Manantlán.....16

Figura 12. Especies del género *Salvia* incluidas en el estudio. A. *Salvia iodantha* Fernald (especie ornitófila). B. *Salvia mexicana* L. (especie melitófila y ornitófila).C. *Salvia longispicata* M. Martens & Galeotti (especie melitófila).....17

Figura 13. Flor bilabiada de *Salvia*. Las líneas indican las medidas que se tomaron en cuenta para el estudio. (a) Longitud total de la flor, (b) longitud del labio inferior, (c) longitud del tubo de la corola, (d) ancho del tubo de la corola, (e) longitud total del estilo, (f) longitud del balancín, (g) longitud de la apertura de la flor (garganta) al gineceo, (h) longitud teca-balancín.....19

Figura 14. Frecuencia de visita de insectos del género *Bombus* y de colibríes a tres especies de *Salvia*.....23

Figura 15. Índices de integración por especie (ocho atributos).....26

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Polinizadores registrados en las tres especies de estudio.....23

Tabla 2. Resultados del análisis de componentes principales (ACP) utilizando la matriz de correlaciones de ocho atributos florales medidos en *Salvia iodantha* (especie ornitófila). Se presentan las cargas de los ocho componentes principales (PCs).....24

Tabla 3. Resultados del análisis de componentes principales (ACP) utilizando la matriz de correlaciones de ocho atributos florales medidos en *Salvia mexicana* (especie melitófila y ornitófila). Se presentan las cargas de los ocho componentes principales (PCs).....25

Tabla 4. Resultados del análisis de componentes principales (ACP) utilizando la matriz de correlaciones de ocho atributos florales medidos en *Salvia longispicata* (especie melitófila). Se presentan las cargas de los ocho componentes principales (PCs).....25

Tabla 5. Índices de integración (medias INT) estimados para las tres especies de *Salvia* con diferentes síndromes de polinización.....26

ANEXO 1

Tabla 1. Atributos florales de tres especies de *Salvia* con diferentes síndromes de polinización. Se presenta la media y la desviación estándar de cada atributo por especie.....41

Tabla 2. Resultados de las pruebas univariadas del MANOVA. Se muestran las correlaciones significativas entre ocho atributos florales medidos en las tres especies de *Salvia* con diferentes síndromes de polinización.....42

Tabla 3. Gradientes de selección en *Salvia iodantha* obtenidos a partir del modelo de regresión múltiple, indicando selección direccional sobre caracteres individuales.....43

Tabla 4. Gradientes de selección en *Salvia iodantha* obtenidos a partir del modelo de regresión múltiple, indicando selección direccional sobre los componentes principales.....43

Tabla 5. Variación entre individuos de tres especies de *Salvia* con diferentes síndromes de polinización. Se presentan los coeficientes de variación de cada atributo por especie.....44

Tabla 6. Variación entre las tres especies de *Salvia* con diferentes síndromes de polinización incluidas en el estudio. Se presentan los coeficientes de variación de cada atributo por especie.....44

Tabla 7. Variación en la adecuación (W) entre individuos de tres especies de *Salvia* con diferentes síndromes de polinización. Se presenta la media y los coeficientes de variación de la adecuación por especie.....44

RESUMEN

La integración floral fenotípica se refiere la estructura definida de varianza/covarianza entre los caracteres florales. La integración tiene dos componentes: la magnitud o intensidad (que se mide con el índice de integración fenotípica INT) y el patrón (la estructura de la matriz de varianza/covarianza). En las plantas que presentan sistemas de polinización especializados la selección natural debería favorecer asociaciones estrechas entre atributos florales y polinizadores (altos niveles de INT), debido a las presiones de selección ejercidas por un polinizador determinado. En contraste, las plantas con sistemas generalistas de polinización, en donde la relación flor-polinizador no es tan específica, deberían tener valores relativamente menores. Las flores del género *Salvia* cuentan con estructuras altamente modificadas que permiten la transferencia de polen, y se identifican claras diferencias morfológicas entre síndromes de polinización. En el género se observan especies polinizadas por aves, insectos y algunas que son polinizadas por ambos grupos. En el estudio se determinaron los niveles de integración floral fenotípica de tres especies: *Salvia iodantha* (ornitófila), *Salvia longispicata* (melitófila) y *Salvia mexicana* (melitófila y ornitófila). Se midieron ocho caracteres de 5800 flores (60 individuos por especie). Se obtuvo el INT, a partir de la varianza de los autovalores y las matrices de varianza/covarianza por especie. Además se analizó si la selección natural actúa sobre los caracteres individuales, conjuntos de caracteres (integración intrafloral) y sobre los índices de integración (integración floral total). Las flores de las especies de *Salvia* incluidas en este trabajo no presentan altos índices de integración floral. La especie ornitófila presenta el INT más alto. *Salvia mexicana* casi no difiere en sus niveles de integración con respecto a *Salvia iodantha*, lo que sugiere que la morfología floral se modifica para permitir la visita de las aves. Se observa que hay diferencias tanto en el patrón como en la magnitud de la integración en las tres especies. Probablemente las modificaciones morfológicas experimentadas por los atributos asociados al síndrome de polinización en las tres especies de *Salvia* incluidas en este trabajo implican un cambio en el patrón y la intensidad de la integración floral fenotípica. No se observó la acción de la selección natural sobre los tres niveles estimados para *Salvia mexicana*, por lo que no hay evidencia suficiente para determinar que los colibríes son el polinizador dominante. Al parecer, la selección natural no favorece la integración de la flor total, sino de combinaciones de caracteres específicos (integración intrafloral) que son los que propician la interacción entre la planta y el polinizador en *Salvia iodantha* y en *Salvia longispicata*. Es posible que la selección natural favorezca la integración intrafloral y que las correlaciones con otros atributos son el resultado de las restricciones propias de la matriz de varianza/covarianza.

Palabras clave: integración fenotípica, *Salvia*, síndromes de polinización, selección natural, matriz de varianza/covarianza.

ABSTRACT

Phenotypic integration represents an emergent property of the variance-covariance structure among of floral traits. Phenotypic integration has two elements: the magnitude (or intensity) (that is estimated using the variance among eigenvalues of the correlation matrix, INT) and the pattern of correlations among a set of traits. It has been proposed that phenotypic integration promotes an efficient transfer of pollen and should be higher among plants with specialized than generalized pollination systems. The genus *Salvia* has a wide diversity of pollination syndromes, with sophisticated morphological structures to promote efficient pollen transfer. Species are pollinated by birds or insects, but some species also share different pollinators. In the present study I described the pattern and the extent of phenotypic integration among floral traits, and performed phenotypic selection analyses using three species: *Salvia longispicata* (bee-pollinated), *Salvia iodantha* (bird-pollinated) and *Salvia mexicana* (bee-bird-pollinated). I measured eight traits of 5800 flowers (60 individuals per specie). The magnitude of phenotypic integration (INT) was calculated as the variance among the eigenvalues of the correlation matrix of floral traits. The pattern and strength of natural selection acting on individual traits, on subsets of traits (intrafloral integration) and on INTs (integration of the whole flower) was estimated using multiple regression analyses. Whereas all species present low levels of phenotypic integration, *Salvia iodantha* (bird-pollinated) presented the higher magnitude of phenotypic integration than *Salvia mexicana* and *S. longispicata*. Differences in the pattern of phenotypic integration among species was also detected. No evidence of selection acting on the integration index was detected but significant selection was observed favoring smaller combinations of floral traits (intra-floral integration) on *Salvia iodantha* and *Salvia longispicata*. No selection was detected acting on *Salvia mexicana*, nor on the other species on individual traits. Besides the differences detected in the magnitude and pattern of integration little evidence support the adaptive hypothesis that pollinators mediated selection acts on this complex trait. It is possible that natural selection acts on a subset of traits (intra-floral integration) that mediates the plant-animal interaction.

Key words: phenotypic integration, *Salvia*, pollination syndromes, natural selection, variance/covariance matrix.

INTRODUCCIÓN

Un mutualismo es la interacción en la que especies diferentes reciben un beneficio en adecuación (número de descendientes promedio por individuo que llegan a la edad reproductiva) como resultado del intercambio de bienes y servicios entre ambas partes (Begon *et al.*, 2006). Uno de los mutualismos más estudiados es la polinización biótica, el proceso de transferencia del polen de los estambres al estigma a través de diferentes grupos de animales (Richards, 1997). El éxito de la polinización biótica depende en gran medida de la capacidad de las plantas para atraer a sus visitantes, para lo cual las angiospermas han desarrollado un mosaico de adaptaciones florales que maximizan las tasas de transferencia de polen, aprovechando la habilidad de los polinizadores para detectar y explotar las recompensas que ofrecen las plantas (Darwin, 1877; Esau, 1993; Judd, 2005).

A partir del surgimiento de la flor en el Cretácico y después de millones de años de interacción, se observan una gran cantidad de formas, colores y aromas que resultan atractivos para los polinizadores (Esau, 1993; Judd, 2005; Herrera *et al.*, 2006). Asimismo, el arreglo de los atributos florales permiten el transporte efectivo del polen, de las anteras a una zona específica en el cuerpo del vector, y de éste al estigma de la siguiente flor; dicho proceso es diferente para cada especie de angiosperma y de polinizador (Merilä y Björklund, 2004). Se considera que los polinizadores son el principal agente selectivo de los atributos florales, restringiendo la llegada de ciertos animales y permitiendo sólo un grupo de visitantes florales (Darwin, 1862; Campbell *et al.*, 1997; Fenster, *et al.*, 2004; Merilä y Björklund, 2004; Armbruster y Muchhala, 2007). Como resultado, se observa un grupo de caracteres, incluyendo sus recompensas, relacionados con la atracción de un polinizador y la eficiencia en el proceso de transferencia de polen, a los que se les denomina “síndromes de polinización” (Fenster *et al.*, 2004; Armbruster y Muchhala, 2007).

Se ha propuesto que el visitante más frecuente y efectivo para transportar el polen será el que ejerza una fuerza selectiva mayor sobre el fenotipo floral (Faegri y van der Pijil, 1979; Campbell *et al.*, 1997; Fenster *et al.*, 2004; Morgan, 2006; Armbruster y Muchhala, 2007; Ollerton *et al.*, 2009). Por ejemplo, las flores de

especies polinizadas por aves (ornitófilas) presentan flores tubulares, grandes, de colores brillantes, principalmente rojo y anaranjado, y grandes cantidades de néctar diluido (Cronk y Ojeda, 2008), a diferencia de las flores frecuentadas por abejas (melitófilas), que se distinguen por sus flores pequeñas, a veces bilabiadas, de color azul o morado y poco néctar, pero muy concentrado (Faegri y van der Pijil, 1979; Wester y Claßen-Bockhoff, 2007). Por lo tanto, los síndromes de polinización implican un proceso de especialización, debido a que los atributos florales limitan las visitas a determinados polinizadores (Faegri y van der Pijil, 1979; Fenster *et al.*, 2004; Ollerton *et al.*, 2009).

No todas las angiospermas presentan síndromes de polinización específicos, pues la morfología de algunas especies les permite utilizar la mayoría de los polinizadores disponibles en el hábitat, es decir, presentan mecanismos generalizados de polinización (Waser *et al.*, 1996; Armbruster y Muchhala, 2007). Las plantas de la familia Asteraceae, como las del género *Helianthus* (girasol) son un ejemplo (figura 1A). Se considera que los mecanismos generalizados son menos “eficientes” que los mecanismos especializados, debido al gasto de polen que implica la producción continua de recompensa para una variedad de visitantes (Waser, 1996; Armbruster y Muchhala, 2007). En contraste, la selección natural en las plantas especializadas ha favorecido la modificación de su morfología floral, de tal forma que se promueve una eficiencia alta de transferencia de polen y una mínima pérdida de gametos (Waser, 1996; Armbruster y Muchhala, 2007). Como ejemplo se puede citar a las plantas del género *Salvia*, cuyo mecanismo de palanca permite la deposición efectiva del polen y al que se le atribuye la radiación adaptativa del grupo (Claßen-Bockhoff y Speck, 2002; Claßen-Bockhoff *et al.*, 2004). Dicho mecanismo se explicará en detalle más adelante (figura 1B).

A



B



Figura 1. Mecanismos de polinización. A. Planta del género *Helianthus*, la cual presenta un mecanismo generalizado de polinización (tomado de http://es.123rf.com/photo_5217235_mariposa-en-un-girasol.html). B. Planta del género *Salvia* cuyo mecanismo especializado de palanca de los estambres se ha descrito ampliamente (tomado de http://www.electasy.com/gallery_of_salvias/flower1.htm).

