



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Biología de la reproducción de una planta dióica en Chamela, Jalisco Erythroxylum rotundifolium

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

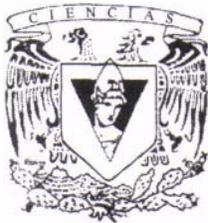
B I Ó L O G A

P R E S E N T A :

Angélica Elizabeth Martínez Bauer

DIRECTOR DE TESIS:

DR. CÉSAR A. DOMÍNGUEZ PÉREZ TEJADA



FACULTAD DE CIENCIAS
U.N.A.M.

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Cuando uno agradece muchas veces no sabe por donde empezar.

Yo empezaré agradeciendo a la serie de circunstancias que me llevaron a trabajar con César A. Domínguez. Primero mi chokorrol que por tí me animé a contactar a Álvaro Miranda, a quien por cierto también le agradezco liberar mi servicio social con un trabajo maravilloso en Cuixmala. Gracias a mi servicio social en esos parajes conocí a “mi asesor estrella”. Siguiendo con la historia, me dirijo a mi zona de estudio. Durante el viaje y sobre todo durante el tiempo que nos conocemos te doy las gracias Rubén (amigo y gran apoyo técnico-académico). Ya en la estación uno podría enumerar a todas las personas con las que estuvo en contacto y pues con ese fin trataré de hacer lo mejor posible. Empezando con Emanuel (siempre dispuesto a ayudarme), Luci (amiga), Enrique (amigo), Mis doñas queridas (consentidoras), Rafa (siempre abierto y platicador) y Pancho (con su cara de palo), y todos los demás involucrados en la estación durante mi estancia. Que increíble vivir en la estación por tres meses!!! Por cierto hubo ciertos bichos que dieron su vida para ser identificados y se perdieron en el camino a serlo. Lo siento mucho.

De regreso en la ciudad. El trabajo de integrarme al laboratorio. Al final he sido como un ave de paso a quien poco se le ve. Poco estuve en el lab es cierto, pero a pesar de ello pude contar con todo el apoyo de las chicas y todos los demás integrantes.

Parte de mi trabajo lo realicé como huésped en el laboratorio de Desarrollo en Plantas de la facultad, donde también me recibieron con los brazos abiertos, sobre todo Ricardo y “mi Judith” que siempre me ayudaron y vieron cómo hacer de mi trabajo algo que me gustara hacer.

Seguramente alguien me falta pero solo en este texto pues en mi memoria y en mis fotografías mentales están todas las personas involucradas directa o indirectamente (como mi Compalle Ernesto).

En cuestiones académicas agradezco finalmente a mis revisores Judith, Sonia, Karina, Francisco y sobre todo a César que con mucha paciencia me guió. Eres mi asesor estrella, el mejor.

Ahora bien, si puedo agradecer algo en la vida es la familia que tengo. Siempre ahí, en la situación que se presente, buena o mala. Unidos por siempre. Los amo. Papi, Richard, Uschi (en orden cronológico, ya que todos están en la primera posición). Esto solo por mencionarlos como cabezas de familia pues tanto mis sobrinas/o y hermanos postizos son parte fundamental en mi vida. Qué sería de mi vocabulario si no supiera decir kukul, jojojo ó copito? Que sería de mis historias sin el “comer inkacola con chankaka”? o de mis planes de estar en el caribe sin ustedes?

Mi otra familia son por supuesto aquellos con los que no precisamente comparto la genética pero sí el corazón. Gracias a mi Karlicha, Wollox, Marylinchen, Michel, mi Sorrendo, a los Miaus (que nombrarlos a todos está de teoría simplista: mejor no.). Gracias a todos los que me han compartido parte de su persona y han sembrado en mí algo único e irremplazable. Me han permitido ser yo en todos los aspectos y crecer con ustedes. El camino sigue pero creo, deseo y espero que sigamos caminando juntos por mucho tiempo sin importar qué tipo de distancia nos separe o vereda nos distraiga.

Y por que no, me agradezco la satisfacción de terminar mi tesis y cumplir ese sueño de niña: ser Bióloga.

Gracias.

Índice

Resumen	
Introducción	1
Método	6
Sitio de estudio	6
Especie de estudio	7
Selección de individuos	8
Conteo de botones, flores y frutos (fenología floral)	8
Observación y captura de visitantes florales	9
Colecta de frutos y siembra de semillas	9
Polinización artificial	10
Detección morfológica de nectarios	10
Resultados	13
Fenología y Polinización	13
Diferencias entre macho y hembras	13
Visitas florales	16
Limitación de polen	17
Éxito reproductivo	17
Estudios morfológicos de las flores	18
Nectarios	18
Morfología de machos y hembras	22
Discusión	26
Conclusiones	32
Referencias	33

Resumen

Debido a que las especies dióicas representan entre el 6 y 7% del total de angiospermas se han descrito ventajas y desventajas de este sistema reproductivo. Además se ha discutido la hipótesis de que existe una preferencia por parte de los polinizadores hacia las flores masculinas. Éste fenómeno reduce la posibilidad de las hembras de ser polinizadas, disminuyendo su éxito reproductivo y consecuentemente aumentando el riesgo de extinción de las especies dióicas. En este trabajo se describió la fenología floral, se evaluó la hipótesis de preferencia de los polinizadores hacia las flores masculinas y se hicieron estudios morfológicos de las flores, en una población de la especie dióica *Erythroxylum rotundifolium* localizada en la estación de Biología Chamela- Cuixmala, Jalisco. El período de floración fue de 3 meses con una marcada asincronía. El número de botones y flores no mostró diferencias entre sexos, pero con respecto al tamaño si se encontraron diferencias significativas ($F_{1,14} = 5.9$, $P = 0.03$, $F_{1,14} = 14.18$, $P = 0.0024$; para el número de botones y flores, respectivamente). Se encontraron diferencias en el número de visitas en función al sexo, al tamaño y al número de flores ($R^2 = 0.64$, $P = 0.0005$). Los resultados mostraron que los polinizadores visitan con mayor frecuencia las plantas femeninas, sin embargo existe una limitación de polen que limita la fecundidad de las hembras ($\chi^2 = 23.83$, $P < 0.0001$).

Por otra parte, las flores femeninas producen anteras atróficas durante su desarrollo mientras que las flores masculinas producen un pistilodio atrofiado. En las flores femeninas el tejido nectarífero se localiza en la parte externa del ovario. En lo que respecta a las flores masculinas el tejido nectarífero se encuentra en el pistilodio. El tejido está dispuesto de manera muy similar al de las flores femeninas, sin embargo a nivel histológico no presenta la misma organización.

Finalmente, cabe mencionar que este estudio se realizó en una fragmento de la población de *E. rotundifolium* situada en la estación de Biología Chamela- Cuixmala durante un año extremadamente seco y sería prudente analizar otras poblaciones para detectar si los patrones encontrados en este estudio se mantienen o cambian.

Biología de la reproducción de una planta dióica, en Chamela, Jalisco. *Erythroxylum rotundifolium*

Introducción

En sus trabajos pioneros Darwin describió a las plantas dióicas como un polimorfismo que se caracteriza por la presencia de individuos con flores estaminadas (machos), e individuos con flores pistiladas (hembras) (Sakai y Weller, 1999). Del total de especies de angiospermas que están descritas, las especies dioicas representan aproximadamente el 6 o 7% y se encuentran comúnmente asociadas a familias que contienen arbustos de distribución tropical (Renner y Ricklefs, 1995).

Aunque la mayoría de las angiospermas tienen flores unisexuales, también podemos encontrar diversos sistemas reproductivos, entre los que destacan el monoicismo, la heterostíla, el gynodioicismo, y el dioicismo (Opler et al, 1975; Ramírez et al, 1990; Bernal y Ervik, 1995). Debido a esta diversidad de sistemas reproductivos, se ha dedicado mucho esfuerzo al estudio de la evolución de la especialización sexual así como al entendimiento de las fuerzas que originan o mantienen el dioicismo. Una explicación tradicional y recurrente para entender la evolución del dioicismo es que la separación de los sexos promueve el entrecruzamiento, es decir, la cruce entre individuos genéticamente distintos (Charlesworth y Charlesworth, 1978; Thomson y Barrett, 1981). Esto debería resultar en una mayor variación genética y en una disminución en la depresión por endogamia (Bawa, 1984; Charlesworth, 1999). A pesar de las supuestas ventajas del dioicismo, el porcentaje de especies dióicas entre las angiospermas es muy bajo. (Allem, 2004). Este hecho ha llevado a la conclusión de que el dioicismo no es un modo reproductivo particularmente ventajoso (Bawa, 1980; Vamosi y Otto, 2002; Vamosi y Vamosi, 2005; Abarca y Domínguez, 2007). A pesar de que el dioicismo evita la endogamia uniparental, no evita la endogamia biparental que puede ocurrir si el vecindario genético está compuesto por parientes cercanos y el flujo génico es restringido entre ellos (Gusson et al, 2005). Aun cuando la endogamia biparental no ha sido ampliamente documentada suponemos que su efecto en las especies dióicas debe ser considerable (Maki, 1993; Collevatti, et al, 2001). Por ejemplo, una de las consecuencias de la endogamia biparental es el incremento en la tasa de frutos abortados lo que podría explicar un éxito reproductivo bajo en relación al resto de las especies de angiospermas (Van Rossum et al, 2002).

Aún cuando el dioicismo no evita la endogamia biparental, este sistema reproductivo ha evolucionado en repetidas ocasiones entre las angiospermas. Una posible explicación radica en la

selección sexual y su relación con los polinizadores (Vamosi y Otto, 2002). Diversos estudios realizados en especies monóicas y dióicas apoyan la idea de que los polinizadores prefieren a las flores masculinas debido a que es el sexo que ofrece mayor recompensa y que es más vistoso (producción de polen y o néctar) (Baker, 1984; Bierzychudek, 1987; Delph y Lively, 1992; Charlesworth, 1993; Agren et al, 1999; Ashman, 2000). Ésta observación se ha explicado como el resultado de la selección sexual, ya que las flores femeninas requieren de menos visitas para maximizar su éxito reproductivo, mientras que las masculinas necesitan muchas más visitas para donar todo el polen. Llevado al extremo éste fenómeno reduciría la posibilidad de las hembras de las especies dióicas de ser polinizadas y por lo tanto reduciría su éxito reproductivo (Bawa, 1980b; Eckhart, 1999; Skogsmyr y Lankinen, 2002; Vamosi y Otto, 2002) y aumentar el riesgo de extinción de las especies dióicas (Vamosi y Vamosi, 2005).

Para explicar cómo es que el dioicismo se establece a pesar de las desventajas que presenta este sistema reproductivo se han propuesto varias hipótesis. Éstas hipótesis explican la aparición del dioicismo, ya sea directamente del hermafroditismo, o a través de la vía androdióica, ginodióica, monóica, ó de la heterostílica (Bawa, 1980 a; Ross, 1982; Webb, 1999). Estas rutas se pueden agrupar en dos, aquellas en las que un mutante estéril (macho o hembra) invade una población hermafrodita estableciendo un dimorfismo (ginodioicismo o androdiocismo), y aquellas en las que la selección actúa sobre dimorfismos ya existentes en especies cosexuales (heterostílica y heterodicogamia) (Webb, 1999). En concreto, se han propuesto cinco rutas evolutivas a través de las cuales se podría establecer el dioicismo en plantas (Bawa, 1980a; Webb, 1999).

Una de las rutas de evolución hacia la diecia propone que ésta se originó directamente a partir del hermafroditismo. Se sugiere que, para que esto ocurra, es necesaria la aparición de dos mutaciones, una que esterilice la función masculina y otra la femenina (Ross y Weir, 1976). Por otro lado, algunos autores sostienen que la esterilidad puede ser parcial asumiendo que los óvulos y el polen tienen diferente fertilidad en distintos individuos. La aparición de esterilidad parcial implica que aun siendo hermafroditas las plantas ganan mayor adecuación por alguna de las dos funciones sexuales. Esto puede ocurrir a través de la modificación en la cantidad y ó la calidad de polen o calidad de las semillas. En este caso las plantas ganan adecuación por invertir los recursos en una sola función sexual. El resultado final de este proceso sería la evolución de la separación total de los sexos. Es así como la evolución de la diecia se puede originar directamente a partir de una población hermafrodita donde las mutaciones para esterilizar la función masculina y femenina son simultáneas (Bawa, 1980a; Domínguez e Ávila-Sakar, 2002).

Otra ruta evolutiva puede ocurrir a través de la vía ginodióica, como en el caso de la especie *Wurmbea dioica* (Barrett, 1992). En esta ruta se ha propuesto que es necesario el establecimiento de

un mutante estéril de la función masculina (hembra) en una población cosexual (Webb, 1999). Para compensar la pérdida de la función masculina, este mutante tendría que producir al menos el doble de semillas que los individuos no estériles, funcionando así como individuo hembra. Aun cuando los dos morfos produjesen el mismo número de semillas, el mutante estéril promovería la fecundación cruzada evitando la endogamia (Bawa, 1980a). Por lo tanto, el que las hembras se mantengan en una población de hermafroditas se debe a que tienen una alta producción de semillas que son producto de entrecruzamiento (Ross, 1970; Sakai, et al, 1997). Posteriormente debería ocurrir otra mutación entre las flores hermafroditas, ahora provocando la esterilidad de la función femenina (machos). Este mutante para la función femenina debería incrementar la producción de polen en comparación con los individuos hermafroditas, convirtiéndolos primero en subhermafroditas masculinos y finalmente en machos. Esta hipótesis propone que la evolución del dioicismo es un proceso gradual en el que la aparición de las mutaciones es secuencial (Delph, 1990).

Otra vía de evolución del dioicismo es a través del androdioicismo. Esta vía difiere de la del ginodioicismo en que la secuencia propuesta de mutaciones es en el otro sentido (Schultz, 1994). Una población se puede considerar funcionalmente androdioica siempre que existan dos tipos de individuos, uno que adquiera su adecuación mediante la función masculina y el otro que la adquiera por medio de la función tanto masculina como femenina (Pannell, 2002). Esto sucede si la adecuación que obtienen los machos (estériles para la función femenina) es cuando menos del doble que la adecuación masculina de las hermafroditas (Charlesworth y Charlesworth, 1978; Pannell, 2002). Sobre esta posible ruta hacia el dioicismo no se tiene mucha evidencia debido a que existen pocas especies androdioicas estudiadas hasta el momento.

