



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

LICENCIATURA EN ECOLOGÍA

Escuela Nacional de Estudios Superiores,
Unidad Morelia

Integración floral y éxito reproductivo de
una comunidad de plantas de alta
montaña en México

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADA EN ECOLOGÍA

P R E S E N T A

MARÍA LUCERO CLEMENTE MARTÍNEZ

DIRECTOR DE TESIS: DRA. SILVANA MARTÉN RODRÍGUEZ
CODIRECTOR DE TESIS: DR. MARTÍN HESAJIM DE SANTIAGO HERNÁNDEZ

MORELIA, MICHOACÁN

DICIEMBRE, 2023



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

LICENCIATURA EN ECOLOGÍA

Escuela Nacional de Estudios Superiores,
Unidad Morelia

Integración floral y éxito reproductivo de
una comunidad de plantas de alta
montaña en México

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADA EN ECOLOGÍA

P R E S E N T A

MARÍA LUCERO CLEMENTE MARTÍNEZ

DIRECTOR DE TESIS: DRA. SILVANA MARTÉN RODRÍGUEZ
CODIRECTOR DE TESIS: DR. MARTÍN HESAJIM DE SANTIAGO HERNÁNDEZ

MORELIA, MICHOACÁN

DICIEMBRE, 2023



ESCUELA
NACIONAL
DE ESTUDIOS
SUPERIORES
UNM
UNIDAD MORELIA

10
años
(2011-2021)

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD MORELIA
SECRETARÍA GENERAL
SERVICIOS ESCOLARES

MTRA. IVONNE RAMÍREZ WENCE

DIRECTORA

DIRECCIÓN GENERAL DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR

PRESENTE

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la **sesión ordinaria 11** del **Comité Académico de la Licenciatura en Ecología** de la Escuela Nacional de Estudios Superiores (ENES), Unidad Morelia, celebrada el día **16 de noviembre de 2023**, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para la presentación del Trabajo Profesional de la alumna **María Lucero Clemente Martínez** de la Licenciatura en **Ecología**, con número de cuenta **418071269**, con el trabajo titulado: **"Integración floral y éxito reproductivo de una comunidad de plantas de alta montaña en México"**, bajo la dirección como tutora de la **Dra. Silvana Martén Rodríguez** y como co-tutor el **Dr. Martín Hesajim De Santiago Hernández**.

El jurado queda integrado de la siguiente manera:

Presidente:	Dr. Mauricio Ricardo Quesada Avendaño
Vocal:	Dra. Martha Elena Lopezaraiza Mikel
Secretario:	Dr. Martín Hesajim De Santiago Hernández
Suplente:	Dr. Alfonso Méndez Bravo
Suplente:	Dr. Edson Jacob Cristóbal Pérez

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Morelia, Michoacán a 08 de diciembre de 2023.

DRA. YUNUEN TAPIA TORRES
SECRETARIA GENERAL

CAMPUS MORELIA

Antigua Carretera a Pátzcuaro N° 8701, Col. Ex Hacienda de San José de la Huerta
58190, Morelia, Michoacán, México. Tel: (443)689.3500 y (55)5623.7300, Extensión Red UNAM: 80614
www.enesmorelia.unam.mx

Agradecimientos institucionales

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México, a la Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad Morelia y a todo el cuerpo de profesores que conforman la Licenciatura en Ecología por haberme formado como profesional al otorgar una educación de calidad llena de oportunidades y aprendizajes.

Agradezco al Laboratorio Nacional de Análisis y Síntesis Ecológica, y al Laboratorio de Ecología Evolutiva de Plantas por su apoyo en el financiamiento y préstamo de equipo para realizar esta tesis.

Agradezco a mi directora de tesis, la Dra. Silvana Martén, por acogerme en su laboratorio y por encaminarme en la investigación científica, recibir su mentoría siempre es un placer y sobre todo un privilegio. A mi codirector, el Dr. Martín Hesajim, por acompañarme e impulsarme a ser mejor estudiante, su dedicación y pasión por el conocimiento han sido una inspiración para mí. Gracias a los dos por confiar en mí.

También quiero agradecer a todos los miembros de mi jurado por la paciencia y tiempo que dedicaron en la revisión de esta tesis: Dr. Mauricio Quesada, Dr. Martín de Santiago Hernández, Dra. Martha Lopezaraiza, Dr. Alfonso Méndez y al Dr. Jacob Cristóbal.

Agradezco a mis compañeros y compañeras del Laboratorio de Ecología Evolutiva de Plantas: Karen, Eugenia, Guillermo, Emiliano, Nilson, Sergio, Gabriel y Oliverio por ayudarme en el trabajo de campo, así como a contar mis frutos. Colaborar con ellos fue un placer y me llevo una experiencia muy grata.

Por último, agradezco al Patronato del Nevado de Colima y Cuencas Adyacentes, A.C., al Biól. José Villa Castillo y a todos los trabajadores del Parque por recibirnos siempre, por facilitar nuestras estadías y siempre estar pendientes de nosotros. Definitivamente este proyecto no sería posible sin su apoyo.

Esta tesis recibió el apoyo y financiamiento de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) de la UNAM (número de proyectos: PAPIIT IN224920, IN226423) y del Consejo Nacional de Ciencia de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) (proyecto número 2021-LN315810).

Agradecimientos personales

Quiero agradecer a mi mamá, mi gratitud y amor siempre van a ser primero para ella, gracias por impulsarme a seguir mis sueños y a confiar en mí, tu eres mi principal inspiración y no me alcanzan las palabras para agradecerte por todo lo que me has dado.

Gracias a mis hermanos, Julio y Luis por siempre cuidarme y darme tantos momentos de felicidad, son mis compañeros de toda la vida y no podría pedir a alguien mejor que ustedes.

Gracias a mi amiga y colega Karen, durante los momentos amargos, donde no encontrábamos un final a todos los frutos que había que contar o las veces que había que medir tantas flores y el cansancio nos rebasaba, aún en esos momentos no faltaban las risas, chistes y compartir las peores canciones que conocemos. No me queda nada más que agradecer tu amistad y esperar las futuras colaboraciones.

A mis amigas de la universidad, Elvia y Sully, ustedes son las personas más inteligentes e increíbles que conozco, es imposible resumir todo lo que vivimos juntas, pero estoy eternamente agradecida por la amistad que me han proporcionado.

Por último, a Rafael, gracias por nunca dejarme sola en este proceso, por escucharme, abrazarme y cuidarme todo este tiempo. Gracias por hacerme ver los pequeños logros que a veces no alcanzaba a apreciar. Contigo es mi lugar seguro y tus palabras de ánimo y aliento me impulsaron en los momentos más difíciles. Encontrarme contigo en esta licenciatura fue el mayor regalo que pude haber recibido.

índice

Resumen	6
Abstract	7
Introducción	8
Objetivo general.....	12
Objetivos específicos.....	12
Hipótesis y predicciones	12
Métodos.....	13
Sitio de estudio.....	13
Diseño Experimental.....	14
Especies de estudio	14
Medición de rasgos fenotípicos	15
Tratamientos reproductivos	16
Observaciones de polinizadores.....	17
Análisis.....	17
Dependencia de polinizadores.....	17
Sistema de polinización	17
Visitas de polinizadores y éxito reproductivo.....	18
Variación y relación morfométrica entre rasgos florales	18
Integración floral.....	19
Resultados.....	20
Discusión.....	31
Conclusiones.....	36
Referencias	37
Anexo	41

Resumen

Las flores son órganos complejos fundamentales para la reproducción sexual de las angiospermas y están constituidas por distintos rasgos que cumplen la función de atraer polinizadores y asegurar una transferencia efectiva de polen para una óptima producción de frutos. La covariación entre los distintos rasgos florales puede cuantificarse mediante la integración fenotípica que permite analizar cuantitativamente la relación entre rasgos funcionalmente relacionados. El valor de integración en una flor puede ser mediada por distintas presiones de selección. Una de las más importantes es la presión selectiva que tienen los polinizadores sobre las flores, ya que se ha sugerido que son los principales mediadores de la morfología floral y por lo tanto de la magnitud de la integración floral. El objetivo de este estudio fue cuantificar la integración floral de 18 especies de plantas del sotobosque en un ecosistema de alta montaña y determinar su relación con la especialización en el sistema de polinización (especializado o mixto) y con la producción de frutos, así también con determinar el grado de dependencia a los polinizadores. Para obtener la integración floral y cuantificar el éxito reproductivo, durante 2021 y 2022 se trazaron 9 transectos dentro del bosque del Parque Nacional Nevado de Colima y se ubicaron 30 individuos de cada especie. Para cada individuo se midieron rasgos florales como el largo y ancho del tubo floral, longitud de los órganos reproductivos y el volumen y la concentración del néctar. Los resultados indican que el índice de integración es mayor en especies de plantas especialistas y que el módulo eficiencia fue el más integrado. Los resultados también muestran que no hay una correlación significativa entre el nivel de integración floral y el éxito reproductivo, mientras que la correlación entre el índice de integración floral y las visitas de polinizadores tampoco fue significativa. También se encontró que las especies estudiadas son altamente dependientes de la polinización por animales. Por lo tanto, las especies de plantas analizadas son especialistas, dependen en gran medida de polinizadores para su reproducción y el módulo floral de eficiencia es altamente integrado. Además, el éxito reproductivo de las plantas analizadas en el Parque Nacional Nevado de Colima puede ser resultado de varios factores además de la integración floral que afectan el desempeño reproductivo de las especies como el ambiente y la disponibilidad de recursos.

Abstract

Flowers are complex organs crucial for the sexual reproduction of angiosperms; flowers are characterized by various traits that serve to attract pollinators and to ensure effective pollen transfer for optimal fruit production. The covariation among different floral traits can be quantified through phenotypic integration, allowing for a quantitative analysis of the relationship between functionally related traits. Integration values within a flower may be influenced by various selection pressures, with one of the most significant being the selective pressure exerted by pollinators on flowers. It has been suggested that pollinators are key mediators of floral morphology and, consequently, the magnitude of floral integration. The main objective of this study was to quantify floral integration in 18 species of plants in a high-altitude ecosystem and determine its relationship with pollination system specialization (specialized or mixed) and fruit production. To assess floral integration and quantify reproductive success, nine transects were established within the Oyamel forest of the Nevado de Colima National Park during 2021 and 2022, each containing 30 individuals of each species. Floral traits, such as the length and width of the floral tube, reproductive organ length, and nectar volume and concentration, were measured for each individual. The results indicate that the integration index is higher in specialist plant species, with efficiency being the most integrated module. Additionally, there is no significant correlation between floral integration level and reproductive success. Moreover, the correlation between the floral integration index and pollinator visits was also found to be non-significant. Therefore, the analyzed plant species are specialists, high-pollinator dependent for reproduction, and the floral efficiency module is highly integrated. Finally, reproductive success of the analyzed plants in the Nevado de Colima National Park may result from various factors beyond floral integration, such as environmental conditions and resource availability, influencing the reproductive performance of these species.

Introducción

Las angiospermas representan el grupo de plantas terrestres con mayor diversidad en el planeta con más de 300,000 especies; se estima que el 90% depende de la polinización por animales (Tong et al. 2023). El origen y diversificación de las angiospermas se remonta al Cretácico temprano, hace aproximadamente 140 millones de años (Magallón et al. 2015). Se considera que la gran diversificación de las angiospermas está relacionada con diversos eventos de radiación adaptativa ligados a la adaptación a diferentes ambientes (e.g. suelos y climas), así como a las diversas interacciones bióticas con insectos como la herbivoría y la polinización (Heimhofer 2005; Pellmyr 1992). La diversificación floral está íntimamente relacionada con las interacciones con insectos que favorecen la transferencia de polen entre plantas conespecíficas para la reproducción sexual de las plantas. Con este supuesto se ha sugerido que, durante la evolución temprana de las angiospermas, las interacciones insecto-planta representaron una estrategia reproductiva que las plantas con flor pudieron explotar (Pellmyr 1992). Posteriormente aparecieron otros organismos vertebrados (e.g. colibríes, murciélagos) que también contribuyeron a la reproducción sexual de las plantas (Ratto 2018).

La selección natural mediada por polinizadores ha jugado un papel importante en la evolución de la diversidad floral (Harder y Johnson 2009). Los polinizadores han ejercido presiones selectivas sobre las características florales y viceversa, dando como resultado una gran variedad de adaptaciones florales, así como de características particulares en los polinizadores que facilitan el uso eficiente de las recompensas florales. (Asar et al. 2022). La selección natural puede actuar sobre características particulares; por ejemplo, el largo del tubo floral puede responder al largo de las partes bucales de los polinizadores proceso que se ha documentado entre *Gladiolus longicollis* (Iridaceae) y diversas especies de polillas, en donde la longitud del tubo floral está adaptada para asegurar la transferencia de polen (Alexandersson & Johnson, 2002). Asimismo, la selección natural puede actuar de forma correlativa en características que se seleccionan de forma conjunta. Por ejemplo, en orquídeas se ha demostrado que la selección mediada por polinizadores ha seleccionado múltiples rasgos que afectan el ajuste entre los polinizadores y las flores, e.g., tamaño de la flor y la longitud del espolón (Rodríguez-Otero et al. 2023)

Las flores son órganos modulares compuestos por sépalos, pétalos, estambres y carpelos funcionales especializados para la recepción y donación de polen (Rudall 2013). Existe una

gran variación entre los rasgos florales de las diferentes taxa, incluyendo el color, la forma, el tamaño y las recompensas florales que se han asociado con la especialización funcional en sistemas de polinización (Armbruster 2014). El principio del polinizador más frecuente y efectivo, propuesto por Stebbins en 1970, propone que la forma de las flores está moldeada por procesos de selección asociadas a aquellos polinizadores que la visiten con mayor frecuencia y eficiencia. Generalmente estos polinizadores no representan una única especie de animal, sino grupos taxonómicos o funcionales de polinizadores con formas, tamaños y comportamientos semejantes que ejercen presiones selectivas semejantes sobre las características florales (Fenster et al. 2004).