Por lo tanto, la selección natural debería favorecer un proceso de polinización efectivo que se tradujera en una mayor adecuación (Bronstein, 2001; Rathcke, 2003; Conner y Hartl, 2004). Dentro del grupo de los polinizadores algunos se consideran más “eficientes” que otros debido al gasto de recursos que representa para la planta la visita de ciertos animales (Castellanos *et al.*, 2004; Wester y Claßen-Bockhoff *et. al.*, 2007; Thomson y Wilson, 2008). En el caso de las abejas, su adecuación depende de la recolección de polen y néctar para alimentar a su progenie, es por ello que una mínima parte del polen transportado por estos insectos es transferido de una flor a otra. Por otro lado, cuando las aves visitan una flor centran su interés en el néctar, por lo que la pérdida de polen es menor y es por esa razón que posiblemente la ornitofilia (polinización por aves) implique un menor costo para las plantas que la melitofilia (polinización por abejas). Además, las aves en general viajan grandes distancias, favoreciendo el entrecruzamiento (Castellanos *et al.*, 2004; Wilson *et al.*, 2004; Wilson *et al.*, 2007; Thomson y Wilson, 2008). Armbruster y Muchhala (2007) propusieron que los miembros de algunos géneros han experimentado un cambio de polinizadores (del de menor al de mayor eficiencia), lo cual involucra modificaciones en los atributos florales. Dichas modificaciones, también denominadas “cambios cuantitativos”, ocurren a partir de cambios graduales en los caracteres (usualmente a través de la

herencia de genes cuantitativos) debidos a la frecuencia de visita de ciertas especies animales. Por ejemplo, el aumento en el tamaño del tubo de la corola disminuye la probabilidad de que un polinizador pequeño entre en contacto con el estigma y deposite el polen, en comparación con un polinizador grande (Wester y Claßen-Bockhoff, 2007; Armbruster y Muchhala, 2007; Thomson y Wilson, 2008).

Los cambios se producen paulatinamente, por lo que existe una fase intermedia en la cual tanto algunos de los antiguos como de los nuevos atributos están presentes, y es entonces cuando ambos polinizadores (los poco eficientes y los más eficientes) continúan visitando a las flores simultáneamente (Wester y Claßen-Bockhoff *et. al.*, 2007; Armbruster y Muchhala, 2007). Se puede decir entonces que la planta experimenta una transición “a favor” del polinizador que le reditúe más en su éxito reproductivo, pero en el proceso es capaz de atraer tanto a los visitantes florales anteriores como a los nuevos. Por ejemplo, algunas especies del género *Penstemon* que son polinizadas por colibríes, aún presentan a las abejas como copolinizadores y los análisis filogenéticos realizados en este género indican una transición en 21 casos hacia la ornitofilia (Castellanos *et al.*, 2004; Wilson *et al.*, 2004; Wilson *et al.*, 2007). Por lo tanto, el cambio de polinizador implica modificaciones en el arreglo de los atributos florales a largo plazo.

Integración floral fenotípica. La influencia de los polinizadores sobre los atributos florales.

La precisión en el proceso de transferencia de polen implica el ajuste morfológico entre los atributos florales y entre éstos y su polinizador. Tal ajuste está determinado por el grado de correlación que existe entre los caracteres de la flor asociados a la polinización y la forma en que están dispuestas tales correlaciones, dando lugar a un fenotipo integrado (Berg, 1960; Stebbins, 1970; Armbruster *et.al.*, 1999; Herrera, 2002; Armbruster *et al.*, 2004; Merilä y Björklund, 2004; Fornoni *et al.*, 2008; Ordano *et al.*, 2008; Fornoni *et al.*, 2009). Las correlaciones fenotípicas entre atributos se expresan en la matriz **P** de varianza/covarianza, es decir, una matriz cuadrada en donde los valores de la diagonal son las varianzas y los valores fuera de la

diagonal son las covarianzas fenotípicas entre los atributos (Sterns, 1992; Merilä J y Björklund M. 2004) Por lo tanto, la integración floral se expresa como la estructura definida de varianza/covarianza entre los caracteres florales (Pigliucci, 2003). Es decir, la selección debería favorecer las combinaciones de caracteres florales que incrementen el éxito reproductivo de la planta (Sterns, 1992; Williams, 1992; Conner y Hartl, 2004; Conner, 2006; Merilä y Björklund, 2004; Futuyma, 2005).

Para analizar la integración fenotípica se evalúan dos elementos: la magnitud (qué tan intensas son las correlaciones entre los caracteres) y el patrón de la integración (el arreglo de las correlaciones en la matriz de varianza/covarianza) (Wagner, 1984; Cheverud, 1989; Herrera *et al.*, 2002; Smith y Rausher, 2008) (Figura 2). Mientras que el patrón está definido por la matriz misma, la magnitud (INT) se mide a través de la varianza de los valores propios o autovalores de esa matriz expresado a través de un índice (Pigliucci, 2003). Las especies cuyos caracteres presenten covarianzas altas, presentarán una integración floral fenotípica alta.

a) Diferente patrón, pero igual intensidad de integración.



b) Diferente intensidad pero igual patrón de integración.



Figura 2. Elementos de la integración floral fenotípica. a) Se muestran dos poblaciones con un patrón de correlación entre atributos diferente, pero igual magnitud de integración. b) Se presentan dos poblaciones con el mismo patrón de correlación pero diferente intensidad. El grosor de las líneas indica la intensidad de la correlación (modificado de Fornoni *et al.*, 2008).

La integración fenotípica puede tener influencia en la dirección de la evolución de una población. La disposición de las correlaciones fenotípicas se refleja en los patrones de variación y covariación genética entre caracteres, los cuales están resumidos en la matriz de varianzas/covarianzas (**G**) (Merilä y Björklund, 2004; Kirkpatrick y Lovsvold, 1992; Schuller, 1993). Esta matriz es un elemento clave en el modelo del cambio evolutivo propuesto por Lande (1979):

$$\Delta Z = G\beta$$

en donde el cambio en el vector de caracteres (**Z**) está dado por la matriz de varianzas/covarianzas (**G**) y el vector de gradientes de selección (**β**, el efecto directo de un carácter sobre la adecuación, independiente del resto). El modelo muestra que dependiendo del valor de **β**, la respuesta al vector Δz puede resultar en direcciones muy diferentes de la dirección de **β**, que representa la menor distancia hacia el pico adaptativo (la combinación de caracteres a la cual la población alcanza su mayor adecuación). Esto se debe a que cuando las covarianzas genéticas se incrementan en magnitud, la respuesta a la selección está determinada principalmente por la dirección del autovector asociado con el autovalor de mayor magnitud (g_{max}), más que con la dirección del vector del gradiente de selección (Merilä y Björklund, 2004; Kirkpatrick y Lovsvold, 1992; Schuller, 1993). Esto es, si la dirección de **β** coincide con la de g_{max} , la evolución hacia el óptimo será rápida, ya que es la dirección con la mayor varianza genética. En contraste, si la dirección de **β** no coincide con la de g_{max} , en principio la trayectoria evolutiva hacia el pico adaptativo sigue la dirección que indica la línea de g_{max} . Entre mayor sea el ángulo entre la trayectoria mínima hacia el pico adaptativo y el eje de máxima variación, mayor será la resistencia de la matriz para alcanzar el óptimo (Schuller, 1993; Conner y Hartl, 2004). Eventualmente se alcanza el pico adaptativo, pero si las covarianzas genéticas son muy intensas, podría ocurrir que nunca se llegue a él (figura 3a). Incluso el patrón de las covarianzas genéticas pueden conducir a la población hacia un pico adaptativo más distante que se encuentre cercano de la línea de g_{max} (figura 3b) (Schuller, 1993; Conner y Hartl, 2004; Merilä y Björklund, 2004). Visto desde la distribución de los autovalores, la varianza genética

total es la suma de las varianzas de cada carácter. Si las covarianzas son altas, entonces el primer autovalor es mayor que los demás. Esto significa que los autovalores restantes serán mucho menores o incluso podrían ser iguales a cero. Por lo tanto, los autovectores más pequeños representan direcciones en donde no existe o hay muy poca varianza genética, y por lo tanto son trayectorias evolutivas restringidas para la población (Kirkpatrick y Lovsvold, 1992; Merilä y Björklund, 2004; Futuyma, 2005).

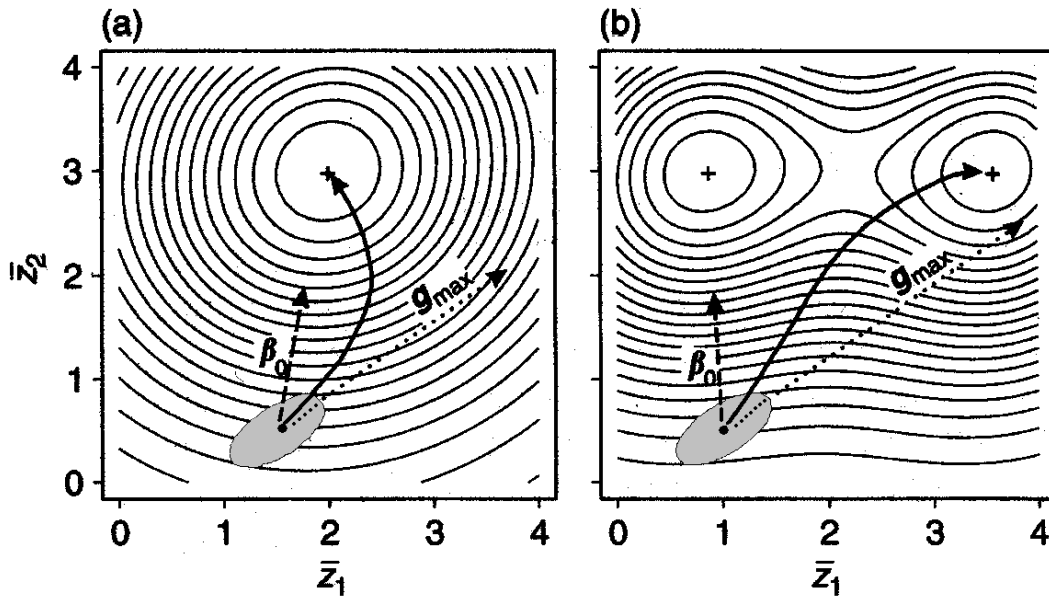


Figura 3. Efecto de la intensidad de las covarianzas genéticas sobre la dirección del cambio evolutivo en dos caracteres (Z_1 y Z_2). La flecha sólida indica el camino que sigue la población a través de las generaciones a lo largo del paisaje adaptativo hacia el óptimo. (a) En ocasiones, las covarianzas son tan intensas que el pico adaptativo nunca se alcanza, puesto que la dirección del cambio evolutivo (indicada por g_{max}) es diferente de la que seguiría la selección (β_0) hasta llegar al óptimo. (b) Escenario con más de un pico adaptativo, en donde la intensidad de las covarianzas incluso puede alejar a la población del pico adaptativo más cercano hacia uno distante (tomado de Merilä y Björklund, 2004).

La integración fenotípica puede representar también una adaptación, ya que un grupo de atributos pueden evolucionar en conjunto si las correlaciones entre ellos (expresadas en la matriz \mathbf{G}), están directamente relacionadas con su adecuación. La covarianza entre caracteres se debe generalmente a que éstos realizan una función en común y están sometidos a los mismos controles ontogenéticos. De esta manera, la selección natural promueve un determinado patrón de covariación entre atributos

sobre otros posibles (Sterns, 1992; Kirkpatrick y Lovsvold, 1992; Schulter, 1993; Merilä y Björklund, 2004). Entonces, la integración puede representar tanto una adaptación como una restricción, ya que si los organismos tienen la variabilidad genética suficiente, pueden adaptarse a las condiciones del ambiente en el que se establecen, sin embargo, el tipo de adaptación que se desarrolle estará restringido en cierto grado debido a la historia genética, ontogenética y evolutiva de cada individuo (Merilä y Björklund, 2004).

Recientemente se registró que la selección natural no ha favorecido la integración de los caracteres de la flor completa, sino que solamente tiene efecto sobre ciertas combinaciones de caracteres, lo que se ha llamado integración intrafloral. Por lo que, probablemente son sólo un grupo de atributos florales los que determinan la interacción con los polinizadores (Herrera, 2002; Fornoni *et al.*, 2008; Ordano *et al.*, 2008; Fornoni *et al.*, 2009).

En las plantas generalistas se espera que la selección natural no sea muy intensa sobre los atributos florales debido a que la relación flor-polinizador no es específica y en consecuencia los niveles de integración son bajos. Por el contrario, en una planta con un sistema especializado de polinización, la selección natural debería favorecer asociaciones estrechas entre atributos florales y polinizadores (altos niveles de INT) debido a la alta especificidad entre ambos (Berg, 1960). Asimismo, una planta que se encuentre en transición hacia otro síndrome de polinización debería presentar una integración fenotípica menor que aquellas plantas que tienen un síndrome definido, ya que la selección natural no debería promover correlaciones estrechas entre los atributos florales de una planta que no está especializada en la visita de un solo tipo de polinizador, es decir, que aún es visitada tanto por polinizadores efectivos como por no efectivos (Merilä y Björklund, 2004; Castellanos *et al.*, 2004; Campbell, 2009; Wilson *et al.*, 2007). En consecuencia, en una especie que está cambiando de polinizadores podemos observar que la integración fenotípica floral puede modificarse a lo largo del tiempo por el efecto de la selección natural ejercida por los polinizadores, dentro de los límites determinados por la arquitectura genética propia del organismo (Kirkpatrick y Lovsvold, 1992; Schulter, 1993; Merilä y Björklund, 2004).