El dioicismo también puede evolucionar a partir del monoicismo. Este sistema reproductivo consiste en que los sexos están separados en diferentes flores pero ambas se localizan en un mismo individuo (Lloyd, 1972; Sakai *et al*, 1997). La evolución hacia el dioicismo a partir del monoicismo implica una pérdida previa de las funciones sexuales en las flores monóicas. Por tanto para producir un sistema dióico sólo es necesario que los morfos diverjan en la producción de flores masculinas ó femeninas dentro de un individuo (Lloyd, 1975; Lloyd 1980). Es decir, que las proporciones de flores en un individuo deben cambiar de tal forma que gradualmente adquiera una sola función sexual (femenina o masculina).

El dioicismo ha evolucionado en repetidas ocasiones por la vía heterostílica. Esto ocurre cuando hay un nivel alto de autofecundación (o un débil sistema de autoincompatibilidad). En

especies heterostílicas ancestrales, la selección natural podría generar la evolución de la esterilidad masculina o femenina en uno de los morfos sexuales (Ornduff, 1966). Cuando el dioicismo evoluciona a partir de la distílía las flores con anteras largas (thrum) generalmente evolucionen en flores masculinas y las flores de estilos largos (pin) hacia flores femeninas (Muenchow y Grebus, 1989). Esto sugiere que la evolución de la unisexualidad está asociada con la accesibilidad hacia los polinizadores. En resumen, el cambio de distílía a diecia está probablemente asociado con modificaciones en los sistemas de polinización, pérdida de incompatibilidad (Bawa, 1980a; Robertson, 1892) y de las interacciones genéticas en los individuos (Domínguez, et al, 1997).

Los polinizadores juegan un papel importante en la evolución de la separación de sexos (Vamosi y Otto, 2002). En particular, en algunas especies existe discriminación de los polinizadores hacia las flores femeninas, de tal forma que las flores que producen polen (machos o hermafroditas) reciben más visitas (Bawa, 1980b; Charlesworth, 1993; Eckhart, 1999). En el caso de *Fragaria virginiana*, una especie ginodióica, las visitas de los polinizadores están claramente sesgadas hacia las flores hermafroditas (Ashman, 2000). En el caso de *Antennaria parvifolia*, que es una herbácea dióica, los polinizadores son capaces de determinar si la flor ofrece polen como recompensa y así discriminar a las flores femeninas (Bierzychudek, 1987). Otro ejemplo es el del género monóico *Begonia*, donde se presenta una preferencia significativa de los polinizadores hacia las flores masculinas (Le Corff et al, 1998; Castillo et al, 2002). Este tipo de evidencia se ha usado para proponer que las hembras de las especies dióicas deberían estar limitadas por polen y por lo tanto su fecundidad sería relativamente baja en comparación a la de sus ancestros hermafroditas. Este argumento se ha usado para explicar el hecho de que las especies dioicas sufren un riesgo de extinción mayor que los clados no dióicos (Vamosi y Vamosi, 2005).

En Chamela, Jalisco, habita *Erythroxylum rotundifolium* una especie dióica, arbórea, incluida en la familia Erythroxylaceae, misma que pertenece al orden Linales de la subclase Rosidae de la clase Magnoliopsida. Esta familia contiene cuatro géneros (*Erythroxylum*, *Aneulophus*, *Nectaropetalum* y *Pinacopodium*) y alrededor de 200 especies. Casi todas las especies pertenecen al género *Erythroxylum* puesto que tan solo diez están repartidas en los demás géneros (Cronquist, 1981). Una fracción muy pequeña de las especies de la familia son dióicas y la mayoría son heterostílicas. Ésta pequeña fracción de especies dióicas representa un fenómeno interesante para realizar estudios sobre la evolución de la diecia. En este trabajo se evaluó la hipótesis de que los polinizadores prefieren forrajear en los individuos masculinos de *E. rotundifolium*, bajo el

supuesto de que las flores masculinas ofrecen mejor recompensa (o al menos ésta es mayor) que las flores femeninas.

Debemos considerar la importancia de la Historia Natural como guía en los trabajos ecológicos (Domínguez, 1990) y evolutivos ya que a partir de la Historia Natural de las especies se pueden plantear estudios con fundamentos y no a partir de suposiciones. Es por esta razón que el objetivo de este trabajo fue describir la biología reproductiva de *E. rotundifolium* en Chamela, Jalisco para aportar información sobre la historia natural de la especie y dar pie a futuros estudios ecológicos y evolutivos.

Método

Sitio de Estudio

La estación de Biología Chamela de la Universidad Nacional Autónoma de México se localiza a menos de 2 kilómetros de la costa del Pacífico en la zona intertropical del hemisferio norte a 19° 29' N de latitud y 105° 01' O de longitud (Bullock, 1986; Lott et al, 1987; Noguera *et al*, 2002) (Figura 1). De acuerdo al sistema de Köppen modificado por García (1988) el clima de Chamela es cálido subhúmedo con lluvias en verano (García et al, 2002). La temperatura media anual es de 24.6°C (1978-2000). La precipitación media anual es de 788mm con una amplia variación interanual (de 453mm en 1985 a 1393mm en 1992) (García et al, 2002) que se presenta en un período de cuatro a seis meses (Bullock, 1985; Noguera et al, 2002). Particularmente el año del 2005 fue extremadamente seco, con una precipitación anual de 383.21mm, mientras que las precipitaciones de los años 2004 y 2006 (651.86mm y 766.42mm respectivamente) fueron abundantes. Debido al patrón estacional de precipitación, el tipo de vegetación predominante es la selva baja caducifolia (De Ita-Martínez y Barradas, 1986; Janzen, 1988; Lott, 1993). La estación se localiza principalmente en lomeríos de suelos someros (Lott, 1985; Pennington y Sarukhán, 1998). Existe una gran diversidad en la composición de especies (Lott et al., 1987), así como variantes de ésta debidas a la heterogeneidad del ambiente, y a las diferencias en profundidad y calidad del suelo (Lott, 1993).

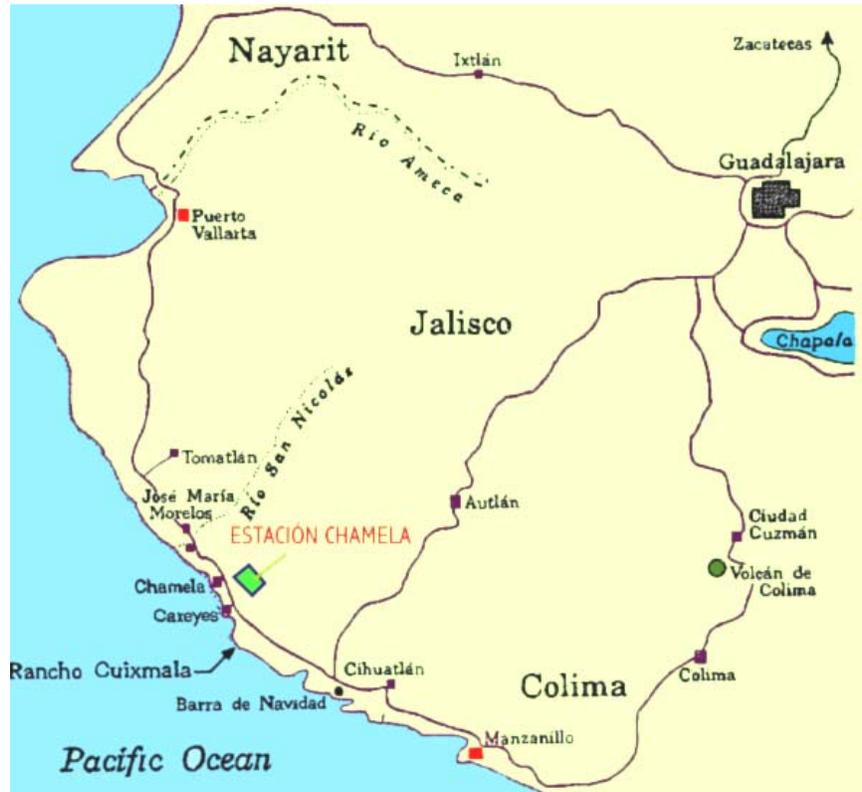


Figura 1. Mapa de localización de la estación de Biología Chamela- Cuixmala. Tomado de la página Web del Instituto de Biología

Especie de estudio

Erythroxylum rotundifolium pertenece a la familia *Erythroxylaceae* que contiene 4 géneros y alrededor de 200 especies. En la región de Chamela están representadas tres especies de esta familia: *E. havanense*, *E. mexicanum* y *E. rotundifolium*.

Aún cuando en los listados florísticos de Chamela, *E. rotundifolium* se ha descrito como un arbusto de 1 a 4 metros de alto con un sistema reproductivo hermafrodita distílico (Lott, 2002), ésta especie alcanza más de 5m de altura y su sistema reproductivo es dióico. Esta especie presenta un crecimiento arbóreo y tiene con un promedio de 25.7 cm² de área basal y alturas de hasta 7 u 8 metros. Sus hojas son alternas, las flores son axilares presentes generalmente en fascículos, blancas, con cinco pétalos y apéndice ligular en la cara interna, con un tamaño de entre 4 y 7 mm. El gineceo tiene un estilo con tres estigmas (tres carpelos unidos formando un ovario sincárpico con tres lóculos) y el androceo tiene 10 estambres repartidos en dos verticilos colocados en dos niveles de cinco estambres cada uno. *E. rotundifolium* es una especie dióica con vestigios de androceo y del gineceo (en flores femeninas y masculinas, respectivamente). Para su polinización requiere de vectores biológicos. Los frutos son rojos, carnosos de olor que sugiere un sabor agrio y contienen una sola semilla (Cronquist, 1981; Angélica Martínez B. obs. per.). Su distribución es tropical y

subtropical (Sharp, 1953) con presencia desde las Bahamas, Antillas y de México a Costa Rica (Burger et al, 1993).

Selección de individuos

En septiembre de 2005 se localizaron todos árboles reproductivos de *E. rotundifolium* que tuvieran botones florales en un área de al menos 5 hectáreas. A pesar de contar con muchos ejemplares adultos (aproximadamente 50), los individuos que se ajustaron a nuestro criterio de análisis fueron en total 16, de los cuales 8 fueron hembras y 8 machos. El criterio para incluir a una planta consistió en que tuviera al menos 30 botones florales. Los árboles fueron numerados de acuerdo a su localización en los senderos Chachalaca y Tejón, dentro de la estación de biología Chamela, así como en relación a la cercanía con otros individuos de la misma especie. Este estudio se realizó principalmente en el sendero Chachalaca donde se encontraron 13 individuos, mientras que en Tejón se hizo el seguimiento de tres individuos (dos hembras y un macho). Por ser árboles de gran tamaño se escogieron tres ramas de cada individuo (Kearns e Inouye, 1993). El tamaño de las plantas se estimó por medio del área basal. En todas las plantas se midió el diámetro del tronco a la altura del pecho (DAP) con un vernier digital (marca Mitutoyo) o con una cinta métrica midiendo el perímetro. En caso de presentar varios troncos, el área basal se estimó sumando el DAP de todas las ramas de un individuo (Domínguez, 1990). De las tres ramas seleccionadas se midió el diámetro en la zona de intersección con el tronco. Estas mediciones se llevaron a cabo con un vernier digital. Cada rama fue marcada para conservar su identidad a lo largo de la temporada reproductiva.

Conteo de botones, flores y frutos (fenología floral)

Con el fin de describir la fenología floral de *E. rotundifolium* se realizaron conteos de botones florales, flores y frutos (en el caso de las hembras) en las tres ramas seleccionadas en cada uno de los 16 árboles. Estos conteos se realizaron a lo largo de 50 días consecutivos, desde inicios de septiembre hasta finales de octubre del 2005. Adicionalmente, en cada uno de los individuos se marcaron botones que no se encontraran en las ramas seleccionadas para evaluar la duración de las flores. Se registró la apertura de las flores cada día (Kearns e Inouye, 1993; Le Corff et al, 1998). Para evitar que los frugívoros u otros animales removieran los frutos maduros, las ramas fueron embolsadas con bolsas de tul cuando la etapa de floración había concluido.

Observación y captura de visitantes florales

Durante seis días consecutivos se hicieron observaciones desde las 8:00 hasta las 15:00 horas. Sin embargo, al cabo de cuatro días se decidió recorrer el horario debido a la ausencia de visitantes antes de las 9:00, por lo que las observaciones empezaron a las 8:45. En cada censo se registró el tiempo de visita así como el número de visitas. Se consideraron como polinizadores a los visitantes florales que rozaban las anteras ó estigmas, así como los que tenían alguna actividad en las flores, ya fuera búsqueda de néctar o de polen (Delph y Lively, 1992). De esta forma se realizaron observaciones y anotaciones del número de flores visitadas (tasa de visita), así como la duración de la visita (tomado con cronómetro) (Kearns e Inouye, 1993). Estas observaciones se realizaron en lapsos de 10 minutos, procurando hacer un conteo completo del número de visitas en las tres ramas seleccionadas (Le Corff et al, 1998). Para lograr que todas las plantas fueran observadas en distintas horas se realizaron sorteos de parejas (hembra y macho) y horarios de observación (desde las 8:00 u 8:45 hasta las 15:00 horas.). Para identificar a los visitantes florales se realizaron colectas y al final de las jornadas los insectos fueron montados en agujas entomológicas (Kearns e Inouye, 1993; Enrique R., obs.per.).

Colecta de frutos y siembra de semillas

Se colectaron todos los frutos producidos por las plantas hembra (n= 447). Se consideró que los frutos estaban maduros cuando el color cambió de verde a rojo intenso (Domínguez, 1990). La pulpa fue retirada y las semillas se pusieron a secar al sol por un periodo de 2 a 3 horas, después del cual se sembraron en vasos de plástico con un agujero en la base para permitir el filtrado del agua. Cada fruto contiene una sola semilla. Todas las semillas fueron medidas (largo y ancho) con un vernier digital (marca Mitutoyo). Las semillas fueron sembradas superficialmente en tierra de río de Cuixmala y regadas regularmente durante dos meses y medio. Cada vaso fue marcado con un número que corresponde a las medidas tomadas de las semillas. Después de los dos meses y medio el riego se suspendió para simular la época de secas y las semillas se dejaron en el mismo sitio hasta la temporada de lluvias del 2006 cuando fueron nuevamente regadas.

