



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

## POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE ECOLOGÍA

BIOLOGÍA EVOLUTIVA

*La estabilidad de los mutualismos: dos décadas de evolución en *Begonia gracilis*, una especie polinizada por engaño*

# TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**OSCAR ALEJANDRO DORADO RUIZ**

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. CÉSAR AUGUSTO DOMÍNGUEZ PÉREZ-TEJADA**  
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

**COMITÉ TUTOR: Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán**  
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM  
**Dra. Karina Boege Paré**  
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

**CIUDAD DE MÉXICO    MARZO 2019**



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**

*La estabilidad de los mutualismos: dos décadas de evolución en *Begonia gracilis*, una especie polinizada por engaño*

## **TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**OSCAR ALEJANDRO DORADO RUIZ**

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. CÉSAR AUGUSTO DOMÍNGUEZ PÉREZ-TEJADA**  
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

**COMITÉ TUTOR: Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán**  
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM  
**Dra. Karina Boege Paré**  
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

**MÉXICO, CD. MX.    Marzo, 2019**

OFICIO CPCB/163/2019

Asunto: Oficio de Jurado para Examen de Grado.

Me en C. Ivonne Ramírez Wence  
Directora General de Administración Escolar, UNAM  
Presente

Me permito informar a usted, que el Subcomité de Biología Evolutiva Y Sistemática, en su sesión ordinaria del día 26 de noviembre de 2018, aprobó el jurado para la presentación del examen para obtener el grado de MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS, al alumno DORADO RUIZ OSCAR ALEJANDRO, con número de cuenta: 517007693 con la tesis titulada: "LA ESTABILIDAD DE LOS MUTUALISMOS: DOS DÉCADAS DE EVOLUCIÓN EN *Begonia gracilis*, UNA ESPECIE POLINIZADA POR ENGAÑO", bajo la dirección del DR. CÉSAR AUGUSTO DOMÍNGUEZ PÉREZ-TEJADA:

Presidente:	DRA. LAURA ROXANA TORRES AVILÉS
Vocal:	DR. ZENON CANO SANTANA
Secretario:	DRA. KARINA BOEGE PARÉ
Suplente:	DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
Suplente	DR. VÍCTOR PROSPERO PARRA TABLA

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

ATENTAMENTE  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a, 13 de febrero de 2019

  
DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA  
COORDINADOR DEL PROGRAMA



## **AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES**

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), por la formación académica y el apoyo administrativo brindados a lo largo de este proyecto de investigación.

AL Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para realizar mis estudios de maestría (774833) y por apoyar la formación académica de excelencia de numerosos estudiantes en México y en el extranjero.

Al Dr. César A. Domínguez Pérez-Tejada, quien fue mi tutor principal y el director de este estudio.

A los miembros del comité tutor: La Dra. Karina Boege Paré y la Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán, quienes siempre ofrecieron su valioso conocimiento a lo largo de mi formación académica.

## **AGRADECIMIENTOS PERSONALES**

El desarrollo de esta tesis no sólo fue resultado de interacciones académicas, sino de relaciones personales que fueron un estímulo fundamental en este ámbito de superación. Por lo tanto me permito agradecer a todos los que de alguna manera apoyaron este sinuoso trayecto.

A todos mis compañeros y amigos del Laboratorio de Interacción Planta-Animal (LIPA), quienes siempre mostraron disposición, apertura y sobre todo, una actitud constructiva que es esencial para mantener un espacio dedicado al desarrollo académico y personal.

En especial quiero agradecer a Rafael Conde, Dulce Espinoza, Michelle Maldonado y al M. en C. José Rubén Pérez Ishiwara por su apoyo logístico en el campo durante el desarrollo de este trabajo.

Agradezco a los miembros del jurado de examen quienes atentamente accedieron a revisar este estudio y contribuyeron con sus atinados comentarios. Gracias a los doctores Roxana Torres, Zenón Cano-Santana, Karina Boege, María del Coro Arizmendi y Víctor Parra-Tabla.

Por su apoyo siempre incondicional, agradezco especialmente a mis padres, hermanos, amigos y a mi compañera, amiga y amada Mariana Pascual.

## ÍNDICE

<b>Resumen</b> .....	1
<b>Abstract</b> .....	2
<b>Introducción</b> .....	3
<b>Objetivos</b> .....	7
<b>Metodología</b> .....	8
Sitio y especie de estudio .....	8
Efecto de la proporción sexual y de la densidad de flores en el éxito reproductivo en 2016 .....	9
Caracterización de la morfología floral en 2016 y 2017 .....	10
Visitas de polinizadores en 2017 .....	10
<b>Análisis estadísticos</b> .....	11
Efecto de la proporción sexual y de la abundancia de flores en el éxito reproductivo en 2016 .....	11
Caracterización de la morfología floral en 2016 y 2017 .....	12
Cambios en la morfología floral (1993-2016) .....	12
Cambios en la morfología floral y su efecto en el éxito en la producción de frutos .....	13
Visitas de polinizadores y morfología floral .....	14
<b>Resultados</b> .....	15
Efecto de la proporción sexual y de la abundancia de flores en el éxito reproductivo en 2016 .....	15
Caracterización de la morfología floral en 2016 y 2017 .....	17
Cambios en la morfología floral .....	17
Cambios en la morfología floral y su efecto en el éxito en la producción de frutos .....	19
Visitas de polinizadores y morfología floral .....	22
<b>Discusión</b> .....	26
<b>Literatura citada</b> .....	33

## ***La estabilidad de los mutualismos: dos décadas de evolución en *Begonia gracilis*, una especie polinizada por engaño***

### **RESUMEN**

Los mutualismos son interacciones de explotación recíproca en las que los interactuantes obtienen recursos o servicios que no podrían obtener de otra manera. Dado que estos recursos o servicios implican costos relativamente altos en su producción, la selección natural podría favorecer cualquier estrategia que los reduzca si ese ahorro se puede invertir en otras actividades sustantivas para el organismo (i.e., crecimiento, defensa, sobrevivencia, reproducción). Una de estas estrategias es el engaño, en el cual una fracción de los organismos de una población produce señales deshonestas que anuncian la presencia, una mayor cantidad o calidad de recompensas (o servicios) que lo que en realidad ofrecen. Esta situación se ha descrito en un gran número de interacciones mutualistas y, en el caso de la polinización, se conoce como polinización por engaño. En las especies de plantas que producen flores unisexuales (monoicas y dioicas), es común que las flores femeninas no produzcan o produzcan menos recompensas que las flores masculinas. En estos casos, el mimetismo intersexual, las capacidades sensoriales del polinizador, y la frecuencia de flores tramposas (femeninas) y honestas (masculinas), son los factores que determinan el equilibrio dependiente de la frecuencia y los óptimos fenotípicos. En este trabajo se evaluaron las consecuencias de la pérdida del polinizador principal de *Begonia gracilis* y su remplazo por la abeja social *Apis mellifera* en la estrategia de engaño de esta especie. Con este fin, se caracterizaron la producción de flores de ambos sexos, la morfología floral y el éxito en la producción de frutos, en tres parches en floración dentro de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel. Así mismo, se realizaron censos de polinizadores y se caracterizó la relación entre la morfología floral y dos componentes de adecuación: la probabilidad de visita y la probabilidad de producir un fruto. Los resultados mostraron que, alrededor de dos décadas después de nuestras primeras observaciones, han habido cambios significativos en la morfología floral que resultaron en un aumento del mimetismo intersexual, una mayor probabilidad de visita a las flores de ambos sexos, así como en un incremento en el éxito reproductivo femenino (producción de frutos). Estos resultados sugieren que el nuevo escenario selectivo generado por el cambio en el polinizador principal de *B. gracilis* modificó el equilibrio dependiente de la frecuencia al incrementar la proporción de flores femeninas en la población, así como los óptimos fenotípicos.

## ABSTRACT

Mutualisms are reciprocal exploitation interactions in which participants get resources that couldn't get other way. Given that these resources (or services) involve relatively high costs, natural selection should favor any strategy that reduces that cost, if the difference can be invested in other fundamental activities for the organism (i.e., growth, defense, survival, reproduction). One of these strategies is deceit, in which a fraction of the organisms of a population produces dishonest signals that announce a presence, higher quantity or quality of reward (or services) than what they really offer. This situation has been described in a great number of mutualist interactions, and in the case of pollination it is known as deceit pollination. In plant species that produce unisexual flowers (monoecious and dioecious) it is common that female flowers do not produce a reward or produce less than male flowers. In these cases, the factors that determine the frequency dependent equilibrium and the phenotypic optimum morphology are the intersexual mimetism, the sensorial capacities of the pollinator, and the frequency of deceitful (female) and honest (male) flowers. In this work we evaluated the consequences of the loss of the main pollinator of *Begonia gracilis*, and its replacement by the social bee *Apis mellifera*, in the strategy of pollination by deceit in this plant species. To this end, we characterized the production of flowers of both sexes, the floral morphology and the success in the production of fruits in three flowering patches within the Ecological Reserve of El Pedregal de San Ángel. Likewise, pollinator censuses were conducted, and the relationship between floral morphology and two components of fitness was characterized: the probability of a pollinator visit and the probability of fruit production. The results showed that, around two decades after our first observations, there were significant changes in the floral morphology that resulted in an increase in intersexual mimicry, a higher probability of a pollinator visit for flowers of both sexes, as well as in an increase in female reproductive success (fruit production). These results suggest that the new selective scenario generated by the change in the main pollinator of *B. gracilis*, modified the frequency-dependent balance by increasing the proportion of female flowers in the population, as well as the phenotypic optimums.

## INTRODUCCIÓN

El mutualismo puede entenderse como un sistema de explotación recíproca entre dos especies en el que se intercambian servicios o recompensas que no se podrían obtener de otra manera (Thompson, 1982; Janzen, 1985; Herre *et al.*, 1999; Bronstein, 2001). Los mutualismos están presentes en toda la naturaleza (Boucher *et al.*, 1982), forman parte fundamental de la historia de la vida en el planeta (e.g., Sagan, 1967; Regal, 1977) y muchos procesos, desde los organismos hasta los ecosistemas, dependen de este tipo de interacción (i.e. Gilbert *et al.*, 2012). No obstante, las relaciones entre especies son tan cambiantes como las especies mismas y su ambiente. La estabilidad de cualquier mutualismo depende de la relación costo-beneficio (reflejado en términos de capacidad competitiva/éxito reproductivo) para cada una de las partes, misma que puede ser afectada por factores tanto extrínsecos (p. ej., condiciones ambientales) como intrínsecos del sistema.

Unos de los principales factores intrínsecos que determina la estabilidad de un sistema mutualista es la variabilidad que existe en la producción de recompensas. La presencia de individuos que no producen recompensa, o producen menos, es común en sistemas mutualistas (Bronstein, 2001). Dado que la selección natural favorecería a los individuos que obtienen los beneficios del mutualismo, pero no pagan los costos, se esperaría que los mutualismos fueran invadidos por una fracción de individuos tramposos (Doebeli, 1998). Dependiendo de la relación costo-beneficio, el equilibrio evolutivo resultante varía entre el establecimiento de un polimorfismo compuesto por individuos *honestos* y una fracción relativamente menor de individuos *tramposos* (Charnov, 1982; Castillo *et al.*, 2002), a situaciones que producen la ruptura del mutualismo (Doebeli, 1998; Ferriere *et al.*, 2002; Bronstein, 2009). La evidencia acumulada hasta la fecha indica que las estrategias de engaño han evolucionado repetidamente en una gran cantidad de mutualismos, y que, a pesar de esto, se han mantenido a lo largo de extensos periodos (Machado *et al.*, 1996; Pellmyr *et al.*, 1996). Esta permanencia se explica como un mecanismo dependiente de la frecuencia en el que evolucionan estrategias que permiten *castigar* a los individuos *tramposos* y/o *premiar* a aquellos que proveen recompensas (Axelrod y Hamilton, 1981; Bull y Rice, 1991; Herre *et al.*, 1999). La eficiencia de estas

estrategias depende de la capacidad para discriminar a los individuos de la especie interactuante que proveen poca o nula recompensa, así como de las habilidades sensoriales y del costo de la discriminación de su contraparte (Bull y Rice, 1991; Anstett *et al.*, 1998).

