



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

# POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Instituto de Ecología

CAMBIOS EN LA INTERACCIÓN  
PLANTA-POLINIZADOR Y EN LA  
BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE  
*Dieffenbachia seguine* INDUCIDOS POR  
LA FRAGMENTACIÓN DEL HÁBITAT  
EN LA SELVA DE LOS TUXTLAS,  
VERACRUZ.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
BIOLOGÍA AMBIENTAL**

P R E S E N T A

MARÍA DEL PILAR SUÁREZ MONTES

**DIRECTOR DE TESIS: DR. JUAN NÚÑEZ FARFÁN**

MÉXICO, D.F.

ENERO 2010



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.

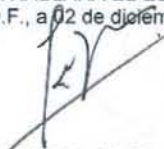
**Dr. Isidro Ávila Martínez**  
**Director General de Administración Escolar, UNAM**  
**Presente**

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 26 de octubre de 2009, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGÍA AMBIENTAL)** de la alumna **SUÁREZ MONTES MARÍA DEL PILAR** con número de cuenta **402054623** con la tesis titulada **"CAMBIOS EN LA INTERACCIÓN PLANTA-POLINIZADOR Y EN LA BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE DIEFFENBACHIA SEGUINE INDUCIDOS POR LA FRAGMENTACIÓN DEL HÁBITAT EN LA SELVA DE LOS TUXTLAS, VERACRUZ."**, realizada bajo la dirección del : **DR. JUAN NÚÑEZ FARFÁN**

Presidente: DRA. GUADALUPE JUDITH MÁRQUEZ GUZMÁN  
Vocal: DR. CESAR AUGUSTO DOMÍNGUEZ-PÉREZ TEJADA  
Secretario: DR. JUAN NÚÑEZ FARFÁN  
Suplente: DR. MAURICIO QUESADA AVENDAÑO  
Suplente: DRA. JULIETA BENÍTEZ MALVIDO

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

**Atentamente**  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Cd. Universitaria, D.F., a 02 de diciembre de 2009,

  
Dr. Juan Núñez Farfán  
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente de la interesada.

## **Agradecimientos**

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM por su formación

Este trabajo fue financiado por el proyecto de investigación PAPIIT-UNAM (IN-224908) “Efecto de la fragmentación de la selva de Los Tuxtlas en la estructura genética de especies con diferentes historias de vida”. La realización de esta tesis fue posible gracias a la beca otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) así como beca del programa de fomento a la graduación de los alumnos del posgrado de la UNAM otorgada por la Coordinación de Estudios de Posgrado de la UNAM.

A los miembros de mi comité tutorial por sus valiosa asesoría para la realización de este trabajo: Dr. Juan Núñez Farfán, Dra. Julieta Benítez Malvido, el Dr. César Domínguez Pérez-Tejada así como a la Dra. Judith Márquez Guzmán.

## **Agradecimientos**

Al Dr. Juan Núñez por su apoyo en la tesis, en el experimento de campo y las divertidas pláticas en el laboratorio y Los Tuxtlas.

Al Dr. César Domínguez y a la Dra. Julieta Benítez por sus sugerencias en la presentación de los tutoriales y revisiones de la tesis. A la Dra. Judith Márquez por transmitir su interés, emoción y gran ayuda en el estudio de las flores de *D. seguine*.

Al Biol. Ricardo Wong y Patricia Pérez Belmont del laboratorio de Desarrollo en Plantas de la Facultad de Ciencias por su ayuda con los cortes histológicos. A Rosalinda Tapia López por su apoyo logístico durante el desarrollo de los experimentos y el proyecto. Al personal y a la estación de Los Tuxtlas de la UNAM

A los que me ayudaron con los experimentos en campo, a los que se cansaron, los que fueron atacados por pinolillos, los que se aburrieron y a los que quizás se divirtieron: Juan, Mariana, Memo, Rafa, Eunice, Alejandro, Fabricio, Carlos, Alfredo, Armando, Jonathan, Jorge, Iván, Vania, José Pozo, Edson y Amanda Gutiérrez. Si no me hubieran ayudado quizás seguiría midiendo plantas, mil gracias.

A mis compañeros del laboratorio por su agradable y divertida compañía además de las sugerencias de la tesis y otros quehaceres: Rafael Bello, Laura Lorena, Iván, Eunice, Jorge, Alfredo, Armando, Edson, Lupita, Alejandro, Eder, Bernardo y Jonathan. A las chicas y chico del cubo por las risas que hacen más ligera la estancia en la maestría: Mariana, Lilo, Vania y Memo. A Sandra Cuartas por ser tan accesible y ayudarme a entender mejor el sistema de estudio. A Elsa por tener siempre la disposición de responder mis preguntas sobre aves y sufrir conmigo los programas latosos. A Etzel y a Juan Fornoni por su sugerencias y ayuda sobre los análisis.

A mi papá, Maca, Felo, Moni, Jesús, Grisel y el bebé, a mis tíos y tías, primos y primas por apoyarme y estar siempre conmigo. A mis tías Moni, Carmina y Maru por preocuparse por mi flacura y alimentarme.

A Rana, Lilo, Fab, Vani, Fer, Euke, Memo, Irenosa, Dani, Mariana A., Carlitos, Ile, Berenice, Rosa, Jessicota, Jonatime, Martín, Horacio, Sally, Ale Irasema, Carlo e Iván por su amistad y porque es y ha sido muy padre compartir un cachito de vida con ustedes. .

A mi abuela

A mamá

A Jaime

## **Índice**

Resumen	1
Abstract	2
<b>1. Introducción</b>	
Fragmentación del hábitat	3
Polinización	3
Éxito reproductivo	5
Limitación por polen	6
<b>2.- Métodos y análisis de datos</b>	
Especie de estudio	8
Área de estudio	9
Abundancia y diversidad de <i>polinizadores</i>	10
<i>Flores pistiladas</i>	11
<i>Caracteres florales y vegetativos</i>	11
<i>Sistema de apareamiento y tratamientos de polinización</i>	12
<i>Éxito reproductivo y limitación por polen</i>	15
<i>Polen</i>	16
<i>Variación entre patrones de asignación temporal</i>	17
<b>3.- Resultados</b>	
<i>Abundancia y diversidad de polinizadores</i>	18
<i>Flores pistiladas</i>	19
<i>Sistema de apareamiento</i>	22
<i>Caracteres florales y vegetativos</i>	22
<i>Éxito reproductivo y limitación por polen</i>	23
<i>Cruzas con polen local y polen externo</i>	26
<i>Variación entre donadores de polen</i>	27
<i>Variación entre patrones de asignación temporal</i>	29
<b>4.- Discusión</b>	
Polinizadores	31
Éxito reproductivo y limitación por polen	33
Cruzas con polen local y polen externo	36
Variación entre donadores de polen	37
Variación entre patrones de asignación temporal	38
Perspectivas	39
<b>5.- Conclusiones</b>	40
<b>6.- Apéndice 1</b>	41
<b>7.- Apéndice 2</b>	42
<b>8.- Apéndice 3</b>	42
<b>9.- Referencias</b>	44

