



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE ECOLOGÍA

Biología Evolutiva

TÍTULO DEL PROYECTO

Patrones de variación intraindividual en la producción de néctar en

Echeveria gibbiflora

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

BLANCA MEJIA ALVA

TUTOR(A) PRINCIPAL DE TESIS:

DRA. KARINA BOEGE PARÉ, INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR

DRA. MARIA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA, FES – IZTACALA, UNAM

DR. LUIS ENRIQUE EGUIARTE FRUNS, INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE ECOLOGÍA

Biología Evolutiva

TÍTULO DEL PROYECTO

Patrones de variación intraindividual en la producción de néctar en

Echeveria gibbiflora

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

BLANCA MEJIA ALVA

TUTOR(A) PRINCIPAL DE TESIS:

DRA. KARINA BOEGE PARÉ, INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR

DRA. MARIA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA, FES – IZTACALA, UNAM

DR. LUIS ENRIQUE EGUIARTE FRUNS, INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM



Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted, que el Subcomité de Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas, en su sesión ordinaria del día 07 de abril de 2014, aprobó el jurado para la presentación de su examen para obtener el grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** de la alumna **MEJIA ALVA BLANCA** con número de cuenta **301163307** con la tesis titulada **“PATRONES DE VARIACIÓN INTRAINDIVIDUAL EN LA PRODUCCIÓN DE NÉCTAR EN *Echeveria gibbiflora*.”**, realizada bajo la dirección de la **DRA. KARINA BOEGE PARE:**

Presidente: DR. CESAR AUGUSTO DOMINGUEZ PEREZ-TEJADA
Vocal: DR. JUAN FRANCISCO ORNELAS RODRIGUEZ
Secretario: DR. LUIS ENRIQUE EGUIARTE FRUNS
Suplente: DR. VICTOR PROSPERO PARRA TABLA
Suplente: DR. FRANCISCO ELIZANDRO MOLINA FREANER

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU”
Cd. Universitaria, D.F., a 10 de junio de 2014.

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA



c.c.p. Expediente del (la) interesado (a).

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

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

Al PAPIIT IN - 215010 Selección natural de las trayectorias ontogenéticas de las defensas de las plantas, por el financiamiento a este proyecto de investigación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por otorgar la beca número 290733 durante el transcurso de esta investigación.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Al Instituto de Ecología, UNAM por el apoyo durante esta investigación.

A la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel por permitir la realización de esa investigación.

A la Dra. Karina Boege Paré por su asesoría durante la realización de esta investigación.

A la Dra. María del Coro Arizmendi y al Dr. Luis E. Eguiarte Fruns por fungir como miembros del comité tutor durante este proyecto de investigación.

Al M. en C. José Rubén Pérez Ishiwara por todo el apoyo logístico brindado específicamente con la organización de las salidas al campo, la administración del material y la ayuda en el laboratorio.

A los miembros del jurado que evaluó la calidad de este trabajo, y por su contribución con valiosos comentarios que enriquecieron este trabajo: Dr. Cesar Augusto Domínguez Pérez Tejada, Dr. Luis Enrique Eguiarte Fruns, Dr. Juan Francisco Ornelas, Dr. Victor Parra Tabla y el Dr. Francisco Molina.

Agradezco a la Dra. Karina Boege Paré primeramente por transmitirme e inspirarme al conocimiento de las interacciones bióticas y por su constante apoyo y asesoría durante la realización de esta investigación.

Al Dr. Juan Fornoni Agnelli por compartir su entusiasmo y conocimiento por la naturaleza y todas sus interacciones. Especialmente agradezco todas las recomendaciones durante la planeación y desarrollo de la investigación.

Al Dr. Cesar Domínguez por sus comentarios y apoyo para la planeación de la investigación.

Un trabajo tan extenso como este no pudo haber sido posible sin la ayuda de todas esas personas, muchos que sin ser biólogos, aguantaron aquellas largas jornadas de trabajo bajo los rayos del sol invernal y espinas por doquier. Julio Alejandro Romero, Fernando López, Nikolay Luna, Nallely Suarez, Unath León, Sofia Ochoa, Xóchitl Damián, Luz Palestina, Yilot Casares, Guadalupe Andraca, Sergio Ramos, Miguel Castañeda, Blanca E. Alva, Miguel A. Mejia, Mariana Bernal, Alfredo Reyes, a todos ustedes muchas gracias por su valiosa compañía y trabajo en el campo.

Y porque el trabajo no solo fue en campo, agradezco a Jazmín, Gabriela Mejia y Marilu Castañeda por su apoyo en el laboratorio durante el conteo de semillas.

Agradezco a la M en C. Sofía Ochoa y al Dr. Diego Carmona por su asesoría estadística.

Agradezco a todos los integrantes del laboratorio Interacción Planta – Animal IE, UNAM, por todas sus enseñanzas, consejos, comentarios, criticas, buenos momentos compartidos (Karina, Juan, Cesar, Sofi, Xochitl, Nora, Sergio, Carlitos, Luz, Diego, Lupita, Paula, Julio, Rubén, Fátima, Ana, Fernanda).

Agradezco a mis padres Francisco Mejia y Blanca E. Alva, por todo su apoyo incondicional por motivarme a la vida, y por ser un gran ejemplo.

A Miguel A. Mejia y Gabriela Mejia por compartir mis alegrías y apoyarme con los grandes retos.

A Mariana y Alejandro, por ser mi más grande inspiración.

A Unath León por ser parte de mis pasiones y apoyarme bajo cualquier circunstancia y locura.

A mis padres:

Blanca E. Alva Fragoso

J. Francisco Mejia Ramirez

INDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
Patrón de producción de néctar.....	2
Aversión al riesgo.....	3
Variación intraindividual en el néctar.....	4
Despliegue floral y riesgo de autopolinización.....	5
OBJETIVOS.....	6
HIPÓTESIS.....	6
ANTECEDENTES.....	9
Sistema de estudio.....	9
Sitio de estudio.....	11
MÉTODOS.....	12
Procedimientos de campo.....	12
<i>i.</i> Determinación de la variación ontogenética en la producción de néctar.....	12
<i>ii.</i> Determinación del patrón ontogenético en la producción de semillas.....	14
<i>iii.</i> Determinación del ajuste facultativo en la producción de néctar de <i>E.</i> <i>gibbiflora</i>	14

Análisis de datos.....	15
- Caracterización ontogenética de la producción de néctar.....	16
- Producción de néctar durante los días que permanece abierta la flor.....	17
- Patrón ontogenético en la producción de semillas.....	17
- Ajuste facultativo en la producción de néctar.....	18
RESULTADOS.....	18
Periodo de floración y producción de néctar.....	25
Producción de néctar.....	20
Patrones de producción y variación del néctar.....	21
Caracterización ontogenética de la producción de néctar.....	21
Patrón de producción ontogenética de semillas.....	26
Ajuste facultativo en la producción de néctar de <i>E. gibbiflora</i>	27
DISCUSIÓN.....	28
Patrones de producción de néctar en <i>Echeveria gibbiflora</i>	30
Producción ontogenética de néctar y semillas.....	30
Producción de néctar durante la vida de la flor.....	32
Ajuste facultativo en la producción de néctar.....	33
CONCLUSIÓN.....	35
REFERENCIAS.....	36

RESUMEN

En la interacción planta – polinizador, las plantas producen néctar para inducir las visitas del polinizador más eficiente. La producción de esta recompensa puede determinar el destino reproductivo de cada flor dependiendo de su posición ontogenética dentro de las inflorescencias. En este trabajo se determinó el patrón de producción de néctar dentro de las inflorescencias de *E. gibbiflora* (Crassulaceae) en condiciones naturales y las posibles causas que podrían detonar un ajuste intraindividual en su producción. Encontré que las inflorescencias en esta especie presentan un patrón ontogenético en la producción de néctar relacionado al lugar que cada flor ocupa dentro de la inflorescencia. Las flores basales producen una mayor cantidad de néctar y esta producción disminuye conforme aumenta la distancia apical. Así mismo, la variación intraindividual aumenta en la parte distal de la inflorescencia, cuando los primeros intentos reproductivos (flores basales) ocurren por autopolinización. Dependiendo de los recursos disponibles, la variación observada en la producción de néctar podría ser una estrategia en plantas que fomente la polinización cruzada induciendo visitas cortas y rápidas por parte de los polinizadores.

Palabras clave: Ontogenia, recompensa, geitonogamia, estrategia tramposa, aversión al riesgo.

ABSTRACT

In the plant - pollinators interaction, the plants produce nectar to induce more efficient pollinator visits. The production of this reward may determine the reproductive fate of each flower depending on their ontogenetic position within inflorescences. In this study the pattern of nectar production in the inflorescences of *E. gibbiflora* (Crassulaceae) under natural conditions and the possible causes that could trigger a production of an intraindividual adjustment was determined. I found that inflorescences in this species have an ontogenetic pattern in nectar production related to the place that occupies within the inflorescence. Baseline flowers produce a greater amount of nectar and this production decreases with apical distance. Likewise, the intraindividual variation increases in the distal part of the inflorescencia, when the first breeding attempts (basal flowers) occur by self-pollination. Depending on available resources, the observed variation in nectar production could be a strategy in plants that leads to cross pollination inducing short and fast visits by pollinators.

Keywords: Ontogeny, reward, geitonogamy, tricky strategy, risk aversion

INTRODUCCIÓN

La polinización es el resultado de la interacción entre plantas y vectores bióticos o abióticos (i. e. polinizadores) que permiten el intercambio de polen entre flores. Cuando es llevada a cabo por animales, éstos visitan las flores para adquirir algún recurso (polen, resinas, aceites, fragancias, néctar). Durante el forrajeo, los polinizadores mueven el polen de flor en flor, favoreciendo la reproducción sexual. La polinización, como toda explotación recíproca, frecuentemente implica conflictos de intereses relacionados con los costos en la interacción para ambas partes (planta - polinizador).

El néctar es una de las recompensas más importantes que ofrecen las flores (Waser 1983; Pyke 1991; Nicholson 2007), y está constituido por azúcar, agua, aminoácidos, antibióticos y metabolitos secundarios (Kessler y Baldwin 2007; Kessler *et al.* 2008; Heil 2011). Los azúcares (sacarosa, fructosa y glucosa) son más abundantes (100 a 1000 veces más concentrados) que los aminoácidos, sin embargo, la presencia de ambos determinan las preferencias de los polinizadores (Heil 2011). La identidad y concentración de sus componentes resultan ser muy diferentes entre especies, probablemente como consecuencia de la coevolución con sus polinizadores (Baker 1975; Pyke y Waser 1981; Baker y Baker 1983).

La producción de néctar requiere de una alta demanda energética, que puede representar hasta el 30% de los fotosintatos adquiridos en un día por una planta (Southwick 1984). Por esta razón, la energía utilizada para su elaboración puede reducir la asignación de recursos a otras funciones tales como la producción de hojas y brotes, el crecimiento de la raíz, el mantenimiento de las plantas y la maduración de frutos, entre otras (Southwick,

1984; Pyke 1991). Sin embargo, son pocos los estudios que han detectado los costos en la producción de néctar asociado con la adecuación (peso de las semillas; Pyke 1991; Ashman y Schoen 1997; Ordano y Ornelas 2005; Ornelas y Lara 2009).

Patrón de producción de néctar. La dinámica de la producción de néctar durante la vida de una flor puede ejercer una fuerte influencia sobre las decisiones de forrajeo de los polinizadores. La producción y composición del néctar tiende a sincronizarse con el periodo de actividad y las necesidades alimenticias de los polinizadores más efectivos (Stebbins 1970; Galetto y Bernardello 2004, 2005; Agostini *et al.* 2011). Por ejemplo, las flores que son polinizadas por animales de actividad diurna producen néctar durante el día, y las que son polinizadas por animales nocturnos lo producen en la noche (Cruden *et al.* 1983). Generalmente, las flores comienzan la secreción de néctar antes de que empiece la actividad de forrajeo de los polinizadores (Pleasants 1983), y esta puede ser continua durante la antesis de la flor hasta la senescencia o puede detenerse o modificarse en algún momento (Galetto y Bernardello 2004; Pacini y Nepi 2007). Por ejemplo, Amorim y colaboradores (2013) han reportado que en plantas de la especie tropical *Inga sessilis*, la presencia de ciertos azúcares en el néctar depende del momento de su producción. El néctar de esta especie contiene sacarosa y hexosa (fructosa y glucosa) pero la abundancia de estos compuestos está determinada por el momento de su producción (i.e. día / noche). Se ha reportado que el néctar de las flores que son visitadas por colibríes y esfíngidos está compuesto predominantemente por sacarosa, mientras que los murciélagos prefieren néctar rico en hexosa (Baker y Baker 1983; Galetto y Bernardello 2003). En esta especie la composición de azúcares en el néctar cambia a lo largo de la vida de la flor y dependiendo del tipo de polinizador que las visita, lo que demuestra cómo las plantas pueden ajustar las tasas de producción de néctar de acuerdo a la intensidad de consumo de los polinizadores.