Tanto la presencia de individuos *tramposos*, como la existencia de estrategias de penalización, dependen de los pagos (en términos de adecuación) obtenidos en la interacción entre individuos *honestos vs tramposos*, *honestos vs honestos y tramposos vs tramposos* (Maynard-Smith y Price, 1973). Si la estrategia *deshonesta* es fácil de detectar, los individuos que producen recompensa tendrán una superioridad competitiva (Ferriere *et al.*, 2002; Frederickson, 2013). En contraste, un mutante que no produzca recompensa (*tramposo*), invadirá una población de mutualistas *honestos* si su ventaja competitiva es alta (Ferriere *et al.*, 2002), por ejemplo, cuando se encuentra en baja frecuencia y/o no es fácil de distinguir de los individuos *honestos* (Castillo, 1999; Castillo *et al.*, 2002).

La polinización por engaño es un mutualismo entre plantas y polinizadores caracterizado por la presencia de individuos o flores que producen recompensa (*honestos*), e individuos o flores que no las producen o producen menos (*tramposos*). En esta situación, el éxito reproductivo de los individuos-flores *tramposos* depende de su semejanza con los individuos-flores *honestos* y de su frecuencia en la población (Wiens, 1978; Little, 1983; Dafni, 1984). En muchas especies polinizadas por engaño, la interacción se ajusta a un modelo de mimetismo batesiano (Bates, 1862) en el que participan tres partes: el operador (polinizador), el modelo (flores con recompensa) y el mimo (flores sin recompensa) (Little, 1983; Dukas, 1987; Willson y Ågren, 1989; Castillo, 1999b). Tal es el caso del género *Begonia* L. (Begoniaceae C. Agardh) en el que las flores masculinas producen polen (modelo), las flores femeninas no producen recompensa (el mimo) y las flores femeninas atraen a los polinizadores debido su parecido con las flores que producen recompensa (Wiens, 1978; Ågren y Schemske, 1991; Schemske y Ågren, 1995; Castillo *et al.*, 2002, 2012). De acuerdo con lo anterior, los parámetros que definen el equilibrio evolutivo en este tipo de modelos (frecuencia de *honestos* y *tramposos*, así como los óptimos fenotípicos), dependen de las capacidades sensoriales del operador (habilidad para distinguir entre individuos *honestos* y *tramposos*, preferencias innatas hacia formas y colores), del parecido entre las flores

*honestas* y *tramposas*, y de la cantidad y calidad promedio de la recompensa que encuentra un polinizador al visitar una flor *honestas*. Mientras estos parámetros se mantengan constantes, se podría esperar un equilibrio dinámico en la relación mutualista. En contraste, cualquier factor que modifique estos parámetros, ya sea intrínseco o extrínseco, tendría el potencial de perturbar el mutualismo y conducir a un nuevo equilibrio dependiente de la frecuencia con óptimos fenotípicos alterados. Por ejemplo, factores como cambios en el ambiente físico, en la composición de los polinizadores, en el balance de costo-beneficio que obtiene cada estrategia (*honestos-tramposos*), así como la presencia de otras especies interactuantes (i.e., herbívoros) podrían desestabilizar estos equilibrios (Shykoff *et al.*, 1997; Ferriere *et al.*, 2002; Ågren *et al.*, 2013; Gervasi y Schiestl, 2017).

En una serie de estudios realizados entre 1993 y 1999 (Castillo, 1999a; Castillo *et al.*, 2002, 2012; López y Domínguez, 2003), se demostró que el éxito reproductivo de la especie monoica *Begonia gracilis* Kunth está sujeto a selección dependiente de la frecuencia y que la adecuación masculina (probabilidad de visita) y femenina (producción de frutos) era mayor conforme aumentaba el tamaño relativo de la estructura reproductiva (área de la estructura reproductiva/área de los tépalos). Este fenómeno obedecía a la ausencia de una correlación significativa entre el tamaño del androceo y el de los tépalos, por lo que los polinizadores basaban sus decisiones de forrajeo en la cantidad *aparente* de recompensa. Es decir, el tamaño relativo del androceo funcionaba como una señal deshonestas que impedía que los polinizadores evaluaran de manera precisa la cantidad de recompensa que ofrece una flor, aprovechando así el sesgo sensorial de los polinizadores hacia recompensas grandes (Castillo *et al.*, 2012). En contraste, se encontró que en las flores femeninas el tamaño de los lóbulos estigmáticos está significativamente correlacionado con el tamaño de los tépalos. Por esta razón, la hipótesis original de este estudio fue que la selección natural podría favorecer el rompimiento de esta correlación ya que produciría un mecanismo de engaño más eficiente. Este cambio, a su vez, tendría el potencial de funcionar como un factor intrínseco que afectara los parámetros que definen el equilibrio del mutualismo.

Esta hipótesis se puso a prueba y se descartó en 2016 a través de un estudio en el que se caracterizó la morfología floral y el éxito reproductivo de las mismas poblaciones de *Begonia gracilis* estudiadas entre 1993-1999 (Castillo, 1999a; Castillo *et al.*, 2002, 2012; López y Domínguez, 2003). ¡Es decir, alrededor de dos décadas después de los primeros experimentos y observaciones! Los resultados preliminares del estudio de 2016, indicaron que a pesar de que hubo marcadas modificaciones en la morfología floral, en la composición de la fauna de polinizadores y en el éxito reproductivo de *B. gracilis*, no se observó una reducción en la intensidad de la correlación entre el tamaño de los lóbulos estigmáticos y el tamaño de los tépalos. En particular, el cambio en la fauna de polinizadores consistió en la desaparición del que era el polinizador principal (*Augochlora* spp., no se observaron visitas por halíctidos en 2016 y 2017) de esta especie y su sustitución por *Apis mellifera*. En resumen, aunque no se encontró evidencia que apoyara la hipótesis original, se observó un cambio drástico en uno de los elementos fundamentales del mutualismo (la sustitución de una especie de polinizador por otra). Es esperable que este cambio tenga profundas consecuencias sobre la biología de la polinización, ya que estas especies de abeja tienen biología muy contrastantes. *Augochlora* spp., el polinizador principal en 1993-1999 (1993 de aquí en adelante), pertenece a la familia de los halíctidos, cuyos integrantes, en general, tienen hábitos solitarios, temporadas de vuelo restringidas a unos pocos meses y forman agregaciones de pocos individuos (Stockhammer, 1966; Eickwort y Eickwort, 1973). *A. mellifera*, en contraste, es una abeja social que presenta un complejo sistema de reclutamiento, que forma colonias de varios miles de individuos que están activos prácticamente todo el año y, consecuentemente, que requiere de una mayor cantidad de recursos para su sobrevivencia. Con base en esta información es posible predecir que la dependencia casi absoluta de *B. gracilis* en *Apis mellifera* que se observa en la actualidad, ha generado un cambio en los parámetros asociados con la polinización por engaño (similitud floral, cantidad de recompensa por flor y la proporción sexual) y en la eficiencia de este síndrome de polinización (éxito reproductivo).

## **OBJETIVOS**

Con base en lo anterior, el objetivo general de este estudio fue determinar las consecuencias fenotípicas y funcionales en la estrategia de engaño de *Begonia gracilis* derivadas del cambio en su polinizador principal. Con este fin, a) se comparó la morfología de las flores de ambos sexos, b) la conducta de los polinizadores y c) el éxito reproductivo en las mismas poblaciones de *B. gracilis* antes y después del cambio en su polinizador principal.

## METODOLOGÍA

### *Sitio y especie de estudio*

El proyecto se llevó a cabo en la reserva ecológica del Pedregal de San Ángel (19°20'02' 'N, 99°08'26'' O), que se localiza dentro de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) en la Ciudad de México. La vegetación característica de la reserva es un matorral xerófito que se desarrolla sobre un sustrato basáltico que está sujeto a un régimen fuertemente estacional (Rzedowski, 1954). *Begonia gracilis* Kunth es una especie monoica, de crecimiento monopódico, que forma parches discretos dentro del Pedregal de San Ángel. El crecimiento y la reproducción de los individuos de esta especie están restringidos a la estación de lluvias (julio-octubre), mientras que el resto del año permanecen como cormos subterráneos (noviembre-junio). *Begonia gracilis* inicia su crecimiento vegetativo en respuesta a las primeras lluvias de la temporada, y una vez que se desarrollan los primeros dos o tres nodos vegetativos, las plantas producen una serie de nodos reproductivos que generalmente producen una flor masculina seguida de una femenina.

Como en la mayoría de las especies del género *Begonia*, las flores femeninas no producen néctar y su polinización depende de su similitud con las flores masculinas, las cuales producen polen como recompensa (Ågren y Schemske, 1991; Castillo, 1999a; Castillo *et al.*, 2002, 2012; Le Corff *et al.*, 1998; Schemske *et al.*, 1996). Los tépalos y las estructuras reproductivas de ambos sexos (anteras o lóbulos estigmáticos) poseen colores similares (rosa-claro y amarillo-brillante, respectivamente). Debido a que tanto los tépalos como las estructuras reproductivas se encuentran expuestas en un mismo plano, la recompensa real (polen, alojado en las anteras) y *tramposa* (lóbulos estigmáticos) forma parte de la señalización para los polinizadores (Figura 1). A pesar de que esta especie es auto-compatible, no es capaz de polinizarse de manera autónoma, así que la producción de frutos depende de la visita de los polinizadores (Castillo *et al.*, 2002). En el periodo de 1993 a 1998, *Augochlora* spp. fue responsable del 80% de las visitas a las flores femeninas de *B. gracilis* (Castillo 1999a; Castillo *et al.*, 2012). En contraste, en las observaciones realizadas

durante las temporadas reproductivas de 2016-2017, no se observó la presencia de esta especie.



Figura 1. Inflorescencia de *Begonia gracilis*. En la parte superior flor masculina, en la inferior femenina.

#### *Efecto de la proporción sexual y de la densidad de flores en el éxito reproductivo en 2016*

Con el propósito de caracterizar el funcionamiento de la polinización por engaño en la actualidad y compararlo con lo observado en 1993, se realizó un estudio similar al de Castillo *et al.*, (2002) en el que se determinó la presencia de selección dependiente de la frecuencia y denso-dependencia en el éxito reproductivo de esta especie. Durante la temporada reproductiva de 2016 (septiembre-octubre), se censaron tres parches de *Begonia gracilis* en la misma zona que se estudió en 1993. En cada parche se marcaron 80 individuos ( $n = 240$  individuos, 1790 flores) y la producción de flores y frutos de cada planta se caracterizó a través de 16 censos realizados dos veces por semana. Debido a que *B. gracilis* presenta un crecimiento monopodial y en promedio se desarrollan 12 inflorescencias por planta (Castillo, 1999a; Castillo *et al.*, 2002, 2012), los individuos se marcaron en el primer nodo reproductivo, lo que permitió monitorear cada flor hasta el fin de la temporada

reproductiva, es decir, hasta la formación de frutos maduros de cada individuo etiquetado. Para estimar la densidad floral y la proporción sexual de cada parche, en cada censo se registró el número y sexo de todas las flores abiertas del parche, así como la producción de frutos. Los censos de cada parche concluyeron cuando maduró el último fruto de las plantas marcadas en ese parche (finales de octubre).