Los síndromes de polinización se refieren a conjuntos de características que atraen a polinizadores específicos. Estos síndromes engloban una variedad de atributos florales, que van desde rasgos morfológicos hasta aspectos bioquímicos, incluyendo la producción de sustancias atractivas y recompensas (Baker y Baker 1990, Martén-Rodríguez et al, 2009). Los síndromes florales implican cierto nivel de especialización de las flores en polinización por grupos específicos de visitantes florales, lo que significa que los rasgos florales han evolucionado para aumentar la eficiencia de la transferencia de polen por los grupos de polinizadores más efectivos y desalentar a los visitantes no deseados (Stebbins 1970; Faegri & van der Pijl 1978; Fenster et al 2004). Entre los síndromes más comunes encontramos el melitofílico (polinización por abejas) y ornitofílico (polinización por colibríes). Las flores con síndrome melitofílico tienen formas de plato o acampanadas, apertura diurna, colores diversos (incluyendo azul, morado, amarillo, blanco, a veces con marcas con reflectancia ultravioleta) simetría bilateral y recompensas que incluyen polen, néctar y a veces aceites, fragancias y resinas (Rosas-Guerrero et al. 2014). En cuanto al síndrome ornitofílico las flores son de color rojo, rosa o naranja, sin aroma, de forma tubular y simetría radial o bilateral, y néctar como recompensa (Rosas-Guerrero et al. 2014). Los síndromes de polinización no implican polinización exclusiva por un único grupo funcional de polinizadores, ya que las flores generalmente no son capaces de excluir otros grupos de polinizadores menos frecuentes y efectivos. La evidencia en la literatura sugiere que los síndromes coinciden generalmente con el polinizador más eficiente (Rosas-Guerrero et al. 2014); igualmente, cuando se utiliza la producción de frutos y semillas para analizar la eficiencia de polinización, el polinizador que promueve el mayor éxito reproductivo coincide con el síndrome floral (King et al 2013; de Santiago-Hernández et al. 2019). Esto implica que los síndromes de polinización reflejan los grupos funcionales de

polinizadores más eficientes que han ejercido presiones de selección sobre los fenotipos florales (Fenster et al. 2004)

La existencia de visitantes florales que no corresponden con el síndrome de polinización es un tema de gran interés, ya que estos podrían actuar como robadores de polen o néctar, o podrían actuar como un complemento a la polinización llevada a cabo por los polinizadores principales (e.g. Delgado-Carrillo et al. 2018). Los polinizadores de menor frecuencia o eficiencia, se han denominado polinizadores secundarios, y estos, podrían ser importantes también cuando varía la abundancia del polinizador principal (Rosas-Guerrero et al. 2014); en este caso, incluso animales que generalmente toman recompensas contribuyendo poco al éxito reproductivo de la planta, podrían convertirse en polinizadores efectivos en caso de ausencia de los polinizadores primarios (Thomson 2003).

El sistema de polinización de una planta se refiere al conjunto de polinizadores efectivos de una planta (Stebbins 1970) y se han clasificado como sistemas mixtos (o generalistas) y sistemas especializados de acuerdo al número de grupos funcionales de polinizadores y su frecuencia (Fenster 2004, e.g., Muchhala et al. 2009; Salas-Arcos et al. 2017). En la literatura se sugiere que los sistemas de polinización generalistas son más comunes que los especialistas (Waser et al. 1996), sin embargo, la “especialización” ha sido un término confundido y malinterpretado (Fenster et al. 2004). La especialización ecológica se refiere a “el estado contemporáneo de tener polinizadores que pertenecen principalmente a un solo grupo funcional” (Armbruster et al. 2000). El sistema de polinización mixto es la polinización efectiva de una especie de planta por parte de dos o más grupos funcionales de animales (Fenster et al. 2004). La polinización mixta puede ser resultado de una transición entre síndromes de polinización en donde los rasgos florales atraen a más de un grupo funcional de polinizadores (Ramírez-Aguirre et al. 2016) o puede ser un estado evolutivamente estable (Zhou et al. 2016; Schiestl et al. 2018).

Existe evidencia de que las especies con sistemas de polinización especializados tienen una menor variación fenotípica, en comparación con los sistemas de polinización generalista (Armbruster et al. 2009; Meng et al. 2008). Además, se ha propuesto que los sistemas especialistas deberían tener mayor covariación entre caracteres florales que los generalistas dado que un único grupo funcional de polinizadores ejercería presiones de selección correlativa entre caracteres florales (Lanuza et al. 2023). La covariación entre caracteres florales se refiere a la tendencia de dos o más rasgos de una flor de cambiar en conjunto, es decir, cuando la variación entre rasgos no es independiente. Una manera de cuantificar la

covariación entre los rasgos es a partir del cálculo de la integración fenotípica. El estudio de la integración fenotípica comenzó con las investigaciones de Raissa L. Berg en 1960, quien analizó los patrones de correlación en las características fenotípicas de las plantas. La integración fenotípica se refiere a la relación biológica que existe entre múltiples rasgos de un fenotipo complejo (Pigliucci, 2003). La flor es un fenotipo complejo el cual tiene como función la reproducción de las plantas; y puede ser dividida en dos módulos: uno con la función de atraer polinizadores (color, diámetro de la corola, néctar) y otro que tiene que ver con la correcta transferencia y deposición del polen (longitud del tubo floral, longitud de las anteras, estigma, etc.) (Rosas-Guerrero et al. 2011; Murren 2012). Rosas-Guerrero y colaboradores (2011) evaluaron la relación entre la integración fenotípica y los sistemas de polinización y reproductivos de 20 especies de *Ipomoea*, encontrando que la integración floral del módulo de atracción (i.e., características relacionadas al tamaño y disponibilidad a las recompensas de la flor) era menor que la del módulo de eficiencia (i.e., alto de tubo floral, estigma y las anteras), posiblemente debido a que la selección ejercida por los polinizadores sería mayor en los rasgos relacionados con el transporte y deposición de polen que en los rasgos de atracción floral. Asimismo, este estudio encontró una menor variación fenotípica y mayor integración floral en las especies especializadas que en la generalista (Rosas-Guerrero 2011).

En este proyecto, se evaluó la relación entre la integración floral, el nivel de especialización en sistemas de polinización y el éxito reproductivo (capacidad de reproducción autónoma) en una comunidad de plantas de alta montaña polinizadas por colibríes e insectos. Estudiar la relación que existe entre la integración floral y la producción de semillas de las plantas es importante para entender si los fenotipos integrados confieren una ventaja selectiva a las plantas. Este estudio contribuirá a generar información sobre la evolución de la relación entre rasgos florales y sistemas de polinización en un ecosistema de alta montaña donde los recursos florales son muy importantes para muchas especies de polinizadores. También se estudia la relación que existe entre la forma de la flor y las adaptaciones de los polinizadores para acceder a las recompensas florales. Además de revelar la importancia de la polinización en el éxito reproductivo de las plantas de alta montaña.

Objetivo general

Determinar el nivel de integración fenotípica floral y relacionarlo con el sistema de polinización, la dependencia de polinizadores y el éxito reproductivo de una comunidad de plantas del bosque montano del Parque Nacional Volcán Nevado de Colima.

Objetivos específicos

1. Determinar el sistema de polinización y la frecuencia de visitas de polinizadores para cada especie de planta
2. Determinar el grado de dependencia de las plantas a la polinización por animales de una comunidad de alta montaña.
3. Determinar el éxito reproductivo de las especies de plantas y evaluar su relación con la frecuencia de visitas.
4. Analizar la variación y la relación morfométrica entre rasgos florales de las especies de estudio
5. Evaluar el nivel de integración entre plantas con sistemas de polinización mixta y especializada y entre módulos florales
6. Analizar la relación entre la integración floral y (a) la frecuencia de visitas de los visitantes florales, (b) el éxito reproductivo femenino.

Hipótesis y predicciones

La covariación e integración fenotípica de los caracteres florales está asociada con la atracción de polinizadores y/o la efectividad en la transferencia de polen. Si un fenotipo floral integrado tiene una ventaja selectiva, se espera una relación positiva entre la integración fenotípica y el éxito reproductivo de la planta. Sin embargo, el éxito reproductivo de una planta puede ser afectado por diferentes factores incluyendo la tasa de visitas, el ajuste fenotípico entre flores y polinizadores y la eficiencia del polinizador. Por tanto, se esperaría que las especies con mayor frecuencia de visitas o con sistemas de polinización especializada o autónoma tuvieran una mayor producción de frutos que las especies con sistemas de polinización mixta y mayor exocruzamiento.

Métodos

Sitio de estudio

El estudio se llevó a cabo en el Parque Nacional Volcán Nevado de Colima (PNVNC). El Volcán Nevado de Colima junto con el Volcán de Fuego, forman un complejo volcánico situado en el Cinturón Neovolcánico Mexicano (CONANP, 2008). Este complejo se encuentra localizado entre los límites de los estados de Jalisco y Colima (19° 27' 15" y 19° 35' 09" N, 103° 34' 38" y 103° 39' 04" O). El Volcán Nevado de Colima tiene una elevación aproximada de 4,260 metros sobre el nivel del mar y una extensión de 6554.75 ha. El tipo de clima semifrío con verano fresco corto (clasificación Kopper) constituye el clima más representativo del parque, con precipitaciones en verano, y oscilación térmica anual de más de 7°C (CONANP, 2008). Las temperaturas medias anuales se mantienen muy bajas, pero sin descender del cero. Las temperaturas nocturnas producen congelamiento casi todo el año.

El Volcán Nevado de Colima presenta cuatro tipos de vegetación que se distribuyen en distintos pisos altitudinales. De menor a mayor elevación se encuentran: (1) bosque de pino-encino (BPE) de 2400 a 2800 m.s.n.m. que se caracteriza por su estacionalidad y siendo el sitio más bajo de la montaña sus temperaturas no llegan a ser extremas;(2) Bosque de oyamel (*Abies religiosa*) (BAR) de 2800 a 3200 m.s.n.m., un bosque cuya distribución se relaciona estrechamente a la disponibilidad hídrica (Knapp & Smith, 1981), el sotobosque de este ecosistema es especialmente diverso, con un gran número de especies de herbáceas que florecen durante una gran parte del año; (3) Bosque de pino de altura *Pinus hartwegii* de 3200 a 3800 m.s.n.m (BPH). Estos bosques son los más tolerantes a las temperaturas bajas y a las nevadas, en la parte más baja de su distribución (3200- 3400 m), el *P. hartwegii* también se asocia con otras especies de árboles, de los cuales el más abundante es *Alnus jorullensis* (Pérez-Suárez et al. 2022); Finalmente, el zacatonal alpino, que se desarrolla sobre los 3900 m.s.n.m es un tipo de vegetación que se caracteriza por la dominancia de especies de gramíneas y algunas otras herbáceas, y en general una baja diversidad de flora y fauna,(Rzedowski, 2006; Steinmann et al. 2017). El estudio se llevó a cabo entre 2400 y 3800 m.s.n.m., en el bosque de pino-encino (BPE), bosque de *Abies religiosa* (BAR) y bosque de *Pinus hartwegii* (BPH).

Diseño Experimental

El estudio se realizó entre noviembre 2021 y diciembre 2022. Se establecieron 3 transectos de 1 km en línea recta con un ancho de 20m en cada piso altitudinal (bosque de pino-encino, bosque de Oyamel y bosque de *pinus hartwegii*). A lo largo de estos transectos se seleccionaron 18 especies de plantas polinizadas por colibríes e insectos (Tabla 1). Se marcaron entre 15 y 30 individuos por especie de acuerdo a su abundancia. En cada individuo se midieron características morfológicas y de néctar con el fin de realizar el análisis de integración floral. También se utilizaron individuos a lo largo de los transectos para realizar observaciones de polinizadores y tratamientos para determinar si las especies tienen la capacidad de reproducción autónoma.

Especies de estudio

Las especies seleccionadas forman parte de la comunidad de plantas del sotobosque del Nevado de Colima (Tabla 1, Fig. 1), y se distribuyen desde el piso altitudinal más bajo con vegetación de Bosque de pino-encino hasta especies que se encuentran en el piso altitudinal más alto con Bosque de *Pinus hartwegii*, son especies herbáceas o arbustivas, y la mayoría tienen flores tubulares con tonalidades, rojas, rosas o naranjas, a excepción de *Ribes ciliatum*, un arbusto con flores pequeñas blancas y acampanadas.

Tabla 1. Familia y especies de estudio, morfología floral y piso altitudinal en el que se distribuyen: Bosque de pino-encino (BPE), Bosque de Abies religiosa (BAR), Bosque de *Pinus hartwegii* (BPH).