## Resumen

La interacción planta-polinizador puede ser afectada por la fragmentación del hábitat debido a cambios en la abundancia de los polinizadores. Estos cambios pueden modificar el éxito reproductivo de las plantas y a largo plazo afectar la viabilidad de las poblaciones remanentes. En este estudio se evaluó el efecto de la fragmentación en la reproducción de *Dieffenbachia seguine* (Araceae) y su relación con los polinizadores en Los Tuxtlas. Se realizaron observaciones directas de los escarabajos polinizadores en las inflorescencias para estimar su abundancia y diversidad; se llevaron a cabo diferentes tratamientos de polinización para determinar si la fragmentación afecta el éxito reproductivo de *D. seguine*. El éxito reproductivo se calculó a través de la probabilidad de producir infrutescencias y el número de frutos. Los resultados muestran que la fragmentación afecta la abundancia y el número de especies de escarabajos polinizadores teniendo consecuencias negativas en la polinización y en el éxito reproductivo de *D. seguine*. El tratamiento de polinización manual incrementa el número de frutos sugiriendo que existe limitación por polen tanto en las poblaciones de fragmento como las de selva continua. Sin embargo, la limitación por polen es mayor en los fragmentos. La primera inflorescencia que produce una planta tiene un mayor número de flores femeninas y masculinas así como mayor número de frutos que las inflorescencias subsecuentes, sugiriendo que las plantas asignan mayores recursos en la primera inflorescencia que producen. Este estudio demuestra que la fragmentación del hábitat causa efectos negativos en la polinización y la subsecuente disminución del éxito reproductivo de *D. seguine*. La persistencia de *D. seguine* en Los Tuxtlas puede ser amenazada de manera indirecta por los efectos negativos de la fragmentación en la abundancia de sus polinizadores.



## **Abstract**

In fragmented habitats, the plant-pollinator interaction may be altered if pollinator abundance is reduced, affecting the process of pollination in fragments. Fragmentation can affect both type and abundance of pollinators, producing a decline in plant reproductive success. In addition, habitat fragmentation can increase the probability of inbreeding by affecting the ability of insects to achieve pollination between non-genetic related plants. In the long-term, those changes could alter the stability of fragmented populations. The aim of this study was to examine if forest fragmentation affects pollination and reproductive success of *Dieffenbachia seguine* (Araceae) in Los Tuxtlas Mexico, by estimating changes in abundance and diversity of its main pollinators, *Cyclocephala* beetles and reproductive success by estimating fruit number. Our results show that fragmentation reduced the diversity and abundance of beetles. Natural fruit set was higher in continuous forest than in fragments, suggesting that habitat fragmentation has a negative impact on plant reproductive success. Pollen supplementation experiments increased fruit production in both habitats compared to natural pollination, suggesting pollen limitation. However, this limitation was higher in fragments, indicating that fragmentation exacerbates it. This study offers evidence that habitat fragmentation causes negative effects on pollination, and a subsequent decline on *D. seguine* sexual reproduction. The persistence of *D. seguine* in the Los Tuxtlas region may be indirectly threatened by fragmentation and its effects on abundance and diversity of beetles.

## **Introducción**

### **Fragmentación del hábitat**

Actualmente la pérdida y fragmentación del hábitat afectan gran parte de la biodiversidad global que se encuentra en los bosques tropicales (Gaston 2000, Watling y Donnelly, 2007). La fragmentación es un proceso a nivel de paisaje en el que una gran extensión del hábitat es transformada en “parches” de vegetación aislados entre sí que se encuentran rodeados por una matriz de tierras agrícolas y otras formas de uso de suelo (Saunders *et al.*, 1991; Turner, 1996; McGrarical y Cushman, 2002). El aislamiento y la reducción poblacional producto de la fragmentación pueden modificar los patrones demográficos y la estructura genética de las poblaciones a través de cambios en las interacciones con los polinizadores, la disminución de flujo génico, el incremento de la deriva génica y la endogamia (Young *et al.*, 1996; Honnay *et al.*, 2005). En particular, la fragmentación del hábitat puede modificar la interacción entre las plantas y sus polinizadores debido a que puede disminuir la abundancia y diversidad de éstos, así como su capacidad de movimiento entre los “parches” y por tanto su capacidad de dispersar polen (Murcia, 1995; Didham, 1998). La restricción en el flujo de polen (genes), provocado por la fragmentación podría reducir la diversidad genética, incrementar la depresión por endogamia y, a largo plazo, reducir la adecuación, el potencial adaptativo y la estabilidad de las poblaciones remanentes (Didham *et al.*, 1996; Sherwin y Morits, 2000).

### **Polinización**

La mayoría de las especies de angiospermas dependen de los polinizadores para reproducirse sexualmente. Se estima que más del 90% de las 300,000 especies de angiospermas modernas son polinizadas por insectos y otros vertebrados (Buchman y Nabhan, 1996). Considerando que los polinizadores brindan diversos servicios ecosistémicos y son de gran importancia en la reproducción de las angiospermas, es de

particular interés evaluar los efectos que les ocasionan las actividades humanas (Constanza *et al.*, 1997; Harrison y Johnson, 2004; Kremen *et al.*, 2007; Carvalho *et al.*, 2009). La fragmentación del hábitat puede generar cambios en la comunidad de insectos polinizadores y esto podría tener consecuencias en el éxito reproductivo de las plantas (González-Varo *et al.*, 2009). Estos cambios en la comunidad de insectos incluyen la disminución de la abundancia y diversidad, así como modificaciones en el comportamiento de los polinizadores (Harris y Johnson, 2004).

En hábitats fragmentados se reduce el tamaño poblacional de las plantas limitando la cantidad y calidad de las recompensas para los polinizadores. De la misma forma, los efectos ambientales producto de la fragmentación del hábitat pueden reducir la densidad y la calidad de los sitios de anidación de los polinizadores especialistas que requieren de atributos especiales en el suelo y sitios de ovoposición (Aizen y Feinsinger, 2002), disminuyendo así la cantidad de insectos polinizadores en las áreas fragmentadas. En general, la atracción que generan las plantas hacia los polinizadores depende de atributos intrínsecos como la morfología floral, la cantidad y calidad de las recompensas, así como el despliegue floral (Totland 2001, Feinsinger 1987). La variación en el despliegue floral en los fragmentos puede producir alteraciones en el comportamiento de los polinizadores, en la dispersión de polen y en consecuencia en la adecuación de las plantas (Trapnell y Hamrick, 2006). Se sabe que grandes despliegues florales pueden atraer más polinizadores, promoviendo la polinización cruzada en términos de incremento o en la remoción de polen, y el aumento de apareamientos potenciales. Sin embargo, el número de flores que visita un polinizador por planta puede aumentar con el tamaño del despliegue floral y esto promueve la autopolinización entre las flores de la misma planta (geitonogamia). A pesar de ello, la posibilidad de que ocurra geitonogamia puede ser reducida con sistemas de auto-incompatibilidad o mecanismos como la separación de los sexos en espacio y tiempo que aseguran la fecundación cruzada (Ohashi y Yahara, 2001; Busch y Schoen, 2008). En síntesis, se

espera que en hábitats fragmentados se reduzca la atracción de los polinizadores debido a la disminución en el tamaño de las poblaciones de plantas y a los cambios abióticos que pueden afectar la abundancia de los polinizadores.