#### *Caracterización de la morfología floral en 2016 y 2017*

Con el fin de evaluar si el cambio en el polinizador principal estuvo acompañado de cambios en la morfología floral, se tomaron fotografías de una muestra de las flores en antesis en cada censo (240 plantas; 575 flores, 280 femeninas, 295 masculinas). Cada flor fue fotografiada con una cámara digital (Canon, Power Shot ELPH 110 HS), comprobando que el plano frontal de la flor estuviera en una posición paralela al lente de la cámara y que contara con una regla como referencia. Las mediciones se realizaron con el programa ImageJ (Rasband, 1997-2016, versión 1.50i), siguiendo la misma metodología de Castillo (1999a). En cada caso se estimó el área de los tépalos y el de las estructuras reproductivas a partir de la fórmula de una elipse y un círculo, respectivamente. El tamaño relativo del androceo y de los lóbulos estigmáticos se calculó como la proporción entre el área de las estructuras reproductivas y la de los tépalos. Los datos morfológicos obtenidos en 2016 se compararon con los de 1993. La morfología de las flores producidas durante la temporada reproductiva de 2017, se caracterizó siguiendo la misma metodología descrita anteriormente.

#### *Visitas de polinizadores en 2017*

Debido a que fue imposible realizar censos sistemáticos de polinizadores durante la caracterización de la fenología floral y la producción de frutos realizada en 2016, en 2017 se realizaron 25 censos de visitantes florales. Además de caracterizar la fauna de polinizadores de *Begonia gracilis*, estos censos permitieron establecer la relación entre la

morfología floral y la probabilidad de visita de polinizadores (ver más abajo). Los censos se realizaron por un observador localizado en una posición central dentro del parche de floración y suficientemente lejos de las plantas como para no perturbar a los polinizadores ( $\approx 2\text{m}$  de las plantas focales). Debido a que la tasa de visita a las flores de esta especie es muy baja (Castillo, 1999a), los censos consistieron en observaciones continuas de las flores y en la inspección detallada de cada visita. En cada ocasión en la que un polinizador se acercó al parche de floración, se registró su identidad, el sexo de la flor, así como si éste aterrizó e hizo contacto con las estructuras reproductivas. En todos los casos se tomó una fotografía de la flor, que posteriormente se usó para caracterizar su morfología (ver sección anterior). Asimismo, cada visitante fue filmado con una cámara digital (Canon, Power Shot ELPH 110 HS) desde su arribo al parche hasta el momento en que lo dejó. Esta información se utilizó para estimar la tasa de visita, teniendo en consideración su sexo y el número de flores abiertas por parche el día del censo.

### **Análisis estadísticos**

#### *Efecto de la proporción sexual y de la abundancia de flores en el éxito reproductivo en 2016*

Debido a que la evidencia acumulada indica que la producción de frutos de *Begonia gracilis* depende de la proporción sexual y de la abundancia de flores, tanto del parche como del individuo (Castillo, 1999a, Castillo *et al.*, 2002), estas variables se consideraron como independientes en un análisis de regresión logística. La variable de respuesta fue la producción de frutos, y se codificó como éxito o fracaso (éxito = 1, fracaso = 0). Los datos de proporción sexual y abundancia de flores que se incluyeron en los análisis se calcularon para las condiciones que experimentó cada flor femenina durante los días que estuvo activa. Es decir, los valores promedio (proporción sexual y abundancia de flores del parche y del individuo) de aquellos días en los que una flor estuvo receptiva (desde la antesis hasta el marchitamiento de los tépalos; ver Castillo *et al.*, 2002 para una explicación detallada).

### *Caracterización de la morfología floral en 2016 y 2017*

Con el fin de tener un marco de comparación con lo observado en 1993-1995, se realizó un análisis multivariado de la varianza (MANOVA) en el que se exploró el efecto de los individuos y entre sexos dentro de individuos en la variación morfológica de las flores. El área de los tépalos y de las estructuras reproductivas de las flores se incluyeron como variables dependientes, mientras que los individuos y el sexo anidado dentro de individuo, se usaron como variables independientes. Una vez que se determinó si había diferencias significativas, se realizaron pruebas univariadas para cada variable de respuesta. Los datos fueron transformados a logaritmo natural para cumplir con los supuestos de las pruebas. Este análisis se repitió con los datos de 2017.

### *Cambios en la morfología floral (1993-2016)*

Con el fin de caracterizar la morfología floral de manera detallada y tener los elementos para evaluar si ésta cambió a través del tiempo (1993 – 2016), se utilizó una serie de análisis en los que se caracterizaron y compararon la magnitud (el área de los tépalos, de las estructuras reproductivas y el tamaño relativo), la variación (coeficiente de variación) y la covariación (estructura de correlación e integración fenotípica floral) de los atributos florales entre individuos, sexos, sexos dentro de individuos y años.

Para determinar si la morfología floral de *Begonia gracilis* cambió desde 1993, se utilizó un MANOVA en el que se incluyeron las áreas de los tépalos y de las estructuras reproductivas como variables dependientes, mientras que el año, el sexo y su interacción se usaron como variables independientes. Debido a que este análisis no cumplió con los supuestos de la prueba (resultados no mostrados), la comparación se realizó con base en análisis univariados no paramétricos. Los coeficientes de variación se compararon por medio del procedimiento “*cvequality*” (Marwick y Krishnamoorthy, 2018), incluido en el programa R-Project (2013). Los cambios en la magnitud del patrón de covariación de los atributos florales se analizaron a través del cálculo y la comparación del índice de integración fenotípica floral (Wagner, 1984) por medio de la rutina “*PHENIX*” (Torices y

Muñoz-Pajares, 2015) del programa R-Project (2013). Las variables incluidas fueron el largo y ancho de cada tépalo, así como el área de las estructuras reproductivas. Debido a que el tamaño de muestra difería entre los años, se utilizó la corrección propuesta por Torices y Méndez (2014). Para determinar si la integración floral difiere entre los años, se calcularon los intervalos de confianza al 99% a partir de 5000 bootstraps. Debido a que los análisis realizados en 1993 revelaron que la correlación (o su ausencia) entre el área de los tépalos y la de la estructura reproductiva juega un papel fundamental en el funcionamiento de la polinización por engaño, se evaluó el cambio en estas dos correlaciones a través del tiempo (Diedenhofen, 2015).

#### *Cambios en la morfología floral y su efecto en el éxito en la producción de frutos*

Con el propósito de estimar la relación entre la variación morfológica y la probabilidad de producir un fruto en 2016 y comparar esta relación con lo observado en 1993, se realizó un análisis de regresión logística entre las variables morfológicas y el éxito reproductivo. Sin embargo, a diferencia de lo observado en 1993, los análisis preliminares mostraron una fuerte estructura de correlación entre las estructuras reproductivas y los tépalos en las flores de ambos sexos. Por esta razón, con el fin de evitar los problemas de multicolinealidad y al mismo tiempo tener una caracterización exhaustiva de la morfología floral (lóbulos estigmáticos y tépalos), se realizó un análisis de componentes principales (ACP). Los scores obtenidos de este análisis se usaron como estimadores de la variación morfológica floral y se incluyeron en las regresiones logísticas en las que se exploró su efecto en la producción de frutos (*éxito* = 1, *fracaso* = 0).

Finalmente, con el fin de evaluar si la probabilidad de que una flor femenina produzca un fruto depende de su parecido con las flores masculinas, se realizó un MANOVA comparando la morfología (tépalos, estructuras reproductivas y tamaños relativos) de las flores masculinas, la de las flores femeninas exitosas y la de las flores femeninas que no produjeron fruto. Si el fenómeno de mimetismo está operando, entonces se esperaría que no hubiera diferencias significativas entre las flores masculinas y las flores femeninas

exitosas, pero que estas dos difieran de las flores femeninas no exitosas. Una vez que se comprobó la significancia del MANOVA, se procedió a realizar análisis de varianza univariados para identificar los atributos responsables de estas diferencias. Las variables de respuesta para el MANOVA fueron los tépalos, las estructuras reproductivas y los tamaños relativos. Los datos fueron transformados a logaritmo natural para cumplir con los supuestos de las pruebas.

#### *Visitas de polinizadores y morfología floral*

Para estimar la relación entre la morfología floral y la probabilidad de visita en 2017, se utilizó un análisis de regresión logística. Como se mencionó en la sección anterior, se encontró una fuerte estructura de covariación entre los atributos florales, por lo que los datos de morfología obtenidos en ese año se sometieron a un análisis de componentes principales. Los scores resultantes de este análisis fueron usados como descriptores de la variación morfológica de las flores e incluidos en la regresión logística como variables independientes. El sexo de la flor y los términos de interacción también se incluyeron en estos análisis. La variable de respuesta usada en este análisis fue binaria y se codificó como: *visitada* = 1, *no visitada* = 0.

Finalmente, con el fin de evaluar si la probabilidad de una flor femenina de ser visitada depende de su parecido con las flores masculinas, se siguió el mismo procedimiento usado para evaluar el éxito en la producción de frutos (ver sección anterior), con la diferencia de que la variable de respuesta se codificó como: *visitada* = 1, *no visitada* = 0. Para cumplir con los supuestos de las pruebas las variables fueron transformadas a logaritmo natural.

Todos los análisis estadísticos realizados en este estudio, así como las figuras, se realizaron en los programas estadísticos R-Project (2013) y JMP (2012).

## RESULTADOS

### *Efecto de la proporción sexual y de la abundancia de flores en el éxito reproductivo en 2016*

Tal como se observó en 1993, la proporción sexual (flores femeninas / flores femeninas + flores masculinas) en el sitio de estudio mostró un sesgo hacia la función masculina ( $\chi^2_{(1)} = 25.82, p < 0.001$ ), aunque la frecuencia de flores femeninas aumentó significativamente en comparación con 1993 (0.40 vs. 0.44, 1993y 2016 respectivamente;  $\chi^2_{(1)} = 11.7, p < 0.05$ ). De la misma manera, la eficiencia en la producción de frutos aumentó más de tres veces (26%) con respecto al estudio anterior (8%; Castillo, 1999a;  $\chi^2_{(1)} = 340.5, p < 0.001$ ).

El modelo de regresión logística demostró que tanto la proporción sexual, como la abundancia de flores del parche, tuvieron un efecto significativo sobre la producción de frutos en los tres parches estudiados (Tabla 1). En la figura 2 se puede observar que la mayor probabilidad de producir un fruto se alcanza cuando la abundancia floral es alta (tanto a nivel del parche como individual) y la proporción sexual está sesgada hacia las flores masculinas. Este resultado coincide con lo observado en 1993 (Castillo *et al.*, 2002). Sin embargo, a diferencia de 1993, en 2016 la abundancia de flores de una planta también influyó sobre la probabilidad de formar frutos (Tabla 1).