Polinización artificial

Para determinar si la actividad de los polinizadores limita la producción de frutos se realizaron experimentos de polinización artificial (Delph y Lively, 1992; Kearns e Inouye, 1993; Le Corff et al, 1998). Para ello se escogieron tres hembras que tuvieran botones en ramas que no estuvieran marcadas. Las ramas fueron embolsadas y las flores y frutos inmaduros presentes fueron removidos, tanto de machos como hembras. Se embolsaron las ramas para evitar el posible arribo de polinizadores al momento de la apertura de las flores (Kearns e Inouye, 1993). Excluyendo las flores de esta manera es posible determinar si ocurre polinización eólica, ya que los orificios de las bolsas de Tul miden cerca de $1000 \times 1090 \mu\text{m}$ mientras que el polen mide en promedio $20 \times 18 \mu\text{m}$ (obs per.).

Las ramas embolsadas designadas para la polinización artificial se revisaron diariamente en el transcurso de la mañana. Al ocurrir la apertura de las flores de ambos sexos se procedió a cortar flores masculinas, tomar las anteras con la ayuda de pinzas y rozarlas contra los estigmas de cada flor femenina que hubiera abierto (Kearns e Inouye, 1993). Se polinizaron artificialmente todas las flores femeninas que abrieron dentro de las bolsas ($n = 127$). Cada polinización fue realizada con anteras de un macho por día (aquel que tuviera flores en antesis).

Detección morfológica de nectarios

Dado que las flores de ambos sexos producen un líquido dulce (obs. Per.) se procedió a determinar la presencia de nectarios así como realizar un análisis morfológico entre flores femeninas y masculinas. Para este fin se colectaron flores de individuos hembra y macho. Las ramas de donde se colectaron las flores fueron cubiertas con bolsas de tul para evitar el contacto de los polinizadores. Un total de 80 flores, 38 femeninas y 42 masculinas fueron colectadas y fijadas en FAA (a partir de Berlyn y Miksche 1976, tomado de Kearns e Inouye 1993: 10ml de formaldehído (34 - 40%), 50ml de alcohol etílico al 95%, 5ml de ácido acético, 35ml de agua). De estas flores, 30 (12 femeninas y 18 masculinas) fueron seleccionadas para hacer cortes de 9 micras y se observaron con microscopio para determinar la presencia de cámaras nectariales en ambos sexos. Las flores después de la fijación deben ser deshidratadas pasando por gradientes de alcohol, dejándolas 1 hora. Primero se las coloca en alcohol al 30%, luego al 50%, al 70% (que es el único paso en el que se pueden quedar por más tiempo), posteriormente al 85%, al 96% y por último al 100%. Después de este proceso de deshidratación las flores se colocan en xilol puro durante media

hora y posteriormente en xilol- paraplast (parafina pura) (proporción 1:1) por 24 horas. El xilol sustituye al alcohol y al mismo tiempo es compatible con el paraplast. A partir de este paso las muestras deben estar en estufa con una temperatura entre 58° y 60°C. Al pasar las 24 horas en xilol-paraplast, las muestras se colocan en paraplast puro por 24 horas. El paraplast entra en el tejido completamente sustituyendo al xilol. Una vez transcurridas las 24 horas se colocan las muestras en cubos para su posterior corte. En los cubos de paraplast se forma una pirámide con el tejido en medio. Se define el tamaño de los cortes, que para este caso fue de 9 y 7 micras. Los cortes de 9 micras se procesaron con la tinción safranina (metilcelosolve) – verde rápido (metilcelosolve). Primero es necesario eliminar el paraplast metiendo los cortes a la estufa por media hora. A continuación se colocan los cortes durante tres minutos en xilol, se repite en otro recipiente con xilol, luego xilol con alcohol al 100%, alcohol al 100%, alcohol al 96% y por último en safranina. Las preparaciones deben permanecer en la safranina cuando menos 7 horas y un máximo de 24 horas. A continuación se enjuagan las preparaciones pasándolas por un goteo primero de alcohol y ácido pícrico, luego con alcohol al 96% con amoníaco, seguido de alcohol absoluto. Posteriormente se agrega un segundo colorante el verde rápido, aceite de clavo y por último xilol con alcohol y aceite de clavo. Se les da un último lavado con xilol. Se montan las preparaciones en bálsamo de Canadá. Para lograr un mejor secado las preparaciones se colocan en una estufa por 24- 48 horas. Finalmente las preparaciones se analizan en el microscopio y de los mejores cortes se toman fotografías.

Los cortes a 7 micras se procesaron para seguir la técnica histoquímica de ácido peryódico-reactivo de Schiff (APS, polisacáridos insolubles). Con esta técnica se tiñen polisacáridos insolubles y es posible identificar las zonas de concentración y por lo tanto de producción de néctar. Se desparafinan las muestras previamente cortadas y colocadas en los portaobjetos llevándolas hasta agua. Se colocan en la estufa media hora y luego por tres minutos en cada concentración de xilol, xilol-OH 100%, OH 100%, OH 96%, OH 86%, OH 70%, OH 50%, OH 30%, agua. Se les coloca ácido peryódico por 15 minutos y posteriormente se enjuaga con agua y se aplica el reactivo Schiff por 15 minutos. Al término de este tiempo se enjuagan las muestras con agua, se lava con ácido acético al 2% por un minuto (para evitar la formación de cristales). Se deshidrata hasta xilol, se pasan tres minutos por agua, OH 30%, OH 50%, OH 70%, OH 86%, OH 96%, OH 100%, xilol-OH 100%, xilol. Finalmente se montan en bálsamo de Canadá.

Por último, se procesaron los gineceos de las flores femeninas y sus remanentes en las flores masculinas de flores del mismo y de distintos individuos para ser observados al microscopio electrónico de barrido según la técnica de López et al (2005). Este proceso consiste en una

deshidratación durante dos horas en cada concentración de alcohol 30%, 50%, 70%, 86%, 96%, 100%. Posteriormente se llevan las muestras hasta punto crítico, se montan en barriles. Se bañan en oro y se colocan las muestras en el porta muestras del microscopio electrónico de barrido (MEB) para su observación.

Resultados

FENOLOGÍA Y POLINIZACIÓN

Diferencias entre machos y hembras

Se encontraron un total de 50 machos y hembras adultos de *E. rotundifolium* en una proporción de uno a uno. Aún cuando todos los individuos tienen un tamaño en el cual ya son reproductivos, tan solo 16 árboles se encontraban floreciendo en ese momento. Algunas hembras ya tenían frutos por lo que inferimos que su floración, así como la de otros machos fue antes de nuestra llegada. Los individuos pueden florecer entre 12 y 40 días consecutivos y se estimó que el período de floración de todos los individuos en el sitio de estudio, fue de aproximadamente 3 meses. La mayoría de los individuos reproductivos al momento del estudio se ubicó en categorías de tamaño relativamente bajo (0-50 cm² de área basal). Un porcentaje muy pequeño de los individuos estudiados sobrepasó este tamaño (Fig. 2). No hubo diferencias significativas en el tamaño entre machos y hembras.

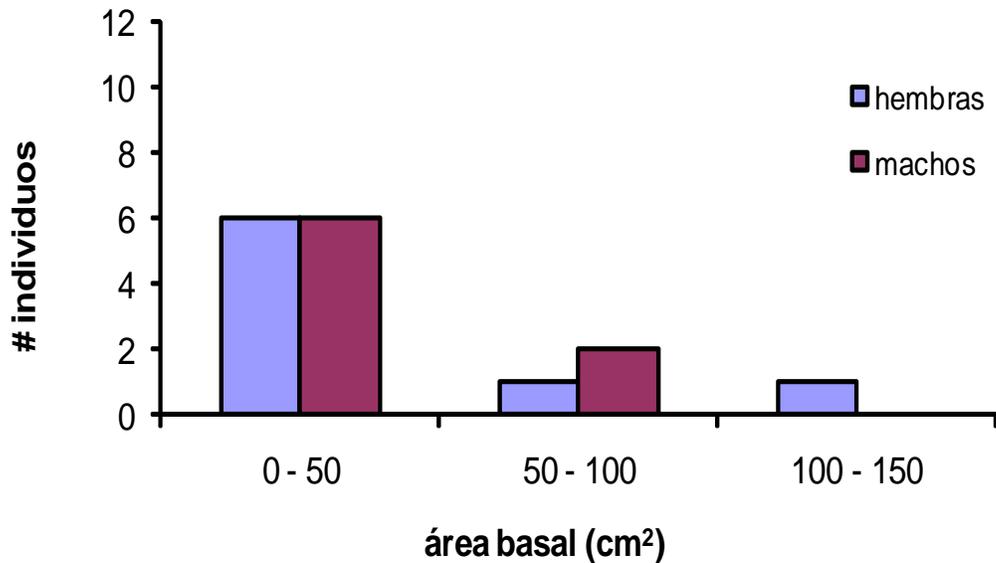


Figura 2. Distribución de tamaño (área basal) de individuos masculinos y femeninos de *E. rotundifolium* en Chamela, Jalisco.

Para examinar cómo varía el número de botones y flores en función del tamaño y del sexo, se realizaron dos análisis de covarianza (ANCOVA). En éstos análisis se incluyó el número de botones o flores como variables dependientes, mientras que el tamaño, el sexo y su interacción fueron

medidas como variables independientes. Ambos modelos explicaron un porcentaje importante de la variación en el número de botones ($R^2 = 0.41$) o flores ($R^2 = 0.53$). Los resultados de éstos análisis indican que el número de botones ($F_{1,14} = 1.91$, $P = 0.19$) o flores ($F_{1,14} = 0.79$, $P = 0.38$) de una planta no depende de su sexo, pero sí de su área basal ($F_{1,14} = 5.9$, $P = 0.03$, $F_{1,14} = 14.18$, $P = 0.0024$; para el número de botones y flores, respectivamente). La interacción entre sexo y área basal no fue significativa en ninguno de los dos casos. En otras palabras, la relación entre el número de flores o botones florales y el tamaño del área basal es igual en los dos sexos.

Por otro lado, la fenología floral fue distinta entre los individuos femeninos (Fig. 3a) y los masculinos (Fig. 3b). No existe sincronía entre los sexos, ya que hay momentos en los que hay fuertes sesgos en la proporción sexual. A lo largo de 40 días consecutivos el análisis de la fenología floral mostró que el porcentaje de flores masculinas en la población es muy variable. Por lo tanto, las oportunidades de reproducirse exitosamente varían para cada sexo a través del tiempo.