### **Éxito reproductivo**

La disminución de o la falta de una polinización efectiva es una de las principales amenazas para la reproducción de las plantas dentro de los hábitats fragmentados. Se ha detectado que en hábitats fragmentados varias especies de plantas presentan efectos negativos en la polinización y reproducción (Wilcok y Neiland, 2002; Aguilar *et al.*, 2006). La respuesta de las plantas a la fragmentación puede variar entre especies, esto se debe al grado de dependencia del polinizador, al sistema de apareamiento y el éxito reproductivo de las plantas. El conocimiento del sistema de apareamiento de las plantas es sumamente importante, tanto para lograr el entendimiento de las relaciones ecológicas en comunidades naturales, como para analizar el flujo génico y el mantenimiento de la variabilidad genética dentro de una población. El tipo de sistema de apareamiento de las especies condiciona, en alguna medida, la producción de frutos y semillas (Galletto *et al.*, 2002). Una gran proporción de plantas tropicales tiene un sistema de apareamiento autoincompatible o posee mecanismos para evitar la autofertilización (Bawa, 1990, Bawa, 1992). La combinación del sistema de apareamiento autoincompatible y la especialización de los polinizadores implica un alto grado de dependencia (Bond, 1994). Por ello, se espera que plantas autoincompatibles y con una alta dependencia de los polinizadores, sean más vulnerables a la fragmentación y a la pérdida de la variación genética ya que pueden tener menor probabilidad de recibir polen de individuos compatibles (Aizen *et al.*, 2002; Honnay y Jacquemyn, 2007). Los cambios en el movimiento o el tipo de polinizadores en los fragmentos pueden alterar la relación entre las plantas donadoras y receptoras de polen, disminuyendo la variación genética y la adecuación a través de la endogamia o la depresión por endogamia. Esto puede

umentar si las poblaciones de plantas exhiben estructura genética espacial como resultado de limitada dispersión por polen y semillas, provocando mayor incidencia de endogamia biparental (Bosch y Waser, 1999).

### **Limitación por polen**

Para establecer una conexión entre la disminución de la polinización y la reproducción, se requiere evidencia que demuestre que el éxito reproductivo de las poblaciones de plantas en fragmentos presenta limitación por polen (Cunningham, 2000). La limitación por polen ocurre cuando la disponibilidad de polen compatible está restringido y resulta en la fertilización de un menor número de óvulos del total de óvulos disponibles (Knight *et al.*, 2005). Generalmente, la limitación por polen es consecuencia de la reducción de la calidad o cantidad de polen depositado en los estigmas, lo que provoca una menor fertilización de ovulos, la disminución en la producción de semillas o descendencia con menor vigor (Knight *et al.*, 2005; Lazaro y Traveset, 2006; Aizen y Harder, 2007). En plantas autoincompatibles la limitación por polen puede ocurrir en poblaciones pequeñas como resultado de dos mecanismos, uno ecológico y otro genético. Primero, el polen debe ser transferido a flores en suficiente cantidad. En plantas polinizadas por insectos, esta escasez puede ser causada por la reducción de la visita de los polinizadores (Cunningham, 2000). Menor número de polinizadores resultará en un menor número de visitas por flor, menor oportunidad de transferir polen entre las plantas, incrementando la geitonogamia (polinización entre flores del mismo individuo), y por último, una menor producción de semillas (Larson y Barrett, 2000). Segundo, la limitación por polen en poblaciones pequeñas puede surgir como resultado de la pérdida estocástica de cruza entre genotipos compatibles. En poblaciones pequeñas producirá la erosión de la variación genética a través de endogamia o deriva génica (Falconer, 1989; Campbell y Husband, 2007). Los efectos negativos de la endogamia se deben a que muchos alelos recesivos son deletéreos en condición homocigotica (hipótesis de dominancia parcial), ó

por lo que los heterocigos en comparación con los homocigos tienen ventaja adaptativa (hipótesis de sobredominancia) (Charlesworth y Charlesworth, 1987). En las poblaciones que de manera natural presentan altos niveles de endogamia, la frecuencia de alelos recesivos puede declinar en la medida en que los homocigos sean eliminados por selección (Young *et al.*, 1996).

En este estudio se exploraron las consecuencias de la fragmentación del hábitat en la interacción de *Dieffenbachia seguine* (Araceae) con sus polinizadores en Los Tuxtlas. El objetivo principal fue resolver si la abundancia y diversidad (número de especies) de los escarabajos polinizadores disminuye en el hábitat fragmentado y si la falta de polinizadores modifica el éxito reproductivo de *D. seguine*.

En la selva de Los Tuxtlas las herbáceas son la forma de crecimiento más representada (Ibarra-Manríquez *et al.*, 1997). Las herbáceas son sistemas ideales para realizar experimentos en zonas fragmentadas debido a que: crecen en el sotobosque y están sometidas a los cambios drásticos del microclima que ocurren en los fragmentos (Bruna *et al.* 2002). La herbácea *D. seguine* (Araceae) es un modelo útil para estudiar la fragmentación ya que es una planta muy abundante en Los Tuxtlas que presenta una relación específica con sus polinizadores (Young 1986, 1990) y de la cual se tiene suficiente información documentada (Cuartas-Hernández, 2002; Cuartas-Hernández, 2006; Cuartas-Hernández y Núñez-Farfán, 2006). Los estudios previos indican que las poblaciones de la selva continua y de los fragmentos de *D. seguine* de Los Tuxtlas presentan altos niveles de endogamia, se encuentran altamente estructuradas, con bajo flujo génico y bajas tasas de inmigración. En los fragmentos aumenta la cantidad de inflorescencias producidas y la tasa de abortos de las semillas, disminuye el número de frutos, el vecindario genético y el área efectiva de polinización debido al aumento en la densidad de individuos reproductivos (Cuartas-Hernández y Núñez-Farfán, 2006, 2010).

## **Hipótesis**

Si los escarabajos polinizadores de *D. seguine* son susceptibles a la fragmentación del hábitat, entonces se espera que su abundancia y diversidad sea menor, y en consecuencia disminuya el éxito reproductivo de *D. seguine*.

## **Métodos y análisis de datos**

### *Especie de estudio*

*Dieffenbachia seguine* (Araceae) es una herbácea tropical monoica, abundante en el sotobosque de la selva de Los Tuxtlas, Veracruz. Sus poblaciones tienden a estar agregadas debido a su reproducción vegetativa y a la germinación local de las semillas (Young, 1986). En la Estación de Biología de Los Tuxtlas *D. seguine* se distribuye en parches pequeños, mientras que en los fragmentos forma colonias muy grandes y densas. El pico de floración es en la temporada de lluvias (junio- noviembre). Las inflorescencias presentan un espádice dividido con un cinturón de flores estériles, el cual se localiza entre las flores estaminadas de la parte apical y las flores pistiladas rodeadas por estaminodios en la porción basal (Cuartas-Hernández, 2006). Cada flor pistilada presenta un lóculo con un solo óvulo (Croat, 2004).