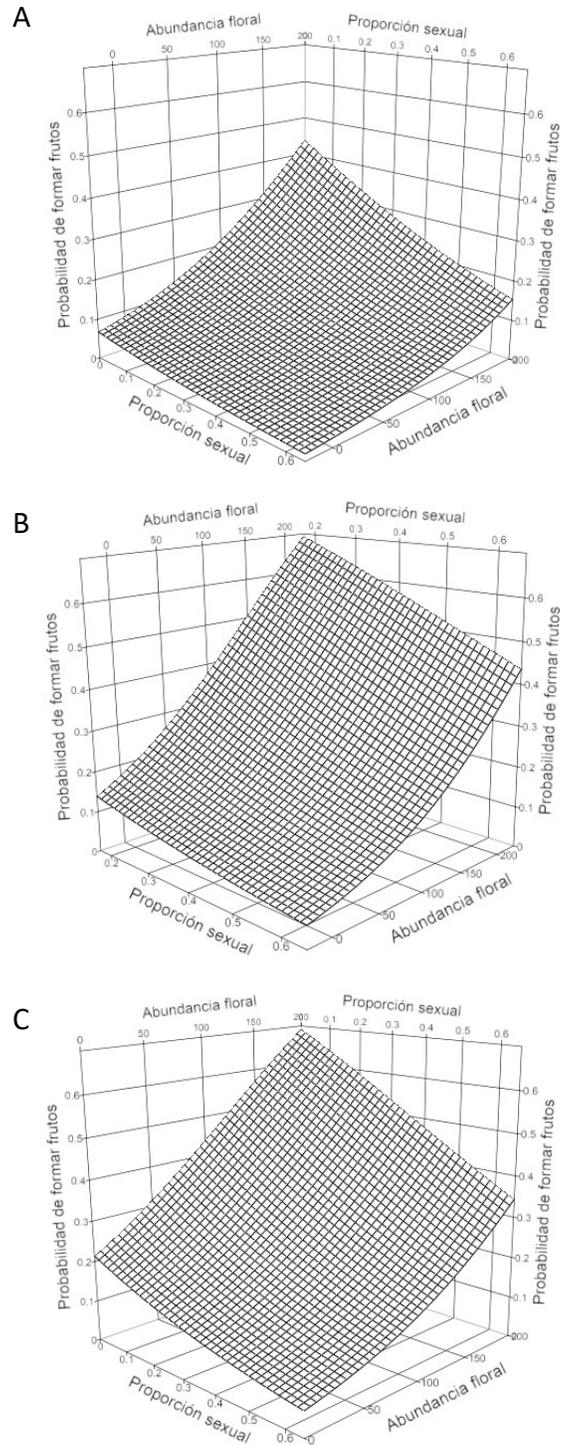


Figura 2. Superficies de adecuación en función de la abundancia floral y la proporción sexual (flores femeninas / flores femeninas + masculinas) en tres parches de la reserva del Pedregal de San Ángel (A – C). La abundancia de flores por planta también tuvo un efecto significativo en la producción de frutos. Sin embargo, por razones de presentación este efecto no se muestra aquí.

Tabla 1. Análisis de varianza del modelo de regresión logística del efecto de la abundancia de flores y la proporción sexual sobre la probabilidad de formar frutos ( $R^2 = 0.08$ ).

Fuente	g.l.	$\chi^2$	P
Parche	2	28.2	7.5e-07
Abundancia floral (parche)	1	8.41	0.021
Proporción sexual (parche)	1	5.29	0.004
Abundancia floral (planta)	1	9.47	0.002
Proporción sexual (planta)	1	0.085	0.77

### *Caracterización de la morfología floral en 2016 y 2017*

De manera similar a lo observado en 1993-1995, el MANOVA mostró que la morfología floral en 2016 difiere entre individuos ( $Wilks' \lambda_{158,810} = 0.61, p < 0.01$ ) y entre los sexos dentro de individuos ( $Wilks' \lambda_{152,810} = 0.64, p < 0.05$ ). Así mismo, una comparación entre los atributos de las flores de ambos sexos mostró que todos los rasgos difieren significativamente ( $t > 3.0$  y  $p < 0.01$ , en todos los casos). Aunque las flores masculinas son aproximadamente 6% más grandes que las femeninas, y esta relación se ha mantenido relativamente constante desde 1993-1998, el aumento en el tamaño de los lóbulos estigmáticos y la disminución en el androceo, ha producido un solapamiento en la magnitud de las estructuras reproductivas (Figura 3). La reducción en el tamaño del androceo y el marcado incremento en la correlación entre los tépalos y el androceo, resultaron en que las ordenadas en el origen y las pendientes observadas en 2016, sean indistinguibles entre las flores de ambos sexos ( $F_{1,558} = 0.96, p = 0.33$  y  $F_{1,558} = 1.75, p = 0.19$ , ordenadas en el origen y pendientes, respectivamente). El análisis de la morfología de las flores muestreadas en 2017 arrojó resultados similares a los de 2016 (Tabla 2).

### *Cambios en la morfología floral*

En la tabla 2 se resumen los datos morfológicos obtenidos en este estudio y se incluyen los valores observados en 1993. Se puede observar que hubo cambios importantes en la morfología de las flores de ambos sexos y que, en su mayoría, son específicos al sexo de la flor. Mientras que el área de los tépalos aumentó en las flores de los dos sexos, el tamaño relativo de las estructuras reproductivas disminuyó. El cambio más importante con respecto

a 1993 fue una reducción de más de cuatro veces en el área del androceo. Este cambio fue acompañado por una reducción importante en la variación de este atributo y del área de los tépalos. En contraste, el área de los lóbulos estigmáticos experimentó un incremento de 20%, mientras que el coeficiente de variación de los lóbulos estigmáticos y de los tépalos, no tuvo cambios significativos con respecto a 1993. Uno de los resultados más sorprendentes, es el cambio en la integración fenotípica de las flores masculinas. El valor de integración estimado en este estudio fue de casi dos veces el observado en 1993. Las flores femeninas, en contraste, no mostraron diferencias significativas entre 1993 y 2016. El incremento en la integración fenotípica masculina se debe a la presencia de la correlación entre el área de los tépalos y el área del androceo ( $F_{5,1461} = 777.7, p < 0.0001$ ; Figura 3), que no existía en 1993.

Tabla 2. Resumen de los rasgos morfológicos de *Begonia gracilis* obtenidos en las temporadas reproductivas de 2016 y 2017 (los datos de 2017 se muestran entre paréntesis). Se incluyen también los datos de Castillo (1999a) obtenidos en 1993-1995. Se muestran los promedios y errores estándar, así como el estadístico usado para comparar las diferencias entre años. Los coeficientes de variación, las estructuras reproductivas y la integración relativa se denotan como: "CV", "ER" y "IR", respectivamente. La significancia de la comparación entre los datos de 2016 y 2017 se muestra al lado del paréntesis.

Variable	Flores masculinas				Flores femeninas			
	1993	2016	Est.	Sig.	1993	2016	Est.	Sig.
Tépalos (cm <sup>2</sup> )	4.38 ± 1.44	6.38 ± 1.66 (6.43 ± 1.77) <i>ns</i>	$U = 34$	***	4.12 ± 1.27	5.96 ± 1.85 (6.07 ± 1.97) <i>ns</i>	$U = 14$	***
CV tépalos	33	26	$D'DA = 17$	***	31	31	$D'DA = 0.01$	<i>ns</i>
ER (cm <sup>2</sup> )	0.91 ± 0.3	0.22 ± 0.046 (0.21 ± 0.05) **	$U = 19$	***	0.20 ± 0.06	0.24 ± 0.067 (0.23 ± 0.06) <i>ns</i>	$U = 22$	***
CV ER	34	21	$D'DA = 65$	***	28	28	$D'DA = 0.06$	<i>ns</i>
Tamaño relativo	0.24 ± 0.2	0.036 ± 0.006 (0.034 ± 0.009) *	$U = 19$	***	0.051 ± 0.01	0.042 ± 0.01 (0.039 ± 0.009) <i>ns</i>	$U = 46$	***
IR (%)	25	41	$IC^{99}$	*	22	23	$IC^{99}$	<i>ns</i>

\*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < .001$ ; *ns* = no significativo.

$U$  = Wilcoxon-Mann-Whitney;  $D'DA$  = Asymptotic test de Miller;  $IC^{99}$  = Intervalos de confianza al 99%.

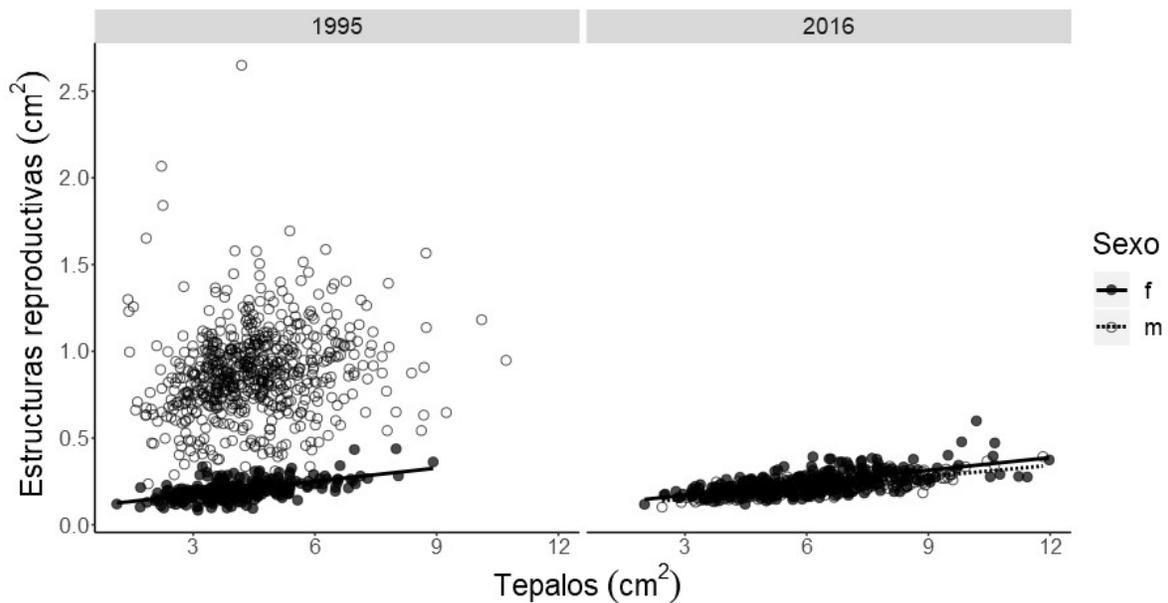


Figura 3. Relación entre el área de los tépalos y la estructura reproductiva de las flores masculinas y femeninas de *Begonia gracilis* a través del tiempo. (Flores femeninas 1993:  $r = 0.58$ ,  $n = 247$ ,  $p < 0.001$ ; flores masculinas 1993:  $r = 0.05$ ,  $n = 657$ ,  $p = 0.17$ ; flores femeninas 2016:  $r = 0.65$ ,  $n = 280$ ,  $p < 0.001$ ; flores masculinas 2016:  $r = 0.75$ ,  $n = 295$ ,  $p < 0.001$ ).

#### *Cambios en la morfología floral y su efecto en el éxito en la producción de frutos*

El análisis de componentes principales de las flores femeninas muestreadas en 2016, indicaron que el primer componente principal (CP1) explicó el 82% de la variación en la morfología de las flores. Este componente puede interpretarse como la variación en el tamaño de las flores, debido a que las cargas (*loadings*) son positivas y de magnitud equivalente (Domínguez *et al.*, 1998; Tabla 3). El segundo componente (CP2) explicó el 18% restante de la variación y puede interpretarse como la relación entre el tamaño de los lóbulos estigmáticos y el de los tépalos (arquitectura floral de aquí en adelante). El análisis de las cargas del CP2 indica que los valores altos de los *scores* de este componente están asociados con estructuras reproductivas grandes y tépalos pequeños, es decir, con tamaños relativos grandes.

Tabla 3. Análisis de componentes principales que resume la morfología floral de *Begonia gracilis* en 2016.