Piso altitudinal	Familia	Especie	Forma y simetría
BPH	Orobanchaceae	<i>Castilleja cryptandra</i>	Tubular - Radial
BPE	Orobanchaceae	<i>Castilleja tenuiflora</i>	Tubular – Radial
BPE	Lythraceae	<i>Cuphea jorullensis</i>	Tubular – Radial
BAR	Orobanchaceae	<i>Lamourouxia macrantha</i>	Tubular – Bilateral
BAR	Orobanchaceae	<i>Lamourouxia xalapensis</i>	Tubular – Bilateral
BAR	Campanulaceae	<i>Lobelia laxiflora</i>	Tubular – Bilateral
BPH	Plantaginaceae	<i>Penstemon roseus</i>	Campanulada - Radial
BPH	Grossulariaceae	<i>Ribes ciliatum</i>	Campanulada – Radial
BAR	Lamiaceae	<i>Salvia elegans</i>	Tubular – Bilateral
BAR	Lamiaceae	<i>Salvia gesneriiflora</i>	Tubular – Bilateral
BPE	Lamiaceae	<i>Salvia iodantha</i>	Tubular - Bilateral
BAR	Lamiaceae	<i>Salvia longistyla</i>	Tubular - Bilateral
BPE	Lamiaceae	<i>Salvia mexicana var minor</i>	Tubular - Bilateral
BAR	Lamiaceae	<i>Salvia microphylla</i>	Tubular - Bilateral
BAR	Lamiaceae	<i>Salvia purpurea</i>	Tubular - Bilateral
BPE	Lamiaceae	<i>Salvia ramamoorthyana</i>	Tubular - Bilateral
BAR	Lamiaceae	<i>Salvia sp</i>	Tubular - Bilateral
BAR	Lamiaceae	<i>Stachys pilosissima</i>	Tubular - Bilateral

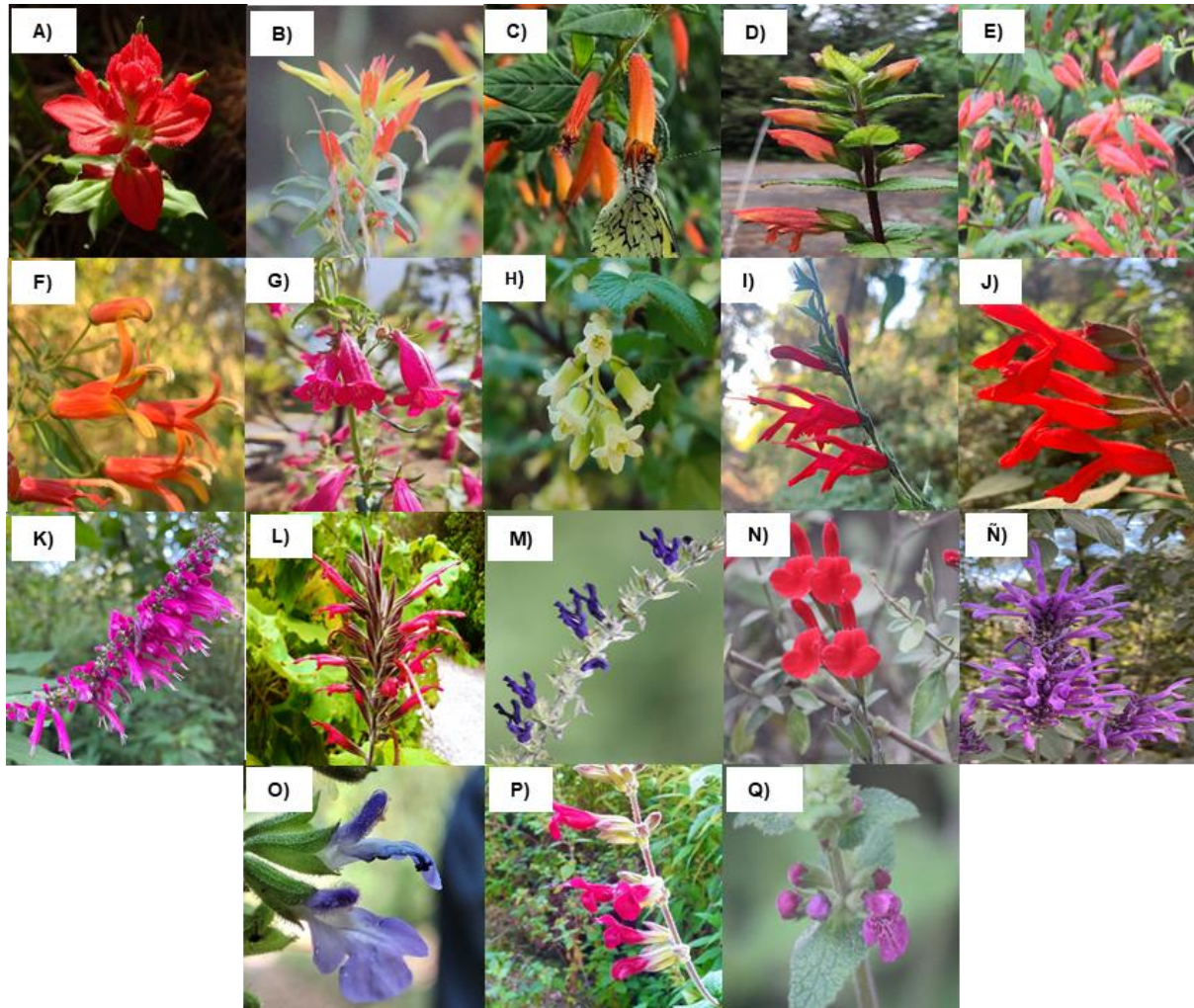


Figura 1. Fotografías especies de estudio. A) *C. cryptandra*, B) *C. tenuiflora*, C) *C. jorullensis*, D) *L. macrantha*, E) *L. xalapensis*, F) *L. laxiflora*, G) *P. roseus*, H) *R. ciliatum*, I) *S. elegans*, J) *S. gesneriflora*, K) *S. iodantha*, L) *S. longistyla*, M) *S. mexicana* var *minor*, N) *S. microphylla*, Ñ) *S. purpurea*, O) *S. ramamoorthyana*, P) *S. sp*, Q) *S. pilosissima*.

Medición de rasgos fenotípicos

Los rasgos morfológicos fueron seleccionados de acuerdo a la morfología floral de cada especie de planta. En el caso de las flores labiadas se midieron: la longitud de la corola (LC), el ancho de la corola (AC), la longitud del labio inferior (LLI), el ancho del labio inferior (ALI), la longitud del labio superior (LLS), el ancho del labio superior (ALS), la longitud del pistilo (Pistilo) y la longitud de los estambres (Estambre) (Fig 1.). Por otro lado, para las especies con flores tubulares o acampanadas como *Ribes*, *Cuphea*, *Lobelia*, *Penstemon* y *Castilleja* se midió la longitud de la corola (LC), el ancho de la corola (AC),

la longitud del tubo floral (LT), el ancho del tubo floral (AT), la longitud del pistilo (Pist) y la longitud de los estambres (Est) (Fig 1.). Para las especies que tenían más de una antera por flor se midieron todas las anteras de cada flor y se calculó el promedio para obtener un valor único por flor. Para todas las especies de estudio se cuantificó el néctar acumulado durante 24 horas. Para esto se seleccionaron 6 flores de 15 individuos por especie. Cada flor fue embolsada un día antes de la antesis floral y las mediciones de néctar se realizaron entre las 8:00 y 11:00 hrs. Para medir el volumen del néctar (Vol) se utilizaron capilares de 20 μ l y para la concentración total de azúcares se utilizó un refractómetro digital que mide en grados Brix la concentración de azúcares.

Tratamientos reproductivos

Para determinar el grado de dependencia de las plantas a la polinización animal y su éxito reproductivo, seleccionamos 15 individuos por especie de planta y aplicamos dos tratamientos en cuatro inflorescencias por planta. El primer tratamiento, polinización abierta (TA), fue para cuantificar la contribución de los polinizadores a la reproducción de las plantas, en este tratamiento, se embolsaron las inflorescencias inmaduras con bolsas de tul hasta el inicio de la floración. Se removieron las bolsas y las inflorescencias fueron expuestas a todos los visitantes florales posibles durante 10 días. Se contaron todas las flores que se abrieron durante este período y se dio seguimiento al desarrollo de los frutos en cada inflorescencia. El segundo tratamiento se llevó a cabo para cuantificar el nivel de dependencia de las especies a la polinización biótica. Este consistió en un tratamiento de exclusión de polinizadores (TC) en el que todas las inflorescencias con botones florales se mantuvieron embolsadas para evitar la visita de los visitantes florales, por lo cual la producción de semillas obtenida corresponde a mecanismos autónomos de reproducción como la autopolinización o la apomixis. Para ambos tratamientos, las inflorescencias permanecieron embolsadas durante 1-2 meses para evitar la pérdida de semillas al madurar de forma escalonada los frutos en las especies con inflorescencias grandes. Una vez maduros los frutos, se recolectaron las inflorescencias y se cuantificó el número de frutos en laboratorio.

Observaciones de polinizadores

Con el fin de determinar la identidad de los visitantes florales de cada especie y su frecuencia de visitas, se seleccionaron parches con abundantes flores de cada especie de planta. Se llevaron a cabo períodos de observación de 30 min en cada parche para un total de horas de observación por especie de 4 a 10 horas. En cada parche se registraron el número de flores, especies de visitantes florales, el número de visitas a las flores de cada visitante floral y si hubo contacto del visitante floral con los órganos reproductivos florales. Los visitantes florales fueron categorizados en los siguientes grupos taxonómicos y funcionales: abejas y abejorros (Hymenoptera), moscas (Diptera), mariposas (Lepidópteros) y colibríes (Trochilidae).

Análisis

Dependencia de polinizadores

Para evaluar el grado de dependencia de las plantas a la polinización biótica se calculó el índice de dependencia de polinizadores (PDI por sus siglas en inglés) que se refiere a la contribución proporcional de los polinizadores a la reproducción de las plantas (Xu et al. 2023). Se calcula como (producción de frutos de polinización natural menos la producción de frutos de tratamientos de exclusión de polinizadores)/producción reproductiva en tratamientos de polinización natural, es decir $(TA-TC)/TC$. Este índice va de 0 a 1, siendo cero el estado en que la población no depende de la polinización biótica y uno, el estado dependencia total de los polinizadores (i.e., que no hay producción de frutos en los tratamientos de exclusión).

Sistema de polinización

Para determinar si el sistema de polinización de las especies de estudio es especializado o mixto se determinó el porcentaje de visitas recibidas por cada grupo de polinizadores. Se realizaron observaciones focales a cada individuo seleccionado y se registraron las visitas de todos los grupos taxonómicos de polinizadores. Si el porcentaje de visitas de un grupo taxonómico representa más del 75% del total de visitas se consideró que la especie de planta tiene un sistema de polinización especialista (de acuerdo con Fenster 2004). Si

ningún grupo de polinizadores representa más del 75% del total de visitas la planta tiene un sistema de polinización mixto.

Visitas de polinizadores y éxito reproductivo

Se calculó la tasa de visita por hora para cada especie de planta dividiendo el número de visitas entre el número de flores y el tiempo de observación total de cada parche observado. Se obtuvo una tasa de visita para cada grupo funcional: Hymenoptera (abejas), Diptera (moscas), Lepidoptera (mariposas) y Trochilidae (colibríes). Se evaluó la diferencia entre la tasa de visitas total de plantas con sistemas de polinización mixto y especializado con un modelo lineal generalizado en el programa R con la función *lm* (Chambers et al. 1992), para este modelo se utilizó una distribución quasipoisson y los datos de tasa de visita fueron transformados a logaritmo.

Para calcular el éxito reproductivo se cuantificó la producción de frutos para el tratamiento abierto y se dividió entre el número de flores. Con esto se calculó el promedio de la proporción fruto/flor para cada especie de planta. Se realizó un modelo lineal generalizado para evaluar las diferencias en la producción de frutos entre sistemas de polinización en el programa R con la función *lm* (Chambers et al. 1992), para este modelo se utilizó una distribución Poisson.

Para analizar la relación entre el éxito reproductivo (fruit set) y la tasa de visitas se realizó un análisis de correlación de Pearson en el programa R con la función *ggscatter* del paquete *ggpubr* (Kassambara 2023), para los datos de tasa de visita se utilizó una transformación logarítmica.

Variación y relación morfométrica entre rasgos florales

Se calculó la variación de los rasgos florales para cada especie de planta mediante coeficientes de variación en el programa R versión 4.3.0 (R Core Team 2021) con una función personalizada en donde el coeficiente de variación es igual a la desviación estándar entre la media aritmética de los rasgos multiplicado por cien, el resultado es expresado en porcentaje. Para cuantificar la relación entre los rasgos florales se realizó un análisis de correlación de Pearson utilizando todos los rasgos florales, mediante la función *cor* del paquete *Stats* (R Core Team 2021).

Integración floral

La magnitud de integración fenotípica se calcula a partir de la varianza de los autovalores obtenidos a partir de un análisis multivariado (Wagner, 1984; Torices y Muñoz-Pajares 2015). Debido a que se midió un número distinto de individuos para cada especie de planta y para hacer comparable la magnitud de integración entre las especies de plantas utilizamos el máximo porcentaje posible de integración (RelPINT). Todos los cálculos de integración fenotípica se realizaron con la función *pint* del paquete PHENIX implementado en la plataforma R (Torices & Muñoz-Pajares, 2015). Se calcularon tres índices de integración para cada especie: (1) índice de integración total utilizando todos los rasgos medidos, (2) índice de integración del módulo de atracción con los rasgos AC, LC, LLS, LLI, ALL, ALI, Vol, °Brix y (3) índice de integración del módulo de eficiencia con los rasgos AT, LT, Est, Pist. (Rosas-Guerrero et al. 2011; Glasser et al. 2023).