Las dieffenbachias exhiben una relación compleja y específica con sus escarabajos polinizadores (Young 1986,1990). Las plantas de *D. seguine* son polinizadas por tres especies de escarabajos del género *Cyclocephala* (Scarabaeidae, Dynastineae): *C. sanguinicornis*, *C. sexpunctata* y *C. mafafa* (Cuartas-Hernández, 2006). El género *Cyclocephala* es uno de los más diversificados de la Estación de los Tuxtlas, ya que está representado por 15 especies de las cuales algunas presentan hábitos florícolas. Las especies *C. mafafa* y *C. sanguinicornis* tienen amplia distribución y es común encontrarlas tanto en bosques primarios, como en zonas muy perturbadas. Los adultos de *C. sexpunctata* y *C. mafafa* se localizan con frecuencia dentro de inflorescencias de aráceas

(Morón y Blackaller, 1997). Las inflorescencias del género *Dieffenbachia* incrementan su temperatura y producen fragancias que coinciden con la actividad de vuelo de los escarabajos polinizadores (Schatz, 1990). Usualmente el movimiento de estos escarabajos es al atardecer. Arriban a la inflorescencia aterrizando en el espádice y después entran a la porción del tubo de la espata donde las flores pistiladas están en antesis. Permanecen en la inflorescencia por 24 h, ahí copulan y se alimentan de los estaminodios que contienen proteínas (Young, 1986). Los escarabajos salen al día siguiente cuando la inflorescencia comienza a cerrarse y las flores estaminadas producen largos filamentos de polen. Al salir de la inflorescencia los escarabajos se cubren de polen y vuelan a la siguiente inflorescencia receptiva (Croat, 2004).

#### *Área de estudio*

El estudio se realizó en Los Tuxtlas en el estado de Veracruz, esta zona representa el límite de la distribución de la selva tropical lluviosa en América (Dirzo y Miranda, 1991). Las intensas actividades humanas en la zona, principalmente la ganadería, han promovido la deforestación de la selva de Los Tuxtlas provocando que el 20 % del paisaje actual esté compuesto de pequeños fragmentos remanentes de selva ubicados en la cima de las montañas y cañadas, rodeados por potreros y campos de cultivo con árboles aislados. Sólo el 5% de la vegetación original se encuentra en áreas de selva continua del volcán Santa Marta y en la estación de Biología de la UNAM (Estrada y Coates, 1996).

Se eligieron dos poblaciones en lo que llamaré selva continua (Estación de Biología de Los Tuxtlas, 640 ha, S1: Estación y S2: Darwin) y dos poblaciones en fragmentos (F1: Borrego y F2: Playa). La selección final de las poblaciones estuvo sujeta a la abundancia de plantas de *D. seguine*. La separación promedio entre las poblaciones es de 2.2 km. El área del bosque continuo es de 640 ha; el área de los fragmentos es de 37 ha para F1 y 3 ha para F2.



### *Diseño de estudio*

La toma de datos se llevó a cabo a lo largo de 30 días durante el pico de floración en julio del 2008 en las poblaciones de selva continua y fragmentos. Dentro de cada población se registró el número de escarabajos *Cyclocephala* observados, se midieron los caracteres florales y vegetativos de las plantas. Se realizaron experimentos de polinización para determinar el sistema de apareamiento de *D. seguine*, para estimar el éxito reproductivo y la limitación por polen entre los hábitats, así como para tratar de determinar si las poblaciones tienen depresión por endogamia. Adicionalmente, con la finalidad de contar con mayor información de *D. seguine* se observaron las características estructurales de las flores pistiladas al microscópio electrónico de barrido MEB.

### *Estimación de la abundancia y diversidad de Cyclocephala*

Para determinar la abundancia y “diversidad” (3 especies) de los escarabajos polinizadores de *D. seguine* se realizaron observaciones directas en las inflorescencias en ambos hábitats. En total se examinaron 1,168 inflorescencias en todas las poblaciones. Asimismo, se registró el número de otras especies de insectos y otros artrópodos observados dentro de las inflorescencias; estas especies fueron agrupadas dependiendo de su Orden taxonómico. Los escarabajos encontrados fueron marcados con una combinación única de puntos y líneas en los élitros y/o en el pronoto utilizando pinturas indelebles (Artline 999 Schachiata Inc Japan) (Apéndice 1). Se utilizó el método de captura y recaptura para medir la distancia de desplazamiento de los escarabajos entre las plantas. Mediante la prueba Wilcoxon se comparó el número de escarabajos entre los hábitats, se estimó el índice de diversidad de Shannon en cada hábitat ( $H'$ ) y se calculó el porcentaje de individuos observados para cada Orden. La mayoría de las inflorescencias con escarabajo contenían sólo uno o dos individuos. Para evaluar el efecto del número de visitas de escarabajos en la producción de frutos se agruparon los datos en categorías

(de una y dos o más visitas por inflorescencia) y posteriormente se realizó una prueba de *t*.

Debido a que en otros géneros de aráceas se ha reportado un incremento en la temperatura floral respecto a la del aire como consecuencia de liberación de sustancias atrayentes para los polinizadores, se realizó la medición directa de la temperatura en inflorescencias de *D. seguine* con un termómetro digital Fluke 51 <sup>K/J</sup> THERMOMETER. Se midió la temperatura en inflorescencias sin polinizadores, con escarabajos y la temperatura ambiente. Para determinar si existen diferencias significativas entre la temperatura de las inflorescencias y la temperatura en el ambiente (aire) se hizo una prueba de *t* pareada.

#### *Flores pistiladas*

Con el objeto de observar las características estructurales de las flores pistiladas se colectaron 8 inflorescencias de diferentes individuos, se guardaron y fijaron en FAA. Posteriormente, se hicieron cortes de las flores femeninas para conocer su anatomía. Para conocer la micromorfología floral, las flores pistiladas fijadas en FAA se deshidrataron en alcoholes graduales, se secaron a punto crítico en una desecadora CPD-030 Baltek, se colocaron en portamuestras de aluminio y se cubrieron con una capa de oro en una ionizadora Denton Vacuum Desk II. Las muestras así procesadas se observaron en el microscópio electrónico de barrido Jeol.

#### *Caracteres florales y vegetativos*

Para comprobar si la fragmentación del hábitat tiene efectos sobre la morfología de los caracteres vegetativos y florales de *D. seguine* se midieron en total 964 inflorescencias, 475 en selva continua y 490 en hábitat fragmentado. Los caracteres vegetativos que se midieron son: la altura o el tamaño de la planta que va desde la parte visible del rizoma y el tallo hasta la última hoja, el diámetro del tallo y el número de hojas. Los caracteres florales que se midieron son: (1) el tamaño o longitud de toda la inflorescencia, (2) la

apertura de la bráctea, (3) longitud de la inflorescencia desde las flores femeninas hasta las flores masculinas, (4) la longitud de la zona floral femenina, (5) la longitud y (6) diámetro de la inflorescencia cubierta por flores masculinas, (7) el diámetro del cinturón de flores estériles, (8) el diámetro del pedicelo y (9) el número de flores femeninas (óvulos) (Figura 1). Se realizó un MANOVA para los caracteres (florales y vegetativos) por hábitat y poblaciones anidadas en el hábitat. Posteriormente se hicieron análisis univariados (ANOVA) para comparar los caracteres entre los hábitats.

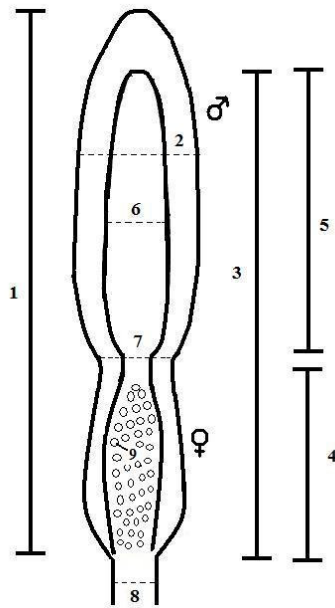


Figura 1. Diagrama de los caracteres florales que fueron medidos en *D. seguine* en Los Tuxtlas, Veracruz.