<b>Variable</b>	<b>CP1</b>	<b>CP2</b>
Tépalos	0.71	-0.71
Lóbulos estigmáticos	0.71	0.71
Eigenvalores	1.64	0.36
Varianza explicada (%)	82	18

El análisis de regresión logística que explora la relación entre la morfología y la probabilidad de producir un fruto, reveló que existe una asociación positiva entre el tamaño de la flor y la probabilidad de formar un fruto ( $\beta_1 = 0.63$ ,  $p < 0.001$ ; Tabla 4 y Figura 4).

Tabla 4. Análisis de varianza del modelo de regresión logística. Se estimó el efecto que tienen el tamaño de la flor (CP1) y la arquitectura floral (CP2) sobre la probabilidad de formar un fruto.

<b>Fuente</b>	<b>g.l.</b>	<b><math>\chi^2</math></b>	<b><i>P</i></b>
Tamaño de la flor (CP <sub>1</sub> )	1	17.84	2.41e-05
Arquitectura floral (CP <sub>2</sub> )	1	3.14	0.08

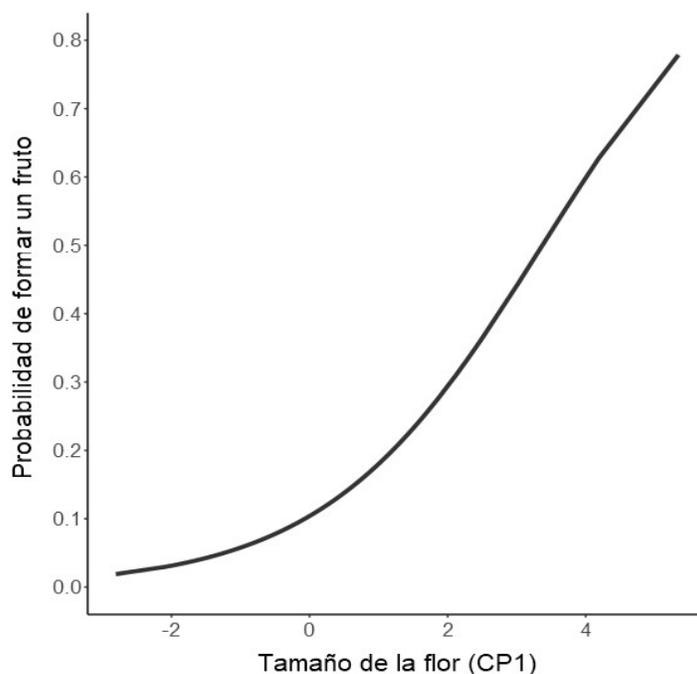


Figura 4. Relación entre el tamaño de la flor (CP1) y la probabilidad de formar un fruto. El modelo tiene un ajuste global de  $R^2 = 0.13$ .

Los resultados del MANOVA indicaron que hay diferencias significativas en la morfología de las flores femeninas exitosas (que produjeron un fruto), las flores femeninas no exitosas (no produjeron un fruto) y las masculinas. (Wilks'  $\lambda_{6,1114} = 0.79$ ,  $p < 0.0001$ ). Los análisis univariados mostraron que las flores femeninas exitosas tienen tépalos de magnitud equivalente a la de las flores masculinas, y que estos dos grupos difieren significativamente de las flores femeninas que fallaron en producir un fruto ( $F_{2,559} = 12.06$ ,  $p < 0.001$ ; Figura 5A). Es decir, este resultado sugiere que la selección natural favorece a las flores (-plantas) femeninas que tienen tépalos similares a los de las flores masculinas. En contraste, no se encontró un patrón que apoye la similitud basada en el tamaño de las estructuras reproductivas ( $F_{2,559} = 23.23$ ,  $p < 0.001$ ; Figura 5B) o en su tamaño relativo ( $F_{2,559} = 35.66$ ,  $p < 0.001$ ; Figura 5C).

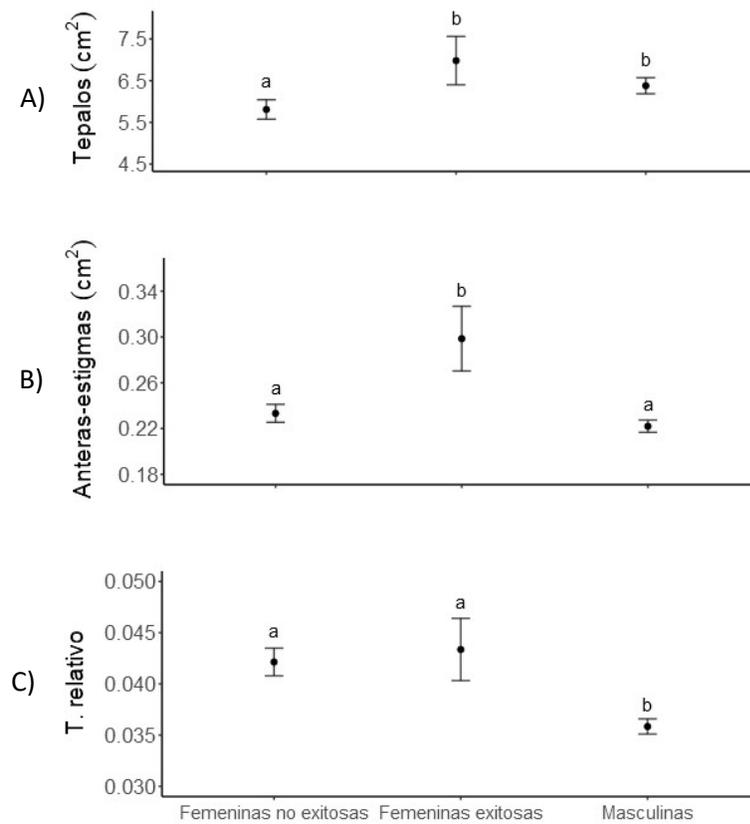


Figura 5. Valores promedio ( $\pm$  error estándar) de los atributos morfológicos de las flores femeninas que no produjeron fruto, las flores femeninas que produjeron un fruto y las flores masculinas de *Begonia gracilis* en el Pedregal de San Ángel en 2016. Las letras distintas indican la existencia de diferencias significativas entre grupos (prueba de Tukey).

#### *Visitas de polinizadores y morfología floral*

Los censos de polinizadores revelaron un drástico cambio en la composición de la fauna de polinizadores. Mientras que en 1993 una sola especie del género *Augochlora* representaba el 80% de las visitas a las flores femeninas, los censos de 2017 revelaron que *A. mellifera* contribuyó con el 85% de las visitas a las flores de ambos sexos (Tabla 5). Los abejorros del género *Xylocopa* (Apidae) fueron responsables del 15% restante. En contraste, en los censos de 2017 y en las observaciones incidentales de 2016, no se registró la presencia de *Augochlora* sp. El cambio en el polinizador principal de *B. gracilis* estuvo asociado con un

incremento de tres veces en la tasa de visita por flor. Es decir, mientras que en 1993 la tasa de visita fue de 0.17 ( $\pm 0.01$ ) visitas por flor, en 2017 se incrementó a 0.55 ( $\pm 0.02$ ).

Tabla 5. Tasas de visita por polinizadores (visitas/flor  $\pm$  error estándar) en *Begonia gracilis* en dos temporadas reproductivas (1993-2017).

Sexo	1993		2017	
	<i>Augochlora</i> sp.	<i>Apis mellifera</i>	<i>Augochlora</i> sp.	<i>Apis mellifera</i>
Masculinas	0.07 $\pm$ 0.01	0.09 $\pm$ 0.01	0.0	0.67 $\pm$ 0.03
Femeninas	0.12 $\pm$ 0.02	0.06 $\pm$ 0.02	0.0	0.28 $\pm$ 0.04

El análisis de regresión logística diseñado para evaluar el efecto de la morfología floral (CP1: tamaño de las flores y CP2: arquitectura floral) sobre la probabilidad de visita a las flores de ambos sexos, mostró que la variación morfológica explica el 15% de la variación en la probabilidad de visita. Se encontró un efecto positivo y significativo del tamaño de las flores (CP1), y negativo de la arquitectura floral (CP2). Asimismo, la significancia del termino sexo y marginalmente de la interacción sexo\*CP1, indicaron que el efecto del tamaño opera de manera diferente entre las flores de diferente sexo (Tabla 6 y Figura 6). Este resultado contrasta drásticamente con el obtenido en 1993, ya que en ese entonces no se detectó un efecto del tamaño de las flores y la única variable que influyó sobre la probabilidad de visita fue el tamaño relativo del androceo (Castillo *et al.*, 2012).

Tabla 6. Análisis de varianza del modelo de regresión logística que evalúa el efecto del tamaño de la flor (CP1), la arquitectura floral (CP2) y el sexo de la flor sobre la probabilidad de visita de *Apis mellifera* hacia las flores de *Begonia gracilis*.

Fuente	g.l.	$\chi^2$	P
Sexo	1	34.92	3.44x10 <sup>-09</sup>
Tamaño de la flor (CP <sub>1</sub> )	1	15.14	9.96x10 <sup>-05</sup>
Arquitectura floral (CP <sub>2</sub> )	1	10.82	0.001
Sexo* CP <sub>1</sub>	1	3.79	0.051
Sex * CP <sub>2</sub>	1	0.09	0.76

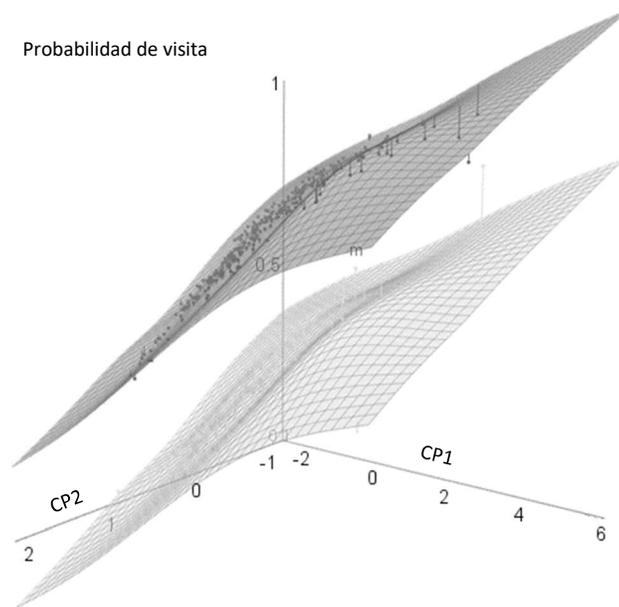


Figura 6. Efecto de la variación en el tamaño de la flor (CP1) y la arquitectura floral (CP2) en la probabilidad de visita a las flores masculinas y femeninas de *Begonia gracilis*. La superficie superior (oscuro) corresponde al ajuste referente a las flores masculinas, la inferior a las flores femeninas (claro).

Tal como se esperaba, el MANOVA mostró diferencias significativas en la morfología de las flores masculinas, las flores femeninas visitadas y las flores femeninas que no fueron visitadas (Wilks'  $\lambda_{6,860} = 0.89$ ,  $p < 0.0001$ ). De manera similar a lo observado en el análisis de la producción de frutos, el análisis univariado y las pruebas de Tukey indicaron que el área de los tépalos de las flores masculinas no difiere del de las flores femeninas que fueron visitadas, pero que ambas difieren de las flores femeninas que no fueron visitadas (Figura 7A). En el caso del tamaño de las estructuras reproductivas y de los tamaños relativos, los resultados indican que no hay diferencias significativas entre los grupos (estructuras reproductivas, Figura 7B), o bien el atributo no difiere entre los dos tipos de flor femenina (tamaño relativo, Figura 7C).