Para evaluar la relación entre la integración floral (total y por módulos) el éxito reproductivo y la tasa de visitas se realizó un análisis de correlación de Pearson en el programa R con la función *scatterplot* del paquete *ggpubr* (Kassambara 2023). Los datos de integración fueron transformados con logaritmo. Además, para evaluar las diferencias entre los valores de integración entre sistemas de polinización se realizaron análisis lineales generalizados con la función *lm* del paquete *Stats* implementado en el programa R versión 4.3.0 (R Core Team 2021).

Para evaluar si la integración floral difería entre sistemas de polinización, utilizamos un modelo lineal generalizado donde la variable dependiente fue el valor de integración floral total y la variable independiente fue el sistema de polinización. Se realizaron dos modelos adicionales para evaluar la integración a nivel de módulos florales, uno para el módulo de atracción y otro para el módulo de eficiencia). Las distribuciones utilizadas para cada modelo fueron Gamma. Las distribuciones utilizadas en los modelos lineales generalizado se obtuvieron a partir de un análisis de bondad de ajuste mediante una simulación con valores residuales observados y esperados con la función *simulateResiduals* del paquete DHARMA (Florian Hartig 2017) en el programa R versión 4.3.0 (R Core Team 2021).

Resultados

Dependencia de las plantas a la polinización por animales

El índice de dependencia de polinizadores (PDI) indica que el 88% de todas las especies de plantas tienen una alta dependencia a los polinizadores ($PDI > .70$). En promedio, el valor de PDI de la comunidad de especies plantas en el Nevado de Colima fue de 0.80. Las especies con mayor índice de dependencia fueron *S. elegans* y *R. ciliatum* ($PDI= 1$), y las especies con el menor índice fueron *L. macrantha*, *S. elegans*, *L. laxiflora* (Tabla 2).

Especie	Producción de frutos TA (%)	Producción de frutos TC (%)	PDI
<i>Castilleja cryptandra</i>	44.8	6.5	0.83
<i>Castilleja tenuiflora</i>	82.4	3.3	0.96
<i>Cuphea jorullensis</i>	42.3	8.3	0.80
<i>Lamourouxia macrantha</i>	93.8	81.5	0.16
<i>Lamourouxia xalapensis</i>	68.4	6.32	0.90
<i>Lobelia laxiflora</i>	34.5	19.8	0.47
<i>Penstemon roseus</i>	50.0	0.6	0.97
<i>Ribes ciliatum</i>	44.7	0.0	1.00
<i>Salvia elegans</i>	42.5	26.0	0.51
<i>Salvia gesneriiflora</i>	58.3	0.4	0.99
<i>Salvia sp.</i>	19.3	7.0	0.71
<i>Salvia iodantha</i>	73.6	12.1	0.82
<i>Salvia longistyla</i>	56.5	3.7	0.92
<i>Salvia mexicana var minor</i>	74.4	7.9	0.89
<i>Salvia microphylla</i>	80.5	0.0	1.00
<i>Salvia purpurea</i>	57.8	1.8	0.98
<i>Salvia ramamoorthyana</i>	68.8	2.6	0.95
<i>Stachys pilosissima</i>	88.2	28.6	0.68

Tabla 2. Tabla con los valores producción de frutos (%) en el tratamiento abierto y cerrado, e índice de dependencia de polinizadores (PDI) de las especies de estudio.

Sistema de polinización

De las 18 especies de estudio se encontró que 7 especies tienen un sistema de polinización mixto y 11 tienen un sistema de polinización especializado. Entre las especies de plantas especialistas una especie es especialista en Hymenopteros (*S. ramamoorthyana*), el resto de especies fueron especialistas de Trochilidae (Colibríes) (Figura 2). Las especies de plantas con un sistema mixto, una es campanulada con simetría radial (*P.roseus*) y las 6 especies restantes son tubulares y con simetría bilateral. Entre las especies especialistas sólo *R.*

ciliatum es campanulada y con simetría radial, las demás son tubulares con simetría bilateral (Figura 2).

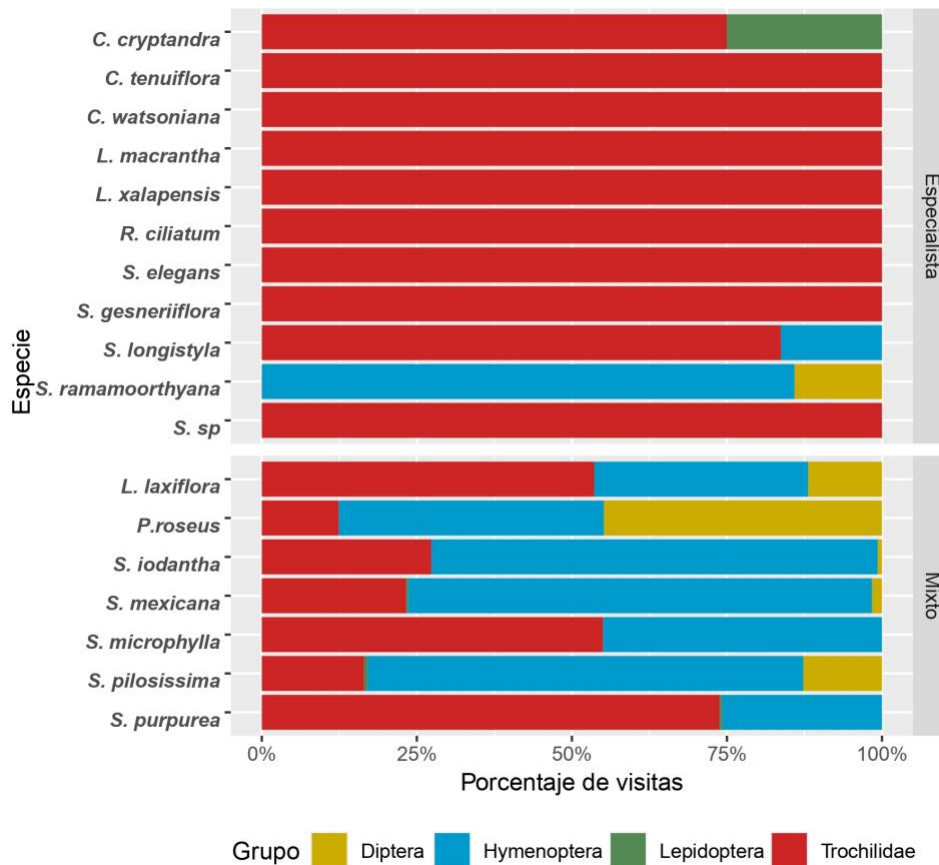


Figura 2. Porcentaje de visitas representado por cada grupo funcional para las 18 especies de plantas de plantas del Parque Nacional Volcán Nevado de Colima.

Visitas de polinizadores y éxito reproductivo

Se encontraron diferencias significativas entre la tasa de visita promedio entre especies de plantas con un sistema de polinización mixto y especialista ($F_{1/501} = 48.59$, $p = >0.001$; Figura 3A) las especies con sistema mixto tuvieron mayor tasa de visitas florales que las especies con sistema especialista. En cuanto al éxito reproductivo no se encontraron diferencias significativas entre los sistemas de polinización ($F_{1/264} = 3.168$, $p = 0.07$; Fig. 3B).

El análisis de correlación entre tasa de visita y éxito reproductivo (Fruit set) indica que no hay correlación significativa entre ambas variables ($R = 0.45$ $p = 0.059$; Fig. 4), sin embargo, se observa una tendencia positiva donde a mayor tasa de visita mayor es el éxito reproductivo.

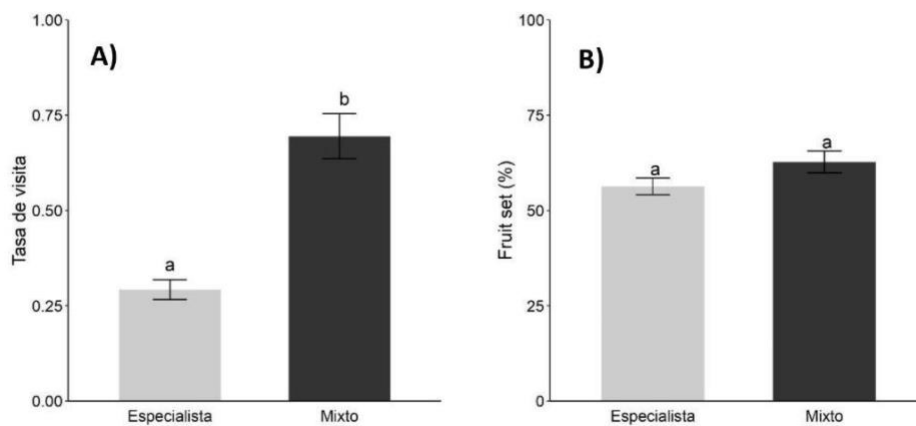


Figura 3. Modelo Lineal Generalizado para tasa de visita y éxito reproductivo 18 especies de plantas con diferente sistema de polinización del Parque Nacional Volcán Nevado de Colima. Las barras representan el error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas.

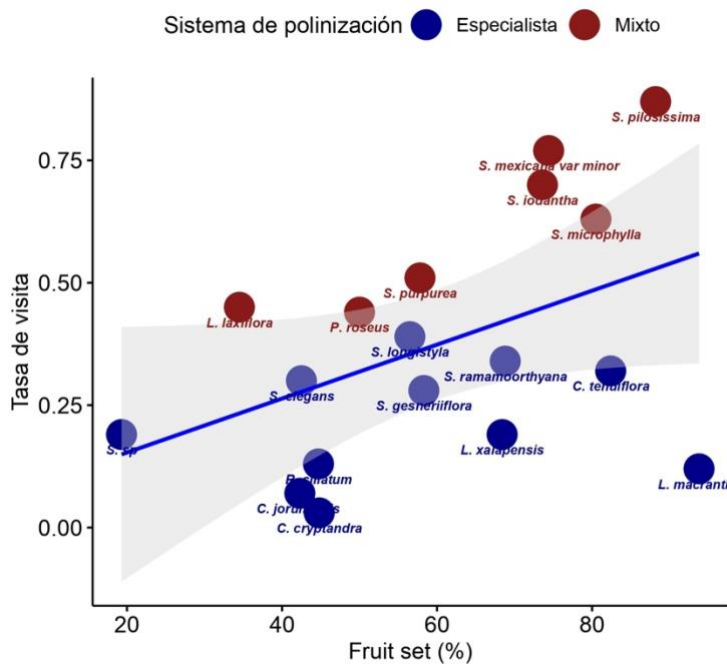


Figura 4. Correlación de Pearson entre Fruit set y tasas de visita total de 18 especies de plantas del Parque Nacional Volcán Nevado de Colima. El sombreado gris representa el intervalo de confianza.

Variación de rasgos fenotípicos

Los coeficientes de variación mostraron que la mayoría de los rasgos tienen mayor variación en especies de plantas especialistas que en especies con sistema de polinización mixto. En cuanto a la variación de los rasgos entre módulos florales, encontramos que ambos sistemas de polinización mantienen coeficientes de variación más bajos en rasgos relacionados al módulo de eficiencia que en los rasgos del módulo de atracción (Anexo I).

Correlación de rasgos

El análisis de correlación entre rasgos florales indica que hay un mayor número de correlaciones significativas en especies de plantas con sistema de polinización especialista que en especies con sistema de polinización mixto (Figura 5 y 6). Además, hubo un mayor número de correlaciones significativas entre rasgos florales relacionados a la eficiencia reproductiva que entre rasgos de atracción ambos sistemas de polinización.

En las especies de plantas con sistema de polinización especialista se encontró que los rasgos florales, como la longitud del tubo floral, longitud del pistilo y la longitud de los estambres, tuvieron correlaciones positivas significativas entre ellos para todas las especies (Fig. 5). También se encontró que en siete de las once especies de plantas especialistas tuvieron una correlación positiva entre el volumen y la concentración del néctar, solo un caso de correlación negativa (*R. ciliatum*) y dos que no fueron significativas (*S. elegans*, *S. longistyla*).

En cuanto a las especies con sistema de polinización mixto encontramos que cinco de las siete especies tienen una correlación positiva significativa entre la longitud del tubo floral y la longitud del pistilo. Tres especies de plantas tuvieron correlaciones positivas significativas entre la longitud del tubo floral y la longitud de los estambres y correlaciones positivas entre la longitud del pistilo y la longitud de los estambres. También cinco de las especies tuvieron una correlación positiva entre el volumen y la concentración del néctar (Fig. 6).