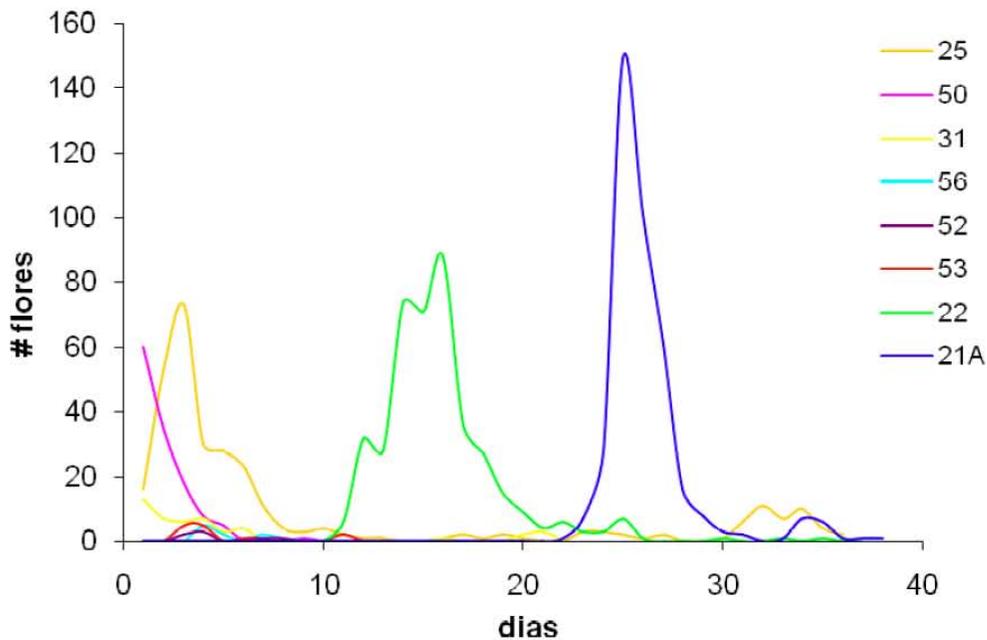


Figura 3a. Fenología floral de individuos femeninos

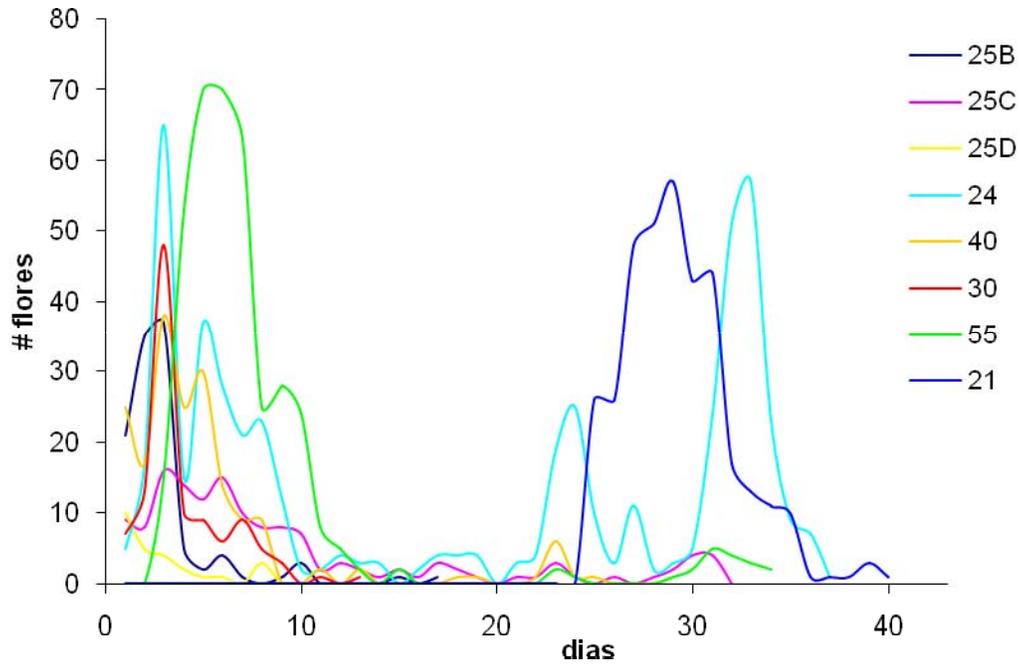


Figura 3b. Fenología floral de individuos masculinos

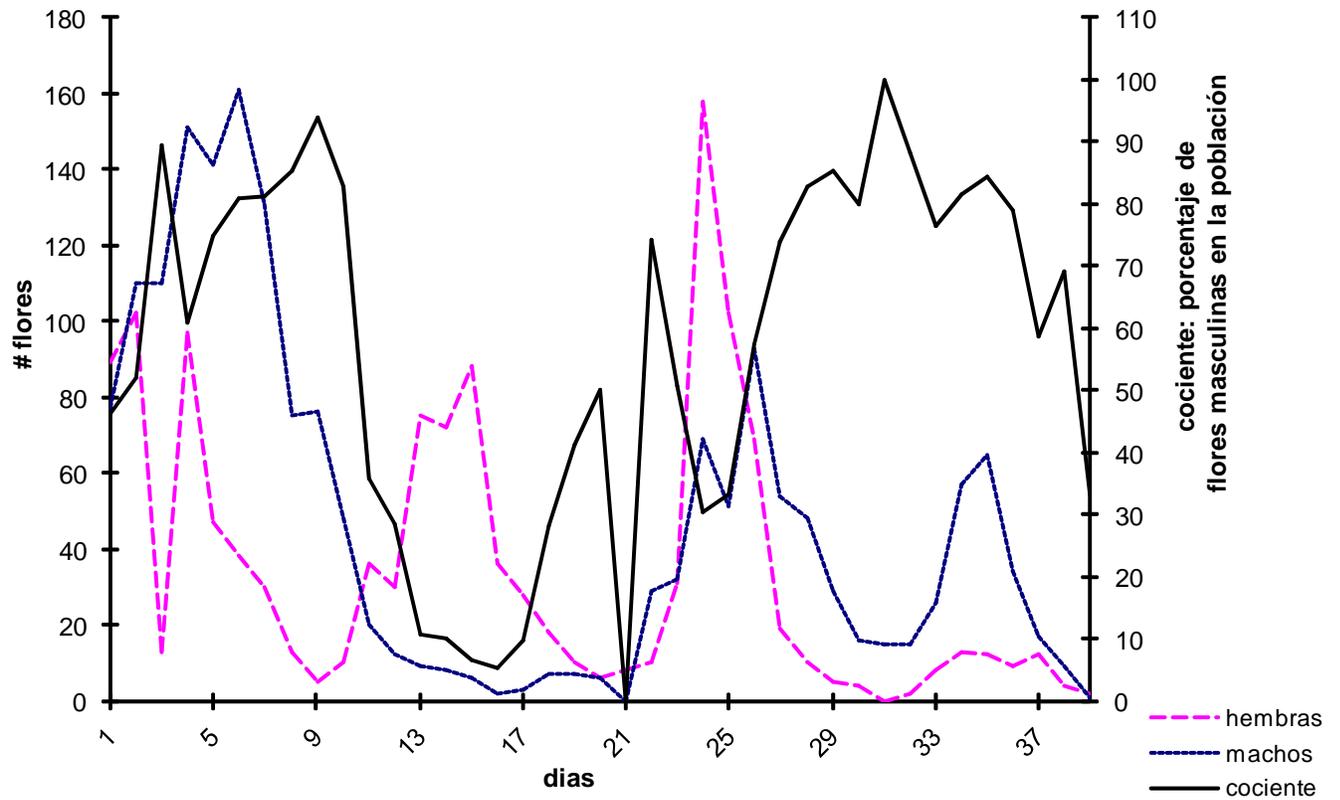


Figura 4. Producción total de flores en anthesis masculinas y femeninas por día; (cociente = (flores masculinas/ flores masculinas + flores femeninas) *100)

Visitas florales

Los órdenes de los animales identificados que visitaron las flores de *E. rotundifolium* fueron Hymenóptera, Lepidóptera, Díptera y Coleóptera. Se realizó un análisis de covarianza (ANCOVA) para estimar la relación que tiene el número de flores (variable independiente) sobre el número de visitas (variable dependiente). El tamaño y sexo se tomaron como covariables en este análisis para determinar si tienen un efecto en la atracción de polinizadores. El análisis mostró que tanto el número de flores y el tamaño, tienen un efecto significativo sobre el número de visitas que recibe una planta ($R^2= 0.64$). Los términos de interacción entre número de flores \times sexo y flores \times sexo \times tamaño también fueron significativos mientras que todas las demás posibles interacciones no resultaron significativas (Tabla 1 y Fig. 5a).

Tabla1. Análisis de varianza de visitas florales en *E. rotundifolium*

Fuente de valor	gl	F	P
Numero de flores	1, 61	30.66	< .0001
Sexo	1, 61	2.09	0.1534
Tamaño	1, 61	27.89	< .0001
Flores \times sexo	1, 61	6.08	0.0166
Flores \times sexo \times tamaño	1,61	13.54	0.0005

Los individuos de mayor talla con alto número de flores tienen más visitas. Sin embargo esta relación depende del sexo. Para un mismo tamaño y número de flores las hembras experimentan un mayor número de visitas que los machos (Fig. 5a y 5b).

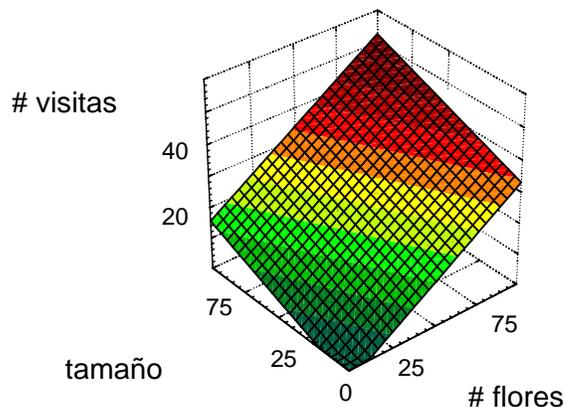


Figura 5a. Relación entre el tamaño, el número de flores y el número de visitas para hembras de *E. rotundifolium*

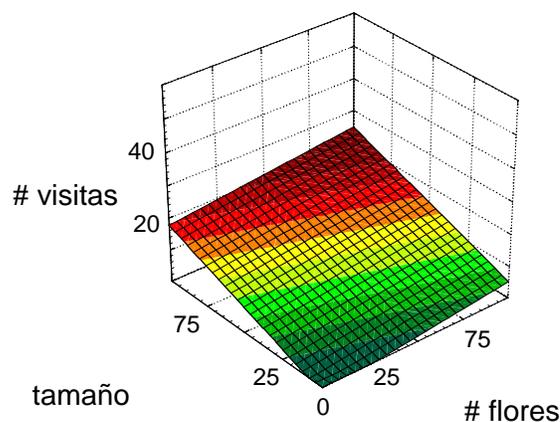


Figura 5b. Relación entre el tamaño, el número de flores y el número de visitas para machos de *E. rotundifolium*

Limitación de polen

Con el propósito de evaluar si la fecundidad de las hembras de *E. rotundifolium* está limitada por el servicio de polinizadores, se comparó la producción de frutos maduros obtenidos de manera natural con los obtenidos artificialmente. Las 1321 flores que fueron utilizadas como control (polinización natural) produjeron 489 frutos maduros, es decir que el fruit set fue de 0.37. En el caso de la polinización artificial obtuvimos 65 frutos de un total de 113 flores polinizadas (fruit set = 0.57). Es decir, la polinización artificial incrementó el fruit set en 20% ($\chi^2 = 23.83$, $P < 0.0001$). Estos resultados indican que la fecundidad de las hembras está limitada por el servicio de los polinizadores.

Éxito reproductivo

Para evaluar el éxito reproductivo, en términos de producción de frutos, se hizo un análisis de covarianza (ANCOVA) considerando el número de flores y el tamaño como variables independientes. Con base en que el número de flores y el tamaño fueron determinantes para el número de visitas, una hembra que tuviera un alto número de flores debiera tener más frutos. Sin embargo, el éxito reproductivo de una hembra no depende de su tamaño ($F_{1,6} = 0.403$, $P = 0.55$), ni del número de flores ($F_{1,6} = 0.0068$, $P = 0.93$) ($R^2 = 0.45$). La interacción entre ambas variables tampoco fue significativa ($F_{1,6} = 0.404$, $P = 0.55$). Aún cuando las hembras de gran tamaño con un alto número de flores tienen más visitas, la asincronía debe tener un efecto negativo sobre el éxito reproductivo ya que si no hay donadores de polen aunque existan muchos polinizadores no hay

óvulos fecundados. Este resultado sugiere que son otros los factores que determinan el éxito reproductivo de las hembras de *E. rotundifolium*.

Con respecto a la asignación de recursos para producción de frutos realizamos una ANOVA comparando todas las hembras en base a los volúmenes promedio de todas las semillas por individuo. Cada fruto contiene una semilla y se encontró que el tamaño de las semillas difiere significativamente entre hembras ($R^2= 0.66$, $F_{6,435}= 141.47$, $P< 0.0001$; Fig. 6).

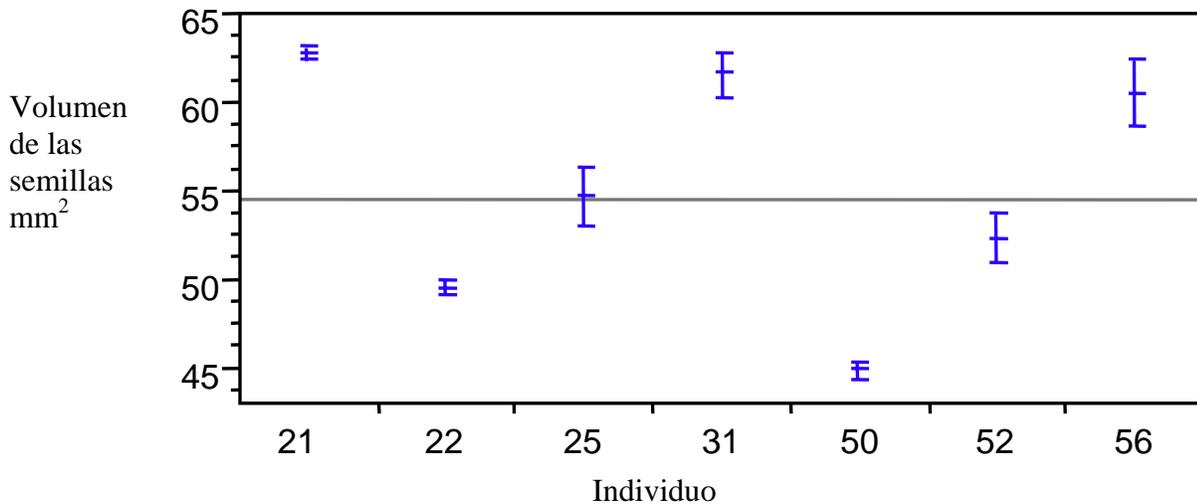


Figura 6: Volumen promedio de las semillas de *E. rotundifolium* en una población de Chamela, Jalisco. Las barras representan el error estándar

El porcentaje de germinación fue de 22%. Las semillas de *E. havanense* germinan en un tiempo aproximado de dos semanas (com. Per. Domínguez) en contraste *E. rotundifolium* tiene un tiempo de germinación de aproximadamente 9 meses después de la siembra.

ESTUDIOS MORFOLÓGICOS DE LAS FLORES

Nectarios

Las flores femeninas producen anteras atróficas mientras que las masculinas producen un pistilodio atrofiado. Estas estructuras aparentemente disfuncionales son consideradas vestigios evolutivos. El ovario femenino está compuesto por tres carpelos fusionados (sincárpico) donde sólo uno es fértil y por lo tanto solo se obtiene una semilla por fruto (Fig. 7a).

En las flores femeninas el tejido nectarífero diferenciado por su apariencia secretora, se localiza en la subepidermis de la epidermis externa del ovario (Fig. 7a y 7b). La apariencia secretora se evidencia puesto que las células están alineadas, son pequeñas con contenido granular denso, los núcleos son relativamente grandes (según descripción de Fahn, 1993) y la prueba de polisacáridos insolubles salió positiva. En las flores masculinas, aún cuando el tejido nectarífero del pistilodio (atrofiado ya desde la antesis) no presenta la misma organización que las células secretoras del ovario, presentó un resultado positivo a la prueba histológica de polisacáridos. La presencia de células nectaríferas se aprecia en la subepidermis de la epidermis externa del pistilodio (Fig. 8a y 8b).

Con la técnica histoquímica ácido peryódico- reactivo de Schiff (APS) (polisacáridos insolubles) es posible identificar el tejido secretor revelando la presencia de azúcares. En la base de los pétalos se aprecia una estructura abultada que asemeja un nectario ya que estos se pueden localizar en distintas partes de la flor. Esta estructura abultada no es un tejido nectarífero en *E. rotundifolium* ya que esta técnica histoquímica no reveló la presencia de almidones. Por otro lado en la subepidermis de la epidermis externa del ovario en el caso de las flores femeninas (Fig.7c y 7d) y del pistilodio (ovarioide) para las flores masculinas (Fig. 8c y 8d) si se identificó la presencia de polisacáridos insolubles.