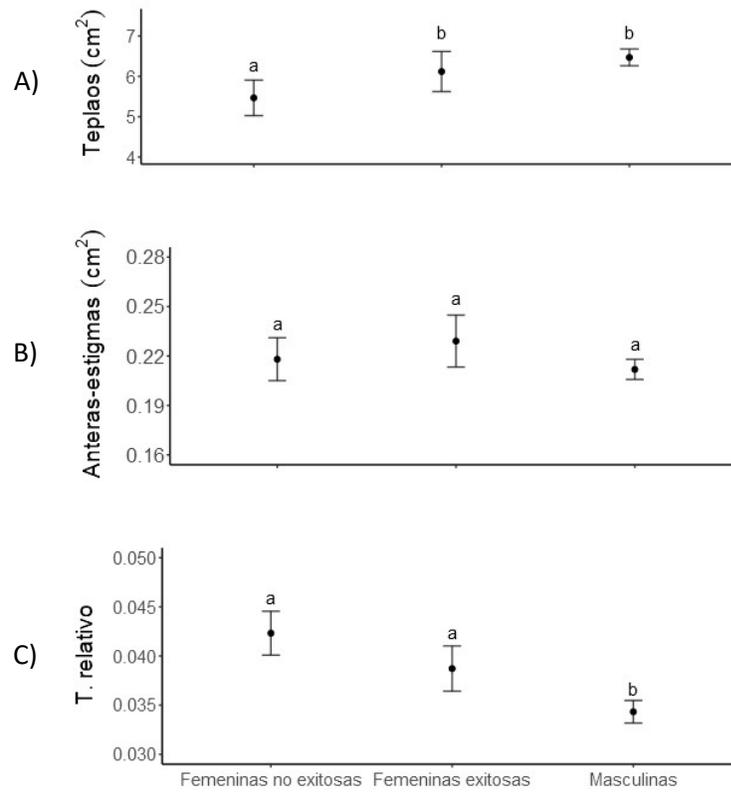


Figura 7. Promedios ( $\pm$  error estándar) de los tépalos, las estructuras reproductivas y los tamaños relativos de las flores masculinas, femeninas exitosas (que recibieron al menos una visita de los polinizadores), y de las flores femeninas que no fueron exitosas (que no fueron visitadas). Las letras diferentes que se encuentran por encima de las barras indican la existencia de diferencias significativas entre grupos.

## DISCUSIÓN

Los resultados de este trabajo muestran que después de alrededor de 20 años de haber descrito el mecanismo de polinización de *Begonia gracilis*, las condiciones ecológicas han cambiado y han provocado un ajuste en el funcionamiento de la polinización por engaño. Estos cambios incluyen reajustes importantes en las medias, las varianzas y las covarianzas de los atributos florales y parecen haber ocurrido en respuesta al cambio en el polinizador principal. Aunque no hay duda de que la dinámica de la polinización ha cambiado, los aspectos más relevantes del síndrome de engaño siguen presentes en la interacción de *B. gracilis* con sus polinizadores. En primer lugar, la condición más importante, el polimorfismo en la producción de recompensas, está presente como un elemento inherente al sistema reproductivo de esta especie. Castillo *et al.* (2002), mostraron que este polimorfismo genera las condiciones para la operación de la selección dependiente de la frecuencia y de la selección dependiente de la densidad. Los resultados de este trabajo confirmaron ese hallazgo y resaltaron que tres importantes parámetros relacionados con esos dos tipos de selección cambiaron con respecto a lo observado en 1993. En primer lugar, se observó un aumento ligero pero significativo en la proporción de flores femeninas en los parches de floración (esta proporción representa el equilibrio dependiente de la frecuencia; Maynard-Smith, 1982). En teoría, este equilibrio depende del grado de similitud entre los dos tipos de flor, de la habilidad de los polinizadores para distinguirlas y/o de la cantidad de recompensa que ofrece una flor honesta (Dafni 1984, Castillo *et al.*, 1999b). Todos estos parámetros cambiaron en relación con lo observado en los primeros estudios de esta especie. La similitud entre las flores aumentó, el polinizador cambió y con él la habilidad, innata o aprendida, para discriminar las flores y el tamaño del androceo (relacionado con la producción de polen) disminuyó. En segundo lugar, la probabilidad de que una flor femenina produzca un fruto tuvo un incremento de más de tres veces (8% a 26%; 1993 y 2016, respectivamente). Este resultado sugiere que la eficiencia del engaño ha aumentado desde que se analizó hace más de 20 años (más flores femeninas, menos recompensa por flor y mayor éxito en la producción de frutos). Los cambios descritos anteriormente constituyen los resultados más relevantes de este trabajo y sugieren que la sustitución del

polinizador principal ha provocado un proceso acelerado de selección que ha resultado en un ajuste funcional en el sistema de polinización y en un aumento en la eficiencia del sistema de engaño de *B. gracilis*. Sorprendentemente, el mecanismo de engaño descrito anteriormente (Castillo *et al.*, 2012), que se basaba en aprovechar los sesgos sensoriales de los polinizadores a través de la desinformación, ha sido sustituido por completo por uno basado en la similitud floral.

Uno de los resultados más sobresalientes de este trabajo es la sutil pero profunda modificación de la morfología de las flores de ambos sexos. Los cambios incluyen las medias, las varianzas y las covarianzas de los atributos florales que, en conjunto, resultaron en un incremento en la similitud de las flores de ambos sexos. Este resultado es importante por varias razones. En primer lugar, señala la labilidad del sistema de polinización de esta especie. Los resultados sugieren que estos cambios van más allá de un efecto ambiental. Los estudios realizados con esta misma especie por Castillo *et al.* (1999a, 1999b, 2002, 2012) se iniciaron en 1993 y continuaron de manera ininterrumpida hasta 1998. Durante ese periodo no se apreciaron cambios significativos en la morfología de las flores ni en la composición de la fauna de polinizadores. En esos años, la polinización por engaño se basaba en una señal engañosa que resultaba de la ausencia de una correlación entre el tamaño de la corola y el androceo. De esta manera, la relación entre estas dos estructuras reducía la capacidad de los polinizadores para evaluar el tamaño real del androceo (Castillo *et al.*, 2012). Una serie de observaciones y experimentos realizados a través de varios años confirmaron este patrón. En contraste, los estudios recientes de esta especie (2016 y 2017), mostraron diferencias significativas con lo observado en la década de los 90's, pero no entre los dos años de este estudio. Las diferencias en la morfología entre ambos periodos, junto con su interpretación funcional, apoyan la hipótesis de que el cambio en la identidad de los polinizadores desestabilizó el sistema mutualista (Stebbins, 1970; Gómez *et al.*, 2009; Boberg, *et al.*, 2014; Sun *et al.*, 2014; Van der Niet, 2014) y provocó la evolución de un nuevo equilibrio fenotípico y dependiente de la frecuencia. De ser cierta esta interpretación, el proceso de sustitución de los polinizadores habría modificado la dinámica selectiva que operaba sobre esta especie generando una intensa presión de selección sobre los rasgos

florales. Esto explicaría el cambio observado en un periodo tan corto. Estudios experimentales han demostrado que los rasgos florales pueden modificarse en pocas generaciones como consecuencia de las presiones de selección ejercidas por los polinizadores (Gervasi y Schiestl, 2017). Por lo tanto, las frecuencias de flores masculinas y femeninas, así como la morfología floral observados en 1993, podrían interpretarse como los equilibrios dependientes de la frecuencia y fenotípico asociados con la presencia de *Augochlora sp.* como polinizador principal. En contraste, los hallazgos de este estudio serían el resultado de un nuevo equilibrio definido por la interacción (sustitución) con su polinizador actual, la abeja europea *Apis mellifera*.

El rasgo más distintivo de este nuevo equilibrio es la presencia de una correlación, que antes no existía, entre el androceo y la corola de las flores masculinas. Este cambio fue de tal magnitud que incrementó la integración fenotípica de las flores masculinas en 39% (de 25 a 41%). *Ordano et al.* (2008) mostraron que el valor promedio de integración fenotípica floral de una muestra de angiospermas fue de 21.5%, por lo que el incremento observado en las flores masculinas de *B. gracilis* las llevó de un valor promedio a uno de los más altos observados (c.f., Figura 2, *Ordano et al.*, 2008). El incremento observado no solo se debe a la correlación entre el androceo y la corola, sino al del androceo con el resto de los atributos florales. En contraste, la integración fenotípica floral de las flores femeninas no mostró cambios significativos con respecto a 1993.

La correlación entre el androceo y el área de los tépalos ha provocado que el tamaño de la flor (al menos de las flores masculinas) cambie de haber sido una señal deshonesto, a una honesta que indica la cantidad potencial de polen que ofrece una flor. Los resultados apoyan esta interpretación, ya que muestran que los polinizadores prefieren las flores (masculinas y femeninas) más grandes. Este cambio, a su vez, pudo haber generado presiones de selección sobre las flores femeninas favoreciendo a aquellas que tuvieran una mayor similitud (en términos de tamaño) con las masculinas. Independientemente de que existe más de una trayectoria para incrementar la similitud entre las flores, en este estudio se encontró que hubo modificaciones en las flores de ambos sexos. El tamaño del androceo se redujo (probablemente disminuyendo la producción de polen por flor, lo que sugiere un

sistema de polinización más eficiente; Cruden, 1977; Chouteau *et al.*, 2006; Götzenberger *et al.*, 2008) y se acercó al de los lóbulos estigmáticos, la correlación androceo-corola se tornó significativa igual a la que existe entre los lóbulos estigmáticos y la corola de las flores femeninas y las corolas de las flores de ambos sexos aumentaron de tamaño. Todos estos cambios incrementaron la similitud con respecto a lo observado en la década de los noventa. En 1993, el área de la corola de las flores femeninas era 6% menor que el de las flores masculinas, los lóbulos estigmáticos 78% menores que los androceos, mientras que el tamaño relativo de las flores femeninas fue 79% menor que el de las masculinas. En contraste, aunque en 2016 se observó un incremento en el tamaño absoluto de las corolas de las flores de ambos sexos, la diferencia entre ellas se mantuvo relativamente constante (7%). La similitud entre los lóbulos estigmáticos y el androceo, así como en los tamaños relativos, tuvo incrementos notables (una diferencia de 8% y 14%, respectivamente).

El aumento en la similitud entre las flores de *B. gracilis* parece haber tenido importantes consecuencias funcionales y reproductivas. Por un lado, en este estudio se ha mostrado que los polinizadores mostraron una preferencia por las flores más grandes. De hecho, el tamaño de la corola de las flores femeninas que fueron visitadas por los polinizadores no difiere del tamaño de la corola de las flores masculinas, pero ambas difieren del de las flores femeninas que no fueron visitadas. A diferencia de lo observado en los noventa, ni los lóbulos estigmáticos ni su tamaño relativo, parecen haber jugado un papel relevante en la probabilidad de que una flor femenina sea visitada por polinizadores. Un patrón similar se observó en la producción de frutos, en donde las flores femeninas que produjeron un fruto fueron más parecidas a las masculinas que las que fallaron en hacerlo. El único resultado que contrasta con lo observado en el análisis de las visitas es el hecho de que las flores femeninas que produjeron frutos tuvieron lóbulos estigmáticos significativamente más grandes que el tamaño promedio del androceo. Este resultado tiene al menos dos explicaciones no mutuamente excluyentes. En primer lugar, se ha sugerido que uno de los posibles mecanismos de engaño de las flores (plantas) *tramposas* es exagerar el rasgo que usan los polinizadores durante el forrajeo (Schemske y Ågren, 1995). El hecho de que las flores femeninas que produjeron un fruto tuvieron lóbulos estigmáticos

significativamente más grandes que el área promedio del androceo podría apoyar esta hipótesis. Sin embargo, el hecho que este patrón no se observó en el análisis de la probabilidad de visita, aunado a que no hubo diferencias significativas entre las flores masculinas y las femeninas que no produjeron frutos, sugiere que esta hipótesis no es correcta. La alternativa es, simplemente, que este resultado se deba a que las flores grandes tienen lóbulos estigmáticos grandes (debido a la correlación entre estos dos rasgos). De ser cierto, la observación de que las flores con lóbulos estigmáticos grandes tienen una mayor probabilidad de producir un fruto sería una consecuencia secundaria de su asociación con flores grandes.