#### *Sistema de apareamiento y tratamientos de polinización*

Para identificar si *D. seguine* es una planta auto-incompatible sin autogamia se realizaron experimentos de cruza controladas en las poblaciones C1 y C2. Se hicieron cruza de auto-polinización manual y de auto-polinización automática o control. Las inflorescencias vírgenes se cubrieron con bolsas de tul para impedir la contaminación por polen de otras plantas y evitar el acceso de insectos. Se embolsaron 36 inflorescencias para las cruza de auto-polinización manual y una vez que la fase femenina coincidió con la masculina las

flores pistiladas fueron polinizadas manualmente con el polen de la misma inflorescencia. Para el tratamiento de auto-polinización automático, se embolsaron 47 inflorescencias vírgenes. Posteriormente, se realizaron censos para revisar las infrutescencias de cada tratamiento y determinar si fueron o no viables. Adicionalmente, se observó la formación de tubos polínicos por medio de la técnica de fluorescencia en flores fertilizadas con polen del mismo individuo y flores de entrecruzamiento manual como grupo control. Para ello, se polinizaron 6 inflorescencias vírgenes receptoras y 12 horas después fueron cortadas y fijadas en FAA (formaldehído, ácido acético, etanol al 70%). Se realizaron cortes de las flores mediante la técnica de inclusión y de deshidratación del tejido. Los tubos polínicos fueron visualizados con el método de azul de anilina descrito por Dafni (1992) en un microscopio Olympus BH2 con luz ultravioleta y filtro para luz de anilina. Los resultados de este experimento aún son preliminares (Apéndice 2).

Con el objeto de determinar si existe depresión por endogamia en las poblaciones de *D. seguine* se realizaron experimentos de polinización manual en el hábitat fragmentado y en la selva continua. Se realizaron cruzas controladas para producir progenies derivadas de entrecruzamiento (polen de otro individuo) y auto-polinizaciones. Las cruzas endogámicas reducen la heterocigosis en 50% (coeficiente de endogamia,  $f = 0.5$ ), mientras que los entrecruzamientos, si se realizan de manera estrictamente aleatoria entre individuos, producen un coeficiente de endogamia de cero. Se pretendió estimar la depresión por endogamia a través de la fórmula  $\delta = 1 - (\bar{W}_a / \bar{W}_e)$ , donde  $\bar{W}_e$  es la adecuación promedio de los individuos derivados de entrecruzamiento y  $\bar{W}_a$  es la adecuación promedio de la progenie derivada de auto-polinización (Charlesworth y Charlesworth, 1987). Para ello se realizaron entrecruzamientos con polen de plantas externas (provenientes de otra población) y plantas locales (de la misma población). Se esperaba que las cruzas realizadas con los individuos locales posean un coeficiente de

endogamia mayor (coancestría) que las cruzas realizadas con individuos de las poblaciones externas y por tanto presentarían diferencias en el éxito reproductivo.

El polen colectado y los entrecruzamientos fueron realizados en distancias conocidas (Tabla 1). En total se realizaron 622 entrecruzas manuales, de este número se utilizaron 614 entrecruzas para los análisis ya que sólo en ellas se conoció el origen de los donadores de polen (Tabla 2). En las entrecruzas manuales se utilizaron 288 diferentes donadores de polen, de los cuales 147 pertenecen a la selva y 141 a los fragmentos. Asimismo, se realizó el tratamiento natural o control. Se registraron y marcaron en total 454 flores abiertas que fueron polinizadas de manera natural; de este total, 234 inflorescencias se encontraban en la selva continua y 220 en fragmentos. En este tratamiento “natural o control” se incluyen aquellas inflorescencias en las que se observó la presencia de coleópteros, hemípteros u otros insectos no polinizadores.

Tabla 1. Matriz de distancias en kilómetros entre las poblaciones de *D. seguine*. C = selva continua; F = fragmento.

	C1	C2	F1	F2
C1	0			
C2	0.37	0		
F1	3.68	3.59	0	
F2	1.88	1.52	4.03	0

Tabla 2. Número de entrecruzas manuales realizadas *D. seguine* con polen interno y externo para cada hábitat.

Tratamiento de polen	N	Fragmento	Selva
Externo	412	205	207
Local	202	113	89
Total	614	318	296

### *Éxito reproductivo y limitación por polen*

Se estimó la probabilidad que tiene una inflorescencia de convertirse en una infrutescencia y se comparó entre los tratamientos de entrecruza manual y polinización natural en cada hábitat. Para obtener esta probabilidad se asignó el valor de 1 (uno) a aquellas inflorescencias que se convirtieron en infrutescencias y produjeron frutos; y el valor de 0 (cero) a aquellas infrutescencias que no produjeron frutos. Se realizaron censos de las plantas marcadas para cada tratamiento y posteriormente se colectaron las infrutescencias. Debido a que los frutos de *D. seguine* maduran en un largo periodo de tiempo (siete meses), se realizó la colecta de frutos inmaduros cinco meses después de la fertilización. Una vez que se colectaron las infrutescencias se contó el número de frutos para cada tratamiento en cada uno de los sitios. Se calculó el éxito reproductivo para cada tratamiento en cada hábitat utilizando la fórmula sugerida por Dafni (1992) [(número de frutos obtenidos/ número de flores tratadas) x (número promedio de semillas o frutos obtenidos por inflorescencia/ número de óvulos por flor)].

Para comprobar si existen cambios en la probabilidad de producir infrutescencias como en el número de frutos producidos entre los tratamientos (natural y entrecruza) y en los tratamientos dentro de los hábitats, se utilizaron modelos logísticos para la probabilidad y la prueba categórica CATMOD (SAS V8) para el número de frutos. En la prueba CATMOD las frecuencias de los frutos fueron clasificadas en variables categóricas. El análisis de datos categóricos CATMOD es una extensión del ANOVA tradicional con una aproximación en el análisis de frecuencias (Stokes *et al.*, 2000).

Cuando el éxito reproductivo de las plantas se reduce, los experimentos de cruza manuales son útiles para comprobar si esta reducción se debe a la limitación por polen (Cunningham, 2000). Para determinar si las poblaciones de *D. seguine* en Los Tuxtlas presentan limitación por polen se comparó el éxito en la producción de frutos y la

probabilidad de producir infrutescencias entre los tratamientos de polinización natural y entrecruzamiento manual. Se calculó el índice de limitación por polen (LP) en cada hábitat como:  $LP = 1 - N/E$ , donde N y E representan el éxito en la polinización natural o control y el entrecruzamiento, respectivamente (Tamura y Kudo, 2000; Lázaro y Traveset, 2006).

#### *Producción de frutos a partir de cruzas con polen local y polen externo*

Se empleó un modelo nominal logístico para determinar las diferencias entre los tratamientos de entrecruza con polen local y polen externo entre los hábitats. Se utilizó la prueba CATMOD para determinar las diferencias en el número de frutos producidos en el tratamiento natural y de entrecruza (polen local y externo) para cada hábitat.

#### *Polen*

El polen utilizado en las cruzas se colectó directamente con un pincel en inflorescencias con fase masculina. En aquellas inflorescencias que aún no liberaba el polen, se cortó la parte masculina de las inflorescencias y se almacenó hasta que liberara el polen. El polen colectado se utilizó alrededor de tres o cuatro días posteriores a la colecta de la inflorescencia debido a que después de esto se descompone y pierde su viabilidad (Tabla 3).