A pesar de su importancia, estas hipótesis han sido evaluadas en muy pocas ocasiones (Ordano, *et al.*, 2008), y nunca en una especie que se encuentra en un probable proceso de transición de síndrome de polinización.

El género *Salvia*

El género *Salvia* representa un sistema ideal para el estudio de la integración floral, debido a la presencia de estructuras florales muy especializadas (figura 4). Varias especies de este género presentan un mecanismo de palanca que se describe en la figura 5.

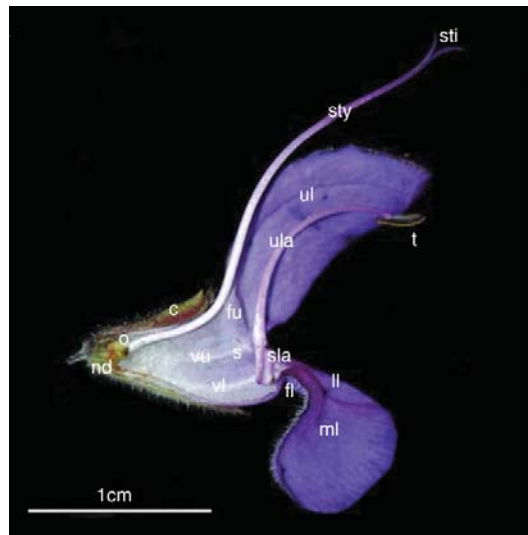


Figura 4. Corte longitudinal de la flor de *Salvia pratensis*. Abreviaturas: c, cáliz; f, filamento; fl, doblez del labio inferior; fu, doblez del labio superior; ll, lóbulo lateral del labio inferior; md, lóbulo medio del labio inferior; nd, glándula de néctar; o, ovario; st, estaminodio; sla, balancín (porción inferior del conectivo alargado); sti, estigma; sty, estilo; t, teca; ul, labio superior; ula, porción superior del conectivo alargado), vl, haz vascular del estambre fértil; vu, haz vascular del estaminodio (tomado de Reith *et al.*, 2007).

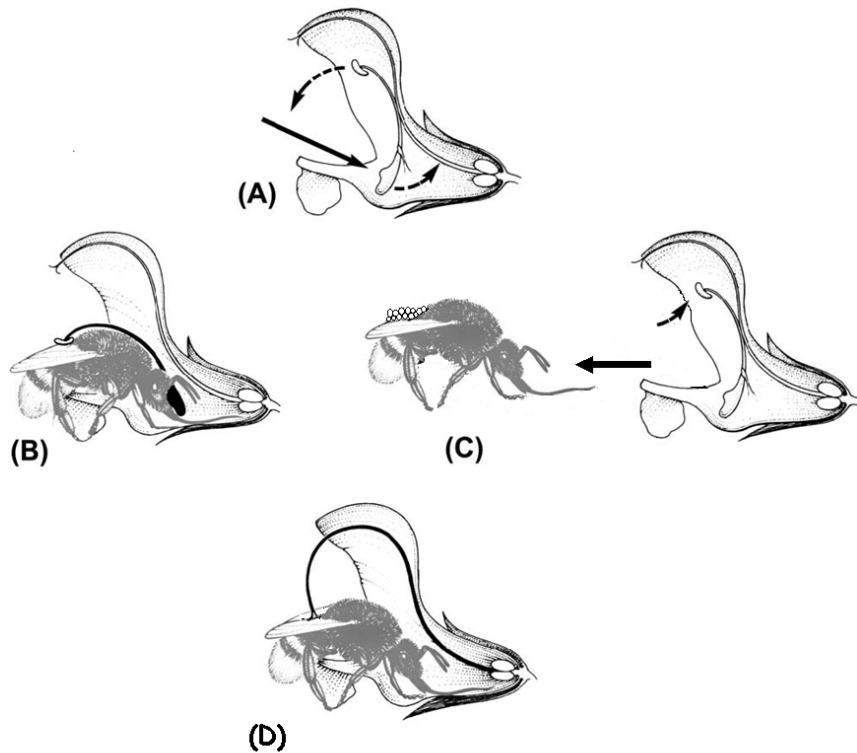


Figura 5. Mecanismo de palanca de los estambres de *Salvia*. (A) Estambres modificados en las flores del género. El tejido conectivo se alarga formando una estructura denominada balancín, que funciona como palanca. (B) En el momento en que el polinizador entra a la flor en busca de néctar, el balancín estorba en su camino, por lo que éste debe empujarlo para alcanzar la recompensa, provocando el descenso de las tecas, que adhieren el polen al dorso del polinizador. (C) Cuando el polinizador deja la flor, los estambres regresan a su posición original. Posteriormente, el polinizador se dirige a otra flor con su carga de polen en el dorso. (D) El polinizador se dirige a la siguiente flor que se encuentra en etapa femenina (el estigma presenta un tamaño mayor al de los estambres); debido a que el estilo se encuentra asociado a los estambres, cuando el polinizador acciona la palanca, el estigma desciende, entrando en contacto con el polen, y favoreciendo la fecundación (modificado de Claßen-Bockhoff *et al.*, 2004).

Dependiendo de qué tan precisa sea la deposición de polen a través del mecanismo de palanca y del ajuste morfológico entre los atributos florales y los caracteres de los polinizadores, cada especie de *Salvia* depositará su polen en una o más zonas específicas del cuerpo del polinizador, permitiendo una estrecha relación entre la flor y su vector (figura 6) (Claßen-Bockhoff *et al.*, 2004; Reith *et al.*, 2007).



Figura 6. Esquema que ilustra el ajuste morfológico preciso entre los caracteres de la flor de *Salvia pratensis* y su polinizador. Se observa a la abeja activando el mecanismo de palanca mientras succiona el néctar (tomado de Reith *et al.*, 2007).

Las plantas del género *Salvia* son polinizadas por himenópteros y aves (en su mayoría miembros de la familia Trochilidae (colibríes)) principalmente (Claßen-Bockhoff y Speck, 2002). En general, se identifica una clara diferencia morfológica entre las especies ornitófilas (corola roja, tubo largo, estambres exertos) y melitófilas (corola azul o morada, tubo corto, estambres insertos en el labio superior), aunque también se pueden encontrar especies que comparten ambos sistemas de polinización, cuyos caracteres presentan variaciones a los patrones mencionados. Por ejemplo, se observan flores con tubo de la corola corto y estambres exertos (figura 7) (Wester y Claßen-Bockhoff, 2007).

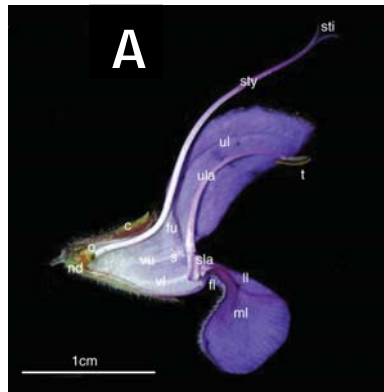


Figura 7. Variación morfológica entre síndromes de polinización en el género *Salvia*. A. *Salvia pratensis*. Flor melitófila caracterizada por un tubo de la corola corto, estambres insertos y corola azul. B. *Salvia iodantha* Fernald. Flor polinizada por insectos y aves. Presenta una morfología en probable transición de la melitofilia hacia la ornitofilia, con flores grandes, estambres exertos y corola anaranjada. C. *Salvia elegans*. Flor ornitófila que presenta el tubo de la corola alargado, estambres exertos y corola roja (modificado de Wester y Claßen-Bockhoff *et al.*, 2007).

En las especies ornitófilas del género se han registrado dos formas de deposición de polen (figura 8), dicha variación se ha relacionado con un proceso de especialización de las especies melitófilas (con las tecas escondidas en el labios superior y mecanismo de palanca activo) hacia las flores de especies ornitófilas (con tecas exertas y balancín inactivo) como respuesta adaptativa a las características de tamaño y forma de los colibríes (Wester y Claßen-Bockhoff *et al.*, 2007). Asimismo, se ha sugerido que las especies que presentan flores grandes con balancín funcional se encuentran en un estado de posible transición hacia la ornitofilia, observándose que son polinizadas por ambos grupos (Wester y Claßen-Bockhoff, 2007).

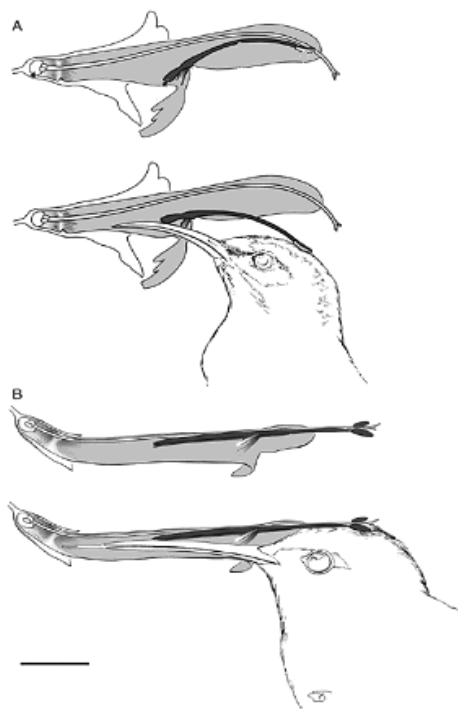
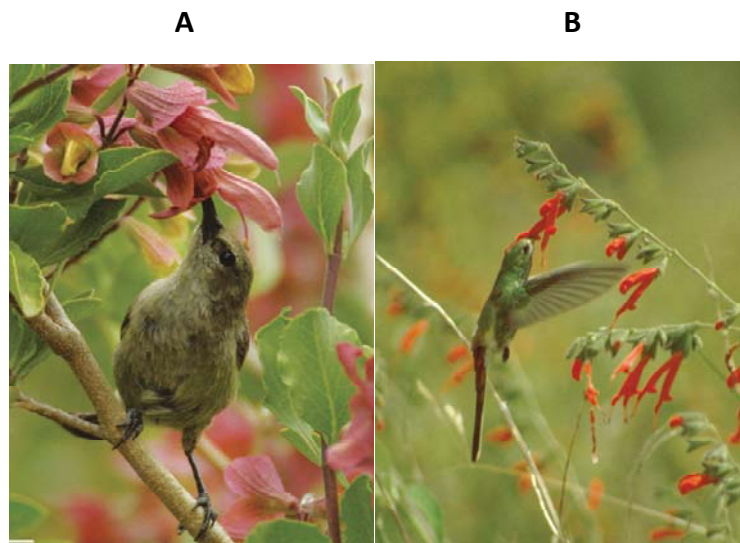


Figura 8. Variación morfológica entre especies ornitófilas del género *Salvia*. A. Flor que presenta el mecanismo de palanca clásico. El ave empuja el balancín, provocando el descenso de las tecas sobre la cabeza del polinizador. B. Flor con mecanismo de palanca inactivo y tecas exertas. El balancín se encuentra unido a la superficie superior del tubo de la corola, por lo que no hay posibilidad de movimiento del balancín. Las tecas entran en contacto directo con la cabeza del polinizador en el momento en que éste inserta su pico en busca del néctar (modificado de Wester y Claßen-Bockhoff *et al.*, 2007).

Durante la transición de la melitofilia hacia la ornitofilia las flores deben experimentar cambios fenotípicos como resultado de la presión de selección ejercida por las aves (figura 9). Estas modificaciones morfológicas favorecen el ajuste morfológico entre las flores y un polinizador muy efectivo (Wester y Claßen-Bockhoff, 2007).