Aunque la interpretación que se le han dado a los resultados de este trabajo se ha restringido a la desaparición de *Augochlora sp.* y su substitución por *Apis mellifera*, aún quedan dos preguntas pendientes. La primera y más importante, es si los cambios en la biología de la polinización de *B. gracilis* se deben realmente a la selección ejercida por *A. mellifera* o podrían tener explicaciones alternativas. La segunda, es si la desaparición de *Augochlora sp.* es una consecuencia de la invasión por las abejas europeas, o estas abejas ocuparon un nicho que se encontraba desocupado por alguna otra razón. Es importante señalar que la respuesta a estos dos cuestionamientos está más allá del alcance de este trabajo y difícilmente se cuenta con la información necesaria para responderlas. Sin embargo, en lo que sigue se expondrá una discusión de estos temas, que necesariamente es muy especulativa.

Es bien conocido que las plantas son organismos con una gran plasticidad que les permite responder a cambios en el ambiente físico (Galen, 1999; Herrera, 2005; Cosacov *et al.*, 2014). Por lo tanto, una explicación posible y simple, es que el clima del Pedregal de San Ángel ha cambiado en los últimos veinte años. Con el fin de evaluar esta hipótesis, se revisaron los registros climatológicos del periodo 1989-2017 (Observatorio Meteorológico del Colegio de Geografía, UNAM). En este análisis solo se incluyeron los meses correspondientes al periodo reproductivo de *B. gracilis* (mayo-octubre). El único parámetro que mostró un cambio significativo en este periodo fue la temperatura promedio de los meses en los que *B. gracilis* se reproduce. Si bien la temperatura (en combinación con otros

factores), podría explicar un cambio en el tamaño de las flores (Hoover, 2012), se esperaría que este factor impactara *todos* los rasgos florales en diferentes sentidos e intensidades. Sin embargo, además de los cambios en la magnitud de las flores, se observaron modificaciones en la estructura de correlación y cambios específicos al sexo de las flores, un resultado que no se esperaría de un factor inespecífico como un cambio de temperatura.

La segunda pregunta, referente a que la desaparición de *Augochlora sp.* sea una consecuencia de la invasión por las abejas europeas, o que estas abejas ocuparon un nicho que se encontraba desocupado por alguna otra razón, es más difícil de contestar. Los estudios de la apifauna del Pedregal de San Ángel muestran que hay una disminución general en el número y abundancia de especies de abejas en el periodo 1989 – 2006 (Hinojosa, 1996; Domínguez-Álvarez *et al.*, 2009). Durante ese periodo la familia más abundante cambió de Halictidae a Apidae. De manera similar, la especie con mayor abundancia relativa, *Lasioglossum sp.* (Halictidae), dejó de serlo y ese lugar fue ocupado por *Apis mellifera*. Domínguez-Álvarez *et al.* (2009) señalan la necesidad de vigilar las poblaciones de *A. mellifera* por la “*presencia constante a lo largo del día y de los años*” y su relación con el posible desplazamiento de polinizadores nativos. En este sentido, es claro que desconocemos cuales fueron las causas de la sustitución de un polinizador por otro. Existen al menos dos hipótesis no mutuamente excluyentes para explicar este fenómeno. En primer lugar, *A. mellifera* es bien conocida por su conducta agresiva y capacidad para invadir ambientes naturales (Paini, 2004; Moritz *et al.*, 2005; Kastberger *et al.*, 2009). Esta hipótesis, la del desplazamiento, implicaría que fue la interacción (competencia directa o indirecta) entre esta abeja invasora y las abejas nativas lo que resultó en la extinción local (o disminución poblacional) de los polinizadores nativos. Los efectos de las especies exóticas sobre la adecuación de las plantas nativas pueden ser muy variados, y van desde los efectos negativos, neutros, o incluso positivos (Paton, 2000; Celebrezze, 2002; Dupont *et al.*, 2004; Chamberlain y Schlising, 2008; Dohzono *et al.*, 2008). Los efectos positivos sobre la adecuación de las plantas nativas generalmente ocurren cuando las abejas invasoras ocupan lugares que han sufrido un deterioro que reduce los servicios de polinización (Paton, 2000; Traveset y Richardson, 2006). Una segunda hipótesis se basa en la idea de que la

perturbación y la reducción del hábitat, ligados a factores antropogénicos (Kremen y Ricketts, 2000; Potts *et al.*, 2010), han impactado de manera desproporcionada a los polinizadores nativos. Los pedregales del sur de la ciudad de México han sufrido una reducción importante en los últimos años, que probablemente, ha generado una disminución en los hábitats críticos de muchas especies nativas. Este fenómeno, aunado a la perturbación antropogénica directa y al aumento en la contaminación atmosférica, lumínica, sonora, etc., pueden haber tenido efectos negativos en las especies que solían habitar los pedregales de manera natural (Carrillo 1995; Cano-Santana y Meave 1996; Castillo-Argüero *et al.*, 2004, 2009; Cano-Santana *et al.* 2006). Es claro que en este momento no se cuenta con la información que permitiría discernir entre estas posibles explicaciones. Sin embargo, los cambios observados no parecen haber ocurrido al azar y son consistentes con la hipótesis que éstos responden a las condiciones generadas por un aumento en la abundancia relativa de *A. mellifera* y una disminución en la de *Augochlora sp.*

En síntesis, los resultados de este estudio sugieren que la invasión de *Apis mellifera* como el polinizador principal de *Begonia gracilis* ha sido la causa principal de la modificación morfológica de las flores de esta especie. Aunque aparentemente las flores no han sufrido cambios importantes, los análisis muestran que estos son profundos y afectaron el tamaño, la variación y la estructura de covariación de los rasgos florales. En este trabajo se demuestra que los cambios están asociados con las preferencias de forrajeo de *Apis mellifera* (preferencia de abejas por flores grandes, Galen y Newport 1987; Noland, 2004), lo que podría explicar el aumento en el tamaño de las flores. Además, es posible que se haya seleccionado un mimetismo más eficiente, ya que se ha demostrado experimentalmente que *A. mellifera* pueden discriminar entre morfologías florales con relación a la cantidad de recompensa que ofrece cada morfo, de la misma manera que cuando existen morfologías idénticas, las abejas no son capaces de discriminar entre flores (Lamb y Wells, 1995). Finalmente, el periodo relativamente corto en el que se han documentado estos cambios, indica el enorme potencial que tienen los polinizadores como agentes de selección y factor de estabilidad en los sistemas mutualistas (Bronstein, 2009).

## LITERATURA CITADA

- Ågren, J. y Schemske D. W. 1991. Pollination by deceit in a Neotropical monoecious herb, *Begonia involucrata*. *Biotropica*. 23: 235-241.
- Ågren, J., Hellstrom, F., Torang, P. y Ehrlen, J. 2013. Mutualists and antagonists drive among-population variation in selection and evolution of floral display in a perennial herb. *Proc. Natl Acad. Sci.* 110: 18202-18207.
- Anstett, M. C., Gibernau, M. y Hossaert-McKey, M. 1998. Partial avoidance of female inflorescences of a dioecious fig by their mutualistic pollinator wasps. *Proc. R. Soc.* 265: 45-50.
- Axelrod, R. y Hamilton W. D. 1981. The evolution of cooperation. *Science*. 211: 1390-1396.
- Bates, H. W. 1862. Contributions to an insect fauna of the Amazon valley. Lepidoptera: Heliconidae. *Trans. Linn. Soc. London*. 23: 495-566.
- Boberg, E., Alexandersson, R., Jonsson, M., Maad J., Ågren, J. y Nilsson, L. A. 2014. Pollinator shifts and the evolution of spur length in the moth-pollinated orchid *Platanthera bifolia*. *Ann. Bot.* 113: 267-275.
- Boucher, D. H., James, S. y Keeler, K. H. 1982. The ecology of mutualism. *A. Rev. Ecol. Syst.* 13: 315-347.
- Bronstein, J. L. 2001. The exploitation of mutualisms. *Ecol. Lett.* 4: 277-287.
- Bronstein J. L. 2009. The evolution of facilitation and mutualism. *J. Ecol.* 97: 1160-1170.
- Bull, J. J. y Rice, W. R. 1991. Distinguishing mechanisms for the evolution of cooperation. *J. Theoret. Biol.* 149: 63-74.
- Cano-Santana, Z. y Meave, J. 1996. Sucesión primaria en derrames volcánicos: el caso del Xilte. *Ciencias*. 41: 58-68.
- Cano-Santana, Z., Pisanty, I., Segura, S., Mendoza-Hernández, P. E., León-Rico, R., Soberón, J., Tovar, E., Martínez-Romero, E., Ruiz, L. C. y Martínez-Ballesté, A. 2006. Ecología, conservación, restauración y manejo de las áreas naturales y protegidas del Pedregal del Xilte. 203-226. En: Oyama, K. y A. Castillo (eds.). Manejo,

Conservación y Restauración de Recursos Naturales en México. Universidad Nacional Autónoma de México y Siglo XXI, México, D.F.

Carrillo, T. C. 1995. El Pedregal de San Ángel. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.

Castillo-Argüero, S., Montes-Cartas, G., Rome- Ro-Romero M. A., Martínez-Orea, Y., Guadarrama- Chávez, P., Sánchez-Gallen, I. y Núñez-Castillo, O. 2004. Dinámica y conservación de la flora del matorral xerófilo de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (D.F., México). *Bol. Soc. Bot. México*. 74: 51-75.

Castillo-Argüero, S., Martínez-Orea, Y., Meave, J. A., Hernández-Apolinar, M., Nuñez-Castillo, O., Santibañez-Andrade, G. y Guadarrama-Chávez, P. 2009. Flora: susceptibilidad de la comunidad a la invasión de malezas nativas y exóticas. En: Lot, A. y Z. Cano.Santana (eds.). Biodiversidad del Ecosistema del Pedregal de San Ángel. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.

Castillo, R. A. 1999. Selección dependiente de la frecuencia en plantas: polinización por engaño en *Begonia gracilis* HBK (Begoniaceae). Tesis doctoral. Instituto de Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.

Castillo, R. A., Cordero C. y Domínguez C. A. 1999. Ecología y evolución de la polinización por engaño. *Bol. Soc. Bot. México*. 64: 57-64.

Castillo, R. A., Cordero C., y Domínguez C. A. 2002. Are reward polymorphisms subject to frequency- and density-dependent selection? Evidence from a monoecious species pollinated by deceit. *J. Evol. Biol.* 15: 544-552.

Castillo, R. A., Caballero, H., Boege, K., Fornoni, J. y Domínguez, C. A. 2012. How to cheat when you cannot lie? Deceit pollination in *Begonia gracilis*. *Oecol.* 169: 773-782.

Celebrezze, T. 2002. Effects of European honeybees (*Apis mellifera*) on the pollination ecology of bird- and insect-adapted Australian plants. Tesis doctoral. *Department of Biological Sciences*, University of Wollongong.