Aversión al riesgo. Para entender las posibles estrategias adaptativas de las plantas asociadas con la polinización, es necesario saber cómo los polinizadores alteran su comportamiento en respuesta a cambios en las características de las plantas como el número de flores y/o la producción de néctar (Pyke 1980). Las decisiones de forrajeo de los polinizadores implican inversión de tiempo y energía para discernir si forrajear en una planta es costeable o no en términos de los recursos que se obtendrán en un momento dado (Hainswort *et al.* 1976). Por lo tanto, encontrar cantidades variables de recompensa en una misma planta puede representar un incremento en los costos de forrajeo, y a la larga, una gran inversión de tiempo (Bell 1986; Schaefer *et al.* 2004; Raine *et al.* 2006; Goulson *et al.* 2007). La ganancia neta de energía para los polinizadores está determinada principalmente por su capacidad de obtener alimentos y la dificultad de adquirirlos (costos), así como del arreglo y características de las flores, el volumen la concentración del néctar (Badgerow. *et al.* 1981). En este escenario, la selección puede favorecer a aquellos polinizadores que obtienen una cantidad máxima de recompensa, con una inversión mínima de tiempo de forrajeo y energía consumida al seleccionar y adquirir sus alimentos. La teoría de aversión al riesgo predice que los animales con grandes demandas energéticas deben reducir al mínimo la probabilidad de que sus reservas energéticas decaigan por debajo del umbral de supervivencia por la elección de un alimento de poca calidad (regla del balance de energía; Stephens 1981). En este sentido, las decisiones de forrajeo de los polinizadores dependen en gran medida de la distribución de la variabilidad de recompensa que ofrece una planta (Pleasants y Chaplin 1983). Como consecuencia, las plantas pueden manipular la duración y frecuencia de las visitas de los polinizadores, al incrementar o reducir la variación intraindividual en la calidad y cantidad de néctar. Esta estrategia puede promover una mayor eficiencia en la dispersión del polen y/o minimizar la inversión en néctar floral (Bell

1986; Biernaskie *et al.* 2002). Por otro lado, al aumentar la variación intraindividual en cantidad y/o calidad de néctar, las plantas pueden disminuir el promedio de su producción (Soberón y Martínez del Río 1985) de manera impredecible para los polinizadores, lo que permitiría una reducción en los costos energéticos sin reducir los beneficios de la polinización.

Variación intraindividual en el néctar. La magnitud de la variación (dentro y entre individuos) de recursos que las plantas ofrecen a sus polinizadores es generalmente alta (Herrera y Soriguer 1983; Herrera *et al.* 2006), y tradicionalmente se ha interpretado como una gran susceptibilidad de dichos atributos a fluctuaciones ambientales (Stebbins 1950). Sin embargo, la variación intraindividual en la producción de néctar puede tener otras causas intrínsecas, como la edad de la flor. En el caso particular de plantas que producen inflorescencias, las flores inician su desarrollo a lo largo del tallo de manera secuencial en una "*posición ontogenética*" y momento determinado, lo que influye directamente en sus características (Diggle 1997; 2003). En particular, la cantidad de recursos disponibles para el desarrollo de todas las flores puede ir disminuyendo conforme se estas se van desarrollando secuencialmente (de la base al ápice), lo que se refleja directamente en un aumento en la variación intraindividual de las características de las flores y frutos. En general, el desarrollo y el éxito en la polinización de las primeras flores (en posición basal) en una inflorescencia puede promover ajustes facultativos en la expresión de algunas características particulares de las flores, en función del estímulo (tipo y/o ocurrencia de fecundación) recibido en las primeras flores (Diggle 2003), como se describe más adelante.

Despliegue floral y riesgo de autopolinización. El despliegue floral puede promover un gran número de visitas de polinizadores a las plantas. Sin embargo, esto también aumenta saturación de polen en el cuerpo del polinizador y por lo tanto, la probabilidad de autopolinización en la misma inflorescencia (i.e. geitonogamia). Por lo tanto, las plantas se enfrentan a un “dilema” entre ser más atractivas e inducir muchas visitas de polinizadores y/o aumentar la probabilidad de autofecundación y los costos asociados a la producción de recompensas (Klinkhamer y de Jong 1993). El presentar cantidades variables de néctar puede representar una solución al dilema y una estrategia adaptativa que permite por un lado reducir la producción promedio de néctar en todas las flores y al mismo tiempo promover visitas cortas y rápidas de los polinizadores, reduciendo la probabilidad de geitonogamia (Bernaskie *et al.* 2002; Herrera 2009; Benítez-Vieyra *et al.* 2010).

En este contexto, la variación intraindividual en el néctar podría ser el resultado de un ajuste facultativo, como consecuencia del éxito reproductivo y/o del tipo de polinización (autopolinización vs. polinización cruzada) de los eventos reproductivos anteriores. Las plantas que han asegurado cierto nivel de adecuación en sus primeras estructuras reproductivas, podrían tomar el riesgo de modificar la inversión de recursos en eventos reproductivos subsecuentes. En este contexto, la variación facultativa intraindividual en la producción de recompensas puede tener un componente adaptativo, al mediar las interacciones de intercambio de recursos y servicios en respuesta de la disponibilidad y eficiencia de polinizadores así como de la calidad de la polinización (i.e. autopolinización vs polinización cruzada). Sin embargo, actualmente se desconoce el potencial de ajuste facultativo en la variación de la recompensa (néctar) a nivel intraindividual, y en particular durante el desarrollo ontogenético de las inflorescencias.

OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo fue determinar la variación ontogenética en la producción de néctar en las inflorescencias de *Echeveria gibbiflora*.

Los objetivos particulares fueron:

- i) determinar la variación ontogenética en la producción de néctar,
- ii) describir el patrón ontogenético de la producción de semillas, y
- iii) evaluar el ajuste facultativo en la producción de néctar durante la ontogenia de la inflorescencia, en función del tipo de polinización (autopolinización ó polinización cruzada).

HIPÓTESIS

1. De acuerdo con la ontogenia de la inflorescencia, la asignación de recursos para la recompensa (volumen y azúcar) es mayor en las flores basales y menor en las flores subsecuentes (Figura 1). Esto debido a que las primeras flores de la inflorescencia (basales) están más cerca de la fuente de recursos, y la asignación de recursos en éstas estructuras disminuye conforme aumenta la distancia basal (Diggle 1997).

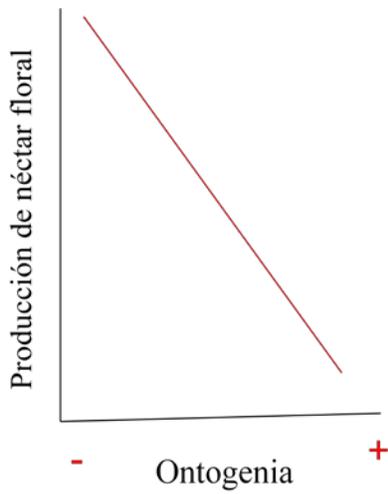


Figura 1. Hipótesis sobre la producción del néctar asociado al desarrollo ontogenético dentro de la inflorescencia.

2. Si la planta asigna más recursos al desarrollo de las flores-frutos basales el presupuesto energético disminuye para los siguientes órganos, por lo que la producción de semillas disminuye en el mismo sentido (Figura 2).

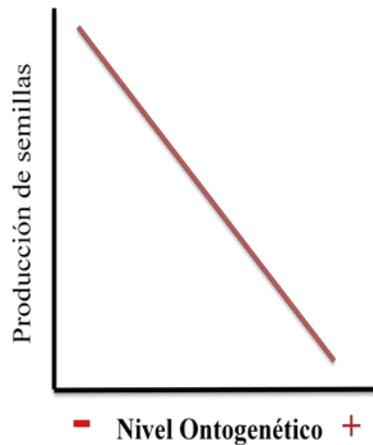


Figura 2. Hipótesis sobre la producción de semillas asociada al nivel ontogenético de las flores dentro de la inflorescencia.

3. Después de asignar más recursos a los primeros intentos de reproducción (flores basales), la planta incrementa la variación en el néctar (volumen y azúcar) en flores subsecuentes, lo que se traduce en un aseguramiento de los mejores intentos reproductivos (flores basales) y visitas en las flores subsecuentes (flores distales). Como consecuencia, los polinizadores encuentran mayor variación en las recompensas a lo largo del desarrollo de la inflorescencia de manera impredecible para los polinizadores (Figura 3).

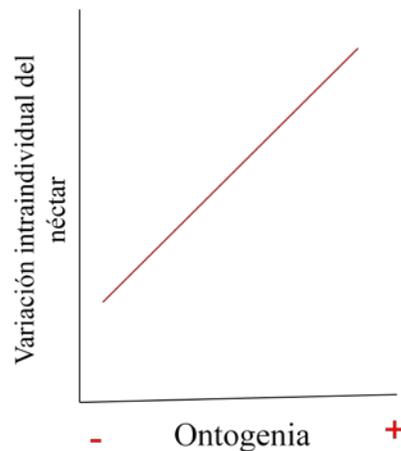


Figura 3. Hipótesis sobre la relación entre la variación intraindividual del néctar y la posición de la flor dentro de la inflorescencia.

4. Si las flores basales son polinizadas con polen de la misma inflorescencia (i. e. geitonogamia), la producción intraindividual de néctar de las flores subsecuentes (distales) podrían ser más variables en comparación con aquellas inflorescencias en donde las flores basales son polinizadas con por polinización cruzada.

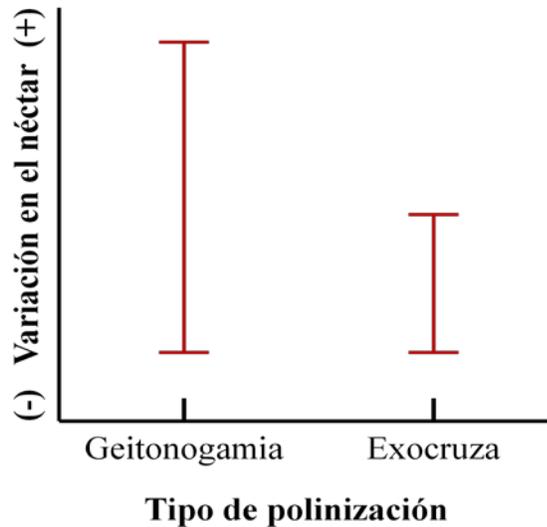


Figura 4. Hipótesis sobre la relación entre la variación intraindividual del néctar y el tipo de polinización.

ANTECEDENTES

Sistema de estudio. *Echeveria* (Crassulaceae) es un género Neotropical compuesto por 145 especies de las cuales 81% se encuentran en México (Jimeno 2008). *Echeveria gibbiflora* son plantas suculentas, con hojas dispuestas en una roseta basal alrededor de un tallo postrado, aunque también se distribuyen a lo largo del tallo de la inflorescencia en forma alterna. Las inflorescencias son del tipo panícula y florecen durante la estación seca (octubre–enero; Larson 1992; Figura 5-A).

Las flores rojas y tubulares de esta especie tienen características del síndrome de polinización por colibríes. En el sitio de estudio, observaciones previas han documentado como su principal polinizador a la especie de colibrí *Cynanthus latirostris* (Parra-Tabla 1988; Eguiarte *et al.* 1994; Vargas y Parra-Tabla 2002). Sin embargo, trabajos recientes reportan la visita de *Apis mellifera* (Domínguez-Álvarez, 2009; obs. pers). Las flores

contienen 10 estambres y 5 estilos, presentan dos verticilos de estambres; el gineceo es súpero y presentan una escama nectarífera en la base de cada carpelo (Jimeno-Sevilla 2008. Figura 5, B-C). La flor permanece abierta entre 7 y 8 días, periodo en el que puede ser polinizada (Parra-Tabla 1988; Figura 5, D-E). A pesar de ser auto-compatible, las visitas de polinizadores son necesarias para producir semillas. Los frutos son secos dehiscentes, y producen alrededor de 200 semillas por fruto (Figura 5, F-G). Las semillas son dispersadas por el viento. Cuando caen al suelo pueden ser dispersadas por hormigas, ratones, viento ó agua (Eguiarte *et al.* 1994). La población de estudio parece no tener depresión endogámica detectable (Parra-Tabla *et al.* 1993).

Las flores de *E. gibbiflora* no presentan ninguna separación temporal en la maduración de los órganos sexuales, ya que tanto la dehiscencia de las anteras como la receptibilidad de los estigmas suceden de manera simultánea. El que dichos órganos maduren al mismo tiempo (alrededor del cuarto día; Parra-Tabla 1988) podría promover la autofecundación. Las flores tienen las anteras a la misma altura de los estigmas, lo que facilita la autopolinización en el momento en el que el colibrí introduce el pico a la flor (Eguiarte *et al.* 1994). La autofecundación como mecanismo reproductivo resulta ineficiente en la especie, ya que cuando se llega a presentar la producción de frutos y semillas es muy baja (Parra-Tabla *et al.* 1998). Se ha sugerido que esta especie aparentemente presenta limitación en su fecundidad por polinizadores, ya que observaron que las exocruzadas manuales aumentaron significativamente la producción de frutos (Eguiarte *et al.* 1994; Parra-Tabla *et al.* 1998). Se ha reportado que el pico de producción de néctar junto con la dehiscencia de las anteras y la receptividad de los estigmas acontece alrededor del cuarto día de anthesis a las 09:00 am, cuando ocurre la apertura máxima de la flor (Parra-Tabla 1988).