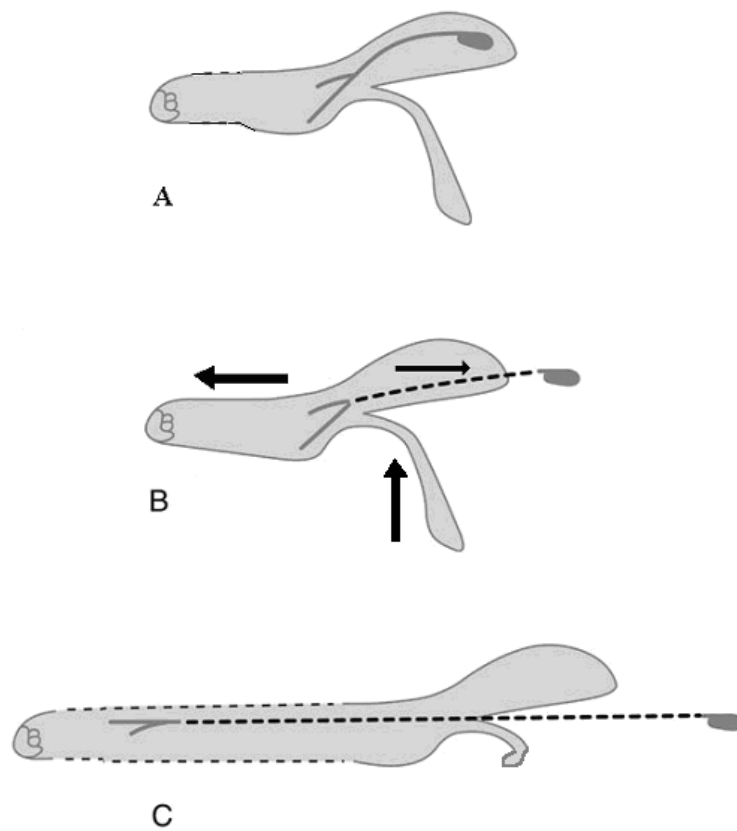


Figura 9. Probables modificaciones morfológicas experimentadas por las flores del género *Salvia* durante la transición melitofilia-ornitofilia. A. Flor melitófila que presenta tubo de la corola corto, labio inferior grande y estambres insertos. B. Durante la transición el labio inferior de la corola se reduce, impidiendo el aterrizaje de las abejas, el tubo de la corola se alarga, haciendo inaccesible el néctar para los insectos y el balancín aumenta su tamaño, exponiendo las tecas. C. Flor ornitófila con el tubo de la corola alargado, el labio inferior reducido y las tecas exertas (modificado de Wester y Claßen-Bockhoff *et al.*, 2007).

En este trabajo se pone a prueba la siguiente hipótesis:

Si las especies de *Salvia* que presentan un determinado síndrome de polinización muestran un ajuste morfológico preciso entre las diferentes partes de la flor y entre ésta y la morfología de los polinizadores (Berg, 1960; Reith *et al.*, 2007; Wester y Claßen-Bockhoff *et al.*, 2007), entonces las especies del género que son polinizadas solamente por abejas ó colibríes presentarán una mayor integración floral fenotípica que las especies que son polinizadas por los dos grupos de animales.

OBJETIVOS

- Conocer los niveles de integración floral fenotípica de tres especies de *Salvia* que difieren en el síndrome de polinización.
- Determinar si la selección natural actúa sobre la integración floral fenotípica en plantas con sistemas de polinización especializados y evaluar si existen diferencias en los niveles de integración entre las tres especies que difieren en el síndrome de polinización.

MÉTODOS

Zona de estudio

El estudio se llevó a cabo en la Reserva de la Biosfera Sierra de Manantlán (RBSM) en el periodo de octubre de 2008 a febrero de 2009. La reserva se localiza en la Sierra Madre Occidental, aproximadamente a 50 km al norte del Puerto de Manzanillo, Colima, entre las coordenadas 19°26'47" y 19°42'05" y 103°51'12" y 104°27'05" O (figuras 10 y 11). Con una superficie de 1400 km², la RBSM tiene un clima marcadamente estacional, con una definición clara entre la estación lluviosa y la estación seca. Los bosques tropicales húmedos y secos (caducifolios y subcaducifolios) se presentan por lo general desde los 400 hasta los 1700 m de altitud, mientras que los bosques mesófilos de montaña predominan entre los 1500 y 2400 m s.n.m. A mayores elevaciones dominan los bosques de *Quercus* y los bosques de *Pinus*. En cañadas protegidas suelen presentarse bosques de *Abies*. También se observan bosques de

galería, pastizales, así como vegetación xerófita y sabanoide. La reserva tiene reportadas hasta la fecha 2774 especies, 981 géneros y 181 familias de plantas vasculares, donde *Salvia* representa uno de los géneros más diversificados de la zona con 36 especies (Vázquez *et al.*, 1995).



Figura 10. Ubicación de la Reserva de la Biosfera Sierra de Manantlán y la Estación Científica las Joyas (tomado de <http://148.202.114.23/DERN/proyectos/manantlan/descripcion.php>).



Figura 11. Reserva de la Biósfera Sierra de Manantlán. Fotografías V. Méndez.

Especies estudiadas

Se eligieron tres especies del género *Salvia* con síndromes de polinización diferentes reportados en la literatura (figura 12):

- 1) *Salvia longispicata* M. Martens & Galeotti presenta el mecanismo de palanca, flores azules, tubo de la corola corto y es polinizada por abejas (Epling, 1939).
- 2) *Salvia iodantha* Fernald presenta flores rojas y tubo de la corola largo y angosto, no se observa el mecanismo de palanca (Epling, 1939); sus polinizadores son colibríes

(Rodríguez-Flores, 2009; Wester y Claßen-Bockhoff, 2007).

3) *Salvia mexicana* L. es considerada por su morfología como una especie melitófila (mecanismo de palanca presente, estambres insertos y flores azules); sin embargo, se han observado colibríes como polinizadores (Epling, 1939; Rodríguez-Flores, 2009; Wester y Claßen-Bockhoff, 2007).



Figura 12. Especies del género *Salvia* incluidas en el estudio. A. *Salvia iodantha* Fernald (especie ornitófila). B. *Salvia mexicana* L. (especie melitófila y ornitófila). C. *Salvia longispicata* M. Martens & Galeotti (especie melitófila). Fotografías S. Benítez Vieyra y V. Méndez.

Frecuencia de visita de polinizadores

Con el fin de determinar si los síndromes descritos para cada especie coinciden con los observados en el campo se registró la frecuencia de visitas de polinizadores por cada

especie estudiada. La población de cada especie se dividió en parches y se contó el número total de flores de cada uno. Posteriormente se realizaron observaciones de 8:30 a 19:30 durante dos semanas en periodos de 20 min por 10 min de descanso. Se contó el número de visitas legítimas (activación del mecanismo de palanca). Los insectos se colectaron en frascos de vidrio con cloroformo. Para el caso de las aves se colocaron redes de niebla en las zonas en donde se realizaron las observaciones de visita de colibríes. La identificación de los insectos se realizó hasta nivel de género y la de los colibríes hasta el nivel de especie.

Morfología floral

Durante el trabajo de campo se tomaron fotografías de 30 flores en 60 individuos de cada especie (5,800 flores en total) durante la temporada de floración (*Salvia longispicata* en octubre, *Salvia mexicana* y *Salvia iodantha* en enero y febrero) para medir los atributos florales externos. Asimismo, las flores fueron colocadas en tubos ependorf con alcohol y debidamente etiquetados. Posteriormente, para poder observar los atributos internos, las flores se disectaron y se tomaron fotografías con un microscopio estereoscópico (ME; Zeiss modelo Discovery V8 Stereo). En cada fotografía se incluyó una regla que sirvió como escala.

Para poder observar los componentes de la integración y la variación de los atributos en cada especie, se eligieron aquellos atributos florales de los que se postula se verán modificados durante la transición melitofilia-ornitofilia (Wester y Claßen-Bockhoff *et al.*, 2007). Se midieron ocho atributos (cuatro internos y cuatro externos) para cada especie (ver figura 13). A partir de las fotografías tomadas en el campo y el laboratorio se obtuvieron las coordenadas (X, Y) de cada atributo por flor, con el programa IMAGE tool versión 3.0. Se tomaron ocho puntos para medir los caracteres externos y ocho puntos para medir los caracteres internos. Para calcular la distancia entre dos puntos se utilizó la fórmula de la distancia Euclidiana:

$$D = \sqrt{(x_1-x_2)^2 + (y_1-y_2)^2}.$$

Para obtener la escala de medición (número de píxeles por milímetro) se tomaron dos puntos que indicaban 10 cm sobre la regla de cada fotografía y se utilizó la fórmula

ya mencionada, la cual se dividió entre 100 mm (10 cm).

Después, para medir los atributos se incluyeron las coordenadas de cada carácter en la fórmula de la distancia Euclidiana y el resultado se dividió entre la escala para obtener las distancias en milímetros.

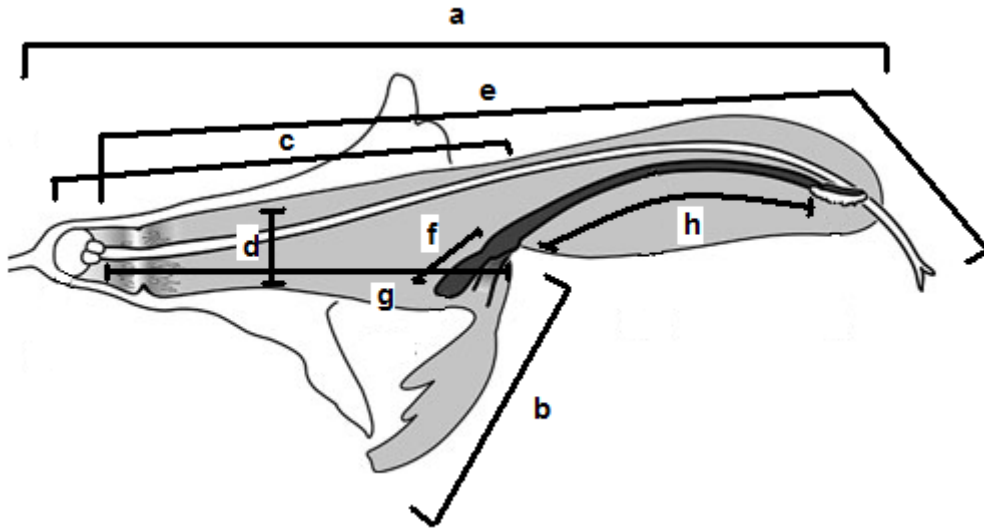


Figura 13. Flor bilabiada de *Salvia*. Las líneas indican las medidas que se tomaron en cuenta para el estudio. (a) Longitud total de la flor, (b) longitud del labio inferior, (c) longitud del tubo de la corola, (d) ancho del tubo de la corola, (e) longitud total del estilo, (f) longitud del balancín, (g) longitud de la apertura de la flor (garganta) al gineceo, (h) longitud teca-balancín.

Medición del éxito reproductivo

Para estimar los datos del éxito reproductivo de cada especie, las cuales se utilizarán en el análisis de selección, se contó el número de frutos de tres inflorescencias por individuo y se dividió entre el número total de flores totales de cada inflorescencia. Este valor corresponde a la proporción de fructificación (valor de adecuación) o “fruit set”.

Análisis de los datos

Magnitud de la integración

Con el fin de examinar la variación en la magnitud de la integración fenotípica floral entre las especies estudiadas (Wagner, 1984; Chevereud, 1989; Herrera *et al.*, 2002) se

estimó un índice de integración fenotípica (INT) para cada una de ellas. Este índice es igual a la varianza de los autovalores ($V(\lambda)$) de la matriz de varianza/covarianza de caracteres florales, por lo que una varianza grande indica un nivel alto de integración fenotípica, ya que se trata de la variación asociada a los caracteres en conjunto.

Se calcularon dos tipos de índices de integración, uno por especie (basado en 1800 flores) y uno por planta por especie (30 flores por cada individuo) utilizando las medias de los atributos. Para obtener el INT por especie se determinaron las medias por individuo (60 por especie) y posteriormente se realizó un Análisis de Componentes Principales por especie (ACP, JMP versión 5.1). Se analizaron la magnitud y signo de los atributos florales en cada componente principal. De los autovalores resultantes se obtuvo la varianza estimada y la varianza esperada (número de caracteres $-1/N$). La magnitud de la integración se calculó con la fórmula:

$$\text{varianza autovalores} - \text{varianza esperada}$$

El índice por planta y por especie se utilizó para definir si había diferencias en los índices de integración entre especies, los cuales se analizaron con un Análisis de la varianza (ANOVA). Con el fin de determinar si los valores de integración eran significativamente diferentes de cero, se estableció un intervalo de confianza del 95% mediante un procedimiento bootstrap (S-PLUS; Mathsoft Inc., 1999). Considerando que el máximo nivel de integración para una matriz de ocho caracteres es de ocho, que equivale al 100%, se obtuvo el porcentaje de integración por especie.

Patrón de la integración

Para examinar la variación en la estructura de varianza/covarianza de la matriz fenotípica entre especies, es decir, para determinar si hay diferencias en el patrón de integración entre las especies con diferentes síndromes de polinización, se utilizó un Análisis de la varianza tipo Jackknife propuesto por Derek Roff (2002). Debido a que sólo se obtiene una matriz de varianza/covarianza por especie, este procedimiento de remuestreo permite obtener una serie de matrices a partir de un grupo de pseudovalores de las varianzas y covarianzas entre los caracteres florales utilizando el programa S-PLUS (Mathsoft Inc., 1999). Cada matriz generada se construye eliminando

un atributo a la vez, por lo que se calculan con valores parciales (pseudovalores). Para determinar si hay diferencias significativas en los arreglos de las covarianzas entre especies se utilizó el índice λ de Wilk. Posteriormente se identificaron las covarianzas significativas (univariados) y se analizó su relevancia en la polinización de *Salvia*.