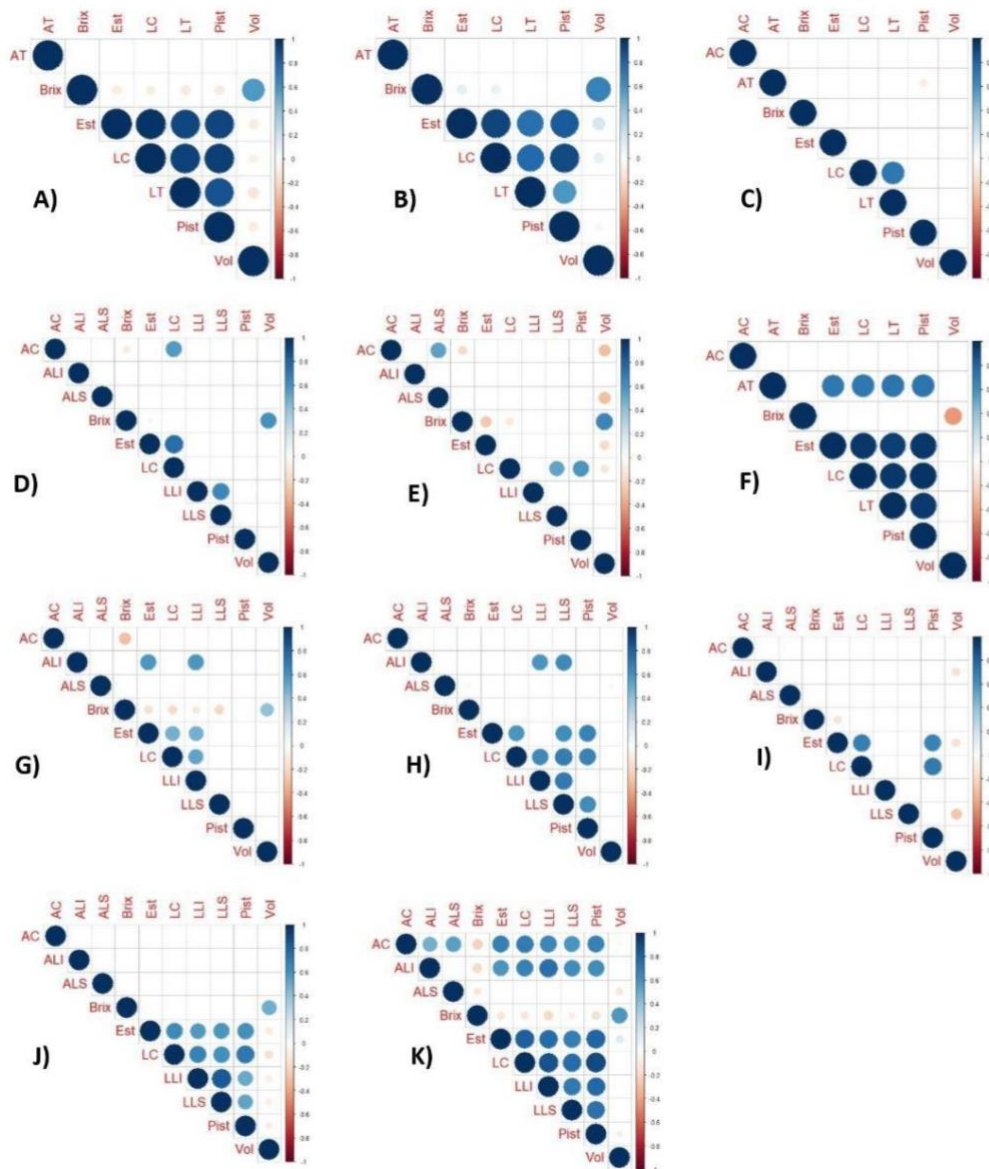


Figura 5. Matriz de correlación de rasgos florales en las especies con sistema de polinización especialista: A) *C. Cryptandra*, B) *C. tenuiflora*, C) *C. watsoniana*, D) *L. macrantha*, E) *L. xalapensis*, F) *R. ciliatum*, G) *S. ramamoorthyana*, H) *S. elegans*, I) *S. longistyla*, J) *S. gesneriiflora*, K) *Salvia sp.* Las letras rojas representan cada uno de los rasgos descritos en la metodología. Las correlaciones positivas se presentan en color azul, mientras que las correlaciones negativas se representan en color rojo. La intensidad del color y el tamaño del círculo son proporcionales a la magnitud de los coeficientes de correlación.

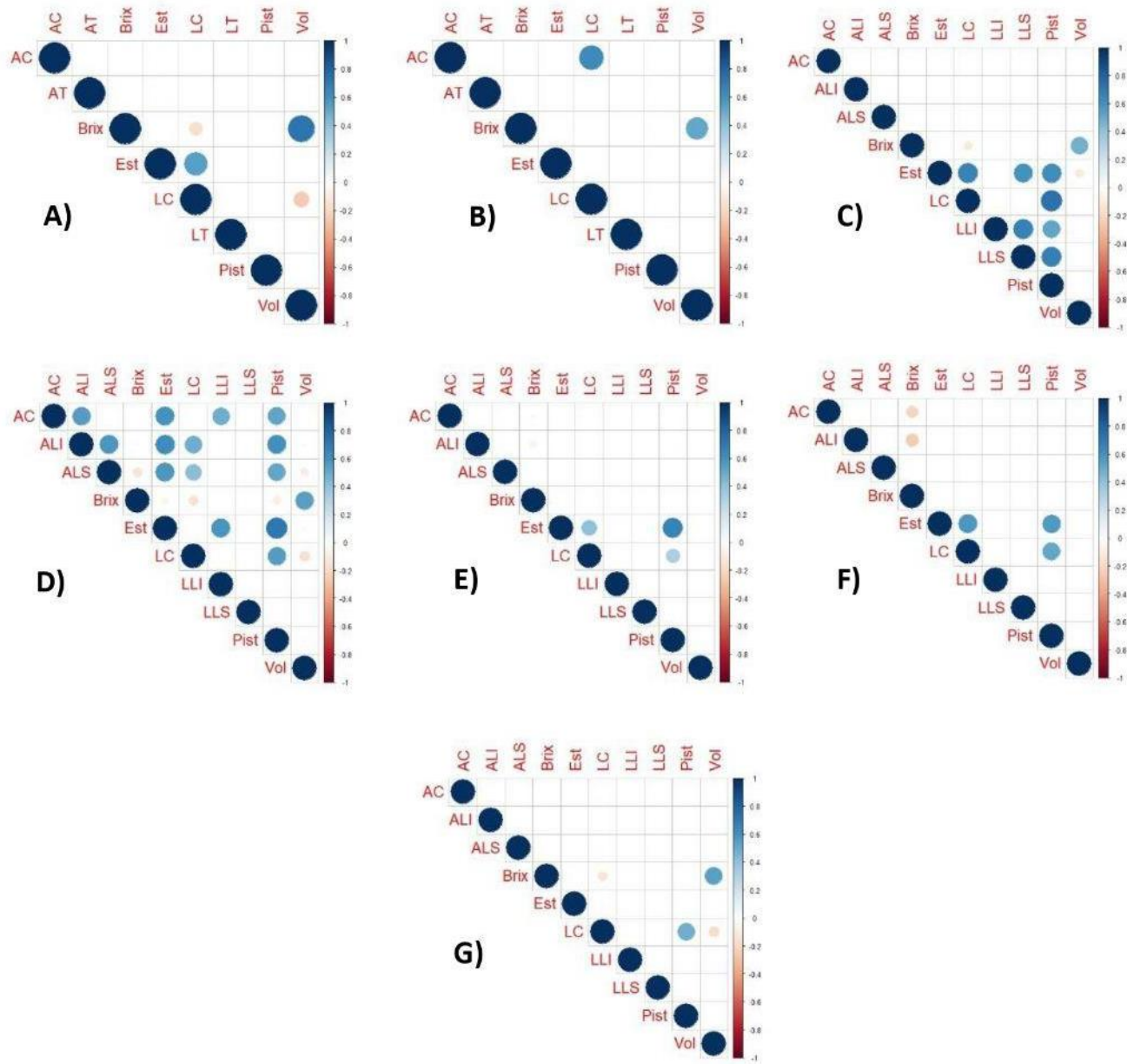


Figura 6. Matriz de correlación de rasgos florales en las especies con sistema de polinización mixto. A) *L. laxiflora*, B) *P. roseus* C) *S. purpurea*, D) *S. microphylla*, E) *S. iodantha*, F) *S. mexicana var. minor*, G) *S. pillosissima*. Las letras rojas representan cada uno de los rasgos descritos en la metodología. Las correlaciones positivas se presentan en color azul, mientras que las correlaciones negativas se representan en color rojo. La intensidad del color y el tamaño del círculo son proporcionales a la magnitud de los coeficientes de correlación.

Integración floral

Los resultados del análisis de integración entre plantas con diferentes sistemas de polinización indicaron que el valor de integración total fue significativamente mayor en plantas con sistema de polinización especialista que en plantas con sistemas mixto ($F_{1/320}= 4.631$, $p= 0.03$) (Figura 7). En cuanto al índice de integración por módulos florales se encontró que el módulo de eficiencia es mayor que el de atracción tanto para las especies con sistema de polinización mixta como especialista ($F_{1/639}= 99.397$, $p= >0.001$). Cuando comparamos los valores de integración de los módulos florales entre sistemas de polinización no encontramos diferencias significativas ($F_{1/640}= 2.986$, $p= 0.08$) (Figura 8).

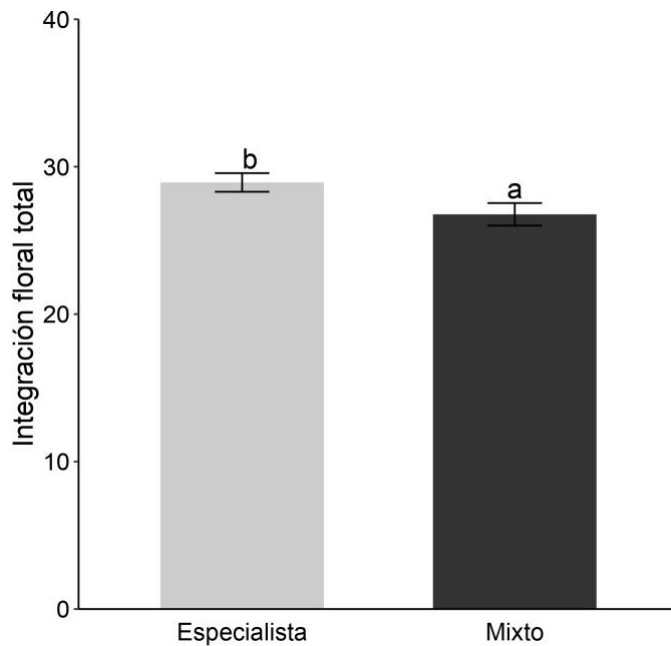


Figura 7. Índice de integración total por sistema de polinización de 18 especies de plantas del Parque Nacional Volcán Nevado de Colima. Las barras representan el error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas.

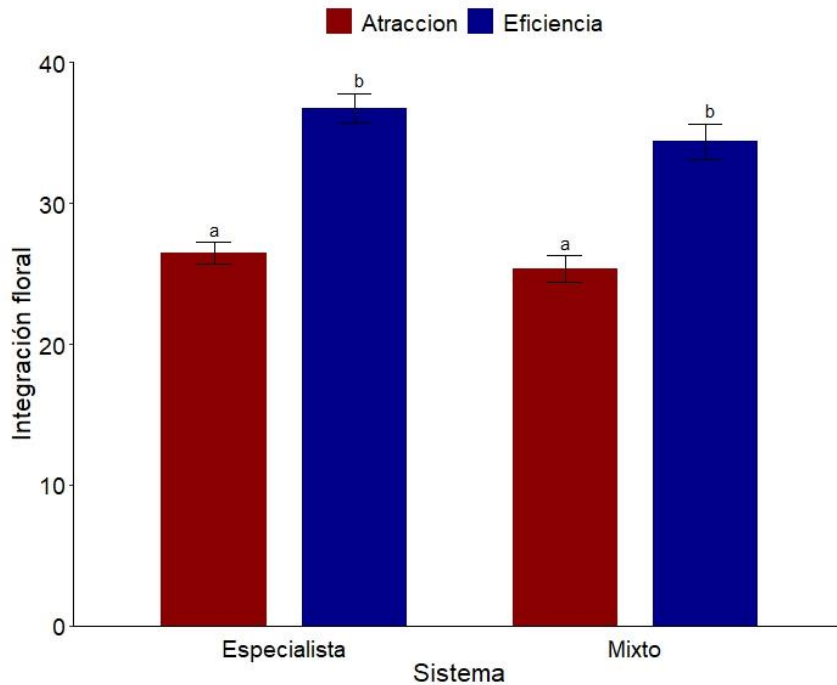


Figura 8. Índice de integración floral para los módulos de atracción y eficiencia y se comparan los sistemas de polinización de 18 especies del Parque Nacional Volcán Nevado de Colima. Las barras representan el error estándar. Letras diferentes indican diferencia significativa.

Integración floral, tasa de visitas y éxito reproductivo

El análisis de correlación entre el índice de integración total, integración del módulo de eficiencia y la integración del módulo de atracción no fue significativo ($R = -0.35$, $p = 0.16$; $R = -0.39$, $p = 0.11$; $R = -0.13$, $p = 0.59$ respectivamente). (Fig. 9, 10 y 11). Las especies especialistas tuvieron valores más bajos de tasa de visita y las especies con sistema de polinización mixto tienen valores de integración más bajos. Además, el análisis indicó que el índice de integración total, el módulo de eficiencia y el de atracción no tuvieron correlaciones significativas con el éxito reproductivo ($R = 0.27$, $p = 0.28$; $R = 0.31$, $p = 0.22$; $R = 0.24$, $p = 0.34$). s (Fig. 12, 13 y 14).