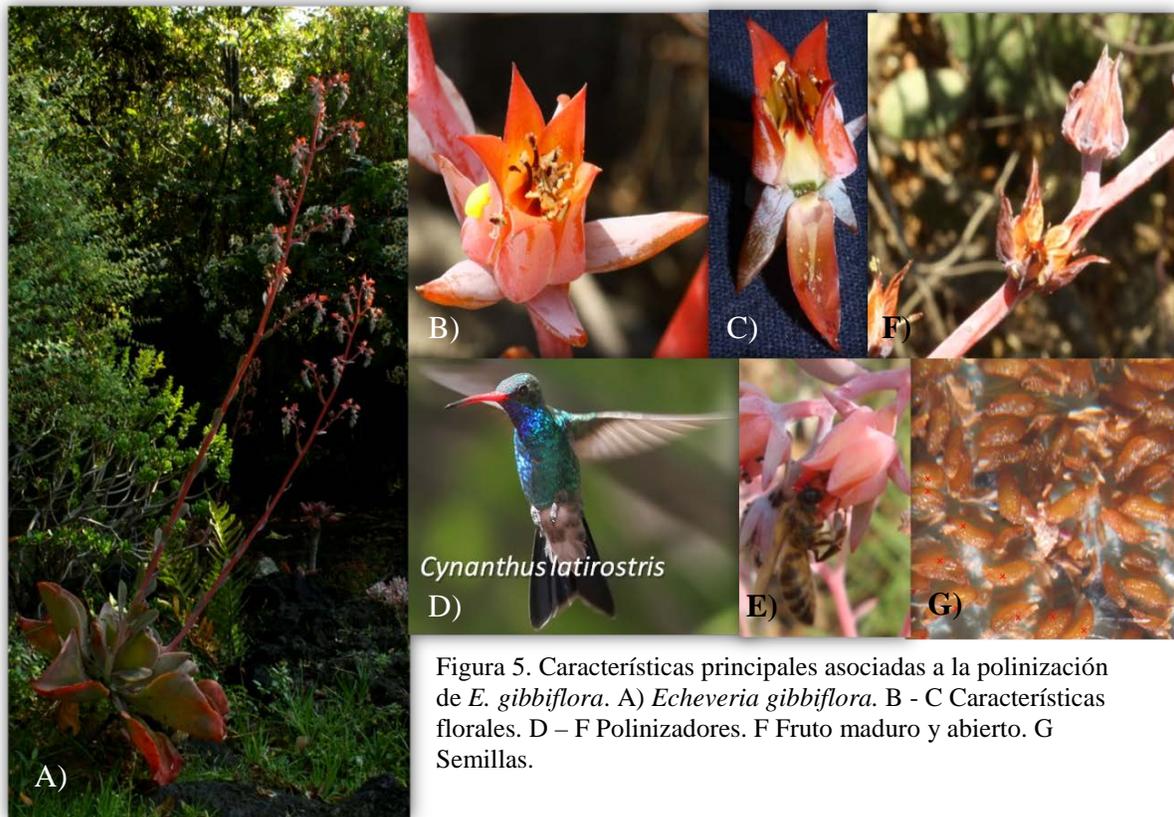


Figura 5. Características principales asociadas a la polinización de *E. gibbiflora*. A) *Echeveria gibbiflora*. B - C Características florales. D - F Polinizadores. F Fruto maduro y abierto. G Semillas.

Sitio de estudio. La Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA), se localiza al suroeste de la Ciudad de México, dentro de Ciudad Universitaria (19°18'31"N, 99°10'20" O), a una altitud de 2200 – 2277 m sobre el nivel del mar (msnm). El clima es templado sub húmedo con lluvias en verano (García 1988). La temperatura media anual es de 15.7° C y la precipitación promedio anual de 838.2 mm (Gómez y Sánchez 2004). La temporada de lluvias es de junio a octubre y de secas de noviembre a mayo. El ecosistema es producto del derrame de lava durante la erupción del volcán Xitle hace más de 2000 años (Rzedowski 1954). Como consecuencia del enfriamiento irregular del material magmático, se generó una gran heterogeneidad espacial y por lo tanto microambiental. En el terreno presenta la roca madre expuesta, y el suelo es de origen eólico y orgánico, es joven, escaso y poco desarrollado (4.5 ± 0.27 cm), y se acumula en grietas, fisuras y depresiones (Cano-Santana

y Meave 1996). La vegetación predominante es matorral xerófilo, con grandes diferencias en la composición florística (Cano-Santana 1994; Figura 6).



Figura 6. Área de estudio dentro de la Reserva del pedregal de San Ángel. Foto por Blanca Mejía Alva.

MÉTODOS

Procedimientos de campo. En noviembre del 2012, se seleccionaron 60 plantas de *E. gibbiflora* con una sola inflorescencia. En todas las plantas se cuantificó el número de hojas, diámetro de la roseta, altura de la inflorescencia, largo y ancho de la panícula, número de racimos y número de flores dentro de la misma.

i. Determinación de la variación ontogenética en la producción de néctar. Del total de plantas seleccionadas, se eligieron 18 aleatoriamente, sus inflorescencias se aislaron con una bolsa de tul fino para evitar el acceso de los visitantes florales (Figura 7a). A partir de

la apertura de la primera flor, se extrajo el néctar una vez por día con microcapilares de $10\mu l$ (Blaubrand ® intraMark) de todas las flores abiertas después del pico de producción de néctar (a partir de las 09:00 am; Parra-Tabla 1988) durante toda la antesis. Se determinó el volumen de néctar con ayuda de un vernier electrónico y el porcentaje de sacarosa en escala BRIX ($^{\circ}Bx$) con un refractómetro portátil. La escala $^{\circ}Bx$ se usa como medida equivalente de sacarosa, esta medida nos permite estimar la cantidad total de azúcar que un polinizador obtendrá en cada visita floral. Para comparar la producción de néctar (volumen y azúcar) por flor y la cantidad de semillas por fruto, se dividió la inflorescencia en dos partes dependiendo de la cantidad de racimos en cada planta (dividiendo el número de flores entre 2, Figura 7b

Esto permitió separar las flores y frutos basales (nivel 1) de los distales (nivel 2).

A)



B)



Figura 7. A) Exclusión de visitantes florales para la caracterización de la producción de néctar. B) Representación esquemática de la división en la inflorescencia para determinar la producción ontogénica y entre niveles (basal vs. apical) de néctar y semillas de *E. gibbiflora*.

Durante la extracción cotidiana del néctar durante la antesis, es muy probable que las flores de este grupo de plantas se hayan autopolinizado, porque el polen y los estigmas receptivos se pegaban en el microcapilar. Por esta razón, este grupo de plantas se utilizó como el tratamiento de “autopolinización”, que nos permitió identificar el ajuste facultativo de la producción de néctar en función del tipo de polinización, como se explica más adelante.

ii. *Determinación del patrón ontogenético en la producción de semillas.* Se seleccionó aleatoriamente un segundo grupo de 20 plantas, las cuales se mantuvieron expuestas continuamente a los polinizadores. Cuando los frutos estuvieron maduros y a punto de abrirse se colectaron para contar y pesar las semillas por fruto. A cada fruto colectado se le asignó un número (categórico) de acuerdo a la ubicación respecto a la base de la inflorescencia. El fruto más basal tenía el uno, y la numeración se incrementó conforme aumentó la cantidad de frutos en la inflorescencia.

iii. *Determinación del ajuste facultativo en la producción de néctar de Echeveria gibbiflora.* Se seleccionó un tercer grupo de 20 plantas. Cada flor de la primera mitad de la inflorescencia se emasculó para evitar la autofecundación, y posteriormente fue polinizada con polen de otra planta (polinización cruzada). Subsecuentemente se caracterizó la producción de néctar en las flores de la segunda mitad de la inflorescencia (Figura 8).

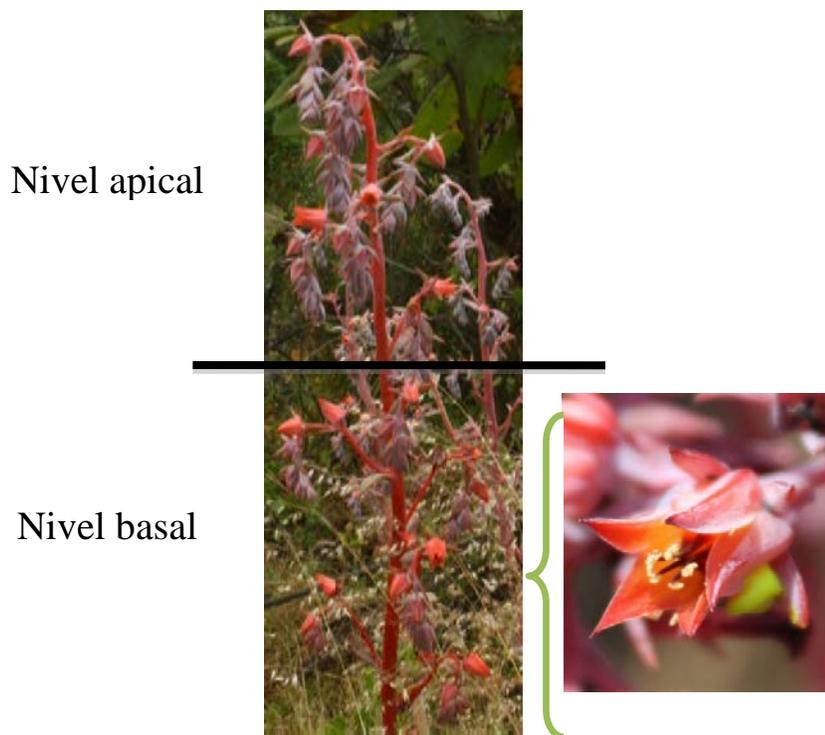


Figura 8. Esquematización del tratamiento para evaluar los ajustes facultativos en la producción de néctar asociados al éxito reproductivo. La parte inferior (nivel basal 1) fue polinizada con polen de otra planta y el néctar se caracterizó en las flores de la parte superior (nivel apical 2) de la inflorescencia.

Al comparar este tratamiento con el primer grupo de plantas en las que se caracterizó el néctar bajo condiciones naturales (considerado como grupo "autopolinización") se evaluó la existencia de ajustes facultativos en la producción del néctar asociado al tipo de polinización.

Análisis de datos.

Producción de néctar. A partir del volumen (μl) y concentración ($^{\circ}Bx$) del néctar se calculó la cantidad de azúcares totales en dicha solución con la siguiente fórmula (Heil 2011):

$$Azúcar (mg) = \frac{(^{\circ}Bx * \mu l)}{100}$$

Para estimar la relación entre los componentes del néctar, se llevaron a cabo análisis correlativos entre el volumen de néctar, la concentración de azúcar ($^{\circ}\text{Bx}$) y la cantidad de azúcar total del néctar.

Caracterización ontogenética de la producción de néctar. Para determinar el patrón de la producción de néctar asociada con la posición ontogenética de cada flor dentro de la inflorescencia, se obtuvo la cantidad total de néctar que produjo cada flor durante los días que permaneció abierta. Se calculó el promedio de producción de néctar (volumen μl y azúcar mg) en cada racimo de la inflorescencia. Se realizaron análisis de varianza con anidamiento, utilizando el promedio del volumen del néctar y del contenido de azúcar como variables de respuesta, la posición ontogenética de cada racimo como factor fijo y la planta como factor aleatorio. Se anidó al racimo en la planta, para controlar el efecto de la variación dependiente de la identidad de la planta. Se realizaron análisis similares utilizando el coeficiente de variación (CV) del volumen de néctar (μl) y cantidad de azúcar (mg) dentro de cada racimo en función de la posición que éstos ocupan dentro de la inflorescencia.

Para determinar si el pico de floración coincide con la cantidad de recompensa ofrecida, se compararon los histogramas en los que se graficó la cantidad total de flores abiertas y la cantidad de néctar total de todas las flores en cada día durante el periodo de floración.

Para comparar la producción de néctar (volumen y azúcar) entre el nivel basal y apical de la inflorescencia, se obtuvo la cantidad total de néctar que produjo cada flor durante todos los días que permaneció abierta la flor. Se calculó el promedio y el CV de producción de néctar (volumen μl y azúcar mg) en cada nivel ontogenético (basal y apical)

en la inflorescencia. Se realizó un análisis de varianza anidado en donde el nivel ontogenético (basal y apical) de cada inflorescencia se determinó como factor fijo y la planta como factor aleatorio. Para controlar el efecto de la variación dependiente de la planta, se anidó el nivel ontogenético en la planta.

Producción del néctar durante los días que permanece abierta la flor. Se calculó el promedio y el CV de néctar (volumen μl y azúcar mg) que produjeron las flores cada día durante la floración. La variación temporal del promedio y el CV de la producción de néctar se determinó utilizando análisis de varianza de medidas repetidas. Las flores fueron anidadas en el factor planta, que también fue incorporado al modelo como factor aleatorio. Las diferencias entre los días de floración se determinaron mediante contrastes *a priori*.

Patrón ontogenético en la producción de semillas. Para determinar el patrón en la producción de semillas asociada con la posición ontogenética de cada fruto dentro de la inflorescencia, se cuantificó la cantidad total de semillas por fruto. Se calculó el promedio de semillas por racimo y se realizó un análisis de varianza anidado con la posición ontogenética de cada racimo como factor fijo (anidado en la planta) y la planta como factor aleatorio.

Para comparar la producción de semillas entre el nivel basal y apical de la inflorescencia, se calculó el promedio de semillas por cada nivel ontogenético (basal y apical) en la inflorescencia. Para comparar la producción de semillas entre niveles, se realizó un análisis de varianza en donde el nivel ontogenético (basal y apical) de cada inflorescencia se determinó como factor fijo y la planta como factor aleatorio. Para controlar el efecto de la variación dependiente de la planta, se anidó el nivel ontogenético en la planta.

Ajuste facultativo de la producción de néctar. Para determinar la presencia de un ajuste en la producción de néctar en los racimos más distales de la inflorescencia, en función del tipo de polinización (autopolinización ó polinización cruzada) de los racimos basales. Se estimó la cantidad de néctar (volumen μl) y el contenido de azúcar (mg) de cada flor. Se calculó el promedio y el CV del nivel distal de la inflorescencias de plantas bajo autopolinización y con polinización cruzada y se utilizó un análisis de varianza para comparar los atributos del néctar entre ambos grupos de plantas.

Los residuales de todas las pruebas de ANOVA cumplieron con los supuestos de homocedasticidad y normalidad, verificada mediante la prueba de ajuste de bondad Shapiro-Wilk. Todos los análisis de este trabajo se realizaron con el programa estadístico R 2.13.1 (R Development Core Team, 2009).