Análisis de Selección Multinivel

Utilizando la proporción de fructificación (fruit-set) como valor de adecuación (**W**) obtenida previamente, se midieron la intensidad y la dirección de la selección natural sobre la morfología floral en tres niveles: caracteres florales individuales, Análisis de Componentes Principales (integración intrafloral) e índices de integración (INT, integración floral total) (Ordano et al., 2008). Para realizar los análisis se estandarizaron los valores fenotípicos y los índices de integración, restando a cada valor por atributo (**Z**) la media poblacional y dividiéndolo entre la desviación estándar de la población. Este proceso hace que la media de los valores sea igual a cero y la desviación estándar igual a uno, lo que permite que sean comparables entre atributos y especies. Asimismo, cada valor de adecuación se relativizó, dividiendo la proporción de fructificación por planta entre el valor de adecuación promedio de la población.

Para el caso de los caracteres florales individuales, los gradientes de selección lineal (direccional) y cuadrática (estabilizadora, disruptiva y correlacional) se obtuvieron mediante un análisis de regresión múltiple (JMP versión 5.1, SAS Institute, Inc. 2005) (Lande y Arnold, 1983). Se incluyeron en la variable independiente los valores fenotípicos promedio de los caracteres florales y en la variable dependiente un valor de adecuación relativa por individuo. La ecuación para la regresión múltiple con n variables independientes es:

$$y = b + m_1x_1 + m_2x_2 + m_3x_3 \dots m_nx_n$$

en donde **b** es el intercepto, **m** representa la pendiente resultante de la regresión y **x** la variable independiente (Conner y Hartl, 2004). Si se aplica la misma ecuación para el análisis de selección, al sustituir las variables lo que se tiene es:

$$W = b + \beta_0Z_1 + \beta_0Z_2 + \beta_0Z_3 \dots \beta_nZ_n$$

en donde β_0 es el gradiente de selección, estimado como la pendiente de la regresión y

Z representa el valor de cada atributo floral. Por lo tanto, a través del análisis de regresión múltiple se observa si existe una relación entre la adecuación y cada carácter (Conner y Hartl, 2004; Ordano et al., 2008).

Con el fin de determinar si existen subgrupos de variables correlacionadas con una función importante en la polinización (integración intrafloral), se realizó un análisis de selección sobre el Análisis de Componentes Principales. Para efectuarlo se incluyeron en la regresión múltiple los valores (“scores”) de los componentes principales en lugar de los valores fenotípicos.

Finalmente, para observar si la selección natural favorece los índices de integración (INT, integración floral total), se realizó otra regresión múltiple con los índices de integración por planta como variable independiente.

RESULTADOS

Frecuencia de visita de polinizadores

Se registró la presencia de abejorros del género *Bombus sp.* que visitaron tanto a *Salvia longispicata* como a *Salvia mexicana*. *Salvia longispicata* fue polinizada de manera exclusiva y continua por *Bombus sp.* (794 visitas), mientras que en el caso de *Salvia mexicana*, los colibríes y los insectos (74% y 26% de las visitas, respectivamente, $n = 291$ visitas), polinizaron a las plantas de manera legítima. La tasa de visitas por aves e insectos difirió estadísticamente ($\chi^2_{0.05} = 66.40$, g.l. = 1, $P = 0.0001$), con un sesgo importante hacia los colibríes (figura 14). En el caso de *Salvia iodantha* se identificaron tres especies de colibríes como polinizadores (242 visitas), dos de los cuales también se observaron polinizando a *Salvia mexicana* (tabla 1). Las abejas del género *Bombus* se acercaron a las flores de *Salvia iodantha* pero no las polinizaron; sin embargo, dada la longitud del tubo de la corola, hicieron perforaciones en el cáliz para tomar el néctar y en varias ocasiones robaron polen de las tecas exertas.

Tabla 1. Polinizadores registrados en las tres especies de estudio.

Polinizador	Especie de planta		
	<i>Salvia longispicata</i>	<i>Salvia mexicana</i>	<i>Salvia iodantha</i>
<i>Bombus sp.</i>	X	X	
<i>Hylocaris leucotis</i>		X	X
<i>Amazilia beryllina</i>		X	X
<i>Lampornis amethystinus</i>			X

Frecuencia de visita de polinizadores

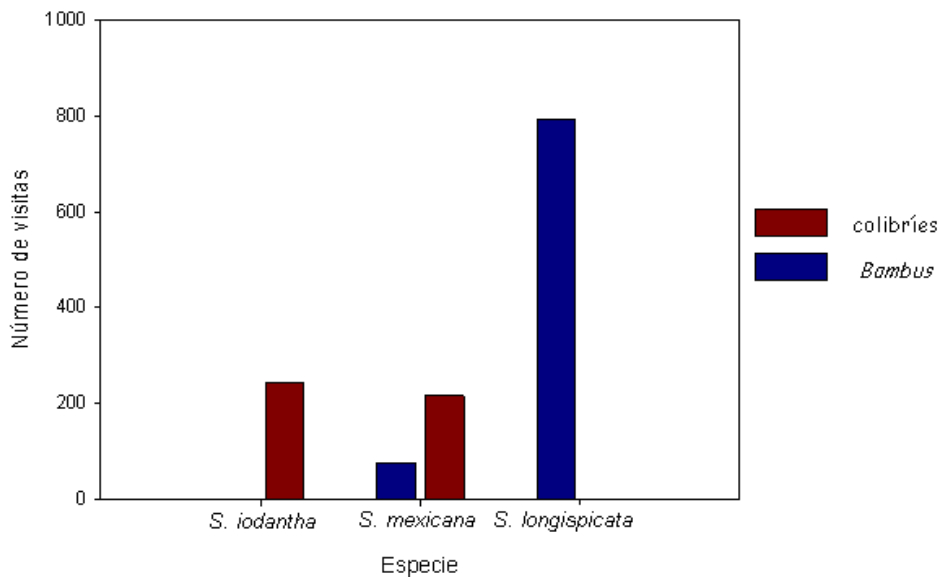


Figura 14. Frecuencia de visita de insectos del género *Bombus* y de colibríes a tres especies de *Salvia*.

Magnitud de la integración

Los dos primeros componentes principales del ACP explican el 74.13% de la variación floral de *Salvia iodantha*, 68.21% para *Salvia mexicana* y 77.81% para *Salvia longispicata* (tablas 2,3 y 4). Dado que los dos primeros componentes de cada especie son los que explican la mayor cantidad de variación, se describirán a detalle a continuación. Las cargas del componente principal uno (PC1) se repartieron de manera uniforme para todas las especies, lo que señala que este componente expresa la variación asociada al tamaño de la flor (tablas 2,3 y 4). En contraste, las cargas con mayor peso en el segundo componente principal (PC2) para *Salvia iodantha* están

relacionadas con el tamaño del labio inferior y el ancho del tubo de la corola, por lo que la mayor cantidad de variación en la especie ornitófila tiene que ver con estos elementos de la corola, y en menor grado con el balancín y la distancia que existe entre éste y la teca (tabla 2). En *Salvia mexicana* se observa una diferencia clara entre las cargas positivas del PC2 en los caracteres de la corola y las cargas negativas de los caracteres que están relacionados con el balancín, es decir, conforme la corola se hace más grande, el mecanismo de palanca se reduce (tabla 3). Para la especie melitófila (*Salvia longispicata*) las cargas más altas del PC2 se observan en el ancho del tubo de la corola, y al igual que en *Salvia iodantha*, dicho atributo participa de manera activa en la polinización, pues es la “puerta de entrada” del polinizador hacia la recompensa, que es el néctar (tabla 4).

Tabla 2. Resultados del análisis de componentes principales (ACP) utilizando la matriz de correlaciones de ocho atributos florales medidos en *Salvia iodantha* (especie ornitófila). Se presentan las cargas de los ocho componentes principales (PCs).

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8
% de varianza explicada	57.20	16.93	9.97	6.85	4.72	2.79	1.12	0.42
Varianza acumulada	57.20	74.13	84.09	90.95	95.67	98.46	99.58	100.00
Longitud total de la flor	0.43	-0.04	0.26	0.21	-0.20	-0.23	-0.43	-0.65
Longitud labio inferior	0.22	0.50	0.67	-0.32	-0.15	0.29	0.21	0.08
Longitud tubo de la corola	0.44	-0.11	0.09	0.19	-0.29	-0.41	-0.11	0.70
Ancho del tubo de la corola	0.11	0.70	-0.26	0.63	0.16	0.05	0.09	0.01
Longitud total del estilo	0.36	-0.33	0.19	0.21	0.63	0.47	-0.18	0.15
Longitud del balancín	0.35	0.14	-0.55	-0.36	-0.29	0.45	-0.36	0.06
Longitud apertura flor-gineceo	0.41	-0.30	-0.17	0.14	-0.24	0.16	0.76	-0.20
Longitud teca-balancín	0.37	0.19	-0.20	-0.47	0.54	-0.49	0.16	-0.09

Tabla 3. Resultados del análisis de componentes principales (ACP) utilizando la matriz de correlaciones de ocho atributos florales medidos en *Salvia mexicana* (especie melitófila y ornitófila). Se presentan las cargas de los ocho componentes principales (PCs).

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8
% de varianza explicada	51.20	17.01	11.87	7.35	6.13	4.38	1.60	0.04
Varianza acumulada	51.20	68.21	80.08	87.43	93.57	97.96	99.56	100.00
Longitud total de la flor	0.44	0.31	0.11	-0.23	-0.12	0.14	-0.36	-0.70
Longitud labio inferior	0.19	0.44	0.71	0.41	0.08	0.05	0.26	0.15
Longitud tubo de la corola	0.33	0.47	-0.21	-0.49	-0.28	-0.06	0.10	0.53
Ancho del tubo de la corola	0.32	0.21	-0.50	0.29	0.64	0.31	0.04	0.05
Longitud total del estilo	0.43	-0.27	0.09	0.26	0.02	-0.35	-0.65	0.34
Longitud del balancín	0.28	-0.41	0.38	-0.56	0.49	0.07	0.19	0.06
Longitud apertura flor-gineceo	0.43	-0.16	-0.20	0.18	-0.12	-0.58	0.55	-0.27
Longitud teca-balancín	0.35	-0.41	-0.02	0.19	-0.47	0.65	0.16	0.10

Tabla 4. Resultados del análisis de componentes principales (ACP) utilizando la matriz de correlaciones de ocho atributos florales medidos en *Salvia longispicata* (especie melitófila). Se presentan las cargas de los ocho componentes principales (PCs).

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8
% de varianza explicada	66.94	10.87	8.24	5.53	3.64	2.48	1.83	0.47
Varianza acumulada	66.94	77.80	86.05	91.58	95.22	97.70	99.54	100.00
Longitud total de la flor	0.39	0.05	-0.46	-0.09	0.08	0.19	-0.01	-0.76
Longitud labio inferior	0.36	-0.05	-0.54	0.48	0.03	0.25	-0.12	0.52
Longitud tubo de la corola	0.36	0.11	-0.24	-0.70	0.20	-0.36	0.10	0.35
Ancho del tubo de la corola	0.18	0.95	0.20	0.15	-0.04	0.04	-0.02	0.02
Longitud total del estilo	0.39	-0.14	0.23	0.07	-0.29	-0.38	-0.73	-0.07
Longitud del balancín	0.39	-0.13	0.13	0.32	-0.31	-0.43	0.63	-0.07
Longitud apertura flor-gineceo	0.37	-0.14	0.35	-0.32	-0.40	0.66	0.10	0.13
Longitud teca-balancín	0.35	-0.15	0.45	0.16	0.78	0.09	0.02	-0.02

En cuanto a la intensidad de la integración, los índices de integración por especie muestran diferencias significativas entre sí ($F_{2, 177} = 8.03$, $P = 0.0005$) (figura 15). La especie ornitófila presenta los índices más altos (20.93% del total de la integración alcanzada en una matriz de ocho atributos (tabla 5)), mientras que los índices de *Salvia iodantha* y *Salvia mexicana* difieren significativamente de los valores de *Salvia longispicata* ($P = 0.0002$ y $P = 0.0035$, respectivamente) que presenta un porcentaje de integración del 14.72% (tabla 5). El índice de integración de *Salvia mexicana* no difiere del de *Salvia iodantha*.