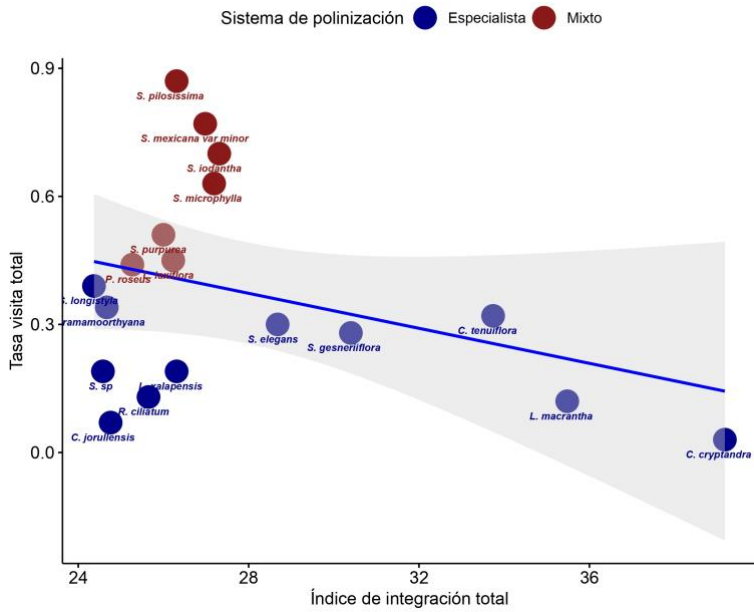


Figura 9. Correlación entre índice de integración total y tasas de visita total de 18 especies de plantas del Parque Nacional Volcán Nevado de Colima.

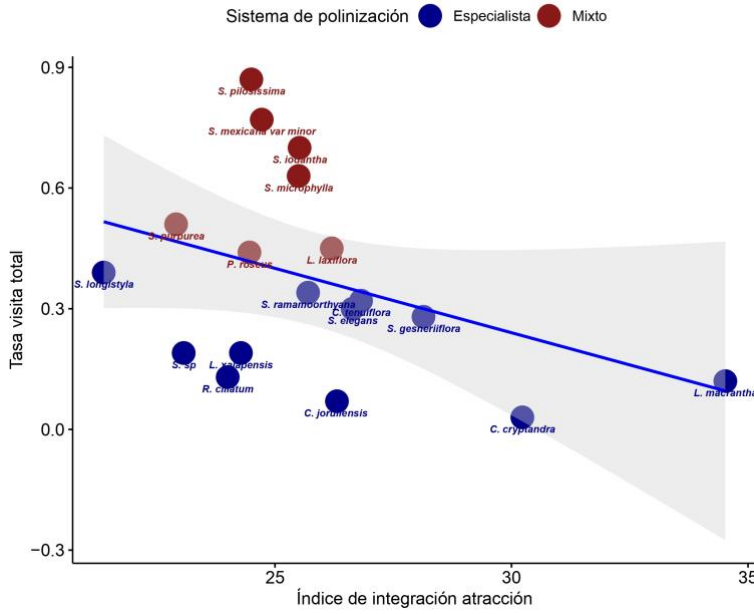


Figura 10. Correlación entre el índice de integración del módulo de atracción y tasa de visita total de 18 especies de plantas del Parque Nacional Volcán Nevado de Colima.

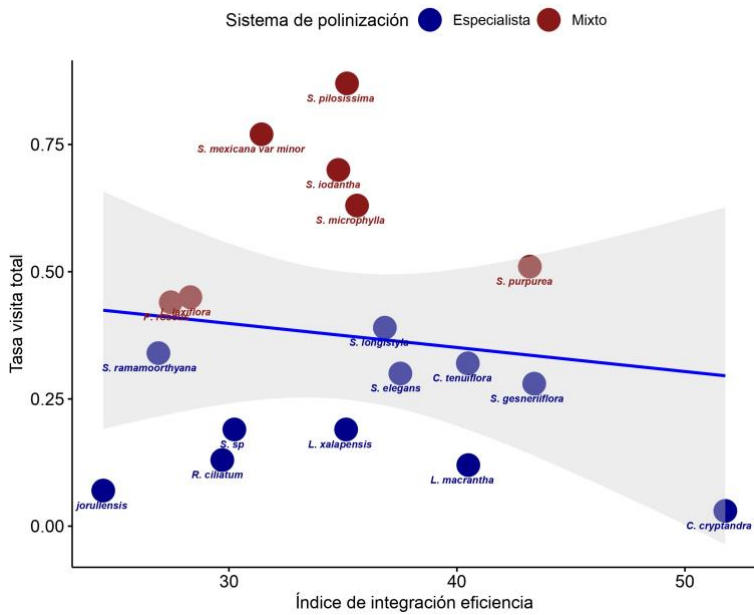


Figura 11. Correlación entre el índice de integración del módulo de eficiencia y tasa de visita total de 18 especies de plantas del Parque Nacional Volcán Nevado de Colima.

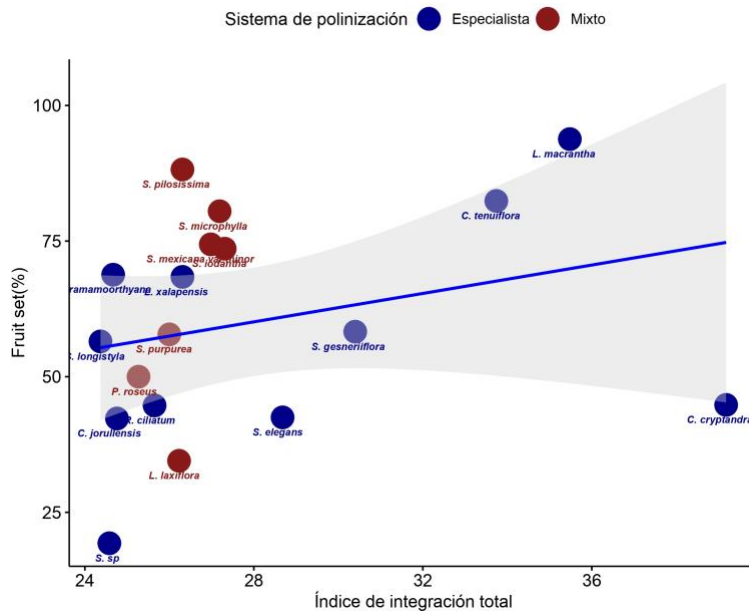


Figura 12. Correlación entre índice de integración total y el éxito reproductivo de 18 especies de plantas del Parque Nacional Volcán Nevado de Colima.

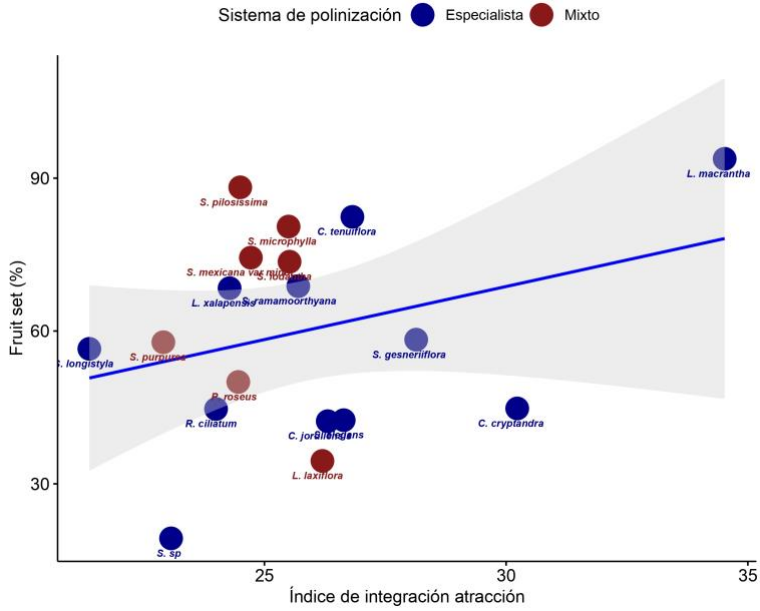


Figura 13. Correlación entre el índice de integración del módulo de atracción y el éxito reproductivo de 18 especies de plantas del Parque Nacional Volcán Nevado de Colima.

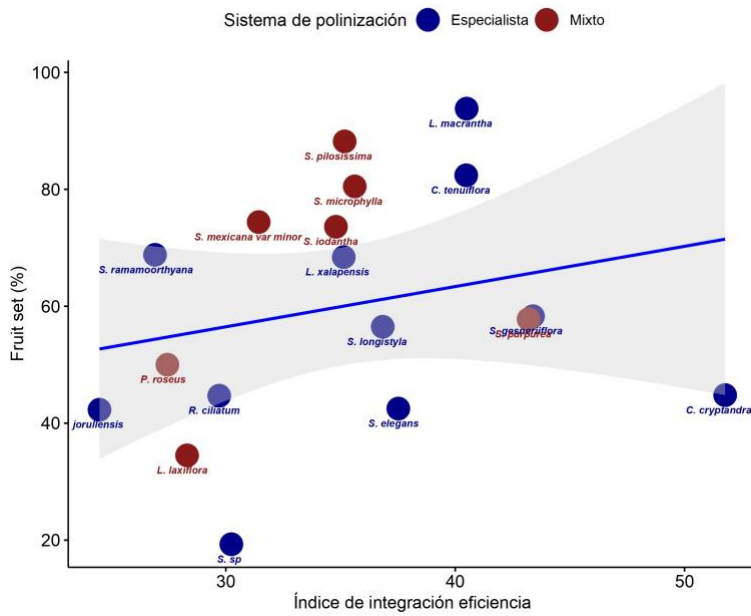


Figura 14. Correlación entre el índice de integración del módulo de eficiencia y el éxito reproductivo de 18 especies de plantas del Parque Nacional Volcán Nevado de Colima.

Discusión

Algunos estudios han sugerido que, en ambientes alpinos, la dependencia a la polinización animal disminuye, ya que a mayor elevación la diversidad de polinizadores tiende a disminuir (Arroyo et al. 2006). Por lo que se esperaba que las especies de plantas en este estudio tuvieran una baja dependencia a los polinizadores. Sin embargo, el 88% de las especies de plantas analizadas tuvieron alta dependencia a la polinización animal (Tabla 2). Este resultado está de acuerdo con estudios que sugieren que la polinización de especies de plantas alpinas es altamente dependiente de la polinización biótica (Wirth et al. 2010; Xu et al. 2023). Es posible que bajo condiciones climáticas extremas se favorezca el exocruzamiento para evitar la disminución de la diversidad genética de las especies de plantas y los efectos negativos de la depresión por endogamia (Bingham & Orthner 1998; Bingham & Ranker 2000; Xu et al. 2023).

Cuando analizamos la frecuencia de visitas, encontramos que 11 especies de plantas tuvieron un sistema de polinización especialista en el que los colibríes fueron el grupo funcional de polinizadores mayormente representados con más del 75% del total de visitas florales, excepto en *S. ramamoorthyana* donde las abejas fueron el principal grupo funcional de visitantes florales. En las 7 especies de plantas restantes se encontró que tuvieron un sistema de polinización mixto en el que fueron visitadas por al menos 3 grupos funcionales de polinizadores que incluyeron abejas, moscas y colibríes (Figura 2). Estos resultados indican que la comunidad de plantas analizadas en un ecosistema alpino es especializada y altamente dependiente de la polinización animal.

Algunos estudios han sugerido que aquellas plantas que tienen una mayor tasa de visitas de visitantes florales tienen mayor éxito reproductivo (Sahli & Conner 2007; Melen et al., 2016; Grass et al., 2018). Contrario a esta evidencia, para las especies de estudio no se encontró una correlación significativa entre la tasa de visitas y la producción de frutos; pero sí se encontró una tendencia positiva que sugiere que a mayor frecuencia de visitas hay un incremento en la producción de frutos (Figura 4). Considerando que las especies de la comunidad de plantas tienen dos sistemas de polinización, analizamos la diferencia en la tasa de visitas entre estos sistemas. Encontramos que hubo diferencias significativas, donde las especies de plantas con sistema mixto tuvieron una mayor tasa de visita que las especies

de plantas con sistema especialista (Figura 3A). Sin embargo, cuando analizamos la producción de frutos entre sistemas de polinización, no encontramos diferencias significativas (Figura 3B). Estos resultados sugieren que hay diferencias en la frecuencia y efectividad de los polinizadores ambos sistemas de polinización, que sugieren que los polinizadores de plantas especialistas pueden ser menos frecuentes y efectivos, mientras que los polinizadores participantes en sistemas mixtos de polinización pueden ser más frecuentes, pero menos efectivos (Javorek et al. 2022). Por lo tanto, ambas estrategias reproductivas resultan en un éxito reproductivo similar. Además, se ha sugerido que utilizar la frecuencia de visitas no es la mejor aproximación para describir el éxito reproductivo de las plantas, ya que esta aproximación no considera el éxito en la remoción y el depósito de polen de cada uno de los visitantes florales (Fenster et al 2004; de Santiago-Hernández et al. 2019).

Durante su historia evolutiva, las plantas han desarrollado diversos fenotipos florales que atraen a polinizadores particulares que facilitan la remoción y el depósito de polen sobre el estigma de flores conespecíficas (Armbruster 2017). En ese sentido, las flores son unidades funcionales formadas por diferentes verticilos que covarían de acuerdo a sus relaciones genéticas y de desarrollo (Rudall 2013). Esta covariación está relacionada directamente a la variación individual de los rasgos florales y se ha sugerido que es resultado de la selección impuesta por los polinizadores (Rosas-Guerrero et al. 2011). Los resultados en este estudio indican que los rasgos florales de las especies de plantas especialistas tuvieron mayor variación que los rasgos de plantas con sistema mixto. Este resultado no coincide con nuestra predicción, ya que esperábamos que los rasgos florales de las especies de plantas con sistema especialista tuvieran menor variación que los de especies con sistema mixto, como se ha encontrado en otros estudios (Meng et al. 2008, Rosas-Guerrero et al. 2011). Armbruster et al. (2004) sugirió que en plantas que son polinizadas por grupos específicos de polinizadores la variación de los rasgos florales está dada por la variación intra e interespecífica de los polinizadores legítimos.