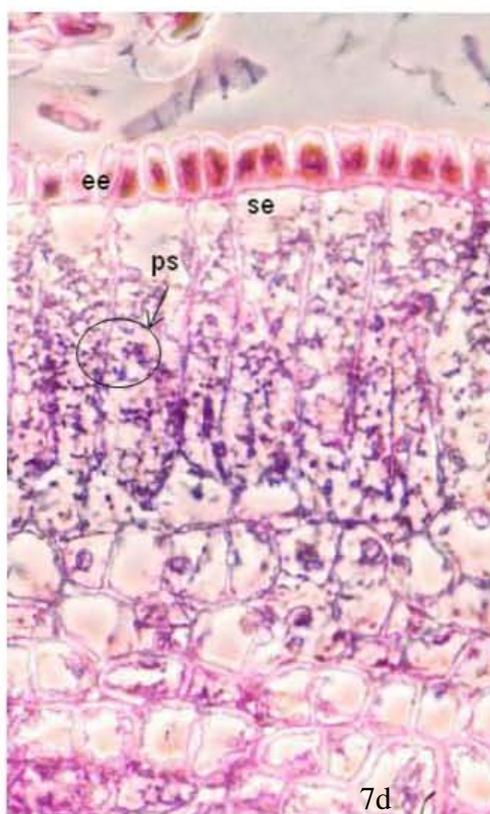
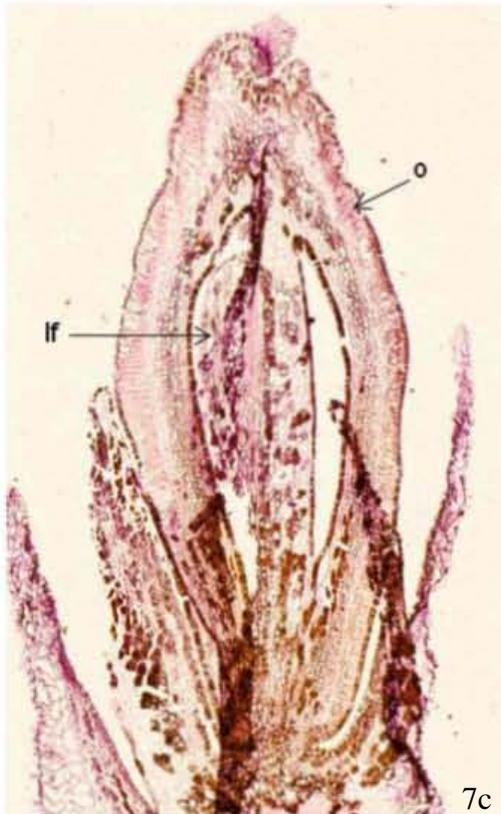
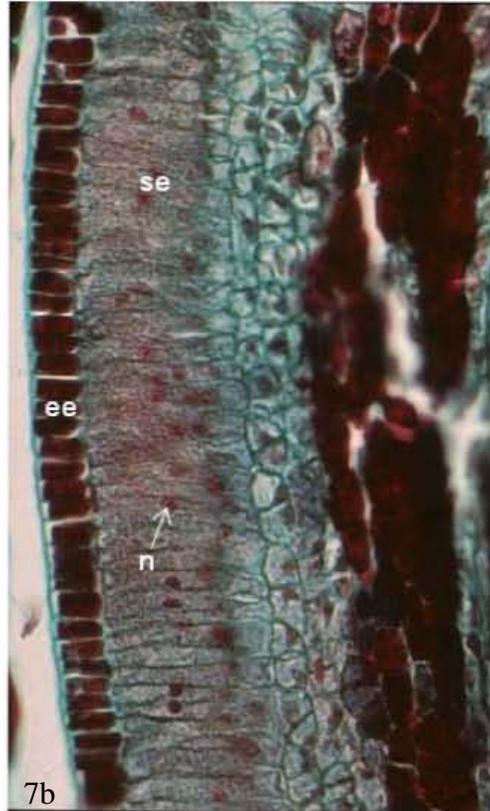
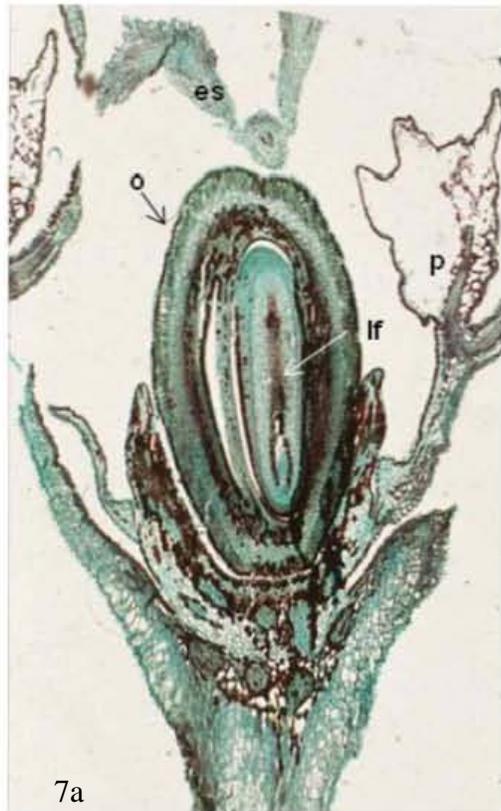


Figura 7. Flor femenina. 7a. Corte longitudinal con tinción safranina-verde rápido .Se observan todas las estructuras florales (10x). 7b. Acercamiento a la pared del ovario con células de características secretoras con tinción safranina-verde rápido (150x). 7c. Corte longitudinal de flor femenina con tinción PAS (17x, campo claro). 7d. Acercamiento de la pared del ovario con tinción PAS (200x, contraste de fases). Ovario (o); estilo (es); pétalo (p); lóculo fértil (lf); epidermis exterior (ee); subepidermis (se); núcleo (n); polisacáridos (ps).

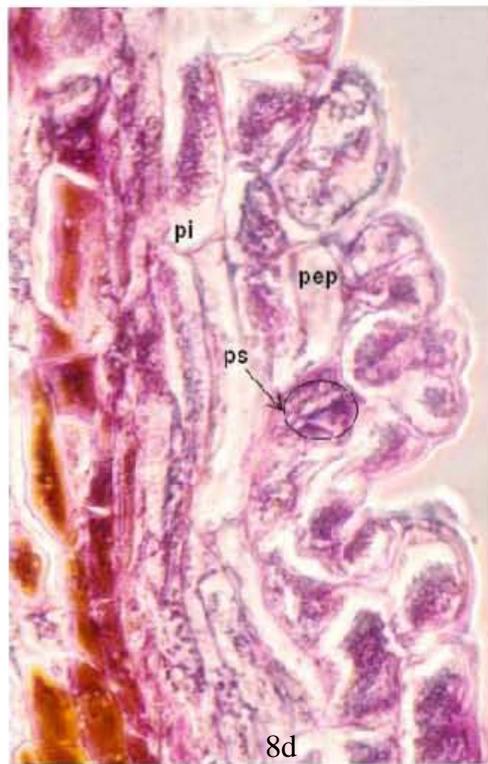
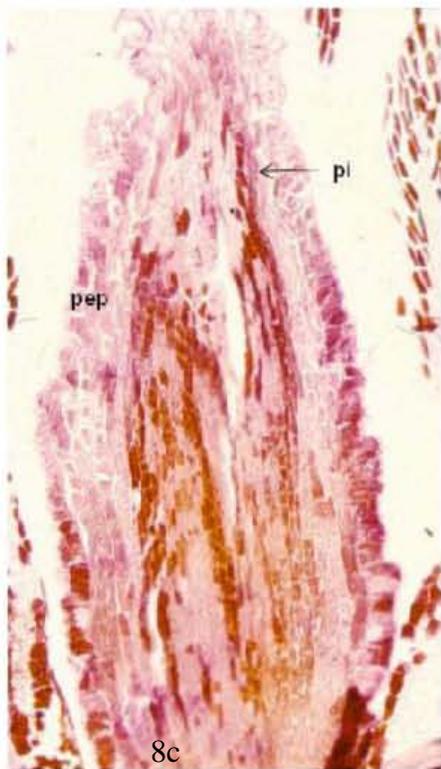
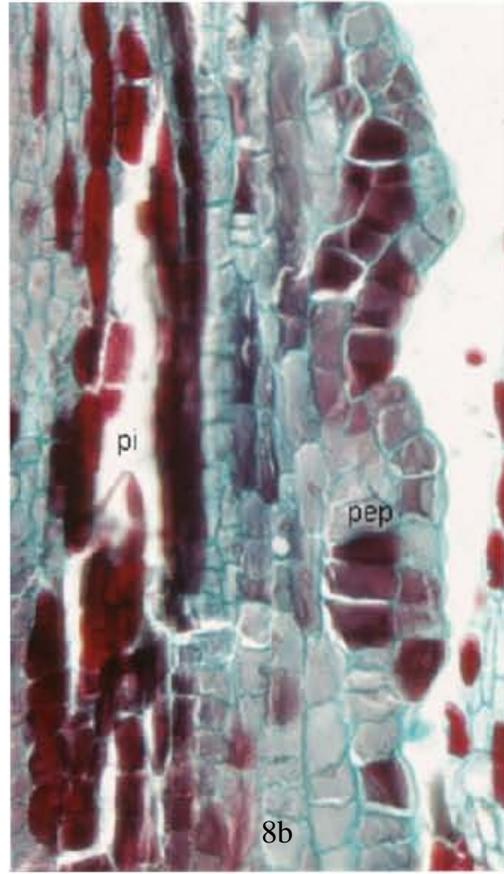
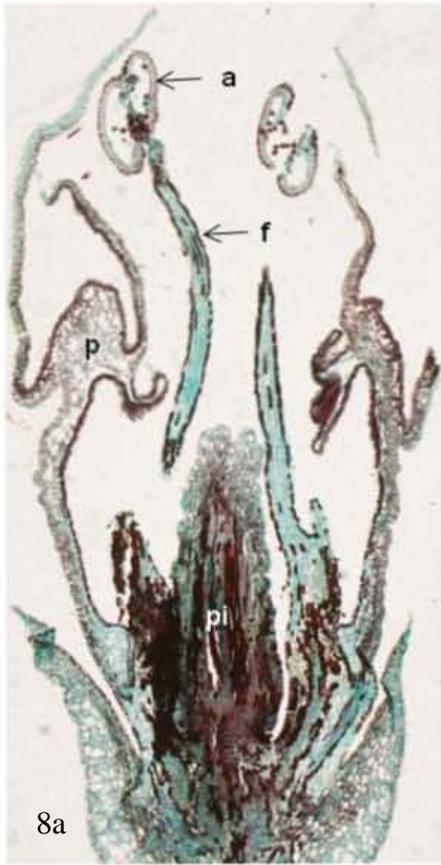


Figura 8. Flor Masculina. 8a. Corte longitudinal con tinción safranina-verde rápido (10x). 8b. Acercamiento de la pared del pistilodio con tinción safranina-verde rápido (140x). 8c. Corte longitudinal con tinción PAS (32x, campo claro). 8d. Acercamiento de la pared del pistilodio con tinción PAS (178x, contraste de fases). Antera (a); filamento (f); pétalo (p); pistilodio (ps); pared externa del pistilodio (pep); polisacáridos (ps).

Morfología de machos y hembras

Las flores masculinas en etapa de antesis tienen cuatro pétalos, dos niveles de estambres en dehiscencia y un pistilodio (Fig. 9a y 9b). El pistilodio está atrofiado (Fig. 9c) y las papilas de la región estigmoide no están desarrolladas (Fig. 9d).

Las flores femeninas en antesis tienen cuatro pétalos, un ovario con tres estilos multilobulados (Fig. 10a y 10b). El ovario tiene siempre tres estigmas (Fig. 10c) pero puede tener de uno a más de tres lóbulos estigmáticos (Fig. 10d). Esta amplia variación morfológica entre los estigmas de diferentes flores, ya sea de distintas plantas, como en flores de una misma hembra no tiene una razón aparente. No existe un patrón morfológico establecido para el número y forma de los estigmas (Fig. 10b, 10c y 10d). Mientras que en las flores masculinas se observó una gran similitud entre pistilodios de distintos machos (Fig. 9c y 9d).

El ovario está rodeado por una corona del androceo vestigial en el que se pueden apreciar estambres atróficos (Fig. 11a y 11b). Los estambres vestigiales de las flores femeninas no son funcionales. La apariencia y tamaño de aproximadamente 250 micras (Fig. 11c) difiere de los estambres dehiscentes de las flores masculinas que miden aproximadamente 525 micras (Fig. 11d).