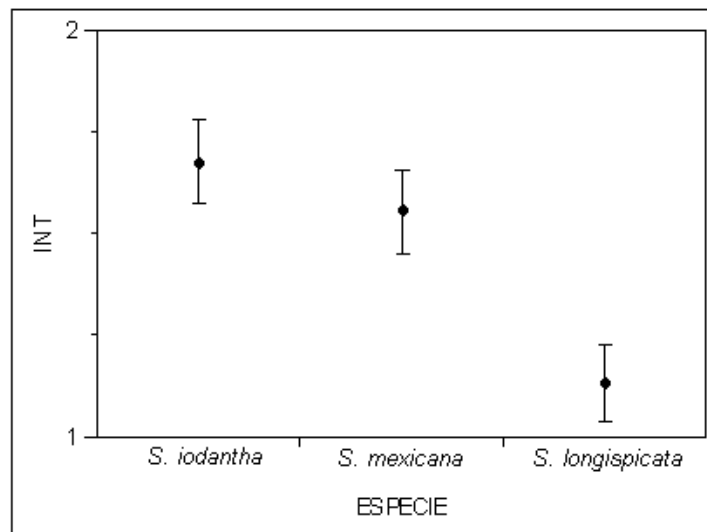


Figura 15. Índices de integración por especie (ocho atributos).

Tabla 5. Índices de integración (medias INT) estimados para las tres especies de *Salvia* con diferentes síndromes de polinización.

ESPECIE	MEDIAS VALORES INT	% integración
<i>Salvia iodantha</i>	1.67 (0.35-3.27)	20.93± 0.79
<i>Salvia mexicana</i>	1.55 (0.51-3.79)	19.41± 0.79
<i>Salvia longispicata</i>	1.13 (0.37-4.22)	14.17± 0.75

Patrón de la integración

Los resultados del Análisis de la varianza tipo Jackknife muestran que el patrón de integración difiere significativamente entre especies (λ de Wilk = 0.209, $F_{72, 284} = 4.732$, $P = <0.001$). Las pruebas univariadas muestran que la mayoría de las correlaciones

entre especies son significativas (21 de 28) (ver tabla 6 y anexo 1).

	LT	LI	TC	AT	TE	LB	AG	TB
LT	-							
LI	★	-						
TC	★		-					
AT				-				
TE	★		★	★	-			
LB	★	★	★			-		
AG	★		★	★	★	★	-	
TB	★	★	★		★	★	★	-

Tabla 6. Matriz de correlaciones significativas de los ocho atributos florales medidos en tres especies de *Salvia* con diferentes síndromes de polinización. (LT) largo total de la flor, (LI) largo del labio inferior, (TC) largo del tubo de la corola, (AT) ancho del tubo de la corola, (TE) largo total del estilo, (LB) largo del balancín, (AG) largo de la apertura de la flor al gineceo, (TB) largo teca-balancín. Las estrellas representan las correlaciones significativas (ver anexo 1).

Análisis de Selección Multinivel

En *Salvia iodantha* se identificó que la selección direccional actúa sobre caracteres individuales, pero no se detectó selección estabilizadora o disruptiva. El análisis de regresión múltiple mostró que la selección natural favorece la disminución en el tamaño total de la flor (gradiente de selección lineal $\beta = -0.72$ (0.29), $F_{1,58} = 6.22$, $P = 0.016$), y el incremento en el tamaño del labio inferior de la corola ($\beta = 0.41$ (0.10), $F_{1,58} = 14.73$, $P = 0.0003$). Se observó la acción de la selección natural sobre pares de caracteres (selección correlativa) como la longitud total de la flor/longitud del estilo ($\beta = 3.30$ (1.31), $F_{1,58} = 6.33$, $P = 0.023$), la longitud del labio inferior/longitud del tubo de la corola ($\beta = 3.89$ (1.37), $F_{1,58} = 8.00$, $P = 0.012$), el ancho del tubo de la corola/longitud del balancín ($\beta = -4.39$ (1.64), $F_{1,58} = 4.93$, $P = 0.042$) y sobre la longitud del estilo/longitud entre la teca y el balancín ($\beta = 1.13$ (0.50), $F_{1,58} = 7.16$, $P = 0.017$). Se encontró evidencia de selección lineal sobre la integración intrafloral (valores ("scores") de los PCs), siendo positiva para los componentes principales dos, seis y siete (PC2: $\beta = 0.14$ (0.06), $F_{1,58} = 4.69$, $P = 0.035$, PC6: $\beta = 0.32$ (0.16), $F_{1,58} = 4.08$, $P = 0.048$, PC7: $\beta = 0.56$ (0.25), $F_{1,58} = 4.95$, $P = 0.030$) y negativa para los componentes uno y cuatro (PC1: $\beta = -0.09$ (0.03), $F_{1,58} = 7.24$, $P = 0.009$, PC4: $\beta = -0.20$ (0.10), $F_{1,58} = 4.05$, $P = 0.05$). Sin embargo, no se observó selección sobre los índices de integración en esta especie ($\beta = 0.003$ (0.16), $F_{1,58} = 0.03$, $P = 0.860$). Como se puede identificar en los resultados previamente descritos, conforme disminuye el porcentaje de variación

en los componentes principales, el gradiente de selección es mayor (ver anexo 1). El primer componente principal está relacionado con el tamaño, por lo que en este caso la selección natural favorece la reducción de las flores. Las cargas con mayor peso en el PC2 muestran que el aumento en el tamaño del labio inferior y el ancho del tubo de la corola incrementa la adecuación de la planta. Debido al efecto de la selección direccional negativa, el PC4 tiene que ver con la disminución en el ancho del tubo de la corola. El PC6 está relacionado con un tubo de corola corto y la reducción de la distancia entre la teca y el balancín, así como con un aumento en la longitud del estilo y del balancín. En cuanto al PC7, el componente principal con menor variación, una flor pequeña, con una distancia grande entre la apertura de la flor y el gineceo son los atributos que, de acuerdo al valor del gradiente de selección, promueven un mayor éxito reproductivo (ver anexo 1).

Para *Salvia mexicana* no se detectó un efecto de la selección natural sobre caracteres individuales (selección direccional, estabilizadora o disruptiva) o selección correlativa, tampoco se observó selección sobre la integración intrafloral ni sobre los índices de integración.

En *Salvia longispicata* se detectó la acción de la selección direccional positiva sobre conjuntos de caracteres (integración intrafloral) (PC6: $\beta = 0.25$ (0.12), $F_{1,58} = 4.14$, $P = 0.047$). En el PC6, las cargas más altas se identifican sobre la distancia entre la apertura de la flor y el gineceo. Finalmente, no se observó selección sobre los atributos individuales, selección correlativa ni selección sobre los índices de integración.

DISCUSIÓN

Stebbins (1970) y Fenster *et al.* (2004) proponen que el polinizador más frecuente y que es capaz de transportar el polen de manera exitosa de una flor a otra será el agente selectivo principal sobre los atributos florales, lo que se ha demostrado en las plantas de *Ipomopsis aggregata*, en las que se observa que los colibríes promueven la selección direccional sobre caracteres propios de las angiospermas ornitófilas (Meléndez-Ackerman *et al.*, 1997). Aunque los insectos siguen visitando a las plantas de *Salvia mexicana*, se observa un claro sesgo hacia la visita por colibríes (figura 16). Al

parecer, la morfología de la flor de *Salvia mexicana* favorece la visita de las aves sobre los insectos. Aunque las flores rojas se asocian generalmente con la ornitofilia, los colibríes son capaces de identificar a las flores que ofrecen cierta cantidad y concentración de néctar sin importar su color (Healy y Hurly, 2004). Por lo tanto, si las flores de *Salvia mexicana* representan un recurso importante para las aves, éstas las visitarán continuamente a pesar de su coloración morada y dado que el fenotipo floral no restringe la polinización a través de estos vectores, probablemente los colibríes se convertirán en el polinizador dominante (Campbell *et al.*, 1997).

Las flores del género *Salvia* son órganos altamente especializados en la transferencia del polen; sin embargo, a pesar del ajuste funcional específico que existe entre la planta y su polinizador, las especies que se utilizaron en este trabajo no presentan altos índices de integración floral. De las especies incluidas en este estudio *Salvia iodantha*, que es polinizada por colibríes, presenta el porcentaje de integración más alto ($20.93 \pm 0.79\%$; tabla 5), el cual se encuentra muy cerca del promedio que presentan las angiospermas estudiadas a la fecha ($INT = 21.5 \pm 1.72$, Ordano *et al.*, 2008). De los 26 géneros de plantas con flores revisados por Ordano *et al.* (2008), 14 corresponden a individuos con flores zigomórficas, como es el caso del género *Salvia*. En promedio, el porcentaje de integración de este tipo de plantas es de 31.18%, observándose que los valores van de 7% hasta 70% de integración en *Styloidium brunonianum* y en *Collinsia sparsiflora* (Ordano *et al.*, 2008). Al parecer, aunque algunos valores de INT en las flores zigomórficas son relativamente altos, las especies de *Salvia* analizadas no se encuentran muy integradas. Fornoni *et al.* (2008) y Ordano *et al.* (2008) explican que los niveles de integración bajos obtenidos en las angiospermas evaluadas podrían deberse a restricciones históricas y ontogenéticas propias de cada especie.

Se esperaba que las especies de *Salvia* que sólo cuentan con un polinizador presentaran mayores niveles de integración que aquella que es polinizada por más de un vector. Sin embargo, en contra de lo esperado, *Salvia longispicata*, que es polinizada por abejas, tiene el porcentaje de integración más bajo ($14.17 \pm 0.75\%$; tabla 5) y *Salvia mexicana*, que es polinizada tanto por colibríes como por abejas

prácticamente no difiere de la especie ornitófila ($19.41 \pm 0.79\%$; tabla 5). Dicho resultado sugiere que los atributos florales están restringiendo, a través de la integración fenotípica de la flor, la llegada de los polinizadores menos eficientes, en este caso las abejas y que el agente selectivo que está determinando los cambios cuantitativos sobre los atributos florales debido a la frecuencia de visita y efectividad es el colibrí (Stebbins, 1970; Fenster *et al.*, 2004).

Sin embargo, dado que en *Salvia mexicana* no se observa selección sobre los atributos que favorecerían la interacción con los colibríes, como el tamaño de la flor, el ancho y largo del tubo de la corola o la longitud del labio inferior de la corola, no se puede demostrar que la morfología floral de esta especie limite la visita de *Bombus* y permita un mayor ajuste entre el colibrí y la flor. Tampoco es posible comprobar que la especie se encuentre en transición hacia la ornitofilia. Aunque los colibríes muestren una mayor frecuencia de visita en esta especie, no se realizaron experimentos para medir la eficiencia de polinización de cada vector por separado, por lo que no hay evidencia que demuestre que las aves son polinizadores más efectivos que los insectos. No se identificó la acción de la selección natural sobre los tres niveles propuestos, debido probablemente a que la matriz de varianza/covarianza de *Salvia mexicana* alcanzó el pico adaptativo, por lo que el fenotipo ya no cambiará (Schulter, 1993; Conner y Hartl, 2004; Merilä y Björklund, 2004).

Los gradientes de selección altos en los componentes principales de menor variación en *Salvia iodantha* indican que el tamaño de la flor, el labio inferior y el ancho del tubo de la corola deberán modificarse para alcanzar el óptimo (Conner y Hartl, 2004; Merilä y Björklund, 2004). El análisis de selección mostró que probablemente las flores de *Salvia iodantha* experimenten a largo plazo la modificación de un conjunto de atributos para favorecer el ajuste con su polinizador, lo que resultará en una flor pequeña con la distancia entre la apertura de la flor y el gineceo proporcionalmente grande. Los atributos individuales que favorecen la adecuación en *Salvia iodantha* son una flor pequeña con un labio inferior grande. Estos atributos están relacionados directamente con la interacción del pico del colibrí con la flor. Los caracteres sobre los que se identificó la acción de la selección correlativa

corresponden con las combinaciones de caracteres que agrupan los componentes principales, ya que los pares de caracteres que presentan un gradiente de selección significativo (longitud total de la flor/longitud del estilo, longitud del labio inferior/longitud del tubo de la corola, ancho del tubo de la corola/longitud del balancín y la longitud del estilo/longitud entre la teca y el balancín) están relacionados con la modificación en el tamaño de la flor. Según los resultados, las dimensiones de menor tamaño son las que promueven un éxito reproductivo mayor. Los colibríes que se observaron visitando la población de *Salvia iodantha* en la Reserva de la Biósfera Sierra de Manantlán son especies de pico corto (*Lampornis amethystinus*, cúlmen expuesto: 20.46 mm; *Hylocharis leucotis*, cúlmen expuesto: 17.86 mm; *Amazilia beryllina*, cúlmen expuesto: 20.04 mm), lo cual corresponde con la tendencia de la reducción de la flor, permitiendo que la transferencia de polen sea más eficiente.