RESULTADOS

Periodo de floración y producción de néctar: La floración ocurrió entre el 11 de noviembre de 2012 y el 23 de enero del 2013, con un pico de floración entre el 25 de noviembre al 1 de diciembre (Figura 9 A). Sin embargo, no todas las flores que permanecieron abiertas produjeron néctar durante todos los días, e inclusive hubo algunas flores que nunca produjeron néctar (*i.e.* flores vacías). El pico de producción de néctar fue entre el 25 de noviembre y el 10 de diciembre (Figura 9 B-C).

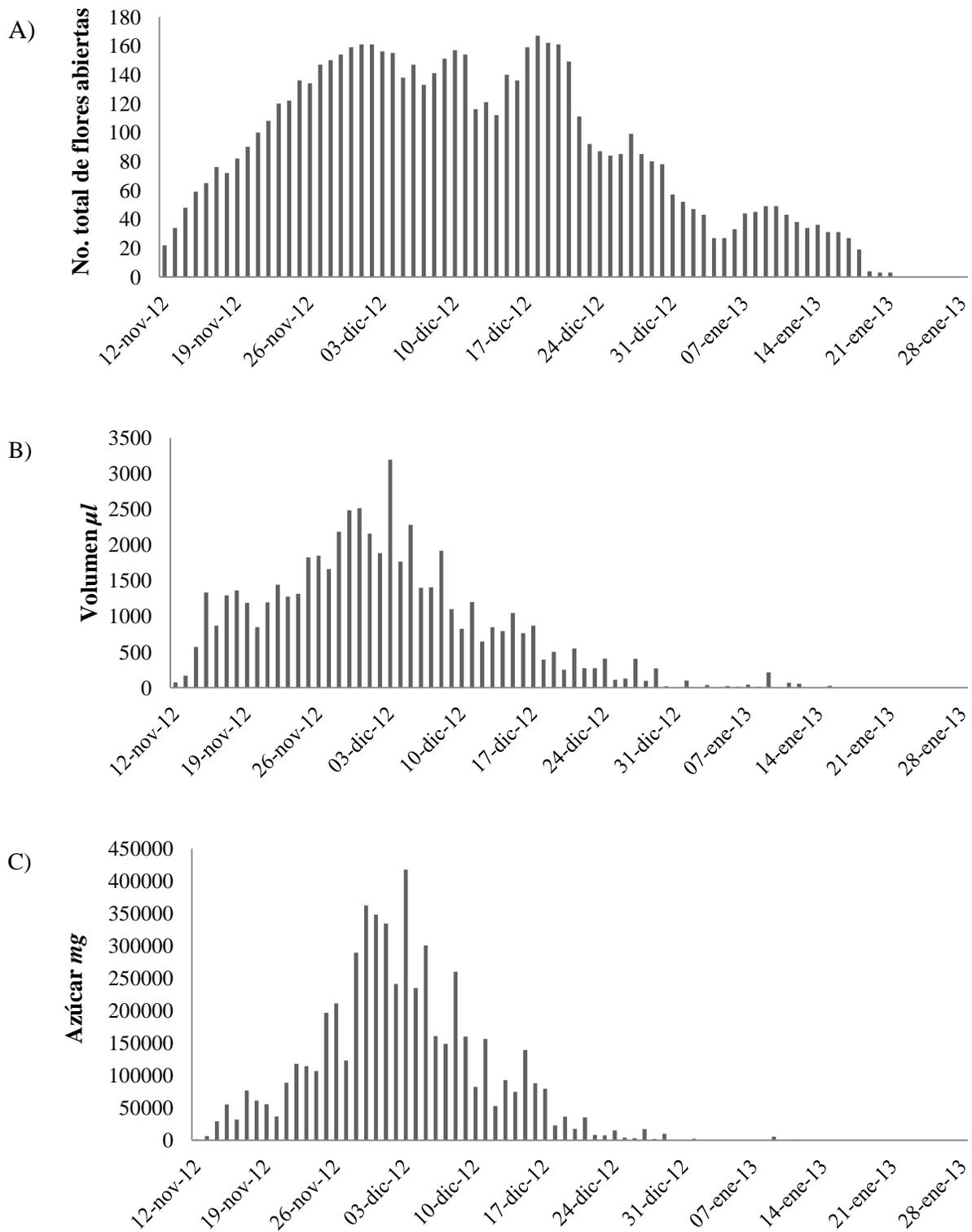


Figura 9. A) Temporada de floración de *E. gibbiflora* en la Reserva del Pedregal de San Ángel: B) Promedio del volumen (μ l), y C) azúcar (mg) por flor.

Producción de néctar. Se encontró una asociación correlativa positiva entre la cantidad (volumen μl) y la calidad (azúcar mg) del néctar. (Figura 10).

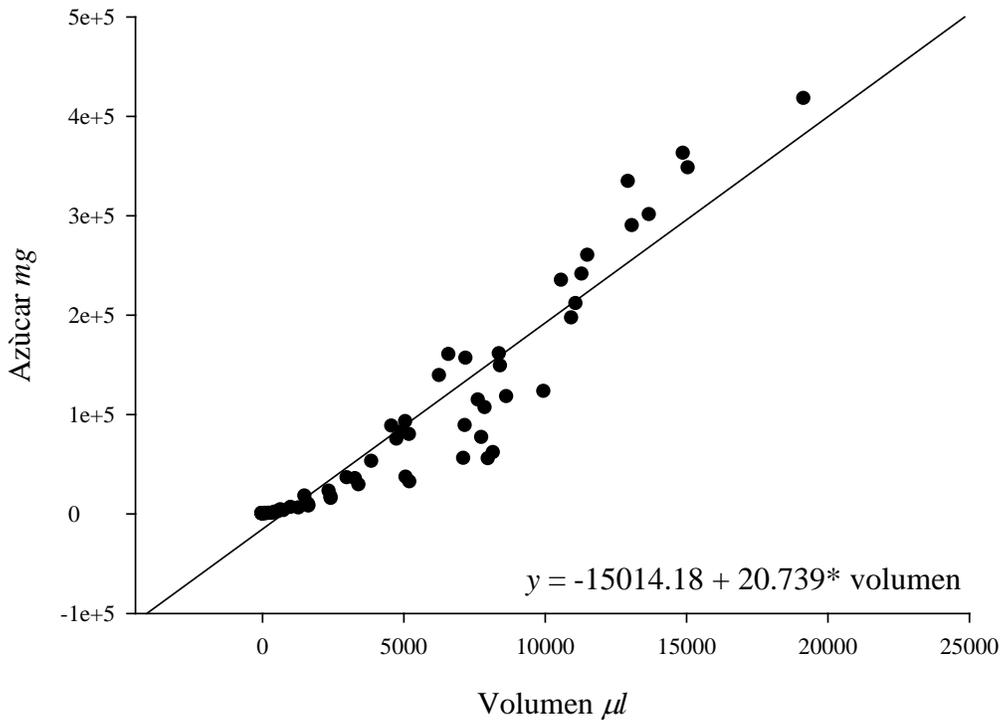


Figura 10. Asociación positiva entre el volumen y el azúcar en el néctar floral. ($p < 0.0001$, $R^2 = 0.90$)

En general, que las plantas de *E. gibbiflora* produjeron en promedio $190.48 \pm 123.41 \mu l$ de néctar floral durante todo el periodo de floración. Así mismo, la asignación de azúcar en del néctar fue de $78.95 \pm 50.20 mg$ ($n = 20$ plantas; $\bar{X} \pm DE$). El análisis correlativo entre el promedio y el coeficiente de variación del volumen (μl ; $CV = 254.94 - 0.49 * Promedio$) y el azúcar (mg ; $CV = 240.50 - 1.038 * Promedio$) mostró una asociación negativa, indicando que las plantas con mayor variación en el néctar producen en promedio una menor cantidad del mismo (Figura 11).

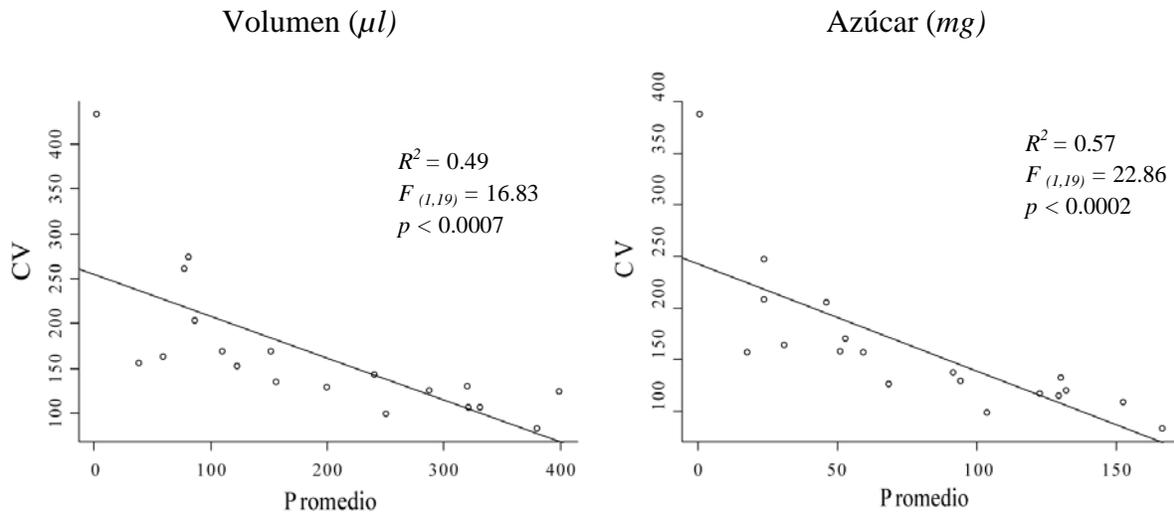


Figura 11. Correlación entre el CV y el promedio: A) volumen (μl), B) azúcar (mg) por planta.

Patrones de producción y variación de néctar

- i. *Caracterización ontogenética de la producción de néctar.* No se encontraron diferencias significativas entre el promedio del volumen del néctar ($F_{(1,19)} = 0.98$, $P = 0.47$) y en su contenido de azúcar ($F_{(1,19)} = 0.86$, $P = 0.62$) en función de la posición ontogenética que ocupa cada racimo dentro de la inflorescencia. Sin embargo, se encontró un efecto significativo de la posición del racimo en la inflorescencia sobre la variación del volumen (CV, $F_{(1,19)} = 2.15$, $P = 0.002$) y el azúcar ($F_{(1,19)} = 1.69$, $P = 0.03$) de el néctar producido por sus flores (Figura 12).

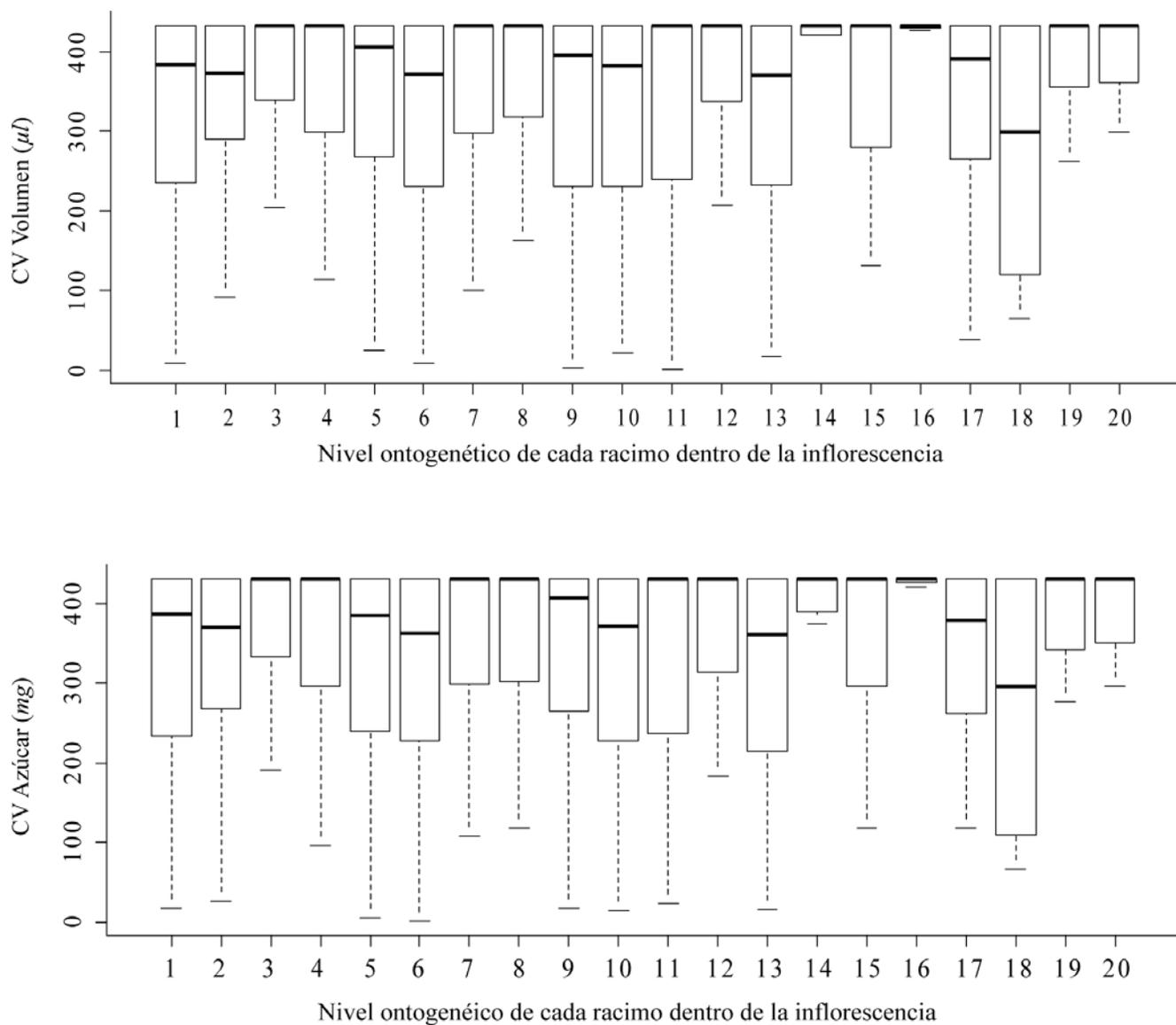


Figura 12. Variación en la producción ontogénica de néctar. Promedio del CV del volumen del néctar y su contenido de azúcar en función de su posición en la inflorescencia (1 = racimo más basal; 20 racimo más apical). Las barras de error representan la variación de la distribución de los datos que van desde el valor mínimo al valor máximo. El diagrama de caja muestra el 25 y 75 percentil, las líneas gruesas la mediana y las líneas delgadas representan el valor máximo y mínimo de la variación de los datos.