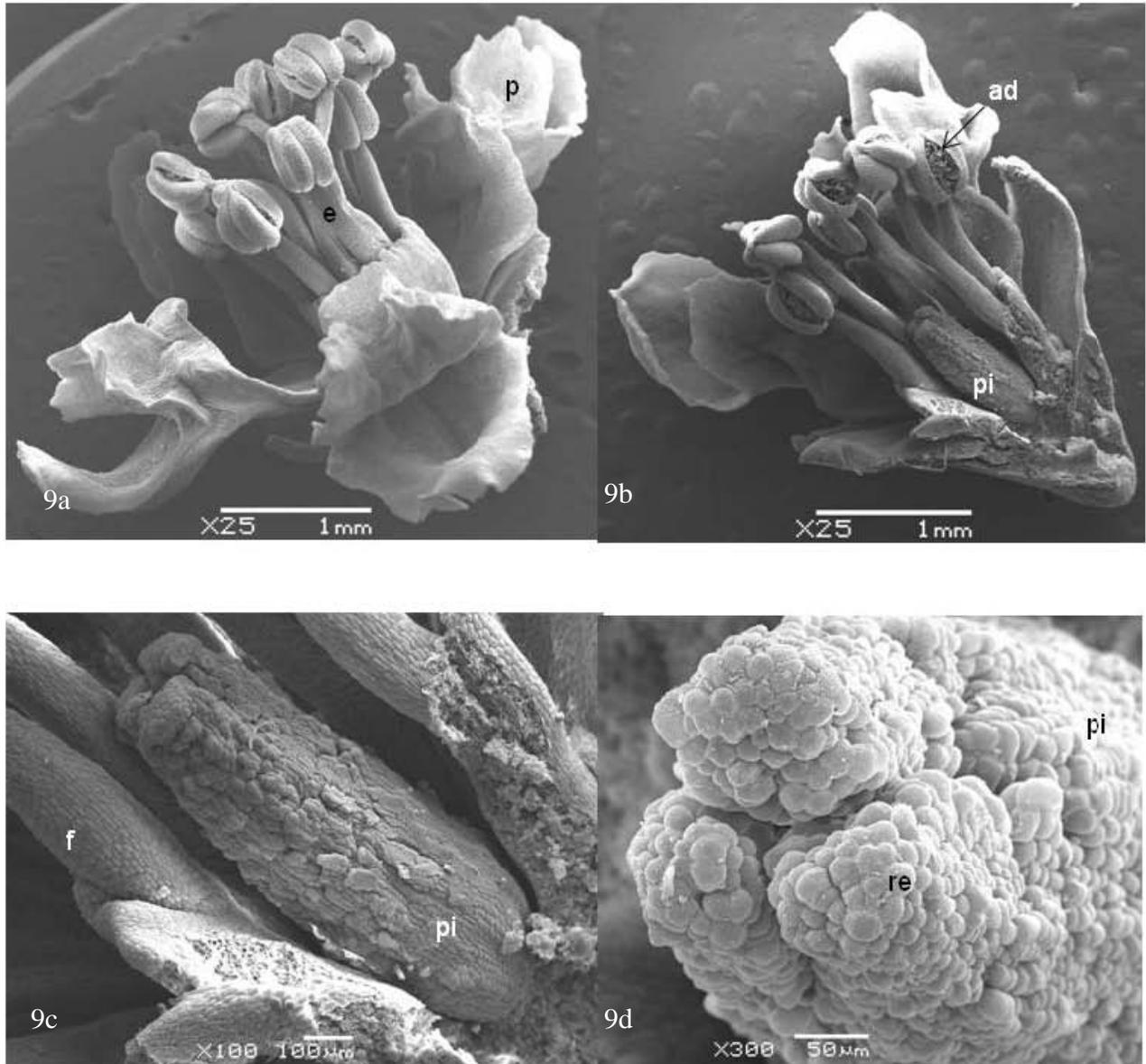


Figura 9: Microscopía Electrónica de Barrido de la flor masculina. 9a. Etapa de antesis. 9b. Etapa de dehiscencia de anteras. Se observa el pistilodio. 9c. Acercamiento del pistilodio. 9d. Región estigmoide del pistilodio. Estambre (e); pétalo (p); antera dehiscente (ad); pistilodio (pi); filamento (f); región estigmoide (re).

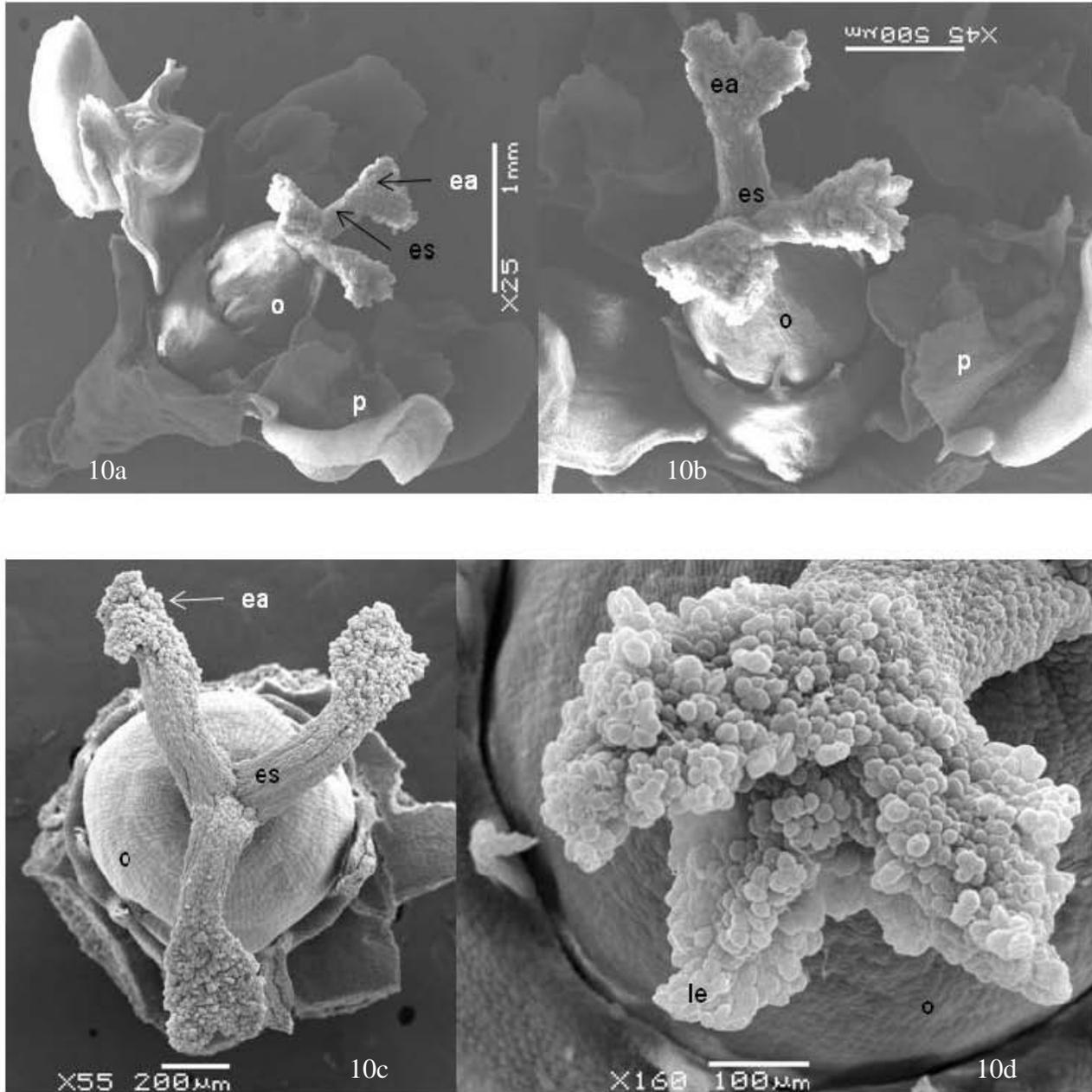


Figura 10: Microscopía Electrónica de Barrido de la flor femenina. 10a. Etapa de antesis. 10b. Acercamiento de la flor. Se observan los lóbulos estigmáticos. 10c. Acercamiento del ovario, estilos y estigmas. 10d. Acercamiento de 3 lóbulos estigmáticos de un estilo. Ovario (o); pétalo (p); estilo (es); estigma (ea); lóbulo estigmático (le).

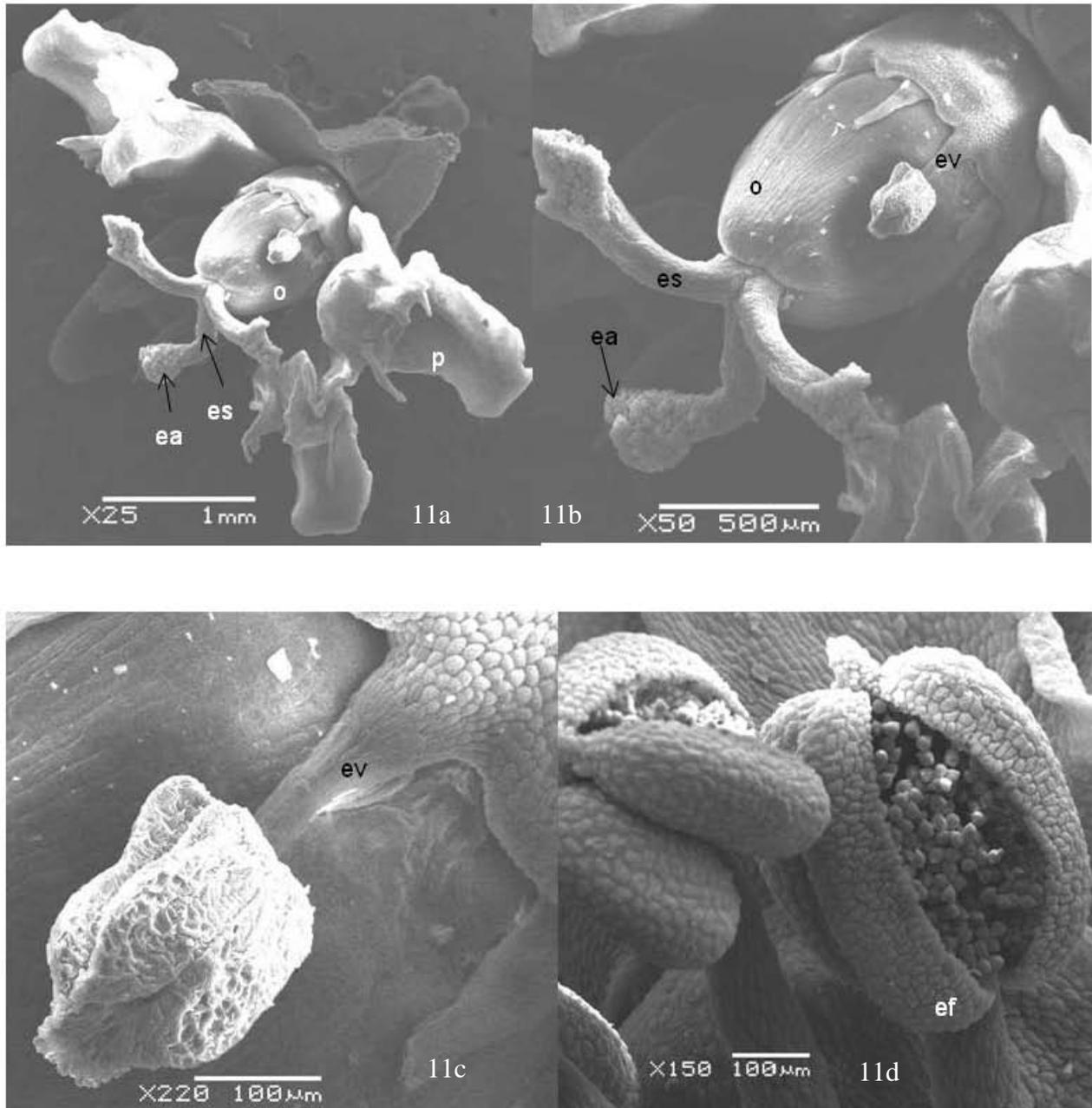


Figura 1: Microscopía Electrónica de Barrido de la flor femenina y anteras masculinas. 11a. Etapa de antesis. Se aprecia un estambre vestigial 11b. Acercamiento de la flor con estambre vestigial. 11c. Acercamiento del ovario y estambre vestigial. 11d. Acercamiento de las anteras de una flor masculina en dehiscencia. Ovario (o); pétalo (p); estilo (es); estigma (ea); estambre vestigial (ev); estambre funcional (ef).

Discusión

Muchos autores han analizado (teórica y empíricamente) la evolución del dioicismo y las ventajas adaptativas que este sistema reproductivo provee a los individuos (Charlesworth y Charlesworth, 1978; Bawa, 1980 a; Ross, 1982; Renner y Ricklefs, 1995; Sakai y Weller, 1999; Webb, 1999; Dorken et al, 2002; Skogsmyr y Lankinen, 2002). Se ha propuesto que la evolución del dioicismo aumenta los niveles de variación genética así como las tasas de entrecruzamiento evitando la endogamia uniparental (Charlesworth y Charlesworth, 1978; Thomson y Barrett, 1981; Bawa, 1984; Charlesworth, 1999; Webb 1999). Sin embargo, a pesar de que todos los argumentos que se usan para explicar la evolución del dioicismo están basados en ventajas selectivas, recientemente se ha demostrado que los clados dióicos tienen mayores tasas de extinción que los clados no dióicos (Vamosi y Vamosi, 2005). Esto se ha explicado como una consecuencia de las diferencias en la conducta de los polinizadores en plantas masculinas y femeninas (Vamosi y Otto, 2002). Algunos autores han afirmado que debido a la diferencia en asignación de recursos (Bullock y Bawa, 1981), las plantas masculinas de especies dióicas producen más flores en comparación con las plantas femeninas (Bawa y Opler, 1978). El número de flores aumenta con el tamaño de la planta (Eckhart, 1999) y una alta densidad de flores promueve una mayor atracción de polinizadores (Klinkhammer y de Jong, 1990). Además, existe mucha evidencia que muestra que las flores masculinas ofrecen mayor recompensa (polen y/o néctar) que las flores femeninas y esto promueve una preferencia por parte de los polinizadores hacia las masculinas (Bierzychudek, 1987; Delph y Lively, 1992; Charlesworth, 1993; Ashman, 2000; Vamosi y Otto, 2002). Lo anterior supone que si los machos experimentan un mayor número de visitas de polinizadores es porque son más atractivos (color, olor, tamaño, tipo de recompensa, número de flores) y ofrecen recompensas que las flores femeninas no tienen (polen y en algunos casos proporción de néctar). En este escenario las flores femeninas experimentarían pocas visitas o, en el peor de los casos, ni siquiera recibirían visitas por parte de los polinizadores. Esta conducta selectiva de los polinizadores no es ventajosa en términos del flujo génico. Al preferir flores masculinas sólo transportaría polen de macho en macho. Las hembras no recibirían polen para que sus óvulos sean fecundados. Si los polinizadores visitan más las flores masculinas porque son más atractivas y ofrecen mayor recompensa, entonces las hembras estarían en desventaja y esto redundaría en una menor viabilidad a largo plazo de la población.

Este escenario favorecería que las plantas femeninas tuvieran un mayor número de flores que las plantas masculinas. Sin embargo Abe (2001), entre otros autores, apoya la idea de que las plantas masculinas de las especies dióicas producen más flores que las femeninas (Bawa y Opler, 1975; Beach, 1981; Agren et al, 1999). En este estudio se demuestra que tanto hembras como machos producen el mismo número de flores.