En el caso de las plantas de este estudio con sistema especializado fueron principalmente visitadas por 14 especies de colibríes que varían en tamaño, forma de pico, comportamiento y posiblemente en efectividad de polinización. Estas diferencias fenotípicas de los colibríes podrían favorecer la selección de los rasgos florales en diferentes direcciones resultando en

mayor variación de los rasgos florales. De acuerdo con los resultados, las especies con sistema mixto fueron en su mayoría visitadas por moscas y abejas. Ambos tipos de polinizadores han sido considerados equivalentes en el servicio de polinización debido a su similitud en tamaño y fenotipo (Cook et al. 2020; Stavert et al. 2018). Estas similitudes fenotípicas entre abejas y moscas podrían favorecer una menor variación de los rasgos florales en plantas con sistema mixto, aunque se requiere de estudios que evalúen la dirección de las presiones selectivas que ejercen estos dos grupos de insectos sobre las flores, así como su eficiencia de polinización.

Cuando analizamos por separado la variación de los rasgos florales entre los módulos florales de atracción y de eficiencia, encontramos que tanto en plantas con sistema especializado y mixto, los rasgos reproductivos (longitud tubo floral, longitud estambres, longitud pistilo) tuvieron índices de variación bajos comparados con los rasgos relacionados a la atracción de polinizadores (volumen y concentración de néctar, ancho de la corola, etc). Dada la importancia que tienen los rasgos de eficiencia, que afectan directamente el éxito en el depósito de polen conespecífico sobre los estigmas y determinan en gran parte el éxito de la producción de semillas, era de esperar que este el conjunto de rasgos de eficiencia tenga menor variación floral que el conjunto de rasgos de atracción. Este resultado ha sido reportado por Rosas-Guerrero y colaboradores (2011) para especies del género *Ipomoea*.

Cuando analizamos el arreglo de las relaciones entre rasgos florales mediante la correlación de rasgos, encontramos que las plantas con sistema especialista tuvieron una mayor cantidad de correlaciones significativas que los rasgos de las especies con sistema mixto. Algunos estudios han sugerido que un mayor número de correlaciones en plantas con sistema especializado se debe a que las plantas desarrollan rasgos que restringen la polinización de grupos de polinizadores distintos al de su polinizador legítimo y las correlaciones entre estos rasgos son más fuertes que en plantas que son polinizadas por diferentes grupos funcionales de polinizadores (Fenster et al. 2004). Los resultados en este estudio van de acuerdo con esta hipótesis, ya que las especies de plantas especialistas visitadas principalmente por colibríes como *C. cryptandra*, *S. gesneriiflora*, *S. sp*, tienen flores grandes, rojizas y órganos reproductivos ocultos, tienen mayor número de correlaciones significativas fuertes ($R > 0.5$) entre rasgos florales, que especies como *P.*

roseus, *S. iodantha*, *S. pillosissima*, que son flores más pequeñas, de color rosa, con los órganos reproductivos expuestos y que son visitadas por más de un grupo funcional de polinizadores (Figura 5 y 6). Berg (1960) también sugirió que las correlaciones entre rasgos florales son más fuertes cuando están relacionados funcionalmente en la donación y el depósito de polen o para atraer polinizadores. Este patrón lo observamos en las plantas de estudio, ya que los rasgos del módulo de eficiencia como la longitud y ancho del tubo floral, longitud del estambre y longitud del pistilo tuvieron correlaciones significativas altas, mientras que los rasgos de atracción como el ancho de la corola y/o ancho y largo de los labios inferior y superior en especies de *Salvia* no presentaron correlaciones significativas (Figura 5 y 6).

Stebbins (1974) propuso que las plantas mejor adaptadas a la polinización por animales específicos tienen flores altamente integradas para ajustarse a la morfología de los polinizadores más eficientes. Por esto, una especie de planta altamente especializada tendrá rasgos florales más integrados que una especie con sistema mixto (Delgado-Dávila et al. 2016; Ordano et al., 2008). En este estudio se encontró que las especies de plantas con sistema especialista tuvieron mayor grado de integración floral que las especies con sistema mixto. En plantas con sistemas de polinización especialistas donde hay un único polinizador efectivo, los rasgos responden a las presiones ejercidas por un único grupo funcional, por lo que valores de integración altos pueden ser favorecidos, mientras que en plantas con sistema mixto las presiones de selección son difusas y puede dirigir la selección de rasgos florales en diferentes direcciones (Rosas-Guerrero et al. 2011). El patrón de integración floral para cada sistema de polinización puede estar dado por las relaciones genéticas y de desarrollo que hay entre los caracteres florales, sin embargo, estas pueden ser exacerbadas por las presiones de selección ejercidas por los polinizadores (Armbruster et al. 1999; Armbruster et al. 2014).

El análisis de la integración entre módulos florales indica que los rasgos del módulo de eficiencia fueron más integrados que los rasgos del módulo de atracción. Algunos estudios han encontrado resultados similares y explican que esto ocurre por la precisión y exactitud que se requiere para la donación y recolección del polen ya que esto es muy importante para garantizar que la visita de un polinizador sea efectiva (Armbruster et al. 2004; Rosas-Guerrero et al. 2011). Además, siendo que las plantas de este estudio son altamente

dependientes de polinizadores, los rasgos como la longitud y ancho de la corola, la longitud de los estambres y la longitud de los pistilo, que favorecen la transferencia de polen, son rasgos que posiblemente han sufrido fuertes presiones de selección para favorecer el éxito reproductivo de las plantas y minimizar la pérdida de polen. Por otro lado, mayor integración entre rasgos florales del módulo de atracción puede propiciar un mayor atractivo floral, sin embargo esto no garantiza un aumento en las tasas de polinización legítima y éxito reproductivo, por lo que es posible que estos rasgos en las especies de estudio han pasado por un proceso de selección más laxo y los valores de integración son bajos que el módulo de eficiencia.

Existen pocos estudios que relacionen la integración floral y el éxito reproductivo, por lo que es importante evaluar el valor adaptativo de la integración en el desempeño reproductivo de las plantas (Cuartas-Domínguez & Medel 2010). En este estudio se esperaba que una mayor integración floral estuviera asociada con una mayor tasa de visita de polinizadores y una alta producción de frutos; sin embargo, no se encontró una relación significativa entre estas variables (Figura 9-14). Otros estudios que evalúan la integración floral y el éxito reproductivo tampoco encontraron resultados concluyentes, aunque sugieren que una mayor integración floral puede favorecer el éxito reproductivo de las plantas. (Pinto et al. 2022; Paglia et al 2023). Estos resultados sugieren que el éxito reproductivo de las especies de estudio puede ser resultado de la suma de varios factores además de la integración, por ejemplo, la disponibilidad de recursos, el número de flores producidas, la asignación de recursos, el sistema de apareamiento, y la eficiencia de la polinización, etc (Stephenson 1981; Aizen et al. 2002; Ne'eman et al 2010;). Por tanto, se requiere un muestreo mayor a nivel comunitario y poblacional para poder tomar en cuenta estas variables.

Conclusiones

En este estudio encontramos que la comunidad de plantas del sotobosque del Parque Nacional Volcán Nevado de Colima es altamente dependiente de polinizadores, tienen sistemas de polinización especialistas y los rasgos florales del módulo de eficiencia mantienen una alta integración fenotípica. Sin embargo, faltan estudios que evalúen la relación entre la integración floral y la producción de frutos considerando otras variables que determinan el éxito reproductivo en plantas. Hasta ahora, el estudio de la integración floral se había limitado a estudiar la covariación entre rasgos morfológicos. Actualmente comienza a haber estudios donde se analiza la integración floral en conjunto con diversos factores que pueden afectar la evolución de las plantas. Por ejemplo, los sistemas reproductivos, la eficiencia en la polinización y las relaciones filogenéticas son factores que pueden afectar la magnitud de la integración floral afectando el desempeño reproductivo de las plantas y la relación evolutiva entre las plantas y sus polinizadores (Ordano et al. 2008). Por lo tanto, la investigación de estos factores puede contribuir a una mayor comprensión de la integración floral y sus implicaciones en la ecología evolutiva de la interacción planta-polinizador.

Referencias

- Aizen, M. A., Ashworth, L., & Galetto, L. (2002). Reproductive success in fragmented habitats: do compatibility systems and pollination specialization matter?. *Journal of Vegetation Science*, 13(6), 885-892.
- Alexandersson, R., & Johnson, S. D. 2002. Pollinator-mediated selection on flower-tube length in a hawkmoth-pollinated *Gladiolus* (Iridaceae). *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 269(1491), 631-636.
- Armbruster, S., Fenster, C., & Dudash, M. 2000. Pollination 'principles' revisited: specialization, pollination syndromes, and the evolution of flowers. *The Scandinavian Association for Pollination Ecology Honours Knut Faegri*, 39, 179-200
- Armbruster, W.S., Di Stilio, V.S., Tuxill, J.D., Flores, T.C. & Velásquez Runk, J.L. 1999. Covariance and decoupling of floral and vegetative traits in nine Neotropical plants: a re-evaluation of Berg's correlation-pleiades concept. *American Journal of Botany*. 86: 39-55.
- Armbruster, W. S., Hansen, T. F., Pélabon, C., Pérez-Barrales, R., & Maad, J. 2009. The adaptive accuracy of flowers: measurement and microevolutionary patterns. *Annals of botany*, 103(9), 1529-1545.
- Armbruster, W. S., Pélabon, C., Bolstad, G. H., & Hansen, T. F. 2014. Integrated phenotypes: understanding trait covariation in plants and animals. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 369(1649), 20130245.
- Armbruster, W. S. 2014. Floral specialization and angiosperm diversity: phenotypic divergence, fitness trade-offs and realized pollination accuracy. *AoB Plants*, 6, plu003.
- Armbruster, W. S. 2017. The specialization continuum in pollination systems: diversity of concepts and implications for ecology, evolution and conservation. *Functional ecology*, 31(1), 88-100.
- Arroyo, M. T., Muñoz, M. S., Henríquez, C., Till-Bottraud, I., & Pérez, F. 2006. Erratic pollination, high selfing levels and their correlates and consequences in an altitudinally widespread above-tree-line species in the high Andes of Chile. *Acta Oecologica*, 30(2), 248-257.
- Asar, Y., Ho, S. Y., & Sauquet, H. 2022. Early diversifications of angiosperms and their insect pollinators: were they unlinked?. *Trends in Plant Science*. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2022.04.004>
- Baker, H.G. & Baker, I. 1990. The predictive value of nectar chemistry to the recognition of pollinator types. *Israeli Journal of Botany*, 39, 157-166.
- Berg, R. L.. 1960. The ecological significance of correlation pleiades. *Evolution* 14: 171-180.
- Bingham, R. A., & Orthner, A. R. 1998. Efficient pollination of alpine plants. *Nature*, 391(6664), 238-239.
- Bingham, R. A., & Ranker, T. A. 2000. Genetic diversity in alpine and foothill populations of *Campanula rotundifolia* (Campanulaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 161(3), 403-411.
- Chambers, J. M. (1992) Linear models. Chapter 4 of *Statistical Models in S* eds J. M. Chambers and T. J. Hastie, Wadsworth & Brooks/Cole.
- Wilkinson, G. N. and Rogers, C. E. (1973). Symbolic descriptions of factorial models for analysis of variance. *Applied Statistics*, 22, 392--399. 10.2307/2346786.
- CONANP. (2008). Estudio técnico del Área Natural Protegida Parque Estatal Bosques Mesófilos Nevado de Colima. *Periódico Oficial del Estado de Jalisco*, Número 2, Sección IV.
- Cook, D. F., Voss, S. C., Finch, J. T., Rader, R. C., Cook, J. M., & Spurr, C. J. 2020. The role of flies as pollinators of horticultural crops: An Australian case study with worldwide relevance. *Insects*, 11(6), 341.
- Cuartas-Domínguez, M., & Medel, R. 2010. Pollinator-mediated selection and experimental manipulation of the flower phenotype in *Chloraea bletioides*. *Functional Ecology*, 24(6), 1219-1227.
- Delgado-Carrillo, O., Martín-Rodríguez, S., Ashworth, L., Aguilar, R., Lopezaraiza-Mikel, M., & Quesada, M. 2018. Temporal variation in pollination services to *Cucurbita moschata* is determined by bee gender and diversity. *Ecosphere*, 9(11), e02506.
- Delgado-Dávila, R., Martín-Rodríguez, S., & Huerta-Ramos, G. 2016. Variation in floral morphology and plant reproductive success in four *Ipomoea* species (Convolvulaceae) with contrasting breeding systems. *Plant Biology*, 18(6), 903-912.