Al dividir la inflorescencia en dos niveles (1= basal; 2= apical), se detectó que las flores basales produjeron en promedio más volumen de néctar que las del nivel apical ($\bar{X} = 1074.71 \pm 80.71 \mu l$ y $\bar{X} = 602.4 \pm 433.13 \mu l$) respectivamente ($F_{(1,18)} = 14.19, P = 0.001$). El

promedio de la cantidad de azúcar también fue más alto en el nivel basal (1), ($437.3 \pm 330.16 \text{ mg}$), mientras que el nivel apical (2) tuvo una menor producción de azúcar ($261.5 \pm 194.42 \text{ mg}$; $F_{(1,18)} = 15$, $P = 0.001$; Figura 13). En contraste, no se encontraron diferencias entre niveles de la inflorescencia asociadas con el CV del volumen ($F_{(1,18)} = 0.32$, $P = 0.57$) y el azúcar ($F_{(1,18)} = 0.26$, $P = 0.61$) entre los niveles de la inflorescencia.

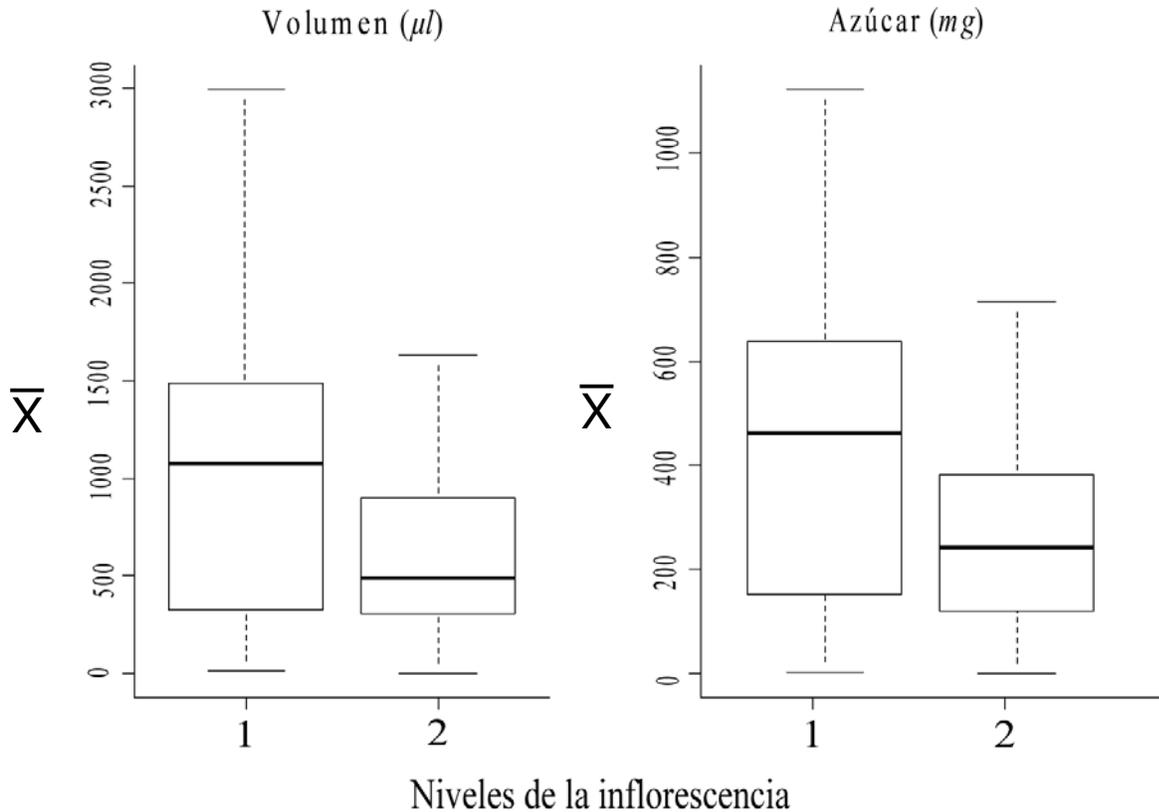


Figura 13. Diferencias significativas en el promedio por flor del volumen (μl) y el azúcar (mg), entre la primera y segunda mitad de la inflorescencia. El diagrama de caja muestra el 25 y 75 percentil, las líneas gruesas la mediana y las líneas delgadas representan el valor máximo y mínimo de la variación de los datos.

Durante los días que permanece abierta una flor, la producción de néctar fue muy variable ya que las flores no producen néctar diariamente y algunas nunca lo producen. Las flores produjeron distintas cantidades de néctar durante la antesis ($F_{(1,9)} = 29.93$, $P < 0.0001$). El análisis de contrastes *a priori* mostró que las flores pueden producir néctar

desde el primer día de apertura ($F = 115.80, P < 0.0001$). En el tercer día las flores produjeron en promedio $93.125 \pm 86.78 \mu l$, un volumen significativamente mayor de néctar ($F = 25.08, P < 0.0001$) que durante el resto de los días. A partir del quinto día el volumen de néctar disminuyó significativamente ($F = 70.14, P < 0.0001$; Figura 14A), lo que coincide con el momento de madurez en los estigmas y las anteras en esta especie (Parra-Tabla *et al.* 1993). Se encontró que el CV del volumen de néctar mostró diferencias significativas durante la antesis ($F_{(1,9)} = 39.13, P < 0.0001$). Mediante el análisis de contrastes se identificó que los días que presentan menor variación fueron el segundo ($F = 22.95, P > 0.0001$), y tercero ($F = 22.81, P > 0.0001$), coincidiendo con el incremento en el promedio (Figura 14 B).

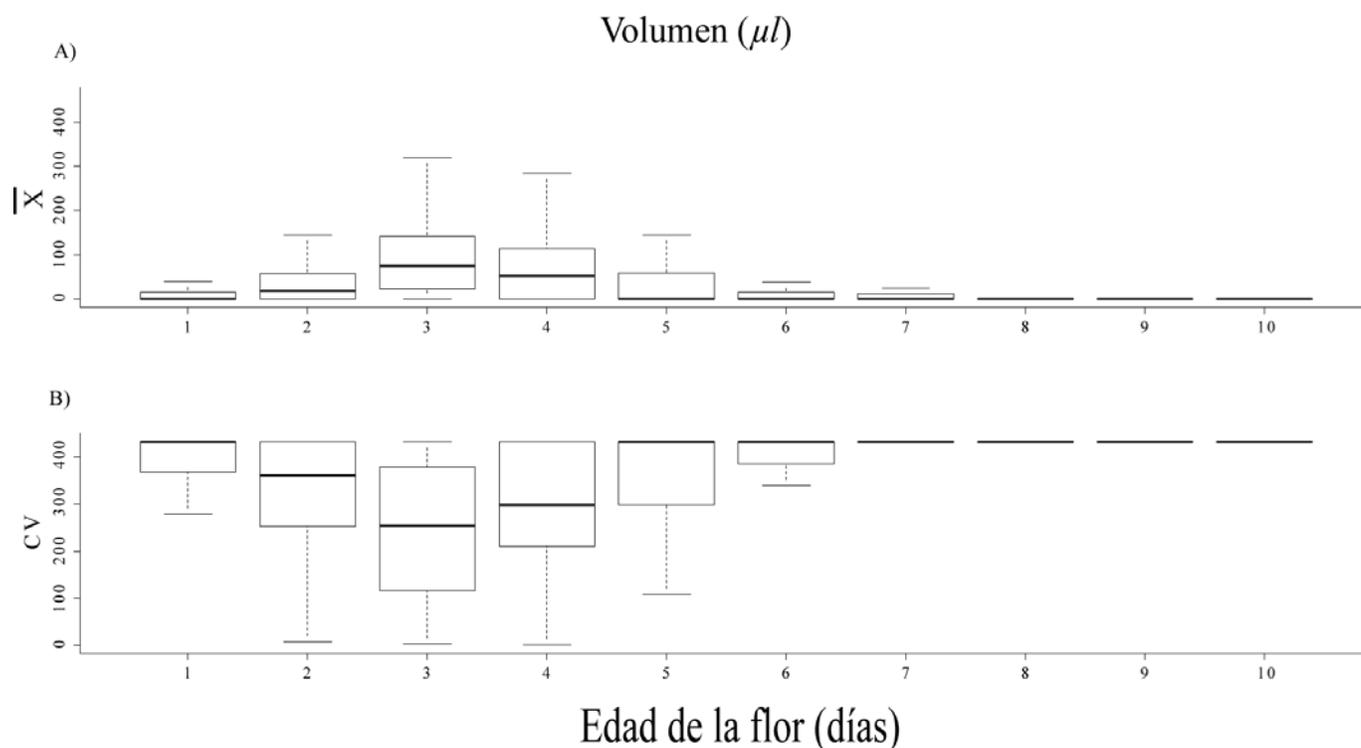


Figura 14. Dinámica de la producción de néctar durante los días que permanece abierta la flor: A) Promedio. B) CV del volumen de néctar producido. Las barras de error representan la variación de la distribución de los datos que van desde el valor mínimo al valor máximo. El diagrama de caja muestra el 25 y 75 percentil, las líneas gruesas la mediana y las líneas delgadas representan el valor máximo y mínimo de la variación de los datos.

De igual forma, la producción de azúcar en el néctar varió significativamente durante el tiempo de vida de la flor ($F_{(1,9)} = 30.42, P < 0.0001$). El análisis de contrastes *a priori* mostró que al igual que el volumen, las flores desde el primer día de antesis producen azúcar en el néctar ($\bar{X} = 6.55 \pm 14.70 \text{ mg}$, $F = 127.03, P < 0.0001$). Sin embargo, es en el tercer día cuando las flores producen en promedio una mayor cantidad de azúcar en el néctar ($\bar{X} = 38.199 \pm 30.05 \text{ mg}$; $F = 21.20, P < 0.0001$). La variación (CV) de la producción de azúcar en el néctar difirió significativamente durante la antesis ($F_{(1,9)} = 36.35, P < 0.0001$). El análisis de contrastes *a priori* mostró que el día con más variación en la producción de azúcar fueron el segundo ($F = 115.8, P < 0.0001$), el tercero ($F = 51.68, P < 0.0001$) y el cuarto ($F = 25.08, P < 0.0001$; Figura 15).

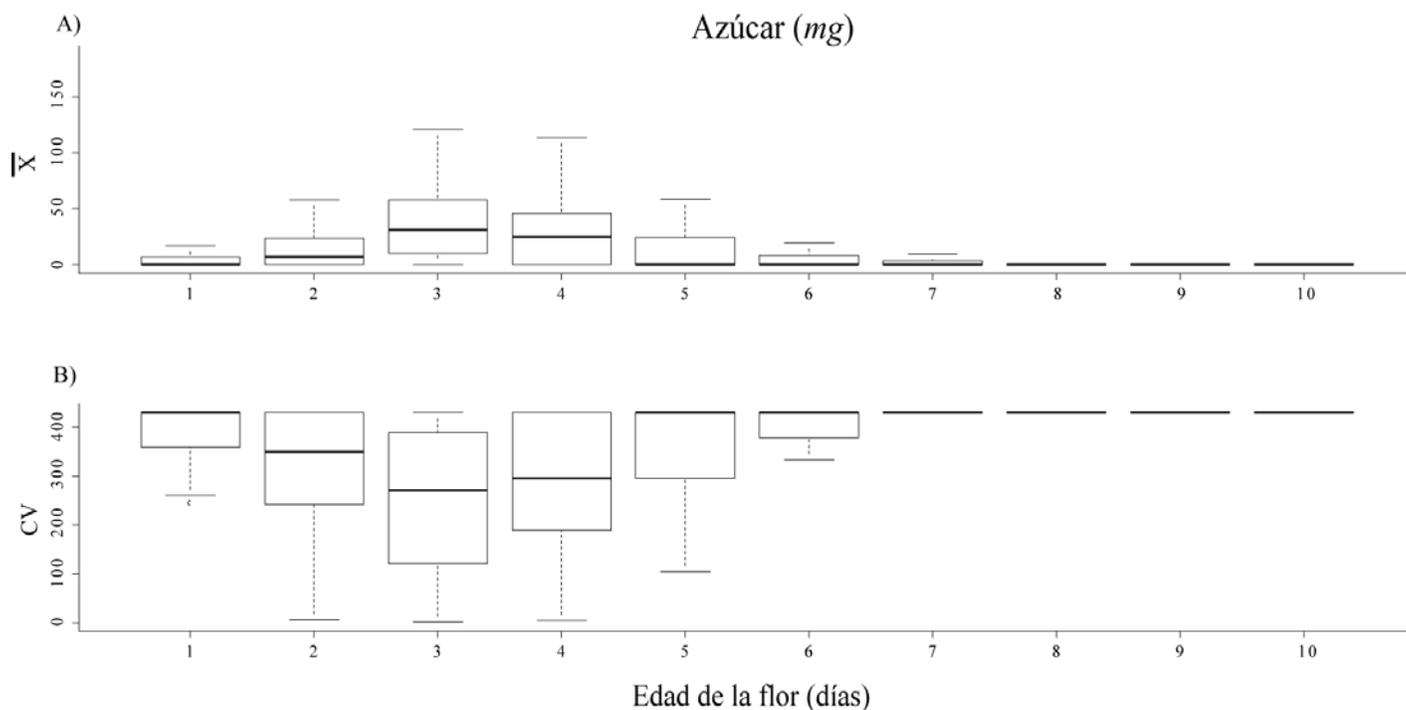


Figura 15. A) Producción promedio de azúcar en el néctar floral durante los días que abre la flor y B) Variación (CV) del azúcar dentro del néctar floral de *E. gibbiflora*. Las barras de error representan la variación de la distribución de los datos que van desde el valor mínimo al valor máximo. El diagrama de caja muestra el 25 y 75 percentil, las líneas gruesas la mediana y las líneas delgadas representan el valor máximo y mínimo de la variación de los datos.