En contraste con la hipótesis de este trabajo, se encontró que no hay una preferencia de los polinizadores hacia las flores masculinas. En este caso los polinizadores prefieren las flores de las plantas femeninas, lo que sugiere que los machos no son más atractivos. Por lo tanto, si en *Erythroxylum rotundifolium* el tamaño y el número de flores no explican las diferencias en la atracción de los polinizadores, entonces la diferencia en el número de visitas deberá estar asociado con la producción (o la calidad) de la recompensa (Ananthkrishnan y Gopinathan, 1998; Bahadur et al, 1998) que parece ser mayor en las hembras. Los estudios morfológicos de las flores de *E. rotundifolium* indican que el tejido secretor que produce el néctar está asociado a la pared del ovario. Las flores femeninas tienen una zona nectarífera bien diferenciada y son capaces de producir néctar (Fahn, 1998). Los estudios histoquímicos en las flores masculinas revelaron la presencia de azúcares en la pared del pistilodio (ovario vestigial), sin embargo este tejido no presenta el mismo nivel de organización que el tejido secretor del ovario. Este resultado es muy importante ya que sugiere que la evolución del dioicismo en *E. rotundifolium* y en particular de las flores masculinas (con gineceo no funcional), pudo haber afectado indirectamente la oferta de recompensas de las flores masculinas ya que el tejido nectarífero está asociado al ovario. Este fenómeno podría explicar por qué los machos producen menos néctar y de menor calidad que las hembras y en consecuencia la baja tasa de visitas observadas en éste estudio (Rodríguez-Robles et al, 1992; Mitchell, 1993; Salguero-Farías y Ackerman, 1999).

Vamosi y Otto (2002) plantean un escenario en el que las hembras de las especies dióicas son menos atractivas e invierten menos recursos para atraer a los polinizadores que los machos. Sin embargo los resultados sugieren que este escenario no se cumple en *E. rotundifolium*. Los polinizadores no prefieren las flores masculinas, ya que los machos no son más atractivos ni

ofrecen mejor recompensa (néctar). Por lo tanto los resultados de este estudio no apoyan la hipótesis de la preferencia de los polinizadores hacia las flores masculinas. Las hembras de *E. rotundifolium* al parecer son más atractivas (néctar) y experimentan más visitas que los machos. En esta especie el escenario planteado por Vamosi y Otto tendría una variante en la que los polinizadores visitan más las flores femeninas que las masculinas. Si la preferencia hacia las flores femeninas es muy marcada la eficiencia reproductiva es baja dado que no habría polen con qué fecundar los óvulos. Si los polinizadores visitan desproporcionadamente más ya sea flores masculinas o femeninas el flujo génico es deficiente. En si, el que exista una preferencia implica un problema en cuanto a la eficacia en el entrecruzamiento.

En especies polinizadas por insectos la reproducción exitosa depende de la eficiencia de los polinizadores y ésta puede aumentar si hay ligeros cambios en la cantidad de flores disponibles, es decir que puede haber un forrajeo denso-dependiente como en el caso de *E. havanense* (Domínguez y Ávila-Sakar, 2002) y *E. rotundifolium* (A. Martínez, obs. per.). El que los polinizadores tengan una preferencia a visitar flores femeninas también tiene consecuencias sobre el éxito reproductivo. Para el caso de *E. rotundifolium*, en el que las flores femeninas producen una semilla por fruto, el cociente frutos/flores es una medida de la eficiencia de los polinizadores. La eficiencia reproductiva es una aproximación al éxito reproductivo de las plantas. Con los datos presentados por Stephenson (1981) se estimó que el valor promedio del fruit-set de 59 especies (con diversos sistemas reproductivos incluyendo el dióico) es de 0.13 ($IC_{0.95} = 0.9 - 0.17$). De la misma forma Sutherland y Delph (1984) obtuvieron el fruit set para 187 especies (hermafroditas, auto-incompatibles) con un valor de 0.22 (± 0.14), mientras que para 49 especies dióicas obtuvieron un valor de 0.73 (± 0.18). En este estudio se demostró que la eficiencia reproductiva de *E. rotundifolium* es de 0.37, un valor que está por encima del intervalo de confianza calculado con base en los estudios de Stephenson (1981) y entre los promedios calculados por Sutherland y Delph (1984). Incluso al comparar *E. rotundifolium* con los resultados obtenidos por Bullock (1985), quien analizó el fruit set para diversas especies hermafroditas, monóicas y dióicas, el porcentaje sigue siendo alto (Domínguez et al, 1997; Domínguez, 1990). Los porcentajes de fruit-set para especies dióicas son altos y *E. rotundifolium* parece no ser la excepción puesto que su fruit-set es mayor que el de especies con sistemas reproductivos diferentes al dioicismo. Sin embargo la marcada asincronía en la fenología floral de la especie, la limitación por polinizadores y la baja variabilidad genética sugieren que el

dioicismo no necesariamente confiere ventajas reproductivas, aun cuando *E. rotundifolium* tiene un éxito reproductivo por encima del promedio de muchas especies con diversos sistemas reproductivos pero mucho menor al de especies dióicas.

Si bien el éxito reproductivo de *E. rotundifolium* es relativamente alto, existen otros aspectos que hay que considerar. El porcentaje de frutos que maduran es alta de manera natural pero existe un incremento del 20% cuando las cruza entre individuos se realizan de manera artificial. Este porcentaje es similar o inferior al de otras especies que tienen limitación por polinizadores o por polen (ver Bierzychudek, 1981; Karoly, 1992) El incremento en el fruit set de manera artificial sugiere que hay una limitación por polen o polinizadores (Dieringer, 1992). Esta limitación de polen se puede relacionar con la fenología asincrónica que presenta esta especie. La floración sincrónica juega un papel ecológico importante ya que determina los patrones de flujo génico entre individuos de una misma población y entre poblaciones (Domínguez y Ávila-Sakar, 2002). Desde el punto de vista poblacional *E. rotundifolium* tiene un comportamiento poco eficiente, puesto que la floración ocurre por pulsos (asincronía) en los que ciertos individuos florecen y otros lo hacen posteriormente. Si comparamos *E. rotundifolium* con *E. havanense*, en el mismo sitio de estudio, la sincronía que se observa en *E. havanense* difiere completamente con la marcada asincronía en la floración entre los individuos de *E. rotundifolium* (Domínguez, 1990). En *E. havanense* el período de floración es de 5 a 6 días (Domínguez, 1990; Ávila-Sakar y Domínguez, 2000; Domínguez y Ávila-Sakar, 2002), mientras que el intervalo de floración en *E. rotundifolium* para machos y hembras es amplio, variable y altamente asincrónico. Cada individuo puede florecer de entre 12 y 40 días hecho que no está relacionado con el tamaño del individuo ni con el sexo. Esta marcada asincronía tiene consecuencias genéticas, ya que los individuos que mantienen flujo genético son pocos. Aun cuando la población sea grande se encuentra fragmentada en el tiempo.

En las poblaciones naturales las cruza suelen traer como consecuencia un aumento en la endogamia ya que éstas son aleatorias. Además es común que ciertos individuos contribuyan con gametos de manera desproporcionada (Husband y Barrett, 1992). Wrigth, en un trabajo realizado en 1931, fue el primero que trabajó el concepto de tamaño efectivo de la población en términos de los efectos de la endogamia. El tamaño efectivo de la población se define como el número de

individuos reproductivos en una población idealizada que mostrara la misma magnitud de dispersión de frecuencias alélicas bajo deriva génica o bajo la misma magnitud de endogamia que la población bajo consideración (Wright, 1931). El tamaño efectivo de la población se puede calcular determinando la tasa de cambio en la varianza en una población (Hartl y Clark, 1989).

$$N_e = \frac{4 N_m N_f}{N_m + N_f}$$

donde N_m y N_f son el número de machos y hembras reproductivos, respectivamente, en la población. El 4 representa la probabilidad de que los dos gametos que se unen vengan de los mismos abuelos. El tamaño efectivo de las poblaciones generalmente difiere del número actual de individuos, siendo menor el tamaño efectivo. Esto porque las poblaciones no siempre cumplen con ciertas características como el que las generaciones no se encuentren en un mismo tiempo y espacio, o que no ocurran mutaciones y la selección no actúe (Hartl y Clark, 1989; Nagylaki, 1992). Cuando hay asincronía en la floración, los individuos que mantienen un flujo génico están sujetos al tiempo en el que florecen otros individuos. De tal manera que el tamaño efectivo de la población tiene cambios a lo largo del tiempo de floración. En *E. rotundifolium* el tamaño efectivo de la población debería ser reducido debido a la asincronía en la floración, por lo tanto la variabilidad genética debería verse reducida. El estudio de genética de poblaciones realizado por Abarca y Domínguez (2007) confirma esta predicción ya que muestra que la variación genética es mayor en *E. havanense* que en *E. rotundifolium*.

A pesar de que *E. rotundifolium* no se ajustó al modelo de Vamasi y Otto (2002), la biología de la reproducción de esta especie sugiere que el dioicismo de *E. rotundifolium* no es un sistema muy eficiente. Hay limitación por polen o polinizadores, la fenología reproductiva hace que el intercambio genético tenga restricciones. Tiene una eficiencia relativamente alta pero una marcada asincronía floral, por lo que los descendientes son de pocos padres y poca variación genética. El tamaño de la población, el aislamiento y densidad de plantas influencia la variación y flujo génico dentro y entre poblaciones. (Van Rossum et al, 2001). Todos estos factores tienen el potencial de reducir el N_e de la población, y por lo tanto la variabilidad genética de esta especie. La población de *E. rotundifolium* está fragmentada en tiempo y espacio, no hay sincronía entre individuos reproductivos por lo tanto tiene un efecto negativo en la posibilidad de los polinizadores para realizar entrecruzamientos. Esto se refleja directamente en la menor

variación genética que tiene *E. rotundifolium* a comparación de *E. havanense* (Abarca y Domínguez, 2007).

A pesar de que los resultados de este trabajo no apoyan la hipótesis de Vamosi y Otto (2002), se encontró que los polinizadores discriminan entre sexos. Esta conducta, junto con la fuerte asincronía en la floración, podría tener un fuerte efecto sobre el N_e de la población e incrementar la probabilidad de extinción de la población. Visto desde este punto de vista el mecanismo propuesto por Vamosi y Otto (2002) también opera en *E. rotundifolium* aún cuando la discriminación sea hacia las flores masculinas.

Conclusiones

El escenario propuesto por Vamosi y Otto (2002) se cumple en *E. rotundifolium* pero la discriminación se da hacia las flores masculinas y no hacia las femeninas como lo plantean originalmente los autores.

La discriminación por parte de los polinizadores aunado a la marcada asincronía en la fenología reproductiva tienen consecuencias graves sobre el tamaño efectivo de la población de *E. rotundifolium*. Además, debido a la floración por pulsos o asincrónica de *E. rotundifolium* los individuos que florecen están separados en tiempo y por tanto la disponibilidad de flores para polinizadores también. La poca disponibilidad de flores trae como consecuencia un restringido banco de óvulos y polen y por ende una menor variación genética en esta especie.

Como estrategia de atracción la especie ofrece además de polen, néctar. El ovario femenino y el pistilodio masculino tienen función secretora. El tejido nectarífero está asociado al ovario. Sin embargo el pistilodio, considerado una estructura vestigial, no tiene el tejido bien diferenciado lo que puede estar afectando indirectamente la oferta de recompensa. La evolución ha traído como consecuencia que los machos tengan deficiencia en néctar.

Referencias

Abarca C. y Domínguez C. 2007. En prensa.

Abe, T. 2001. Flowering phenology, display size and fruit set in an understory dioecious shrub *Aucuba japonica* (Cornaceae). *American Journal of Botany* **88**: 455 – 461.

Agren, J., K. Danell, T. Elmqvist, L. Ericson, J. Hjältén. 1999. Sexual dimorphism and biotic interactions. En: Geber, M. A., T. E. Dawson y L. F. Delph, ed. 1999. *Gender and sexual dimorphism in flowering plants*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Pp: 33- 60.

Allem A.C. 2004. Optimization theory in plant evolution: an overview of long-term evolutionary prospects in the angiosperms. *The Botanical Review* **69**: 225- 251.

Ananthkrishnan, T.N. y K. Gopinathan. 1998. Nectar utilization and pollination potential of thirps in relation to some Asteraceae. En: Bahadur, B. ed. *Nectary Biology*. 1998. Chetna Printers, Maujpur, Delhi. pp: 163-177.

Ashman, T.L. 2000. Pollinator selectivity and its implications for the evolution of dioecy and sexual dimorphism. *Ecology* **81**: 2577 – 2591.

Ávila-Sakar G. y C.A. Domínguez. 2000. Parental effects and gender specialization in a tropical heterostylous shrub. *Evolution* **54**: 866-877.

Bahadur, B., C. Subba Reddi, J.S.A. Raju, H.K.Jain y N. Rama Swamy. 1998. Nectar chemistry. En: Bahadur, B. ed. *Nectary Biology*. 1998. Chetna Printers, Maujpur, Delhi. pp: 21-39.

Baker, H.G. 1984. Some functions of dioecy in seed plants. *The American Naturalist* **124**: 149- 158.

Barrett, S.C.H. 1992. Gender variation and the evolution of dioecy in *Wurmbea dioica* (Liliaceae). *J. Evol. Biol.* **5**: 423- 444.

- Bawa, K.S. y P.A. Opler. 1975. Dioecism in tropical forest trees. *Evolution* **29**: 167- 179.
- Bawa, K.S. 1980 a. Evolution of dioecy in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* **11**: 15-39.
- Bawa, K. S. 1980 b. Mimicry of male by female flowers and intrasexual competition for pollinators in *Jacaratia dolichaula* (D.Smith) Woodson (Caricaceae). *Evolution* **34**: 467-474.
- Bawa, K.S. 1984. The evolution of dioecy- concluding remarks. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **71**: 294-296.
- Bernal, R. y F. Ervik. 1995. Floral biology and pollination of the dioecious palm *Phytelephas seemannii* in Colombia: An adaptation to staphylinid. *Biotropica* **28**: 682-696.
- Beach, J.H. 1981. Pollinator foraging and the evolution of dioecy. *The American Naturalist* **118**: 572-577.
- Bierzychudek, P. 1981. Pollinator limitation of plant reproductive effort. *American Naturalist* **117**: 838-840.
- Bierzychudek, P. 1987. Pollinators increase the cost of sex by avoiding female flowers. *Ecology* **68**: 444- 447.
- Bullock, S.H. y K.S. Bawa. 1981. Sexual dimorphism and the annual flowering pattern in *Jacaratia dolichaula* (D. Smith) Woodson (Caricaceae) in a Costa Rican rain forest. *Ecology* **62**: 1494-1504.
- Bullock, S.H. 1985. Breeding systems in the flora of a tropical deciduous forest in Mexico. *Biotropica* **17**: 287-301.
- Bullock, S.H., R. Ayala, H. Baker y I. Baker. 1987. Reproductive biology of the tree *Ipomea wolcotiana* (Convolvulaceae). *Madroño* **34** (4): 304-314.
- Bullock, S.H. 1996. Climate of Chamela, Jalisco, and trends in the south coastal region of Mexico. *Archives for Meteorology Geophysics, and Bioclimatology. Ser. B* **36**: 297-316.