Chamberlain, S. A. y Schlising, R. A. 2008. Role of honey bees (Hymenoptera: Apidae) in the pollination biology of a California native plant, *Triteleia laxa* (Asparagales: Themidaceae). *Environ. Entomol.* 37: 808-816.

Charnov, E. L. 1982. The Theory of Sex Allocation. Princeton University. Press, Princeton.

- Chouteau, M., Barabé, D. y Gibernau, M. 2006. Pollen-ovule ratios in some Neotropical Araceae and their putative significance. *Plant Sys. Evol.* 257: 147-157.
- Cosacov, A., Cocucci, A. A. y Sérsic, A. N. 2014. Geographical differentiation in floral traits across the distribution range of the Patagonian oil-secreting *Calceolaria polyrhiza*: do pollinators matter? *Ann. Bot.* 113: 251-266.
- Cruden, R. W. 1977. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution.* 31: 32-46.
- Dafni, A. 1984. Mimicry and deception in pollination. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 15: 259-278.
- Diedenhofen, B. y Musch, J. 2015. cocor: A Comprehensive Solution for the Statistical Comparison of Correlations. *PLoS One.* 10 (4): 1-12.
- Doebeli, M. y Knowlton, N. 1998. The evolution of interspecific mutualisms. *Proc. Natl Acad. Sci.* 95: 8676-8680.
- Dohzono, I., Kunitake, Y. K., Yokoyama, J. y Goka, K. 2008. Alien bumble bee affects native plant reproduction through interactions with native bumble bees. *Ecology* 89: 3082-3092.
- Domínguez-Álvarez, A., Cano-Santana, Z. y Ayala-Barajas, R. 2009. Estructura y fenología de la comunidad de abejas nativas (Hymenoptera: Apoidea). 421-432. En: Lot, A. y Cano-Santana, Z. (eds.). Biodiversidad del Ecosistema del Pedregal de San Ángel. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.
- Domínguez, C. A., Eguiarte, L. E., Nuñez-Farfan, J. y Dirzo R. 1998. Flower morphometry of *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae): geographical variation in Mexican populations. *Am. J. Bot.* 85: 637-643.
- Dukas, R. 1987. Foraging behavior of three bee species in a natural mimicry system: Female flowers which mimic male flowers in *Ecballium elaterium* (Cucurbitaceae). *Oecol.* 74: 256-263.
- Dupont, Y. L., Hansen, D. M., Valido, A. y Olesen, J. M. 2004. Impact of introduced honey bees on native pollination interactions of the endemic *Echium wildpretii* (Boraginaceae) on Tenerife, Canary Islands. *Biol. Conserv.* 118: 301-311.

- Eickwort, G., y Eickwort, K. R. 1973. Notes on the nests of three wood-dwelling species of *Augochlora* from Costa Rica (Hymenoptera: Halictidae). *J. Kans. Entomol. Soc.* 46: 17-22.
- Ferriere, R., Bronstein, J. L., Rinaldi, S., Law, R. y Gauduchon, M. 2002. Cheating and the evolutionary stability of mutualisms. *Proc. Biol. Sci.* 269: 773-780.
- Frederickson, M. E. 2013. Rethinking mutualism stability: cheaters and the evolution of sanctions. *Q. Rev. Biol.* 88: 269-295.
- Galen, C. y Newport, M. E. 1987. Bumble bee behavior and selection on flower size in the sky pilot, *Polemonium viscosum*. *Oecol.* 74(1): 20-23.
- Galen, C. 1999. Why do flowers vary? The functional ecology of variation in flower size and form within natural plant populations. *BioScience*.49: 631–640.
- Gómez, J. M., Abdelaziz, M., Camacho, J. P. M., Muñoz-Pajares, A. J. y Perfectti, F. 2009. Local adaptation and maladaptation to pollinators in a generalist geographic mosaic. *Ecol. Lett.* 12: 672-682.
- Götzenberger, L., Kühn, I. y Klotz, S. 2008. Effect of habitat disturbance and pollination type on the interspecific variation in pollen-ovule ratios. *Preslia.* 80: 423-437.
- Gervasi, D., y Schiestl, F. P. 2017. Real time divergent evolution in plants driven by pollinators. *Nat. Comm.* 8: 14691.
- Gilbert, S. F., Sappa, J. y Tauber, A. I. 2012. A symbiotic view of life: we have never been individuals. *Q. Rev. Biol.* 87: 325-341.
- Herre, E. A., Knowlton, N., Mueller, U. G. y Rehner, S. A. 1999. The evolution of mutualisms: exploring the paths between conflict and cooperation. *Trends Ecol. Evol.* 14: 49-53.
- Herrera, J. 2005. Flower size variation in *Rosmarinus officinalis*: individuals, populations and habitats. *Ann. Bot.* 95: 431-437.
- Hinojosa-Díaz, I. A. 1996. Estudio faunístico de las abejas silvestres (Hymenoptera: Apoidea) del Pedregal de San Ángel, D.F. Tesis profesional. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.

- Hoover, S. E., Ladley, J. J., Shchepetkina, A. A., Tisch, M., Giese, S. P. y Tylianakis, J. M. 2012. Warming, CO<sub>2</sub>, and nitrogen deposition interactively affect a plant-pollinator mutualism. *Ecol. Lett.* 15: 227-234.
- Janzen, D. H. 1985. The natural history of mutualisms. In: *The Biology of Mutualism* (eds. Boucher, D. H.), Oxford University Press. 40-99.
- JMP®, Version 10. 2012. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Kastberger, G., Thenius, R., Stabentheiner, A. y Hepburn, R. 2009. Aggressive and docile colony defence patterns in *Apis mellifera*. A retreat-releaser concept. *J. Insect Behav.* 22: 65-85.
- Kremen, C. y Ricketts, T. 2000. Global perspectives on pollination disruptions. *Cons. Biol.* 14: 1226-1228.
- Lamb, J. M. y Wells, H. 1995. Honey bee (*Apis mellifera*) use of flower form in making foraging choices. *J. Kansas Entomol. Soc.* 68: 388-398.
- Le Corff, J., Ågren, J. y Schemske, D. W. 1998. Floral display, pollinator discrimination, and female reproductive success in two monoecious *Begonia* species. *Ecology.* 79: 1610-1619.
- Little, R. J. 1983. A review of floral food deception mimics with comments on floral mutualism. In: Jones CE (eds.). *Handbook of experimental pollination biology*. Scientific and Academic editions.
- López, S. y Domínguez, C. A. 2003. Sex choice in plants: facultative adjustment of the sex ratio in the perennial herb *Begonia gracilis*. *J. Evol. Biol.* 16: 1177-1185.
- Machado, C. A., Herre, E. A., McCafferty, S. y Bermingham, E. 1996. Molecular phylogenies of fig pollinating and non-pollinating wasps and the implications for the origin and evolution of the fig-fig wasp mutualism. *J. Biogeogr.* 23: 531-542.
- Marwick, B. y Krishnamoorthy, K. 2018. cvequality: Tests for the equality of coefficients of variation from multiple groups. R software package version 0.1.3.
- Maynard-Smith, J. y Price, G.R. 1973. The logic of animal conflict. *Nature.* 246 (5427): 15-18.

- Maynard-Smith, J. 1982. Evolution and the theory of games. Cambridge University Press.
- Möller, A. P. y Sorci, G. 1998. Insect preference for symmetrical artificial flowers. *Oecol.* 114: 37-42.
- Moritz, R. F. A., Härtel, S. y Neumann, P. 2005. Global invasions of the western honeybee (*Apis mellifera*) and the consequences for biodiversity. *Écoscience.* 12: 289-301.
- Noland, H. M. 2004. Flower size preferences of the honeybee (*Apis mellifera*) foraging on *Mimulus guttatus* (Scrophulariaceae). *Evol. Ecol. Res.* 6: 777-782.
- Ordano, M., Fornoni, J., Boege, K. y Domínguez, C. A. 2008. The adaptive value of phenotypic floral integration. *New Phytol.* 179: 1183-1192.
- Paini, D. R. 2004. Impact of the introduced honey bee: A review. *Austral Ecology.* 29: 399-407.
- Paton, D. C. 2000. Disruption of bird-plant pollination systems in Southern Australia. *Conserv. Biol.* 14: 1232-1234.
- Pellmyr, O., Leebens-Mack, J. y Huth, C. J. 1996. Non-mutualistic yucca moths and their evolutionary consequences. *Nature.* 380: 155-156.
- Potts, S. G., Biesmeijer, J. C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O. y Kunin, W. E. 2010. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trend Ecol. Evol.* 25(6): 345-353.
- Rasband, W. S. 1997-2016. ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland.
- R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Viena, Austria.
- Regal, P. J. 1977. Ecology and evolution of flowering plant dominance. *Science.* 196: 622-629.
- Rzedowski, J. 1954. Vegetación del Pedregal de San Ángel (Distrito Federal, México). *An. Escuela Nac. Cien. Biol.* 8 (1-2): 59-129.
- Sagan, L. 1967. On the origin of mitosing cells. *J. Theor. Biol.* 14: 225-274.

- Schemske, D.W. y Ågren, J. 1995. Deceit pollination and selection on female flower size in *Begonia involucrata*: an experimental approach. *Evolution*. 49: 207-214.
- Schemske, D. W., Ågren, J. y Le Corff, J. 1996. Deceit pollination in the monoecious, neotropical herb *Begonia oaxacana* (Begoniaceae). In: Lloyd DG, Barret SCH (eds.), *Floral Biology. Studies on Floral Evolution in Animal-Pollinated Plants*. Chapman y Hall, E.U.A, Nueva York. 292-318.
- Shykoff, J. A., Bucheli, E. y Kaltz, O. 1997. Anther smut disease in *Dianthus silvester* (Caryophyllaceae): natural selection on floral traits. *Evolution*. 51: 383-392.
- Stebbins, G. L. 1970. Adaptive radiation of reproductive characteristics in angiosperms, I: pollination mechanisms. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 1: 307-326.
- Stockhammer, K. A. 1966. Nesting habits and life cycle of a sweat bee, *Augochlora pura* (Hymenoptera: Halictidae). *J. Kans. Entomol. Soc.* 39(2): 157-192.
- Sun, M., Gross, K. y Schiestl, F. P. 2014. Floral adaptation to local pollinator guilds in a terrestrial orchid. *Ann. Bot.* 113: 289-300.
- Thompson, J. N. 1982. *Interaction and Coevolution*. Wiley and Sons. E.U.A, Nueva York.
- Torices, R. y Méndez, M. 2014. Resource allocation to inflorescence components is highly integrated despite differences between allocation currencies and sites. *Int. J. Plant Sci* 175: 713-723.
- Torices, R. y Muñoz-Pajares, A. J. 2015. PHENIX: An R package to estimate a size-controlled phenotypic integration index. *Appl. Plant Sci.* 3 (5): 1-4.
- Traveset, A. y Richardson, D. M. 2006. Biological invasions as disruptors of plant reproductive mutualisms. *Trends Ecol. Evol.* 21: 208-16.
- Van der Niet, T., Peakall, R. y Johnson, S. D. 2014 Pollinator-driven ecological speciation in plants: new evidence and future perspectives. *Ann. Bot.* 113, 199-211.
- Wagner, G. P. 1984. On the eigenvalue distribution of genetic and phenotypic dispersion matrices: evidence for a non-random organization of quantitative character variation. *J. Math. Biol.* 21: 77-95.
- Wiens, D. 1978. Mimicry in plants. *Evol. Bioi.* 11: 365-403.

Willson, M. F. y Ågren, J. 1989. Differential floral rewards and pollination by deceit in unisexual flowers. *Oikos*. 55: 23-29.