Tabla 3. Número de machos donadores de polen de *D. seguine* por día para cada hábitat.

Hábitat donadores	<i>n</i>	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4
Fragmento	198	135	53	9	1
Selva	250	193	50	4	3

Se empleó un modelo logístico para evaluar la relación que existe entre el número de frutos producidos y la variación de donadores de polen. En el análisis sólo se utilizaron las

cruzas realizadas con el mismo donador de polen en diferentes hembras para cada hábitat ( $n = 448$ ). El éxito de las entrecruzas realizadas en este estudio pudo verse alterado debido a la rápida descomposición del polen de *D. seguine*, por lo que se analizó si el uso de polen a lo largo de varios días influye en la probabilidad de producir frutos por medio de un modelo nominal logístico. En el modelo se comparó la probabilidad de producir infrutescencias dependiendo del hábitat de los donadores y el tratamiento de polen utilizado (local y externo). Mediante un análisis de datos categóricos CATMOD se estimó si la producción de frutos difiere significativamente dependiendo del hábitat de los donadores.

#### *Variación entre patrones de asignación temporal*

Para determinar si la planta madre asigna mayores recursos a la primera inflorescencias que produce a lo largo de la temporada de reproducción se utilizaron modelos lineales generalizados con distribución normal. Se comparó el número de óvulos, el área de flores masculinas y el tamaño de toda la inflorescencia entre la primera y segunda inflorescencia producida por la misma planta. Se realizó una prueba de  $t$  pareada para determinar si existe un compromiso entre la producción de frutos entre la primera y segunda inflorescencia producida por la misma madre. En esta prueba sólo se utilizaron aquellas inflorescencias que fueron polinizadas manualmente y que produjeron frutos. Sólo se emplearon estas inflorescencias para asegurarnos que el polen y la madre receptora fueran viables. Sin embargo, los datos con estas características comprenden sólo a cinco plantas madres.



## Resultados

### *Abundancia y diversidad de polinizadores*

En total se observaron 83 escarabajos del género *Cyclocephala* durante el pico de floración. Existen diferencias significativas en el número de escarabajos observados entre los hábitats ( $\chi^2 = 35.85$ , *g.l.* = 1,  $P < 0.0001$ ,  $n = 83$ ). La abundancia y el número de especies de escarabajos es menor en el hábitat fragmentado ( $H' = 0.09 \pm 0.05$ ) donde sólo se observaron 10 individuos de las especies *C. sanguinicornis* y *C. maffafa*. En la selva continua la abundancia y número de especies de escarabajos fue mayor ( $H' = 0.70 \pm 0.10$ ), se observaron 73 escarabajos de las tres especies *C. sexpunctata*, *C. maffafa* y *C. sanguinicornis*, siendo esta última la más abundante en ambos hábitats (Figura 2). La visita de los polinizadores es más frecuente en el hábitat “continuo”, del total de inflorescencias revisadas en la selva continua ( $n = 616$ ) sólo el 11% fueron visitadas por escarabajos. Mientras que en los fragmentos de las inflorescencias revisadas en total ( $n = 552$ ), sólo el 1 % fueron vistas con algún escarabajo polinizador. El número máximo de escarabajos observados en una inflorescencia son cuatro individuos, se observó que *C. sanguinicornis* y *C. sexpunctata* pueden permanecer en la misma inflorescencia: el número de escarabajos en una inflorescencia sí modifica la cantidad de frutos que produce ( $t = 3.30$ , *g.l.* = 23.9,  $P = 0.001$ ,  $n = 26$ ). Las recapturas de los escarabajos fueron escasas y sólo ocurrieron en la selva continua para las especies *C. sanguinicornis* y *C. sexpunctata*. En total se recapturaron cuatro escarabajos que se desplazaron entre 2 y 21m, con un promedio de desplazamiento de 13 m. La temperatura de las inflorescencias de *D. seguine* sube en promedio 0.5 grados más que el promedio de la temperatura ambiente (26.1 °C) ( $t = 8.0$ , *g.l.* = 79,  $P = 0.0001$ ,  $n = 160$ ). En la selva continua las inflorescencias son visitadas con mayor frecuencia por hemípteros (30.3%), coleópteros polinizadores (28.74%) y las larvas de dípteros (16.14%). En el hábitat fragmentado son visitadas con mayor frecuencia por hemípteros (63%), ortópteros (8.92%) y larvas de díptero (7.14 %). (Apéndice 3).

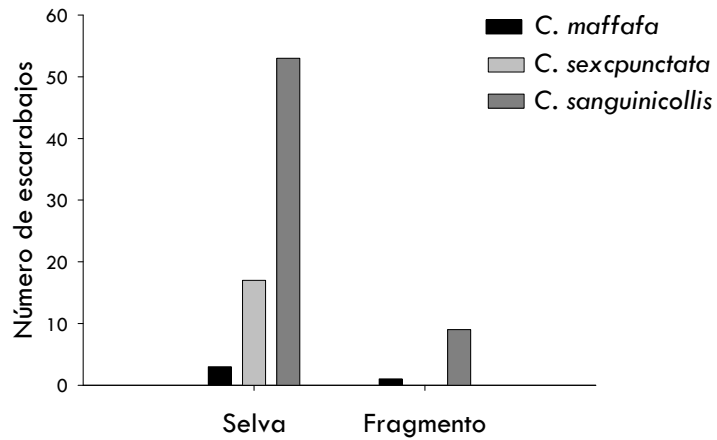


Figura 2. Escarabajos del género *Cyclocephala* observados en plantas de *D. seguine* de cada hábitat en Los Tuxtlas ( $P < 0.0001$ ).

#### *Flores pistiladas*

*Dieffenbachia seguine* tiene flores pistiladas sin estilo con una amplia región estigmática (figura 3A y 4A) que posee papilas estigmáticas a las que se adhieren los granos de polen (figura 3E y 4B). Cada flor femenina presenta un solo óvulo (Figura 3D y 4D) cubierto por una capa mucilaginosa (Figura 4C). Existe una porción del estigma que al hundirse se aproxima al lóculo (canal estigmático), por lo que es probable que por esta región se desarrollen los tubos polínicos (Figura 3B, 4E y 4F). Al igual que otras aráceas, los tejidos de *D. seguine* presentan cristales de oxalato en forma de agujas que se agrupan y forman rafidios (Figura 5).