Burger et al. 1993. Flora Costaricensis. Erythroxylaceae Knuth by Timothy Plowman. Fieldiana: Botany

Búrquez, A. y S.A. Corbet. 1998. Dynamics of production and exploitation of nectar: lessons from *Impatiens glandulifera* Royle. En: Bahadur, B. ed. *Nectary Biology*. 1998. Chetna Printers, Maujpur, Delhi. pp.: 130-152.

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

Charlesworth, D. 1993. Why are unisexual flowers associated with wind pollination and unspecialized pollinators?. *The American Naturalist* **141**: 481- 490.

Charlesworth, D. 1999. Theories of the evolution of dioecy. En: Geber, M. A., T. E. Dawson y L. F. Delph, ed. 1999. *Gender and sexual dimorphism in flowering plants*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Pp: 33- 60.

Charlesworth B. y D. Charlesworth. 1978. A model for the evolution of dioecy and gynodioecy. *The American Naturalist* **112**: 975-997.

Collevatti, R.G., D. Grattapaglia, J. D. Hay. 2001. High resolution microsatellite based analysis of the mating system allows the detection of significant biparental inbreeding in *Caryocar brasiliense*, an endangered tropical tree species. *Heredity* **81**: 60-67.

Cronquist, A. 1981. *An integrated system of classification of flowering plants*. Columbia University Press, Nueva York E.U.A. pp.: 751-756.

De Ita-Martínez, C. y V. Barradas. 1986. El clima y los patrones de producción agrícola en una selva baja caducifolia de la costa de Jalisco, México. *Biotica* **11**: 237- 245.

Delph, L.F. 1990. Sex- ratio variation in the gynodioecious shrub *Hebe strictissima* (Scrophulariaceae). *Evolution* **44**: 134-142.

- Delph, L.F. y C.M. Lively. 1992. Pollinator visitation, floral display, and nectar production of the sexual morphs of a gynodioecious shrub. *Oikos* **63**: 161-170.
- Dieringer, G. 1992. Pollinator limitation in populations of *Agalinis strictifolia* (Scrophulariaceae). *Bulletin of Torrey Botanical Club* **199**: 131-136.
- Domínguez, C. A. 1990. Consecuencias ecológicas y evolutivas del patrón de floración sincrónico y masivo de *Erythroxylum havanense* Jacq. (Erythroxylaceae). Tesis Doctoral, Instituto de Ecología, UNAM, México. 167 págs.
- Domínguez, C.A., G. Ávila-Sakar, S. Vázquez-Santana, J. Márquez-Guzmán. 1997. Morph-biased male sterility in the tropical distylous shrub *Erythroxylum havanense* (Erythroxylaceae). *American Journal of Botany* **84**: 626- 632.
- Domínguez, C.A., G. Ávila-Sakar. 2002. *Erythroxylum havanense* Jacq. (Erythroxylaceae). En: Noguera F.A., J.H. Vega Rivera, A.N. García Aldrete, M. Quesada Avendaño (eds.).2002. *Historia Natural de Chamela*. Instituto de Biología, UNAM. México. pp.: 171- 179.
- Dorken M.E., J. Friedman, S.C.H. Barrett. 2002. The evolution and maintenance of monoecy and dioecy in *Sagittaria latifolia* (Alismataceae). *Evolution* **56**: 31- 41.
- Eckhart, V. M. 1999. Sexual dimorphism in flowers and inflorescences. En: Geber, M. A., T. E. Dawson y L. F. Delph, ed. 1999. *Gender and sexual dimorphism in flowering plants*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. pp.: 123- 148.
- Fahn, A. 1998. Nectaries structure and nectar secretion. En: Bahadur, B. ed. *Nectary Biology*. 1998. Chetna Printers, Maujpur, Delhi. pp.: 1-20
- García, E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F.
- García-Oliva, F., A. Camou y J.M. Maass. 2002. El clima de la región central de la costa del pacífico mexicano. En: Noguera F.A., J.H. Vega Rivera, A.N. García Aldrete, M. Quesada

Avendaño (eds.).2002. *Historia Natural de Chamela*. Instituto de Biología, UNAM. México. PP.: 3-10.

Gusson, E., A.M. Sebbenn, P.Y. Kageyama. 2005. Diversity and spatial genetic structure in two *Eschweilera ovata* populations. *Scientia Forestalis* **67**: 123-135.

Hartl, D.L., Clark, A.G. 1989. *Principles of population genetics*. Sinauer Associates, Inc. Pp: 82-87.

Husband, B.C., S.C.H. Barrett. 1992. Effective population size and genetic drift in tristylous *Eichhornia paniculata* (Pontederiaceae). *Evolution* **46**: 1875-1890.

Janzen, D.H. 1988. Tropical Dry Forests. The most endangered major tropical ecosystem. En: Wilson, E.O. y F. Peter (eds.).*Biodiversity*. National Academy Press. Washington. Pp: 130- 137.

Karoly, K. 1992. Pollinator limitation in the facultatively autogamous annual, *Lupinus nanu* (Leguminoseae). *American Journal of Botany* **79**: 49-56.

Kearns C.A. y D.W. Inouye. 1993. *Techniques for pollination biologists*. University Press of Colorado. Pp: 13-19, 22- 29, 35, 119-122, 263-267, 276-279, 335-343.

Klinkhammer, P.G. y T. J. De Jong. 1990. Effects of plant size, plant density and sex differential nectar reward on pollinator visitation in the protandrous *Echium vulgare* (Boraginaceae). *Oikos* **57**: 399- 405.

Le Corff, J., J. Agren y D.W. Schemske. 1998. Floral display, pollinator discrimination, and female reproductive success in two monoecious *Begonia* species. *Ecology* **79**: 1610- 1619.

López C.M. de L., G.J. Márquez y S.G. Murguía. 2005. *Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas. Libro de laboratorio*. Coordinación de Servicios Editoriales, Facultad de Ciencias, UNAM. México. 178 Págs.

Lott, E. J., S.H. Bullock y A.S. Magallanes. 1987. Floristic diversity and structure of upland and arroyo forests of coastal Jalisco. *Biotropica* **19**: 228-235.

Lott, E.J. 1985. *Listados Florísticos de México III La Estación de Biología Chamela, Jalisco*. Instituto de Biología, UNAM. México. 47 pags.

Lott, E. J.. 1993. Annotated checklist of the vascular flora of the Chamela bay region, Jalisco, Mexico. *Occasional Papers of the California Academy of Sciences* **148**: 1- 60.

Lott, E.J.2002. Lista anotada de las plantas vasculares de Chamela-Cuixmala. En: Noguera F.A., J.H. Vega Rivera, A.N. García Aldrete, M. Quesada Avendaño (eds.).2002. *Historia Natural de Chamela*. Instituto de Biología, UNAM. México. Pág. 112.

Lloyd, D.G. 1972. Breeding systems in *Cotula* L. (Compositae, Anthemidae).I. The array of monoclinoous and diclinoous systems. *New Phytologist* **71**: 1181. 1194.

Lloyd, D.G. 1975. Breeding system in *Cotula*. III. Dioecious populations. *New Phytologist* **74**: 109-123.

Lloyd, D.G. 1980. The distribution of gender in four angiosperm species illustrating two evolutionary pathways to dioecy. *Evolution* **34**: 123-134.

Maki, M. 1993. Outcrossing and fecundity advantage of females in gynodioecious *Chionographis japonica* var. *kurohimensis* (Liliaceae). *American Journal of Botany* **80**: 629-634.

Mayer, S.S. y D. Charlesworth. 1992. Genetic evidence of multiple origins of dioecy in the Hawaiian Shrub *Wikstroemia* (Thymelaeaceae). *Evolution* **46**: 207- 215.

Mitchell, R.J. 1993. Adaptative significance of *Ipomopsis aggregata* nectar production: observation and experiment in the field. *Evolution* **47**: 25- 35.

Muenchow, G.E. y M. Grebus.1989. The evolution of dioecy from distyly: Reevaluation of the hypothesis of the loss of long-tongued pollinators. *The American Naturalist* **133**: 149-156.

Nagylaki, T. 1992. *Introduction to theoretical population genetics*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Pag: 238.

Noguera, F.A., J.H. Vega Rivera, A.N. García Aldrete, M. Quesada Avendaño (eds.).2002. *Historia Natural de Chamela*. Instituto de Biología, UNAM. México. 568 págs.

Opler, P.A., H.G. Baker y G.W. Frankie. 1975. Reproductive biology of some Costa Rican *Cordia* species (Boraginaceae). *Biotropica* **7**: 234-247.

Opler, P.A. y K.S. Bawa. 1978. Sex ratios in some tropical forest trees. *Evolution* **32**: 812-821.

Ornduff, R. 1966. The origin of dioecism form heterostyly in Nymphaeales (Menyantheaceae). *Evolution* **20**: 309-314.

Pannell, J.R. 2002. What is functional androdioecy. *Functional Ecology* **16**: 862-865.

Pennington, T.D. y J. Sarukhán. 1998. *Árboles tropicales de México*. Universidad Nacional Autónoma de México y Fondo de Cultura Económica. México. Pp. 38-44.

Ramírez, N., C. Gil, O. Hokche, A. Seres e Y. Brito. 1990. Biología reproductiva de una comunidad arbustiva tropical en la Guayana Venezolana. *Ann. Missouri Bot. Garden* **77**: 383-397.

Ramírez García, E., M. en C., 2005. Estación de biología Chamela-Cuixmala, Jalisco México. Comentarios e instrucción sobre captura y montaje de polinizadores.

Renner, S. S. y R.E. Ricklefs. 1995. Dioecy and its correlates in the flowering plants. *American Journal of Botany* **82**: 596-606.

Robertson, C. 1892. Flowers and insects. IX. *Botanical Gazette* **19**: 269-276.

Rodríguez-Robles, J.A, E.J. Meléndez, J.D. Ackerman.1992. Effects of display size, flowering phenology, and nectar availability on effective visitation frequency in *Compartmentia falcata* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* **79**: 1009-1017.

Ross, M.D. 1970. Evolution of dioecy from gynodioecy. *Evolution* **24**: 827-828.

Ross, M.D. 1982. Five evolutionary pathways to subdioecy. *The American Naturalist* **119**: 297-318.

Ross, M.D. y B.S. Weir. 1976. Maintenance of males and females in hermaphrodite populations and the evolution of dioecy. *Evolution* **30**: 425-441.

Rzedowski, J. 1986. *Vegetación de México*. Limusa, México. PP.: 189-203.

Salguero-Farías, J.A., J.A. Ackerman. 1999. A nectar reward: is more better?. *Biotropica* **31**: 303-311.

Sakai, A. K., S.G. Weller, M.L.Chen, S.Y. Chou, C. Tazanont. 1997. Evolution of gynodioecy and maintenance of females: the role of inbreeding depression. out crossing rates and resource allocation in *Schiedea adamantis* (Caryophyllaceae). *Evolution* **59**: 724- 736.

Sakai, A. K. y S.G. Weller. 1999. Gender and sexual dimorphism in flowering plants: A review of terminology, biogeographic patterns, ecological correlates, and phylogenetic approaches. En: Geber, M. A., T. E. Dawson y L. F. Delph, ed. 1999. *Gender and sexual dimorphism in flowering plants*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Pp: 1- 31.

Schultz, S.T.1994. Nucleo-cytoplasmic male sterility and alternative routes to dioecy. *Evolution* **48**: 1933- 1945.

Sharp, A.J. 1953. Notes on the flora of Mexico: World distribution of the woody dicotyledonous families and the origin of the modern vegetation. *The Journal of Ecology* **41**: 374- 380.

Skogsmyr, I. y A. Lankinen. 2002. Sexual selection: an evolutionary force in plants?. *Biol. Rev* **77**: 537- 562.

Sutherland S., L.Delph .1984. On the importance of male fitness in plants: patterns of fruit-set. *Ecology* **65**: 1093- 1104.

Tandon, R., K.R. Shivanna y H.Y. Mohan Ram. 2003. Reproductive biology of *Butea monosperma* (Fabaceae). *Annals of Botany* **92**: 715- 723.

Thomson, J.D. y S.C.H., Barrett. 1981. Selection for outcrossing, sexual selection, and the evolution of dioecy in plants. *The American Naturalist* **118**: 443- 449.

Vamosi, J.C. y S.P. Otto. 2002. When looks can kill: the evolution of sexually dimorphic floral display and the extinction of dioecious plants. *Proceedings of the Royal Society of London, Serie B.* **269**: 1187-1194.

Vamosi, J.C. y S.M. Vamosi. 2005. Present day risk of extinction may exacerbate the lower species richness of dioecious clades. *Diversity and Distributions* **11**: 25-32.

Van Rossum, F., G. Echchgadda, I. Szabadi y L. Triest. 2002. Commonness and long-term survival in fragmented habitats: *Primula elatior* as a study case. *Conservation Biology* **16**: 1286- 1295.

Webb, C.J. 1999. Empirical studies: Evolution and maintenance of dimorphic breeding systems. En: Geber, M. A., T. E. Dawson y L. F. Delph, ed. 1999. *Gender and sexual dimorphism in flowering plants*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Pp: 61- 95.

Wright, S. 1931 definición de tamaño efectivo de la población tomado de Internet http://en.wikipedia.org/wiki/Effective_population_size. El 2 de Agosto del 2007.