- de Santiago-Hernández, M. H., Martén-Rodríguez, S., Lopezaraiza-Mikel, M., Oyama, K., González-Rodríguez, A., & Quesada, M. 2019. The role of pollination effectiveness on the attributes of interaction networks: from floral visitation to plant fitness. *Ecology*, 100(10), e2803.
- Faegri, K. & van der Pijl, L. 1978. *The Principles of Pollination Ecology*, 3rd edn Pergamon Press, Oxford, U.K.
- Fenster, C. B., Armbruster, W. S., Wilson, P., Dudash, M. R., & Thomson, J. D. 2004. Pollination Syndromes and Floral Specialization. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 35(1), 375-403. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132347><https://doi.org/10.1007/s00468-021-02221-9>
- Florian Hartig. 2017. DHARMA: Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level / Mixed) Regression Models. R package version 0.1.5. <http://florianhartig.github.io/DHARMA/>
- Glasser, S. K., de Santiago-Hernández, M. H., Delgado-Carrillo, O., Espino, L. A. V., Pérez, A. C., González-Rodríguez, A., ... & Quesada, M. 2023. Influence of plant domestication on plant-pollinator interactions: Floral attributes and floral visitor communities in wild and cultivated squash plants. *American Journal of Botany*, 110(5), e16170.
- Grass, I., Bohle, V., Tschardtke, T., & Westphal, C. 2018. How plant reproductive success is determined by the interplay of antagonists and mutualists. *Ecosphere*, 9(2), e02106.
- Harder, L. D., & Johnson, S. D. 2009. Darwin's beautiful contrivances: evolutionary and functional evidence for floral adaptation. *New Phytologist*, 183(3), 530-545.
- Javorek, S. K., Mackenzie, K. E., & Vander Kloet, S. P. 2002. Comparative pollination effectiveness among bees (Hymenoptera: Apoidea) on lowbush blueberry (Ericaceae: *Vaccinium angustifolium*). *Annals of the Entomological Society of America*, 95(3), 345-351.
- Kassambara A. 2023. ggpubr: 'ggplot2' Based Publication Ready Plots. R package version 0.6.0, <https://rpkgs.datanovia.com/ggpubr/>.
- King, C., Ballantyne, G., & Willmer, P. G. 2013. Why flower visitation is a poor proxy for pollination: measuring single-visit pollen deposition, with implications for pollination networks and conservation. *Methods in Ecology and Evolution*, 4(9), 811-818.
- Knapp, A.K., & Smith, W.K. 1981. Water relations and succession in subalpine conifers in southeastern Wyoming. *Botanical Gazette*, 142(4), 502-511 of *Evolutionary Biology*, 20(5), 1730-1738. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2007.01393.x>
- Lanuza, J., Rader, R., Stavert, J., Kendall, L. K., Saunders, M. E., & Bartomeus, I. 2023. Covariation among reproductive traits in flowering plants shapes their interactions with pollinators. *Functional Ecology*.
- Magallón, S. Gómez, A. S., Sánchez, L. L., & Hernández-Hernández, T. 2015. A metacalibrated time-tree documents the early rise of flowering plant phylogenetic diversity. *New Phytologist*, 207(2), 437-453.
- Martén-Rodríguez, S., Almarales-Castro, A., & Fenster, C. B. 2009. Evaluation of pollination syndromes in Antillean Gesneriaceae: evidence for bat, hummingbird and generalized flowers. *Journal of Ecology*, 97(2), 348-359.
- Melen, M. K., Herman, J. A., Lucas, J., O'Malley, R. E., Parker, I. M., Thom, A. M., & Whittall, J. B. 2016. Reproductive success through high pollinator visitation rates despite self-incompatibility in an endangered wallflower. *American journal of botany*, 103(11), 1979-1989.
- Meng, J. L., Zhou, X. H., Zhao, Z. G., & Du, G. Z. 2008. Covariance of floral and vegetative traits in four species of Ranunculaceae: a comparison between specialized and generalized pollination systems. *Journal of integrative plant biology*, 50(9), 1161-1170.
- Murren, C. J., Pendleton, N., & Pigliucci, M. 2002. Evolution of phenotypic integration in Brassica (Brassicaceae). *American Journal of Botany*, 89(4), 655-663.
- Nathan Muchhala, Angelica Caiza, Juan Carlos Vizuete, James D. Thomson, 2009. A generalized pollination system in the tropics: bats, birds and *Aphelandra acanthus*, *Annals of Botany*, Volume 103, Issue 9, Pages 1481–1487, <https://doi.org.pbidi.unam.mx:2443/10.1093/aob/mcn260>
- Ne'eman, G., Jürgens, A., Newstrom-Lloyd, L., Potts, S. G., & Dafni, A. (2010). A framework for comparing pollinator performance: effectiveness and efficiency. *Biological Reviews*, 85(3), 435-451.

- Ordano, M., Fornoni, J., Boege, K., & Domínguez, C. A. 2008. The adaptive value of phenotypic floral integration. *New Phytologist*, 1183-1192.
- Paglia, I., Pinto, A. R., Amorim, F. W., Arceo-Gómez, G., & Freitas, L. 2023. Intra-individual floral variation improves male fitness in a hummingbird-pollinated species. *Flora*, 302, 152270.
- Pellmyr, O. 1992. Evolution of insect pollination and angiosperm diversification. *Trends in Ecology & Evolution*, 7(2), 46-49.
- Pérez-Suárez, M., Ramírez-Albores, J. E., Vargas-Hernández, J. J., & Alfaro-Ramírez, F. U. 2022. A review of the knowledge of Hartweg's Pine (*Pinus hartwegii* Lindl.): Current situation and the need for improved future projections. *Trees*, 36(1), 25-37. <https://doi.org/10.1007/s00468-021-02221-9>
- Pigliucci, M. 2003. Phenotypic integration: studying the ecology and evolution of complex phenotypes. *Ecology letters*, 6(3), 265-272.
- Pinto, A. R., Moreira, M. M., Paglia, I., Rodríguez-Gironés, M. A., & Freitas, L. 2022. Phenotypic integration of pollination traits in a distylous species with high intra-individual floral variation. *Plant Systematics and Evolution*, 308(5), 34.
- Ramírez-Aguirre, E., Martén-Rodríguez, S., & Ornelas, J. F. 2016. Floral variation, nectar production, and reproductive success of two *Drymonia* (Gesneriaceae) species with mixed pollination syndromes. *International Journal of Plant Sciences*, 177(6), 469-480.
- Ratto, F., Simmons, B. I., Spake, R., Zamora-Gutierrez, V., MacDonald, M. A., Merriman, J. C., & Dicks, L. V. 2018. Global importance of vertebrate pollinators for plant reproductive success: a meta-analysis. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 16(2), 82-90.
- R Core Team. 2021. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rodríguez-Otero, C., Hedrén, M., Friberg, M., & Opedal, Ø. H. 2023. Analysis of trait–performance–fitness relationships reveals pollinator-mediated selection on orchid pollination traits. *American Journal of Botany*, e16128.
- Rosas-Guerrero, V., Aguilar, R., Martén-Rodríguez, S., Ashworth, L., Lopezaraiza-Mikel, M., Bastida, J. M., & Quesada, M. 2014. A quantitative review of pollination syndromes: do floral traits predict effective pollinators?. *Ecology letters*, 17(3), 388-400.
- Rosas-Guerrero, V., Quesada, M., Armbruster, W. S., Pérez-Barrales, R., & Smith, S. D. 2011. Influence of pollination specialization and breeding system on floral integration and phenotypic variation in *Ipomoea*. *Evolution: International Journal of Organic Evolution*, 65(2), 350-364.
- Rudall, P. J. 2013. Identifying key features in the origin and early diversification of angiosperms. *Annual Plant Reviews Volume 45: The Evolution of Plant Form*, 163-188.
- Rzedowski, J. 2006. Vegetación de México. 1ra. Edición digital, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México, pp. 247-273
- Sahli, H. F., & Conner, J. K. 2007. Visitation, effectiveness, and efficiency of 15 genera of visitors to wild radish, *Raphanus raphanistrum* (Brassicaceae). *American journal of botany*, 94(2), 203-209.
- Salas-Arcos, L., Lara, C., & Ornelas, J. F. 2017. Reproductive biology and nectar secretion dynamics of *Penstemon gentianoides* (Plantaginaceae): a perennial herb with a mixed pollination system?. *PeerJ*, 5, e3636.
- Schiestl, F. P., Balmer, A., & Gervasi, D. D. 2018. Real-time evolution supports a unique trajectory for generalized pollination. *Evolution*, 72(12), 2653-2668.
- Stavert, J. R., Pattemore, D. E., Bartomeus, I., Gaskett, A. C., & Beggs, J. R. 2018. Exotic flies maintain pollination services as native pollinators decline with agricultural expansion. *Journal of Applied Ecology*, 55(4), 1737-1746.
- Stebbins, G. 1974. Ledyard. Flowering plants: evolution above the species level. *Harvard University Press*.
- Stebbins GL. 1970. Adaptive radiation of reproductive characteristics in angiosperms. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1, 307-326.
- Steinmann V.W., Y. Ramírez-Amezcu, L. Arredondo-Amezcu y R. A. Hernández-Cárdenas. 2017. Flora alpina del centro de México. Centro Regional del Bajío. Instituto de Ecología. Bases de datos SNIB-CONABIO, proyecto JF076. Ciudad de México
- Stephenson, A. G. (1981). Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Annual review of ecology and systematics*, 12(1), 253-279.

- Thomson, J. 2003. When Is It Mutualism? (An American Society of Naturalists Presidential Address). *The American naturalist*, 162(S4), S1-S9.
- Tong, Z. Y., Wu, L. Y., Feng, H. H., Zhang, M., Armbruster, W. S., Renner, S. S., & Huang, S. Q. 2023. New calculations imply that 90% of flowering plant species are animal-pollinated. *National Science Review*, nwad219.
- Torices, R., & Muñoz-Pajares, A. J. 2015. PHENIX: An R package to estimate a size-controlled phenotypic integration index. *Applications in Plant Sciences*, 3(5), 1400104.
- U. Heimhofer, P.A. Hochuli, S. Burla, J.M.L. Dinis, H. Weissert 2005; Timing of Early Cretaceous angiosperm diversification and possible links to major paleoenvironmental change. *Geology*; 33 (2): 141–144.
- Wagner, G. P. 1984. On the eigenvalue distribution of genetic and phenotypic dispersion matrices: Evidence for a nonrandom organization of quantitative character variation. *Journal of Mathematical Biology* 21: 77–95.
- Waser, N. M., Chittka, L., Price, M. V., Williams, N. M., & Ollerton, J. 1996. Generalization in pollination systems, and why it matters. *Ecology*, 77(4), 1043-1060.
- Wirth, L. R., Graf, R., Gugerli, F., Landergott, U., & Holderegger, R. 2010. Lower selfing rate at higher altitudes in the alpine plant *Eritrichium nanum* (Boraginaceae). *American Journal of Botany*, 97(5), 899-901.
- Xu, Y. W., Sun, L., Ma, R., Gao, Y. Q., Sun, H., & Song, B. 2023. Does pollinator dependence decrease along elevational gradients?. *Plant Diversity*.
- Zhou, X., Liu, Q., Han, J. Y., & Gao, J. 2016. Different pollinator assemblages ensure reproductive success of *Cleisostoma linearilobatum* (Orchidaceae) in fragmented holy hill forest and traditional tea garden. *Scientific Reports*, 6(1), 21435.

Anexo

Especie	LC	AC	LT	AT	LLI	ALI	LLS	ALS	Estambre	Pistilo	Volumen	°Brix
<i>Salvia elegans</i>	NA	NA	10.7	14.0	19.0	18.6	14.9	22.2	12.2	10.7	51.2	27.8
<i>Salvia sp</i>	NA	NA	13.6	24.6	26.3	30.3	22.7	24.2	13.6	11.9	85.5	55.2
<i>Salvia iodantha</i>	NA	NA	16.6	15.1	21.0	23.4	18.8	19.8	15.8	17.0	55.9	22.9
<i>Salvia mexicana var. minor</i>	NA	NA	10.7	13.4	16.5	19.6	10.8	16.1	8.7	10.5	73.1	20.2
<i>Salvia longistyla</i>	NA	NA	9.6	14.2	35.6	20.6	12.6	21.5	7.2	7.6	52.9	19.8
<i>Salvia microphyla</i>	NA	NA	10.9	16.6	18.2	29.6	16.9	17.0	8.6	7.8	58.5	37.5
<i>Salvia ramamoorthyana</i>	NA	NA	13.6	18.3	14.7	26.9	16.5	20.6	13.2	11.0	104.9	59.6
<i>Salvia gesneriflora</i>	NA	NA	14.3	21.9	22.2	22.3	17.4	17.3	10.3	11.9	67.2	33.9
<i>Salvia purpurea</i>	NA	NA	6.7	13.7	11.5	13.4	8.8	18.7	8.8	6.3	57.6	32.0
<i>Stachys pilosissima</i>	NA	NA	10.0	17.2	15.1	34.5	20.7	21.2	24.8	11.8	103.8	62.2
<i>Lamourouxia xalapensis</i>	NA	NA	7.5	14.9	16.3	17.0	10.5	20.8	23.5	9.4	82.5	48.3
<i>Lamourouxia macrantha</i>	NA	NA	8.8	9.9	15.3	25.1	12.0	14.2	8.3	10.7	75.8	44.0
<i>Penstemon roseus</i>	8.7	12.1	7.2	10.3	NA	NA	NA	NA	5.4	6.0	76.5	47.9
<i>Cuphea watsoniana</i>	8.0	22.1	10.2	22.7	NA	NA	NA	NA	23.5	16.6	125.6	78.8
<i>Lobelia laxiflora</i>	8.0	12.7	8.4	11.5	NA	NA	NA	NA	6.6	11.3	122.4	101.3
<i>Ribes ciliatum</i>	9.3	12.5	10.0	12.9	NA	NA	NA	NA	10.2	7.9	81.1	24.0
<i>Castilleja cryptandra</i>	15.7	NA	18.6	12.7	NA	NA	NA	NA	18.2	14.3	151.2	89.9
<i>Castilleja tenuiflora</i>	10.3	NA	17.5	16.5	NA	NA	NA	NA	11.2	10.2	93.7	77.8

Anexo 1. Coeficientes de variación de los rasgos florales medido, los valores están expresados en porcentajes (%).