Por otro lado, sólo se identificó selección sobre la integración intrafloral en *Salvia longispicata*. Dicho resultado sugiere que la distancia entre la apertura de la corola y el gineceo es un carácter clave en el éxito reproductivo de la especie que tiene relación con permitir la entrada a la flor de un polinizador grande, como lo es *Bombus*.

Con respecto a la relación entre el nivel de integración floral y el éxito reproductivo, no se observó selección sobre los índices de integración, dicho resultado sugiere que la selección natural no favorece la integración floral de la flor en su totalidad. Hasta ahora no hay evidencia contundente de que la selección favorezca la magnitud de la integración fenotípica. Algunos estudios previos apoyan la importancia adaptativa de la intensidad de la integración floral en la biología de la polinización. Por ejemplo, Pérez *et al.*, (2007) encontraron que las flores de *Schizantus* que requieren de un polinizador para mover sus gametos presentan mayores niveles de integración que las flores que se autofecundan, lo que relacionan con la selección mediada por los polinizadores. Algo parecido reportan Pérez-Barrales *et al.*, (2007), al observar que polillas y moscas ejercen una presión de selección diferente sobre plantas del mismo género, lo que se ve reflejado en los INT en plantas de *Narcissus papyraceus*. En contraste, otros autores no encontraron una influencia directa de la selección sobre los INT entre poblaciones de plantas con sistemas generalizados de polinización

(Rosaceae) (Ordano *et al.*, 2008) ni en plantas que difieren en sus grupos de polinizadores a nivel geográfico (Herrera, 2002; Armbruster, 2004). Aún faltan una gran cantidad de grupos de angiospermas en los cuales no se han descrito sus patrones de covariación y si éstos están relacionados con su adecuación, por lo que se requiere todavía de mucho trabajo antes de concluir si realmente la INT tiene un valor adaptativo (Fornoni *et al.*, 2009).

Al parecer, la selección natural favorece la integración de combinaciones de caracteres específicos (integración intrafloral) en *Salvia iodantha* y en *Salvia longispicata*, tales atributos podrían ser los elementos de la flor responsables de la interacción de la planta con su polinizador (Fornoni *et al.*, 2008; Ordano *et al.*, 2008; Fornoni *et al.*, 2009; Rosas-Guerrero *et al.*, 2010). Fornoni *et al.* (2008) consideran que posiblemente la selección natural favorezca la integración intrafloral y que las correlaciones con otros atributos son el resultado de las restricciones propias de la matriz de varianza/covarianza.

En teoría, las especies ornitófilas de *Salvia* evolucionaron a partir de las especies melitófilas mediante una serie de modificaciones fenotípicas como la reducción del labio inferior (que impiden el aterrizaje de las abejas) y el aumento en la longitud del tubo de la corola (de manera que el néctar sea inaccesible para las abejas), incrementando el tamaño del balancín y exponiendo las tecas y el estigma (Wester y Claßen-Bockhoff *et al.*, 2007). Estos cambios morfológicos han permitido el transporte efectivo del polen a través de las aves (Grant y Grant, 1965; Reisfield, 1987; Wester y Claßen-Bockhoff, 2007). Wester y Claßen-Bockhoff (2007) plantean que los colibríes representan un vector de transferencia más eficiente que los insectos para el género *Salvia*, pues las abejas requieren del polen para alimentar a sus larvas, lo que representaría una pérdida de recursos importante (los estambres insertos en las especies melitófilas evitan en cierta medida el robo). En contraste, el principal interés de las aves se dirige hacia el néctar, por lo que no hay robo de polen por parte de éstos. (Wester y Claßen-Bockhoff, 2007). Además, su habilidad de aprendizaje está mucho más desarrollada que la de los insectos (Healy y Hurly, 2004) y se encuentran en actividad durante el invierno cuando la densidad de otros polinizadores es menor,

que coincide con la temporada de floración de *Salvia mexicana* (noviembre a marzo) y *Salvia iodantha* (diciembre a marzo) en la zona de estudio (Kunitake, *et al.*, 2004; Rodríguez-Flores, 2009). Varios grupos de estas aves recorren grandes distancias, lo cual favorece la polinización cruzada y en consecuencia el aumento en la variabilidad genética (Arizmendi, 1994; Thomson *et al.*, 2000; Rodríguez-Flores, 2009).

Sin embargo, no existe una filogenia reciente del género en donde se observe claramente si las especies melitófilas se encuentran en los clados basales, ya que los árboles filogenéticos propuestos carecen del muestreo suficiente para presentar una filogenia robusta de *Salvia*, ya que tan solo el subgénero *Calosphace* (al cual pertenecen las especies de *Salvia* americanas) cuenta con 500 especies (Walker *et al.*, 2004). Debido a la falta de un estudio taxonómico completo de *Salvia* aún no es posible establecer la evolución de los síndromes de polinización en el género.

Para poder determinar si las especies de *Salvia* que comparten polinizadores se encuentran en transición hacia la ornitofilia, será necesario un estudio extenso que incluya varias especies y experimentos de eficiencia de polinización. Además, un análisis de selección por cada polinizador permitiría definir cuál es el vector que transporta el polen de forma eficaz.

En resumen, las modificaciones morfológicas experimentadas por los atributos que forman a la corola y el balancín asociadas al síndrome de polinización en las tres especies de *Salvia* incluidas en este trabajo implican un cambio en el patrón y la intensidad de la integración floral fenotípica. Al parecer, la visita de dos polinizadores no implica una integración floral menor. Sin embargo, la selección natural no parece favorecer el ajuste específico de la flor en su totalidad, sino más bien de conjuntos de atributos que participan directamente en el proceso de transferencia de polen.

CONCLUSIONES

- 1) Las flores de las especies de *Salvia* incluidas en este trabajo no presentan altos índices de integración floral.
- 2) Probablemente las modificaciones morfológicas experimentadas por los atributos que forman a la corola y el balancín asociadas al síndrome de polinización en las tres especies de *Salvia* incluidas en este trabajo implican un cambio en el patrón y la intensidad de la integración floral fenotípica.
- 3) La selección natural favorece la integración de combinaciones de caracteres específicos (integración intrafloral) en *Salvia iodantha* y en *Salvia longispicata*. Probablemente las flores de *Salvia iodantha* experimenten a largo plazo la modificación de un conjunto de atributos para favorecer el ajuste con su polinizador. En *Salvia mexicana* no se observa selección sobre los atributos que favorecerían la interacción con los colibríes, por lo que no es posible demostrar que las aves son el polinizador dominante en esta especie, ni que se encuentre en un proceso de cambio de polinizadores.
- 4) Será necesario un estudio extenso que incluya varias especies localizadas en diferentes ambientes, experimentos de eficiencia de polinización y un análisis de selección por cada polinizador, para poder determinar si las especies de *Salvia* que comparten polinizadores se encuentran en transición hacia la ornitofilia.

LITERATURA CITADA

- Arizmendi, M.C. 1994. **Interacciones ecológicas múltiples: El caso del sistema mutualista colibríes-plantas y el ladrón de néctar *Diglossa baritula* (Passeriformes: Aves)**. Tesis Doctor en Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- Armbruster W.S., di Stilio V.S., Flores T.C. y Velásquez Runk J.L. 1999. Covariance and decoupling of floral and vegetative in nine Neotropical plants: a re-evaluation of Berg's correlation pleiades concept. **American Journal of Botany** 86:39-55.
- Armbruster W.S., Pélabon C., Hansen T.F. y Mulder T.P.H. 2004. Floral integration, modularity and accuracy: distinguishing complex adaptations from genetic constraints. En: Pigliucci M. y Preston K., eds. **Phenotypic integration: studying the ecology and evolution of complex phenotypes**. Oxford University Press. Nueva York, N.Y.
- Armbruster W.S. y Muchhala N. 2007. Associations between floral specializations and species diversity: cause, effect or correlation? **Evolutionary Ecology** 23: 159-179.
- Begon M., Colin R. T. y Harper J.L. 2006. **Ecology: from individuals to ecosystems**. 4a edición. Blacwell publishing. Malden, Massachusetts.
- Berg R.L. 1960. The ecological significance of correlation pleiades. **Evolution** 14:171-180.
- Bronstein J.L. 2001. The exploitation of mutualism. **Ecology Letters** 4:277-287.
- Campbell D. R. 2009. Using phenotypic manipulations to study multivariate selection of floral traits associations. **Annals of Botany** 103:1557-1566.
- Campbell D.R., Waser N.M. y Meléndez-Ackerman E.J. 1997. Analyzing pollinator-mediated selection in a plant hybrid zone: hummingbird visitation patterns on three spatial scales. **American Naturalist** 149: 295-315.
- Castellanos M.C., Wilson P. y Thomson J.D. 2004. "Anti-bee" and "pro-bird" changes during the evolution of hummingbird pollination in *Penstemon* flowers. **Journal of Evolutionary Biology** 17:876-885.
- Cheverud J. 1989. A comparative analysis of morphological variation patterns in the papilionins. **Evolution** 43:1737-1747.

- Claßen-Bockhoff R. y Speck T. 2002. Diversity and evolution in *Salvia*-Presentation of a new research project. **Lamiales Newsletter** 7:3-4.
- Claßen-Bockhoff R., Speck T., Tweraser E., Wester P., Sascha T. y Reith M. 2004. The staminal lever mechanism in *Salvia* L. (Lamiaceae): a key innovation for adaptive radiation? **Organisms, Diversity and Evolution** 4:189-205.
- Conner, J.K. 2006. Ecological genetics of floral evolution. En: Harder L.D. y Barrett S.C.H. **Ecology and Evolution of Flowers**. Oxford University Press, Oxford.
- Conner J. y Hartl D. L. 2004. **A Primer of Ecological Genetics**. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Cronk Q. y Ojeda I. 2008. Bird-pollinated flowers in an evolutionary and molecular context. **Journal of Experimental Biology** 59:715-727.
- Darwin C. 1862. **On the various contrivances by which British and foreign orquids are fertilized by insects**. John Murray, Londres.
- Darwin C. 1877. **The effects of cross and self fertilization in the vegetable kingdom**. John Murray, Londres.
- Epling C.C. 1939. A revision of *Salvia*, subgenus *Calosphace*. **Repertorium Specierum Novarum Regni Vegetabilis** 110:1-383.
- Esau, K. 1993. **Anatomía de las plantas con semilla**. Editorial Hemisferio Sur, San Miguel de Tucumán.
- Faegri K. y van der Pijil L. 1979. **The principles of pollination ecology**. 3a edición. Pergamon Press, Nueva York. N. Y.
- Fenster C.B., Armbruster W.S., Dudash M.S., Wilson P. y Thomson J.D. 2004. Pollination syndromes and floral specialization. **Annual Review in Ecology, Evolution and Systematics** 35: 375-403.
- Fornoni J., Ordano M., Boege K. y Domínguez C.A. 2009. Phenotypic integration: between zero and how much is too much. **New Phytologist** 183:248-250.
- Futuyma, J. 2005. **Evolution**. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Grant V. y Grant K.A. 1965. **Flower pollination in the Phlox family**. Columbia University Press. Nueva York, N.Y.

- Healy S.D. y Hurly T.A. 2004. Foraging and spatial learning in hummingbirds. En: Chittka L. y Thomson J.D., eds. **Cognitive Ecology of pollination. Animal Behavior and floral evolution.** Cambridge University Press, Cambridge.
- Herrera, C.M. 2002. Deconstructing a floral phenotype: do pollinators select for corolla integration in *Lavandula latifolia*? **Journal of Evolutionary Biology** 14: 574-584.
- Herrera C.M., Cerdá X., García M.B., Guitián J., Medrano M., Rey P.J. y Sánchez-Lafuente A.M. 2002. Floral integration, phenotypic covariance structure and pollinator variation in bumblebee-pollinated *Helleborus foetidus*. **Journal of Evolutionary Biology** 15: 108-121.
- Herrera C.M., Castellanos M.C. y Medrano M. 2006. Geographic context of floral evolution: towards an improved research programme in floral diversification. En: Harder L.D. y Barrett S.C.H. **Ecology and Evolution of Flowers.** Oxford University Press, Oxford.
- Judd, W.S., Campbell C.S., Kellogg E. A., Stevens P.F. y Donoghue M.J. 2005. **Plant Systematics: a phylogenetic approach.** Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Kirkpatrick M. y Lovsvold D. 1992. Measuring selection and constraint in the evolution of growth. **Evolution** 46: 954-951.
- Kunitake Y.K., Hasegawa M., Myyashita T. y Higuchi H. 2004. Role of seasonally specialist bird *Zosterops japonica* on pollen transfer and reproductive success of *Camelia japonica* in a temperate area. **Plant Species Biology** 19:197-201.
- Lande R. 1979. Quantitative genetic analysis of multivariate evolution applied to brain: body size allometry. **Evolution** 33: 402-416.
- Lande R, Arnold SJ. 1983. The measurement of selection on correlated characters. **Evolution** 37: 1210-1226.
- Mathsoft Inc. 1999. **S-Plus 2000 guide to statistics.** Seattle, Washington, USA.
- Meléndez-Ackerman E., Campbell D.R. y Waser N.M. 1997. Hummingbird behavior and mechanisms of selection of flower color in *Ipomopsis*. **Ecology** 78:2538-2541.
- Merilä J y Björklund M. 2004. Phenotypic integration as a constraint and adaptation. En: Pigliucci M. y Preston K., eds. **Phenotypic integration: studying the ecology and evolution of complex phenotypes.** Oxford University Press. Nueva York, N.Y.