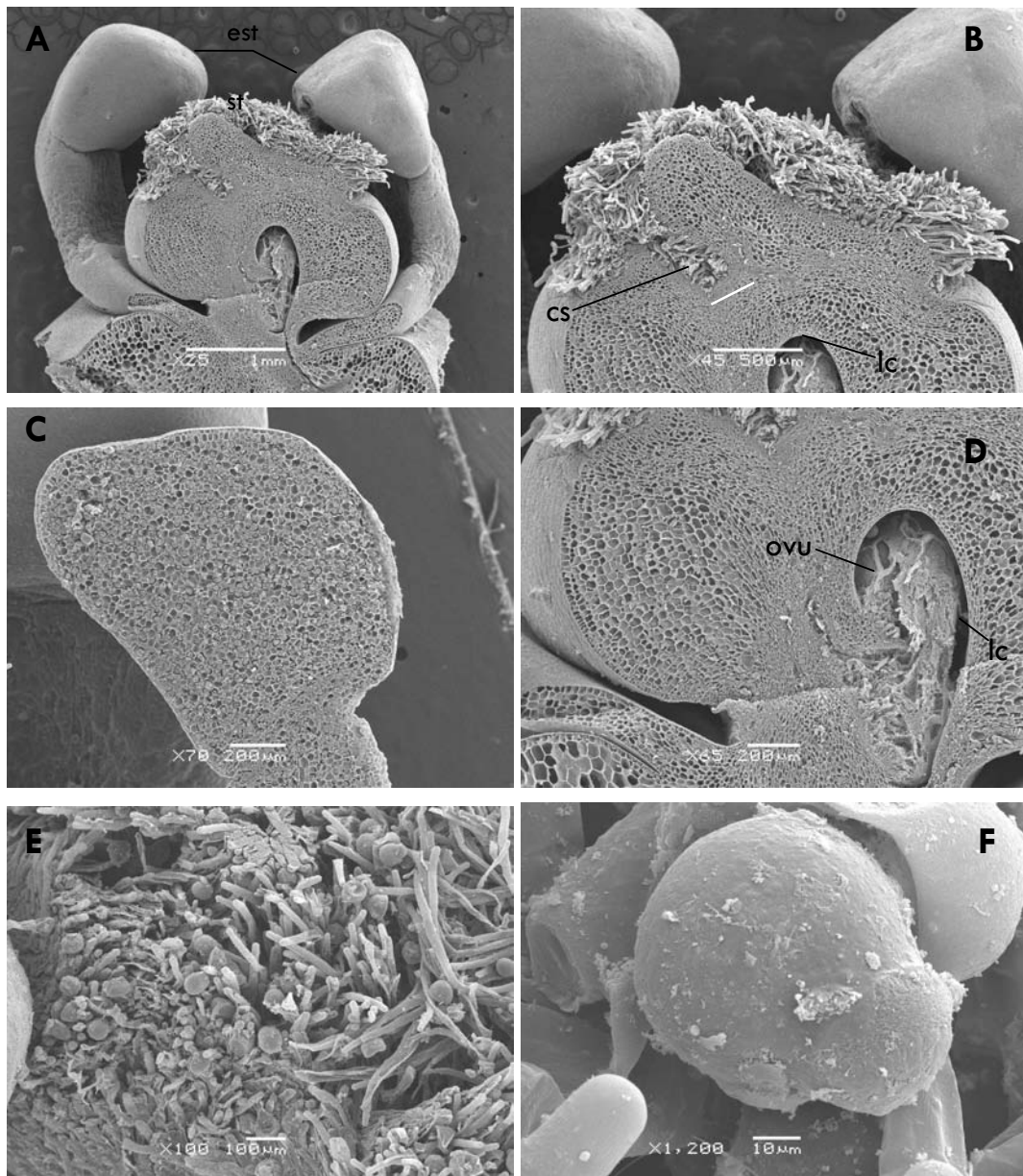


Figura 3. Flor pistilada de *Dieffenbachia seguine* vista al microscópio electrónico de barrido MEB. A. Corte longitudinal de la flor pistilada en la que se observa la región estigmática (st) y los estaminodios (est). B. región estigmática en la que se observa el canal estigmático (cs) que se dirige hacia el lóculo (lc). C. Corte longitudinal del estaminodio en el que se observa que carece de granos de polen. D. Corte de la flor en el que se aprecia el lóculo (lc) y el óvulo (ovu). E. Granos de polen adheridos a las papilas estigmáticas. F. Grano de polen de *D. seguine* germinando en la superficie estigmática.

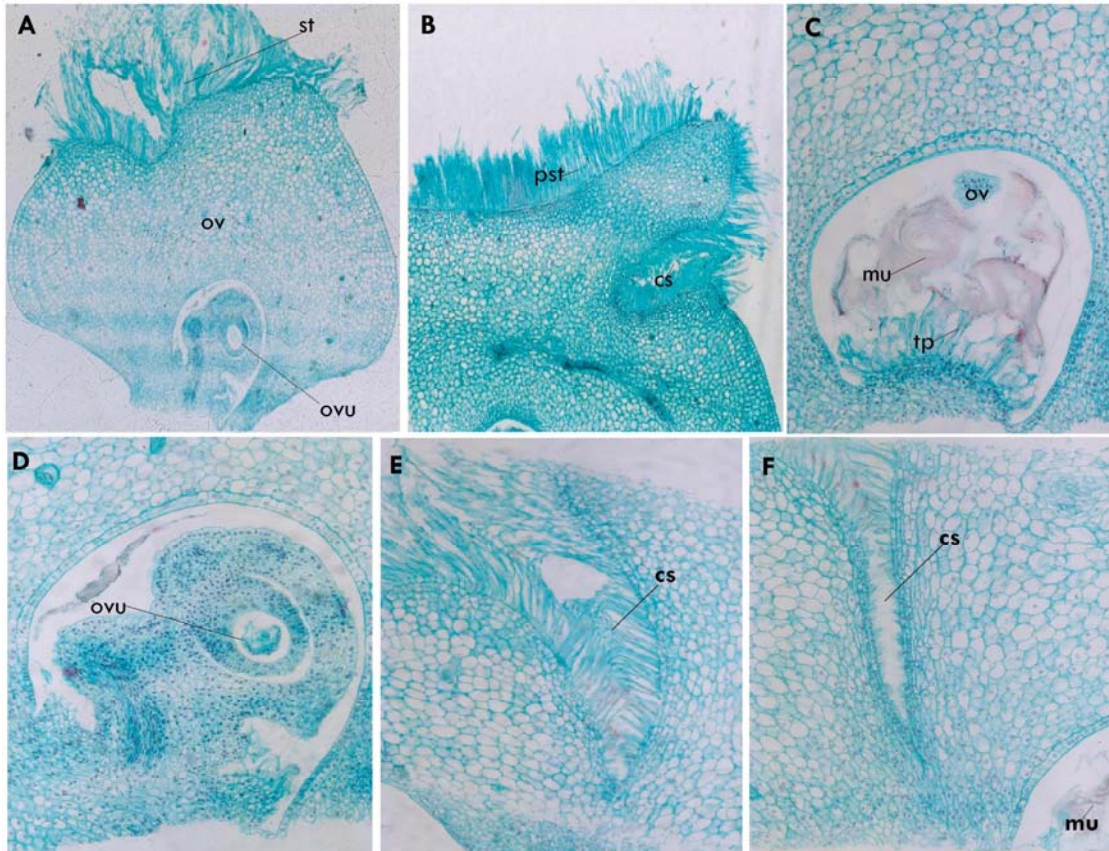


Figura 4. Cortes histológicos de la flor pistilada de *D. seguine*. A. Corte longitudinal de la flor en la que se observa el estigma, el ovario (ov) y el óvulo (ovu). B. Área del estigma con papilas (pst) y canal (cs) estigmático. C. Corte longitudinal en el que se muestra el lóculo con el óvulo cubierto por mucilago (mu) y tricomas placentarios (tp). D. Corte longitudinal del loculo óvulo (ovu). E y F. Corte en el que se observa el canal estigmático (cs) que se aproxima al lóculo y al óvulo.