Patrones de producción ontogenética de semillas.

Se encontraron diferencias significativas en la producción de semillas asociadas a la posición ontogenética del fruto dentro de la inflorescencia ($F_{(1,19)} = 2.70, P < 0.0004$; Figura 16). Los frutos de los racimos basales produjeron una mayor cantidad de semillas. Así mismo, esta producción disminuyó conforme fue aumentando la distancia apical en la inflorescencia.

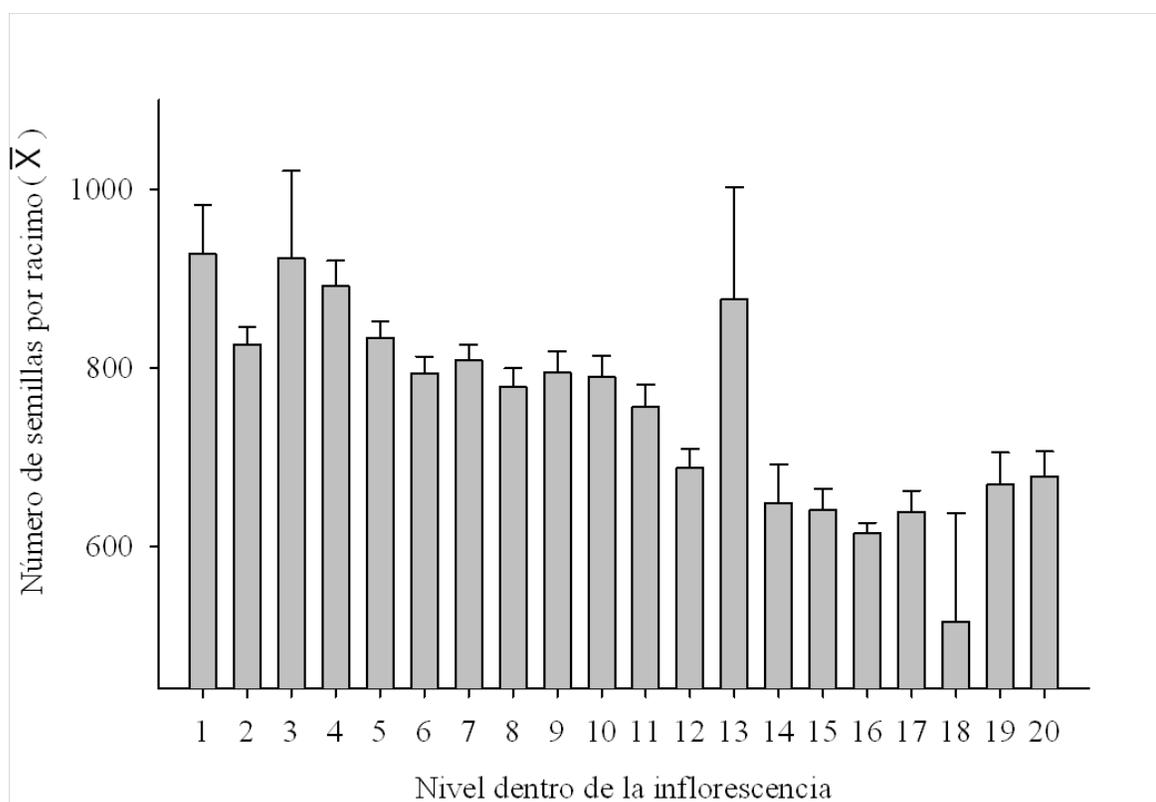


Figura 16. Producción ontogenética del promedio de semillas (\pm e.e. 1 = racimo más basal; 20 racimo más apical).

Al dividir a la inflorescencia en dos niveles, se encontró que los frutos del nivel basal produjeron 25% más semillas ($\bar{X}=7431.7 \pm 3860.43$) que los de la segunda mitad ($\bar{X}=5526 \pm 40.52$; $F_{(1,19)} = 10.18, P = 0.005$; Figura 17).

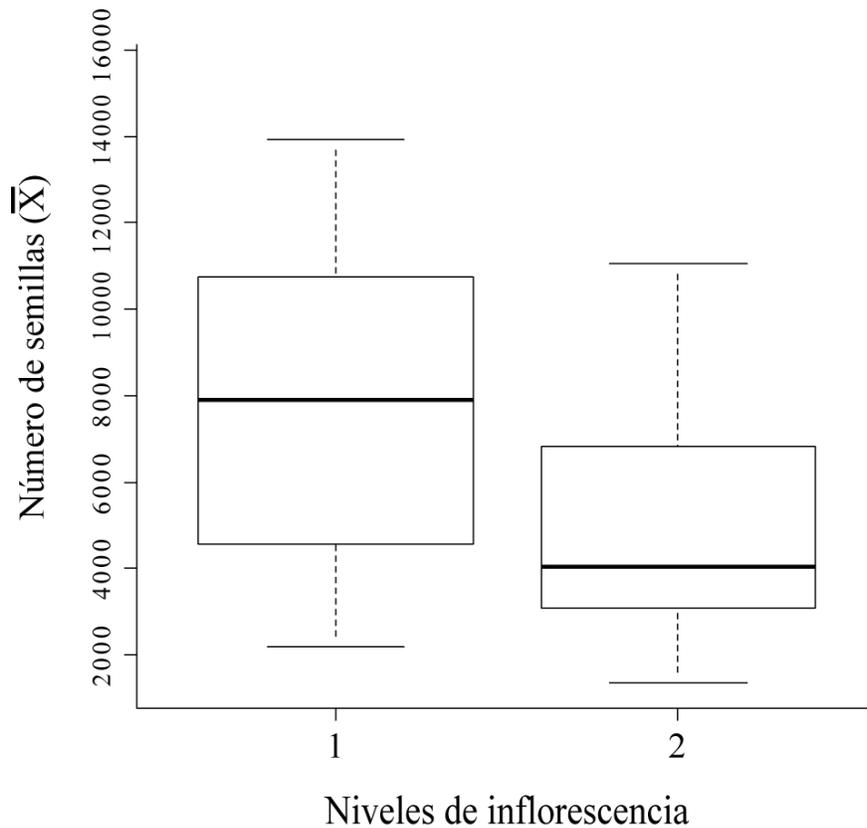


Figura 17. Producción ontogenética de semillas en el nivel basal (1) y distal (2) de la inflorescencia. El diagrama de caja muestra el 25 y 75 percentil, las líneas gruesas la mediana y las líneas delgadas representan el valor máximo y mínimo de la variación de los datos.

*Ajuste facultativo en la producción de néctar en *E. gibbiflora**

No se encontraron diferencias significativas en el volumen del néctar producido (μl ; $F_{(34)} = 1.28$, $P = 0.26$) o la cantidad de azúcar en el néctar (mg ; $F_{(34)} = 1.01$, $P = 0.32$) de las flores apicales entre plantas autopolinizadas o con polinización cruzada. Sin embargo, la variación (CV) en el volumen del néctar difirió significativamente entre tratamientos. El CV del volumen (μl) fue significativamente mayor en el nivel apical de las inflorescencias de plantas autopolinizadas, en comparación con las plantas que fueron exocruzadas ($F_{(34)} = 4.67$, $P = 0.03$; Figura 18). En contraste, la variación (CV) en la producción de azúcar no mostró diferencias significativas entre los tratamientos ($F_{(34)} = 0.31$, $P = 0.57$).

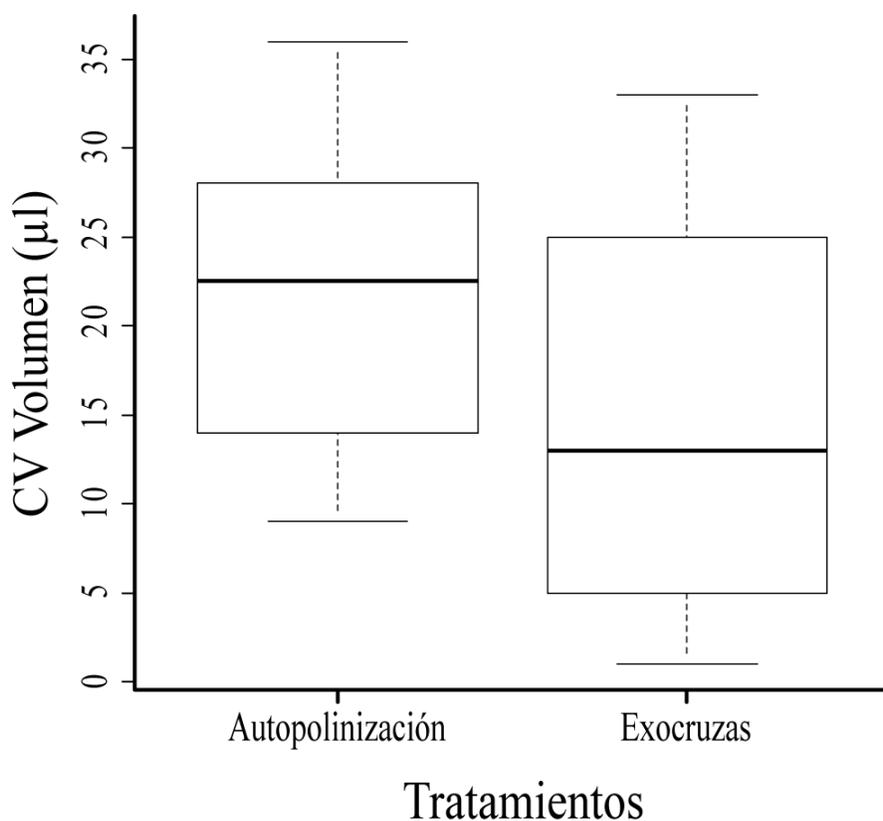


Figura 18. Ajuste facultativo en la producción de néctar asociado a la calidad de la polinización. Las barras de error representan la variación de la distribución de los datos que van desde el valor mínimo al valor máximo. El diagrama de caja muestra el 25 y 75 percentil, las líneas gruesas la mediana y las líneas delgadas representan el valor máximo y mínimo de la variación de los datos.

DISCUSIÓN

Los resultados de esta investigación muestran que la variación intraindividual en la producción de néctar floral en *E. gibbiflora* es promovida por tres factores bióticos intrínsecos a la planta: *i.* La posición ontogenética de la flor dentro de la inflorescencia y, *ii.* la producción de néctar durante la antesis. Estos factores influyeron simultáneamente en la producción de néctar y no fueron excluyentes entre sí. También se encontró que el tipo de polinización (autopolinización vs. polinización cruzada) de las primeras flores en abrir (basales) es un factor biótico externo que puede inducir ajustes en la producción de néctar y determinar los patrones de variación en el néctar de flores producidas subsecuentemente

(i.e., flores distales). Estos patrones de variación intraindividual podrían influir directamente en las decisiones de forrajeo de los polinizadores en el momento de seleccionar su alimento (Stephens 1981; Sutherland 1987).

Aunque son pocos los estudios que han encontrado algún costo en la producción de néctar floral asociado a la adecuación de las plantas, es claro que su producción requiere de una gran inversión de energía dado la compleja composición de la solución. Southwick (1984) encontró en la hierba *Asclepias syriaca* que el 37% de los fotosintatos obtenidos en un día son destinados a la producción de néctar. Mientras que en la hierba *Medicago sativa* la inversión en la producción de néctar es el doble que la energía destinada para la producción de semillas. Aunado a esto, se ha reportado que la remoción de néctar en las flores de *Blandfordia nobilis* incrementa la producción de néctar y esto podría afectar negativamente el crecimiento de las plantas y su reproducción en la siguiente temporada (Pyke 1991). En cuanto a la cantidad de energía neta necesaria para la producción de néctar, se ha reportado para la orquídea *Aerangis verdickii* que en promedio gasta 684 J por planta en una temporada (Koopowitz y Marchant 1998). Sin embargo, estas estimaciones solo calculan el valor de la energía asociada con la secreción de sacarosa y no toma en cuenta los costos relacionados con el transporte del pre-néctar a las células del nectario y/o el proceso de secreción, por lo que los costos de la secreción de néctar podrían ser incluso mayores a los reportados (Nepi y Stipczyńska 2008). En *E. gibbiflora* los recursos destinados a la reproducción y producción de néctar son limitados (Parra-Tabla 1988). Las hojas son estructuras de acumulación de agua y fotosintatos, que son adquiridos durante la época de lluvias, y son utilizados en la época reproductiva durante la época seca (Larson 1992). Por esta razón, la cantidad de recursos disponibles para la reproducción depende de su relación anual con las condiciones ambientales las cuales pueden variar entre temporadas

(Larson 1992). En este contexto, un aumento en la variación en la producción de néctar podría permitir a las plantas ahorrar recursos destinados a recompensar a sus polinizadores. La asociación negativa entre el promedio y la variación (CV) en la producción de néctar que se encontró en el presente trabajo podría ser un indicador de que en efecto, las plantas que producen en promedio menos néctar, incrementan su variación intraindividual.