- Miller R.B. 1978. The pollination ecology of *Aquilegia elegantula* and *A. caerulea* (Ranunculaceae) in Colorado. **American Journal of Botany** 65:406-414.
- Miller R.B. 1981. Hawkmoths and the geographic patterns of floral variation in *Aquilegia caerulea*. **Evolution** 35:763-774.
- Morgan M.T. 2006. Selection on reproductive characters: conceptual foundations and their extension to pollinator interactions. En: Harder L.D. y Barrett S.C.H. **Ecology and evolution of flowers**. Oxford University Press, Oxford.
- Ollerton J., Alarcón R., Waser N.M., Price M.V., Watts S., Crammer L., Hingston A., Peter C.I. y Rotemberry J. 2009. A global test of the pollination syndrome hypothesis. **Annals of Botany** 103: 1471-1480.
- Ordano M., Fornoni J., Boege K. y Domínguez C.A. 2008. The adaptive value of phenotypic floral integration. **New Phytologist** 179:1183-1192.
- Pérez F., Arroyo M.T.K. y Medel M. 2007. Phylogenetic analysis of floral integration in *Schizantus* (Solanaceae): does pollination truly integrate corolla traits? **Journal of Evolutionary Biology** 20: 1730-1738.
- Pérez-Barrales R., Arroyo J. y Armbruster W.S. 2007. Differences in pollinator faunas may generate geographic differences in floral morphology and integration in *Narcissus papyraceus* (Amaryllidaceae). **Oikos** 116: 1904-1918.
- Pigliucci M. 2003. Phenotypic integration: studying the ecology and evolution of complex phenotypes. **Ecology letters** 6(3): 265-272.
- Rathcke B.J. 2003. Floral longevity and reproductive assurance: seasonal patterns and a experimental test with *Kalmia latifolia* (Ericaceae). **American Journal of Botany** 90:1328-1332.
- Reisfield A.S. 1987. **Systematic studies in *Salvia* L. (Lamiaceae) with special emphasis in subgenus *Calosphace* (Benth.) Benth. Section *Dusenostachys* Epling**. Tesis de Maestría. Universidad de Wisconsin, Madison, Wisconsin.
- Reith M., Baumann G., Claßen-Bockhoff R. y Speck T. 2007. New insights into the functional morphology of the lever mechanism of *Salvia pratensis* (Lamiaceae). **Annals of Botany** 100: 393-400.
- Richards, J. 1997. **Plant breeding systems**. Chapman & Hall, Cambridge. Reino Unido.

- Rodríguez-Flores C.I. 2009. **Dinámica de las estrategias de forrajeo por néctar en colibríes (Aves: Trochilidae) en la Reserva de la Biósfera Sierra de Manantlán (Jalisco, México)**. Tesis (Maestría en Ciencias Biológicas-Biología ambiental). Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
- Roff D. 2002. Comparing G matrices: a MANOVA approach. **Evolution** 56: 1256-1291.
- Rosas-Guerrero V., Quesada M., Armbruster W.S., Pérez-Barrales R. y Hewitt Smith S. 2010. Influence of pollination specialization and breeding system on floral integration and phenotypic variation in *Ipomea*. **Evolution** 65-2: 350-364
- SAS Institute Inc. 2005. **JMP Versión 5**. Cary N.C., USA.
- Schuller D. 1993. Adaptive radiation along genetic lines of least resistance. **Evolution** 50: 1766-1774.
- Smith R.A. y Rausher M.D. 2008. Selection for character displacement is constrained by the genetic architecture of floral traits in the ivyleaf morning glory. **Evolution** 62: 2829-2841.
- Stebbins G.L. 1970. Adaptive radiation of reproductive characteristics in angiosperms I: Pollination mechanisms. **Annual Review of Ecology and Systematics** 1: 307-326.
- Sterns S. 1992. **The evolution of life histories**. Oxford University Press. Nueva York, N.Y.
- Temeles E.J., Linhart Y.B., Masonjones M. y Masonjones H.D. 2002. The role of flower width in hummingbird bill-length flower-length relationships. **Biotropica** 34: 68-80.
- Thomson J.D. y Wilson P. 2008. Explaining evolutionary shifts between bee and bird pollination: convergence, divergence and direccionalidad. **International Journal of Plant Sciences** 169:23-28.
- Thomson J.D., Wilson P., Valenzuela M. y Malzone M. 2000. Pollen presentation and pollination syndromes, with special reference to *Penstemon*. **Plant Species Biology** 15: 11-29.
- Vázquez J.A., Cuevas R., Cochrane T.S., Iltis H.H., Santana F.J. y Guzmán L. 1995. **Flora de Manantlán**. Universidad de Guadalajara-IMEC BIO/University of Winsonsin-Madison.

- Wagner G.P. 1984. On the eigenvalue distribution of genetic and phenotypic dispersion matrices: evidence for a nonrandom organization of quantitative character variation. **Journal of Mathematical Biology** 21:77-95.
- Waser N.M., Chittka L., Price M.V., Williams N.M. y Ollerton J. 1996. Generalization in pollination systems, and why it matters. **Ecology** 77: 1043-1060.
- Walker J.B., Sytsma K.J., Treutlein J. y Wink M. 2004. *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and Tribe Mentha. **American Journal of Botany** 91: 1115-1125.
- Wester P. y Claßen-Bockhoff R. 2007. Floral diversity and pollen transfer mechanisms in bird-pollinated *Salvia* species. **Annals of Botany** 100: 401-421.
- Williams, G. 1992. **Natural Selection. Domains, Levels and Challenges**. Oxford University Press. Oxford.
- Wilson P., Castellanos M.C., Wolfe A.D. y Thomson J. 2004. Shifts between bee and bird pollination in *Penstemons*. En Waser M. y Ollerton J. **Plant-Pollinator Interactions. From Specialization to Generalizations**. University of Chicago Press, Chicago, Illinois.
- Wilson P., Wolfe A.D., Armbruster W.S. y Thomson J. 2007. Constrained liability in floral evolution: counting convergent origins of hummingbird pollination in *Penstemon* and *Keckelia*. **New Phytologist** 176: 883-890.

ANEXO 1

Tabla 1. Atributos florales de tres especies de *Salvia* con diferentes síndromes de polinización. Se presenta la media y la desviación estándar de cada atributo por especie.

ATRIBUTO FLORAL	<i>S. longispicata</i>		<i>S. mexicana</i>		<i>S. iodantha</i>	
	<i>melitófila</i>		<i>melitófila y</i>		<i>ornitófila</i>	
	\bar{x}	S	\bar{x}	S	\bar{x}	S
Longitud total de la flor	14.35	1.29	22.36	0.98	24.17	1.81
Longitud labio inferior	7.51	0.84	7.60	0.51	3.58	0.44
Longitud tubo de la corola	7.86	0.58	15.31	0.84	19.50	1.44
Ancho del tubo de la corola	2.79	0.46	5.05	0.28	3.07	0.33
Longitud total del estilo	10.36	0.77	20.33	1.08	29.93	1.88
Longitud del balancín	3.22	0.25	7.56	0.44	7.71	0.78
Longitud apertura flor-gineceo	5.77	0.39	12.05	0.81	16.90	1.26
Longitud teca-balancín	2.22	0.30	4.17	0.38	9.87	1.14

Tabla 2. Resultados de las pruebas univariadas del MANOVA. Se muestran las correlaciones significativas entre ocho atributos florales medidos en las tres especies de *Salvia* con diferentes síndromes de polinización.

Fuente de variación	MS	F
LT x LI	12.15	8.57**
LT x TC	53.84	15.16***
LT x TE	50.00	8.76**
LT x LB	4.62	5.51**
LT x AG	25.36	8.32***
LT x TB	18.48	12.15***
LI x LB	0.42	3.90*
LI x TB	0.65	3.54*
TC x TE	43.80	14.12***
TC x TB	5.75	11.06***
TC x AG	25.36	15.00***
TC x TB	15.86	16.15***
AT x TE	0.72	3.19*
AT x AG	0.36	3.16*
TE x AG	24.38	7.89***
TE x TB	12.80	6.95**
LB x AG	3.65	9.91***
LB x TB	4.75	10.68***
AG x TB	5.94	7.45***

(LT) largo total de la flor, (LI) largo del labio inferior, (TC) largo del tubo de la corola, (AT) ancho del tubo de la corola, (TE) largo total del estilo, (LB) largo del balancín, (AG) largo de la apertura de la flor al gineceo, (TB) largo teca-balancín. Los grados de libertad para la categoría de especie y el error fueron de 2 y 177 respectivamente. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

Tabla 3. Gradientes de selección en *Salvia iodantha* obtenidos a partir del modelo de regresión múltiple, indicando selección direccional sobre caracteres individuales.

Fuente de variación	β	Error estándar	F	P
LTstd	-0.72954	0.292417	6.2243	0.0159*
LIstd	0.4140906	0.107891	14.7305	0.0003*
TCstd	0.077126	0.297138	0.0674	0.7962
ATstd	0.0114659	0.086515	0.0176	0.8951
TEstd	0.0443722	0.137712	0.1038	0.7486
LBstd	-0.01249	0.136765	0.0083	0.9276
AGstd	0.2352691	0.212658	1.2240	0.2738
TBstd	-0.031063	0.128011	0.0589	0.8092

(LT) largo total de la flor, (LI) largo del labio inferior, (TC) largo del tubo de la corola, (AT) ancho del tubo de la corola, (TE) largo total del estilo, (LB) largo del balancín, (AG) largo de la apertura de la flor al gineceo, (TB) largo teca-balancín.

Tabla 4. Gradientes de selección en *Salvia iodantha* obtenidos a partir del modelo de regresión múltiple, indicando selección direccional sobre los componentes principales.

Fuente de variación	β	Error estándar	F	P
PC1	-0.094285	0.035031	7.2442	0.0096 *
PC2	0.1394076	0.064384	4.6883	0.0351*
PC3	0.0752048	0.083925	0.8030	0.3744
PC4	-0.203861	0.101199	4.0580	0.0493*
PC5	0.027695	0.121894	0.0516	0.8212
PC6	0.3207702	0.158679	4.0865	0.0485*
PC7	0.558113	0.25082	4.9513	0.0305*
PC8	0.5268125	0.408165	1.6659	0.2026

(LT) largo total de la flor, (LI) largo del labio inferior, (TC) largo del tubo de la corola, (AT) ancho del tubo de la corola, (TE) largo total del estilo, (LB) largo del balancín, (AG) largo de la apertura de la flor al gineceo, (TB) largo teca-balancín.

Tabla 5. Variación entre individuos de tres especies de *Salvia* con diferentes síndromes de polinización. Se presentan los coeficientes de variación de cada atributo por especie.

ATRIBUTO FLORAL	CV		
	<i>S. longispicata</i>	<i>S. mexicana</i>	<i>S. iodantha</i>
Longitud total de la flor	4.50	9.76	7.34
Longitud labio inferior	7.63	12.34	12.92
Longitud tubo de la corola	5.33	8.00	7.40
Ancho del tubo de la corola	6.90	20.99	10.33
Longitud total del estilo	5.65	7.63	6.23
Longitud del balancín	5.75	9.08	9.70
Longitud apertura flor-gineceo	6.92	7.45	6.93
Longitud teca-balancín	9.71	14.32	11.11

Tabla 6. Variación entre las tres especies de *Salvia* con diferentes síndromes de polinización incluidas en el estudio. Se presentan los coeficientes de variación de cada atributo por especie.

ATRIBUTO FLORAL	CV
Longitud total de la flor	22.42
Longitud labio inferior	32.17
Longitud tubo de la corola	34.12
Ancho del tubo de la corola	29.45
Longitud total del estilo	39.79
Longitud del balancín	34.98
Longitud apertura flor-gineceo	38.68
Longitud teca-balancín	61.90

Tabla 7. Variación en la adecuación (W) entre individuos de tres especies de *Salvia* con diferentes síndromes de polinización. Se presenta la media y los coeficientes de variación de la adecuación por especie.

	<i>S. longispicata</i>	<i>S. mexicana</i>	<i>S. iodantha</i>
\bar{x}	0.58	0.34	0.17
CV	42.96	45.50	68.70

* El valor del coeficiente de variación para la adecuación entre las tres especies es de 68.22.