Patrones de producción de néctar en Echeveria gibbiflora.

E. gibbiflora mostró un periodo de floración aproximadamente de 3 meses y durante este periodo se encontró un pico de floración muy prolongado. Sin embargo no todas las flores abiertas produjeron néctar durante toda la antesis, inclusive hubo algunas que, a pesar de permanecer varios días abiertas, nunca produjeron néctar (flores vacías). Ésta característica parece común en las angiospermas (Feinsinger 1978; López-Portillo *et al.* 1993; Thakar *et al.* 2003; Golubov *et al.* 2004; Tindall, 2006). El presentar flores vacías puede ser el reflejo de la limitación de recursos destinados a la reproducción (Parra-Tabla 1988). En este contexto, el presentar flores que nunca producen néctar influye en gran medida en el incremento de la variación intraindividual en la producción de néctar (Shafir 2000), lo que obliga a los polinizadores a visitar más flores para saciar sus necesidades energéticas (Feinsinger 1983; Pleasants 1983; Southwick 1983; Zimmerman y Pyke 1986; Boose, 1997) y al mismo tiempo induce visitas cortas y rápidas dentro de la misma inflorescencia (Feinsinger 1978; Johnson y Nilsson 1999; Smithson y Gigord 2001, 2003).

Producción ontogenética de néctar y semillas. Los resultados de esta investigación muestran que las flores basales en esta especie producen un mayor volumen de néctar y cantidad de azúcar que flores más apicales. El patrón en la producción de semillas por fruto

fue similar. La variación ontogenética en las características de las flores en las inflorescencias puede ser producto de la capacidad fisiológica de las plantas para distribuir los recursos disponibles a cada flor. El producir grandes inflorescencias puede resultar metabólicamente costoso para las plantas, sin embargo el producir muchas flores puede atraer las visitas de polinizadores y promover un mayor intercambio de polen entre flores (Sutherland 1987; Martínez del Rio y Eguiarte 1987). Las plantas con flores hermafroditas podrían sacar provecho a la variación ontogenética y especializar a sus flores en función de la cantidad de recursos disponibles. Dadas las características de las flores basales, estas pueden contribuir mejor a la adecuación femenina porque tienen una mayor accesibilidad a la fuente de recursos, sin embargo también pueden contribuir a la adecuación masculina, como donadoras de polen (Diggle 1997). En contraste, las flores distales, debido a la limitación de recursos para madurar los óvulos, pueden contribuir mejor a la función masculina a través de la donación de polen (Sutherland 1987). Algunos trabajos han demostrado cómo muchos grupos de polinizadores tienen la capacidad de discriminar entre flores de la misma planta (Goulson 1999; Chittka y Thomson 2001). Por ejemplo, se ha demostrado en experimentos con flores artificiales cómo *Apis mellifera* y *Bombus* sp. visitan menos a las flores que tienen recompensas energéticamente pobres (con menos azúcar en el néctar; Waddington 1980; Golubov *et al.* 2004). Esta discriminación por parte de los polinizadores también ocurre en relación con la variación en otros atributos del néctar, como los componentes químicos, el tamaño de la flor y simetría (Møller 1995), orientación (Ushimaru y Hyodo 2005), olor (Raguso 2001) y la presencia o concentración de aminoácidos y metabolitos secundarios (Singaravelan *et al.* 2005). Estudios previos en *E. gibbiflora* han descrito con detalle la producción de frutos y semillas durante toda la época de floración y han encontrado que las flores que inician la temporada tienen una

mayor probabilidad de convertirse en frutos maduros y formar semillas viables (Parra-Tabla 1998). Los resultados encontrados en la presente investigación demuestran también una mayor cantidad de néctar y de azúcares en las flores basales, que van disminuyendo gradualmente en las flores del ápice de la inflorescencia. Esto reafirma que *E. gibbiflora* presenta una limitación de recursos que se vuelve más intensa durante la parte media y final del periodo de floración (Parra-Tabla 1998).

Producción de néctar durante la vida de la flor. *Echeveria gibbiflora* tiene un patrón de floración asincrónico, lo que le permite exponer varias flores con diferente edad de maduración al mismo tiempo. Como las flores no producen una cantidad constante de néctar durante la antesis, la floración asincrónica puede contribuir con la variación intraindividual en la producción de recompensas. La secreción de néctar comienza en primer día, sin embargo, esta producción es pequeña y se va incrementando hasta alcanzar el pico de producción en el tercer día de antesis, a partir de este momento, disminuye la producción en los días subsecuentes hasta que las flores cierran. El pico de producción en el tercer día se sincroniza con la maduración de los órganos sexuales (apertura de las anteras y receptividad de los estigmas; Parra-Tabla *et al.* 1993). De esta manera la planta asegura la fecundación en su mejor momento reproductivo, produciendo una mayor cantidad de recompensas en ese momento de la antesis, como se ha visto en otros sistemas (e.g., Southwick *et al.* 1981; Nocentini *et al.* 2013). En particular, las inflorescencias grandes pueden presentar una gama muy amplia de edades entre las flores, lo que contribuye directamente con la variación intraindividual en la producción de néctar y promueve un mayor intercambio de polen entre inflorescencias (Best y Biersychuden 1982; Bierzychudek 1982; Pyke 1978; Bernaskie y Catar 2004).

Ajuste facultativo en la producción de néctar. En este estudio se encontró que a pesar de la variación intrínseca en la producción intraindividual de néctar que existe dentro de inflorescencias verticales (Diggle 1994), la producción de néctar floral en *E. gibbiflora* puede ajustarse en función de la calidad del servicio prestado por los polinizadores en el momento de la fertilización de las flores. Este constituye el primer reporte de un ajuste facultativo en la producción de néctar asociado con el tipo de polinización en las flores. En las predicciones iniciales se esperaba que las planta con exocruzas en sus flores basales incrementaran la variación en la producción de néctar de las flores subsecuentes, para disminuir los costos de atracción a los polinizadores. Sin embargo, los resultados mostraron el patrón opuesto: las plantas con polinización cruzada en sus flores basales tuvieron una menor variación en el volumen del néctar de las flores producidas subsecuentemente. En contraste, las plantas que recibieron autopolinizaciones en sus flores basales, tuvieron mayor variación en la cantidad de néctar en las flores producidas subsecuentemente. Esto sugiere que existen mecanismos bajo los cuales las plantas pueden distinguir la calidad de la polinización, y en consecuencia ajustar la oferta de recompensas para los polinizadores subsecuentemente. Sin embargo, dichos mecanismos aún quedan por ser investigados. Estudios futuros deberían también confirmar la influencia del tipo de polinización sobre los ajustes facultativos en la producción de néctar, incluyendo tratamientos control (sin polinizar), de autocruza (polinizados manualmente con el polen de la misma flor) y de exocruza (polinizaciones con polen de otras flores) para confirmar los resultados aquí reportados.

Investigaciones previas en *E. gibbiflora* indican que la planta es autocompatible porque es capaz de producir frutos y semillas a partir de autocruzas. Sin embargo, esta producción está influenciada por limitación por polen. Parra-Tabla y colaboradores (1998)

encontraron que cuando las flores son polinizadas de forma manual se incrementa significativamente la producción de semillas (54.3%) en comparación con aquellas flores en las que se permitió la polinización natural (15.6%). Cuando la polinización es producto de exocruzamientos los frutos producen una mayor cantidad de semillas. Cuando las flores basales son autopolinizadas, los costos de geitonogamia (genéticos, determinados por el grado de auto incompatibilidad, la depresión endogámica y la pérdida de polen; Bailey *et al.* 2007) se pueden incrementar, ya que la capacidad de germinación de las semillas producto de estas cruces es menor (Parra-Tabla 1988). Por esta razón, es probable que, al reconocer el polen como propio durante la fertilización, las plantas aumentan la variación en la producción de néctar de las flores subsecuentes para inducir visitas cortas y rápidas de los polinizadores, y así incrementar la probabilidad de intercambiar polen con otras inflorescencias y por lo tanto disminuir la geitonogamia.

El efecto de la variación en las recompensas ofrecidas por una planta podría tener dos consecuencias claras sobre las decisiones de forrajeo de los polinizadores: *i.* Si la variación en la producción de recompensas resultara evidente para los polinizadores y limitara su adquisición de energía, estarían obligados a dejar de visitar plantas muy variables, debido a la descompensación energética entre la adquisición energética y el tiempo de forrajeo. *ii.* Si la variación resulta sutil o imperceptible para los polinizadores, éstos permanecerían forrajeando en la planta. Este segundo escenario permitiría expresar estrategias tramposas al reducir los recursos destinados a la producción de recompensas sin ser detectadas por sus mutualistas (Garrison y Clifton 1999). Sin embargo, para que la variación intraespecífica se pueda considerar un atributo adaptativo, obviamente tendría que tener bases genéticas (Fisher 1930; Ramos-Castro 2013). En un futuro sería conveniente darle continuidad a este trabajo para determinar las bases genéticas en los

elementos que componen el néctar (azúcares, aminoácidos, etc.) y en su variación. El éxito de este tipo de estrategias de “trampa” en plantas depende directamente del contexto ecológico y las necesidades y características de los interactuantes. En este sentido una de las contribuciones de este trabajo es la identificación de la variación intraindividual en la producción de néctar como una “estrategia tramposa” que puede modificar la conducta de los polinizadores.

CONCLUSIÓN

En este trabajo se pudieron identificar las causas que promueven el patrón de producción de néctar en una especie vegetal que produce inflorescencias verticales. Dos estuvieron asociadas a la posición y fenología de las flores dentro de la inflorescencia planta y una fue externa relaciona directamente con el desempeño de los polinizadores en el momento en el que lleva a cabo la cruz. La dinámica de producción de néctar en *E. gibbiflora* depende principalmente de la cantidad de recursos que puede destinar a su etapa reproductiva, la planta invierte más recursos a las flores basales y gradualmente disminuye esta asignación conforme van desplegándose las flores en posiciones más distales. El hecho de que las inflorescencias expongan flores de diferentes edades al mismo tiempo influye directamente con el aumento en la variación en la producción de néctar, ya que las flores exhiben una cantidad diferente de néctar durante toda la antesis. Se pudo determinar que la calidad y el tipo de polinización tiene una influencia importante en la oferta de recursos en flores producidas subsecuentemente, lo que podría representar un mecanismo para reducir la geitonogamia.

REFERENCIAS

- Agostini, K., Sazima, M., & Galetto, L. 2011. Nectar production dynamics and sugar composition in two *Mucuna* species (Leguminosae, Faboideae) with different specialized pollinators. *Naturwissenschaften*, 98(11): 933-942.
- Amorim, F. W., Galetto, L., & Sazima, M. 2013. Beyond the pollination syndrome: nectar ecology and the role of diurnal and nocturnal pollinators in the reproductive success of *Inga sessilis* (Fabaceae). *Plant Biology*, 15(2): 317-327.
- Ashman T. L., Schoen D. J: 1997. The cost of floral longevity in *Clarkia tembloriensis*: an experimental investigation. *Evolutionary Ecology* 11: 289 – 300.
- Badgerow John P. and Hainsworth F. Reed. 1981. Energy Savings Through Formation Flight? A Re - examination of the Vee Formation. *Journal Theoretical Biology*. 93. 41 – 52.
- Bailey, S. F., Hargreaves, A. L., Hechtenthal, S. D., Laird, R. A., Latty, T. M., Reid, T. G., Teucher A. C., y Tindall, J. R. 2007. Empty flowers as a pollination-enhancement strategy. *Evolutionary Ecology Research*, 9(8): 1245.
- Baker H.G. 1975. Sugar Concentrations in Nectar from Hummingbird Flowers. *Biotropica*. 7, 37 – 41.
- Baker HG, Baker I. 1983. Floral nectar sugar constituents in relation to pollinator type. In: Jones CE, Little RJ, eds. Handbook of experimental pollination biology. New York, NY: Van Nostrand Reinhold, 117–141.
- Bell G. 1986. The evolution of empty flowers. *Journal of Theoretical Biology* 118: 253 – 258.
- Benitez-Vieyra, S., Ordano, M., Fornoni, J., Boege, K., & Domínguez, C. A. 2010. Selection on signal–reward correlation: limits and opportunities to the

evolution of deceit in *Turnera ulmifolia* L. *Journal of evolutionary biology*, 23 (12): 2760-2767.

- Best, L.S. and Bierzychudek, P. 1982. Pollinator foraging on foxglove (*Digitalis purpurea*): a test of a new model. *Evolution*, 36: 70–79.
- Biernaskie Jay M. Cartar V. and Andrew T. 2002. Risk – averse inflorescence departure in hummingbirds and bumble bees: could plants benefit from variable nectar volumes? *Okios*. 98. 98 – 104.
- Biernaskie, J. M., & Cartar, R. V. 2004. Variation in rate of nectar production depends on floral display size: a pollinator manipulation hypothesis. *Functional Ecology*, 18(1): 125-129.
- Bierzychudek, P. 1982. The demography of jack-in-the-pulpit, a forest perennial that changes sex. *Ecological monographs*, 52(4), 335-351.
- Boose, D. L. 1997. Sources of variation in floral nectar production rate in *Epilobium canum* (Onagraceae): implications for natural selection. *Oecologia*, 110(4), 493-500.
- Cano – Santana Z. & Meave J. A. 1996. Sucesión primaria en derrames volcánicos: el caso del Xitle. *Ciencia* 41: 58 – 68.
- Cartar RV 2004. Resource tracking by bumble bees: responses to plant-level differences in quality. *Ecology* 85:2764–2771.
- Chittka, L., & Thomson, J. D. (Eds.). 2001. Cognitive ecology of pollination: animal behaviour and floral evolution. *Cambridge University Press*.
- Cruden, R. W., Hermann, S. M., & Peterson, S. T. E. V. E. N. 1983. Patterns of nectar production and plant-pollinator coevolution. *The biology of nectaries*, 80, 125.
- de Jong, T.J., Waser, N.M. & Klinkhamer, P.G.L. 1993. Geitonogamy: the neglected side of selfing. *Trends in Ecology and Evolution* 8, 321–325.

- Diggle, P. K. 1994. The expression of andromonoecy in *Solanum hirtum* (Solanaceae): phenotypic plasticity and ontogenetic contingency. *American Journal of Botany*, 1354-1365.
- Diggle P. K. 1997. Ontogenetic contingency and floral morphology: The effects of architecture and resource limitation. *International Journal of Plant Sciences*, 158. S99 – S107.
- Diggle, P. K. 2003. Architectural effects on floral form and function: a review. *REGNUM VEGETABILE*, 63-80.
- Domínguez Álvarez L. A. 2009. Fenología de las abejas de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel y su relación con la fenología floral. Tesis para obtener el título de Biólogo. Facultad de Ciencias UNAM.
- Eguiarte L. E, Parra-Tabla V. y Vargas F. 1994. Biología reproductiva y tamaño efectivo en *Echeveria gibbiflora*: *Un homenaje a Sewall Wright. Reserva ecológica “El Pedregal de San Angel: ecología, historia natural y manejo”* (comp. Ariel Rojo), pp. 187 – 203. UNAM. México D.F.
- Feinsinger P. 1978. Ecological interactions between plants and hummingbirds in a successional tropical community. - *Ecological monographs*. 48: 269-287.
- Feinsinger, P. 1983. Variable nectar secretion in a *Heliconia* species pollinated by hermit hummingbirds. *Biotropica*, 48-52.
- García E. 1988. Modificaciones del Sistema Climático de Köpen. Editado por la autora. México, D. F.
- Galetto, L., & Bernardello, G. 2003. Nectar sugar composition in angiosperms from Chaco and Patagonia (Argentina): an animal visitor's matter?. *Plant Systematics and Evolution*, 238;1-4, 69-86.

- Galetto L, Bernardello G. 2004. Floral nectaries, nectar production dynamics and chemical composition in six *Ipomoea* species (*Convolvulaceae*) in relation to pollinators. *Annals of Botany* 94:269–280.
- Galetto L, Bernardello G. 2005. Nectar. In: Dafni A, Kevan P, Husband BC (eds) Practical pollination biology. Enviroquest, Ontario, pp 261–313
- Garrison Jenifer S. E. and Clifton Lee Gass. 1999. Response of a trapling hummingbird to changes in nectar availability. *Behavioral Ecology*. 10: 714 – 725.
- Golubov, J., Mandujano, M. C., Martínez, A. J., & López-Portillo, J. 2010. Bee diversity on nectarful and nectarless honey mesquites. *Journal of insect conservation*,14(3), 217-226.
- Gómez L. y Sanchez J. B. C. 2004. Boletín Meteorológico. Promedios Mensuales 1963 – 2003. Facultad de Filosofía y Letras. Colegio de Geografía. UNAM. México.
- Goulson, D. 1999. Foraging strategies of insects for gathering nectar and pollen, and implications for plant ecology and evolution. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 2(2): 185-209.
- Goulson D., Cruise J. L., Sparrow K. R., Harris A. J., Park K. J., Tinsley M. C., Gilburn A. S. 2007. Choosing rewarding flowers: perceptual limitations and innate preference decision making in bumblebees and honeybees. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 61: 1523 – 1529.
- Hainsworth F. Reed and Wolf Larry L. 1976. Nectar Characteristics and Food Selection by Hummingbirds. *Oecologia*. 25. 101 – 113.
- Heil 2011. Nectar: generation, regulation and ecological functions. *Trends in Plant Science*. 3, 850 – 560.
- Herrera C. M. & Soringuer R. C. 1983. Inter – and intra – floral heterogeneity of nectar production in *Helleborus foetidus* (Ranunculaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 86: 253 – 260.

- Herrera, C. M., Castellanos, M. C., Medrano, M., Harder, L. D., & Barrett, S. C. H. 2006. Ecology and evolution of flowers. *Ecology and evolution of flowers*.
- Herrera C. M. 2009. Multiplicity in unity: plant subindividual variation and interactions with animals. *The University of Chicago Press*. USA.
- Jimeno Sevilla Héctor David 2008. El género *Echeveria* (Crassulaceae) en Veracruz. Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología, Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz, Mexico.
- Johnson, S.D. y Nilsson, L.A. 1999. Pollen carryover, geitonogamy, and the evolution of deceptive pollination systems in orchids. *Ecology*, 80: 2607–2619.
- Kessler, D. y Baldwin, I.T. 2007. Making sense of nectar scents: the effect of nectar secondary metabolites on floral visitors of *Nicotiana attenuata*. *The Plant Journal*. 49, 840–854 17.
- Kessler, D., Gase, K., & Baldwin, I. T. (2008). Field Experiments with Transformed Plants Reveal the Sense of Floral Scents. *Science*, 2008.
- Klinkhamer, P. G., & de Jong, T. J. (1990). Effects of plant size, plant density and sex differential nectar reward on pollinator visitation in the protandrous *Echium vulgare* (Boraginaceae). *Oikos*, 399-405.
- Koopowitz, H., & Marchant, T. 1998. Postpollination nectar reabsorption in the African epiphyte *Aerangis verdickii* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, 85(4), 508-508.
- Larson Guerra Jorge 1992. Estudio demográfico de *Echeveria gibbiflora* DC (crasulaceae) en el Pedregal. Tesis para obtener el título de Biólogo. Facultad de Ciencias UNAM.
- López-Portillo, J., Eguiarte, L. E., & Montaña, C. 1993. Nectarless honey mesquites. *Functional Ecology*, 7(4), 452-461.

- Møller, A. P. 1995. Bumblebee preference for symmetrical flowers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(6): 2288-2292.
- Nepi, M., & Stpicyńska, M. 2008. The complexity of nectar: secretion and resorption dynamically regulate nectar features. *Naturwissenschaften*, 95(3), 177-184.
- Nicolson, S. W. 2007. Nectar consumers. En *Nectaries and nectar*. Eds. S.W. Nicholson, M. Nepi, E. Pacini (pp. 289-342). Springer Netherlands. Dordrecht.
- Nocentini, D., Pacini, E., Guarnieri, M., Martelli, D., & Nepi, M. 2013. Intrapopulation heterogeneity in floral nectar attributes and foraging insects of an ecotonal Mediterranean species. *Plant ecology*, 214(6), 799-809.
- Ordano M., Ornelas J. F. 2005. The cost of nectar replenishment in two epiphytic bromeliads. *Journal of Tropical Ecology*, 21: 541 - 547.
- Ornelas J. F., Lara C. 2009. Nectar replenishment and pollen receipt interact in their effects on seed production of *Penstemon roseus*. *Oecologia* 160: 675-685.
- Pacini E., Nepi M. *Nectar production and presentation*. En *Nectaries and nectar*. Springer Netherlands, 2007. p. 167-214.
- Parra – Tabla Victor Prospero 1988. Ecología de la polinización de *Echeveria gibbiflora* DC en el pedregal de San Angel, C. V. México. Tesis para obtener el título de Biólogo. Facultad de Ciencias UNAM.
- Parra-Tabla, V., Vargas, C. F., & Eguiarte, L. E. 1998. Is *Echeveria gibbiflora* (Crassulaceae) fecundity limited by pollen availability? An experimental study. *Functional Ecology*, 12(4), 591-595.
- Parra – Tabla, C. Fabian Vargas, y Luis E. Eguiarte. 1993. Reproductive Biology, Pollen and Neighborhood Size in the Hummingbird – Pollinated *Echeveria gibbiflora* (Crassulaceae). *American Journal of Botany*, 80, No, 2, 153-159.

- Pleasants, J. M. 1983. Nectar production patterns in *Ipomopsis aggregata* (Polemoniaceae). *American Journal of Botany*, 1468-1475.
- Pyke, G. H. 1978. Optimal foraging in hummingbirds: testing the marginal value theorem. *American Zoologist*, 18(4): 739-752.
- Pyke, G. H. 1980. Optimal foraging in bumblebees: calculation of net rate of energy intake and optimal patch choice. *Theoretical population biology*, 17(2): 232-246.
- Pyke, G. H., & Waser, N. M. 1981. The production of dilute nectars by hummingbird and honeyeater flowers. *Biotropica*, 13.
- Pyke, G. H. 1991. What does it cost a plant to produce floral nectar?. *Nature* 350: 58 – 59.
- Pleasants J. M. & Chaplin S. 1. 1983. Nectar production rates of *Asclepias quadrifolia*: causes and consequences of individual variation. *Oecología*, 59. 232 – 238
- R Development Core Team. 2009. R: A language and environment for statistical computing. Viena, Austria: R Foundation for Statistical Computing. ISBN 3-9000051-07-0, URL <http://www.R-project.org>
- Raguso R. A. 2001. Floral scent, olfaction, and scent – driven foraging behavior. En Chittka, L., y Thomson, J. D. (Eds.). Cognitive ecology of pollination: animal behaviour and floral evolution, pp. 83 – 105. *Cambridge University Press*
- Raine N. E. Ings T. C., Dornhaus A., Saleh N., Chittka L., 2006. Adaptation, genetic drift, pleiotropy, and history in the evolution of bee foraging behavior. *Advances in the Study of Behavior* 36: 305 – 354.
- Ramos – Castro Sergio Enrique 2013. Determinación del componente genético de la media y la varianza en las señales y recompensa de las plantas

a sus polinizadores. México, D. F. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias Biológicas. Instituto de Ecología UNAM.

- Rzedowski I. 1954. Vegetación del Pedregal de San Ángel (Distrito Federal, México). *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional* 8: 59 - 129.
- Schaefer H. M., Schaefer V., Levey D. 2004. How plant – animal interactions signal new insights in communication. *Trends in Ecology & Evolution* 19: 577 – 584.
- Shafir, S. 2000. Risk-sensitive foraging: the effect of relative variability. *Oikos* 88, 663–669.
- Singaravelan, N., Nee'man, G., Inbar, M., & Izhaki, I. 2005. Feeding responses of free-flying honeybees to secondary compounds mimicking floral nectars. *Journal of Chemical ecology*, 31(12): 2791-2804.
- Smithson, A. and Gigord, L.D.B. 2001. Are there fitness advantages in being a rewardless orchid? Reward supplementation experiments with *Barlia robertiana*. *Proceedings of the Royal Society of London. B*, 268: 1435–1441.
- Soberón Mainero J. & Martínez del Río C. 1985. Cheating and taking advantage in mutualistic associations. En *The biology of mutualism*, ed. Boucher, D. H., Croom Helm. London, pp. 192 - 216.
- Southwick, E. E., & Pimentel, D. 1981. Energy efficiency of honey production by bees. *BioScience*, 31(10): 730-732.
- Southwick, E. E. 1983. Nectar biology and nectar feeders of common milkweed, *Asclepias syriaca* L. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 324-334.
- Southwick, E.E. 1984. Photosynthate allocation to floral nectar: a neglected energy investment. *Ecology* 65, 1775–1779.

- Stebbins, G. L. 1950. *Variation and Evolution in Plants*. 643 pp. Columbia Univ. Press.
- Stebbins, G. L. 1970. Adaptive radiation of reproductive characteristics in angiosperms, I: pollination mechanisms. *Annual Review of Ecology and Systematics*,1(1): 307-326.
- Stephens, D.W. 1981. The logic of risk-sensitive foraging preferences. *Animal Behaviour* 29: 628–629.
- Sutherland, S. 1987. Why hermaphroditic plants produce many more flowers than fruits: experimental tests with *Agave mckelveyana*. *Evolution* Vol. 41, No. 4, pp. 750-759
- Thakar, J.D., Kunte, K., Chauhan, A.K., Watve, A.V. and Watve, M.G. 2003. Nectarless flowers: ecological correlates and evolutionary stability. *Oecologia*, 136: 565–570.
- Tindall, J.R. 2006. The incidence and functional significance of nectarless flowers. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias. University of Calgary, Calgary, AB, Canada.
- Ushimaru, A., & Hyodo, F. 2005. Why do bilaterally symmetrical flowers orient vertically? *Evolutionary ecology research*,7(1): 151-160.
- Vargas, C. F., y Parra-Tabla, V. 2002. Floral abundance, territoriality, and the importance of *Echeveria gibbiflora* to *Cynanthus latirostris* (Apodiformes: Trochilidae) during winter. *The Southwestern Naturalist*, 623-626.
- Waddington, K. D. 1980. Flight patterns of foraging bees relative to density of artificial flowers and distribution of nectar. *Oecologia*, 44(2): 199-204.
- Waser, N. M. 1983. The adaptive nature of floral traits: ideas and evidence. *Pollination biology*, 241-285.
- Zimmerman, M., & Pyke, G. H. 1986. Reproduction in *Polemonium*: patterns and implications of floral nectar production and standing crops. *American Journal of Botany*, 1405-1415.