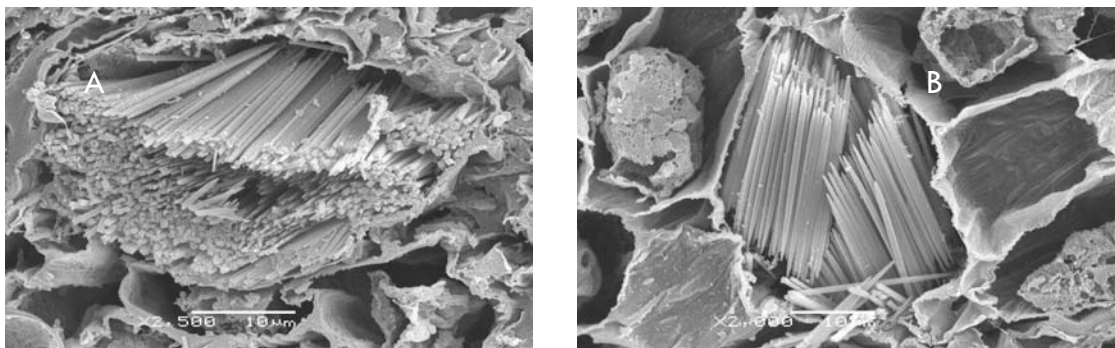


Figura 5. Rafidios (cristales de oxalato) en los estaminodios de *D. seguine*.

### Sistema de apareamiento

*D.seguine* es una planta autoincompatible ya que ninguna de las inflorescencias del tratamiento de polinización automática (n = 47) o de autofertilización manual (n = 36) produjo frutos.

### Caracteres florales y vegetativos

Los caracteres florales y vegetativos de *D. seguine* difieren significativamente entre hábitats (MANOVA  $F = 9.22$ ,  $g.l. = 8$ ,  $P < 0.0001$ ) ( $F = 16.6$ ,  $g.l. = 10$ ,  $P < 0.0001$ ), y entre poblaciones dentro de los hábitats (MANOVA  $F = 5.68$ ,  $g.l. = 16$ ,  $P < 0.0001$ ) ( $F = 11.9$ ,  $g.l. = 20$ ,  $P < 0.0001$ ) (Tabla 4 y 5).

Tabla 4. Media y desviación estandar de cada uno de los caracteres vegetativos de *D. seguine* que fueron comparados entre los hábitats con un ANOVA.

	Fragmento	<i>n</i>	Selva	<i>n</i>	<i>P</i>
Diámetro del tallo (mm.)	24.3 ± 3.0	452	22.2 ± 5.0	466	<b>0.0001</b>
Altura (mm.)	576.9 ± 195	458	628.6 ± 171.8	472	<b>0.0001</b>
Hojas	11.0 ± 2.8	455	11.4 ± 2.69	465	0.0919
Inflorescencias	1.6 ± 0.73	457	1.6 ± 0.75	463	0.9379
Infrutescencias viables	0.21 ± 0.41	490	0.38 ± 0.48	475	<b>0.0001</b>

Tabla 5. Media y desviación estandar de cada uno de los caracteres florales en mm. de *D. seguine* que fueron comparados entre hábitats con un ANOVA. Ver figura 1

	Fragmento	<i>n</i>	Selva	<i>n</i>	<i>P</i>
1 Largo de bráctea	221 ± 31.65	370	223.8 ± 28.4	377	0.2530
2 Ancho de bráctea	34.5 ± 7.1	374	33.4 ± 6.6	377	0.0992
3 Tamaño de inflorescencia	193.8 ± 28.8	445	198.7 ± 24.6	473	<b>0.0189</b>
4 Longitud femenina	91.1 ± 14.8	429	91.4 ± 13.5	471	0.7272
5 Longitud masculina	78.1 ± 12.1	441	84.4 ± 11.5	473	<b>0.0001</b>
6 Diámetro masculino	8.97 ± 0.05	372	9.0 ± 0.05	378	0.4406
7 Cinturón estéril	16.6 ± 2.7	374	16.1 ± 2.8	377	<b>0.0446</b>
8 Pedicelo	8.37 ± 1.15	372	8.22 ± 1.19	378	0.0912
9 Óvulos	36.4 ± 7.4	408	38.6 ± 7.7	411	<b>0.0001</b>

### *Éxito reproductivo y limitación por polen*

Se compararon los tratamientos de entrecruza manual y de polinización natural en cada hábitat utilizando como variables de respuesta la probabilidad de producir una infrutescencia y el número de frutos (Tabla 6). Se detectaron diferencias significativas en la probabilidad de producir infrutescencias entre hábitats ( $r^2= 0.13$ ,  $\chi^2 = 24.8$ ,  $g.l. = 1$ ,  $P < 0.0001$ ,  $n = 1076$ ), entre tratamientos ( $\chi^2 = 163.7$ ,  $g.l.= 1$ ,  $P < 0.000$ ) y entre los tratamientos dentro de los hábitats ( $\chi^2 = 9.55$ ,  $g.l. = 1$ ,  $P < 0.002$ ) (Figura 6 i). También se encontraron diferencias significativas en el número de frutos producidos entre los hábitats (CATMOD  $\chi^2 = 23.47$ ,  $g.l.= 1$ ,  $P < 0.0001$ ,  $n = 1074$ ) y entre tratamientos (CATMOD  $\chi^2 = 73.38$ ,  $g.l.= 1$ ,  $P < 0.000$ ) (Tabla 7). Sin embargo, para el número de frutos los tratamientos no difieren significativamente entre los hábitats (CATMOD  $\chi^2 = 0.76$ ,  $g.l.= 1$ ,  $P=0.38$ ) (Figura 6 ii).

Independientemente del tratamiento, las inflorescencias de la selva continua tienen mayor probabilidad de producir infrutescencias y frutos (Figura 6 i y ii; Tabla 8). El número promedio de frutos obtenidos en la selva continua fue mayor ( $\bar{x} = 7.63 \pm 12.2$ ) que en los fragmentos ( $\bar{x} = 4.98 \pm 10.04$ ). Las infrutescencias con entrecruza manual presentan mayor éxito que las infrutescencias de polinización natural sugiriendo limitación por polen en ambos hábitats (Figura 6 i y ii; Tabla 9). La probabilidad de producir una infrutescencia y el número de frutos aumenta con la entrecruza manual en ambos hábitats (Tabla 6, 7 y 9). La limitación por polen es mayor en los fragmentos ya que el 86 % de las inflorescencias no produjeron infrutescencias mientras que en la selva el 62 % de las inflorescencias no produjo infrutescencias. En el tratamiento natural o control se encontraron diferencias significativas en la probabilidad de producir infrutescencias entre las poblaciones dentro de los hábitats ( $r^2= 0.08$ ,  $\chi^2 = 5.93$ ,  $g.l. = 2$ ,  $P= 0.05$ ), así como en el número de frutos (CATMOD  $\chi^2 = 35.85$ ,  $g.l.= 3$ ,  $P < 0.0001$ ), siendo mayor en las poblaciones de la selva continua (Figura 6 iii y iv).

Tabla 6. Inflorescencias de *D. seguine* que sí produjeron (viables) y no produjeron infrutescencias (no viables) en tratamientos de entrecruza manual y polinización natural para cada hábitat.

	Fragmento		Selva continua	
	Entrecruza	Natural	Entrecruza	Natural
Viables	129	9	142	39
Proporción	0.39	0.04	0.47	0.16
No viables	197	211	154	195
Proporción	0.60	0.95	0.50	0.83
Total	326	220	296	234

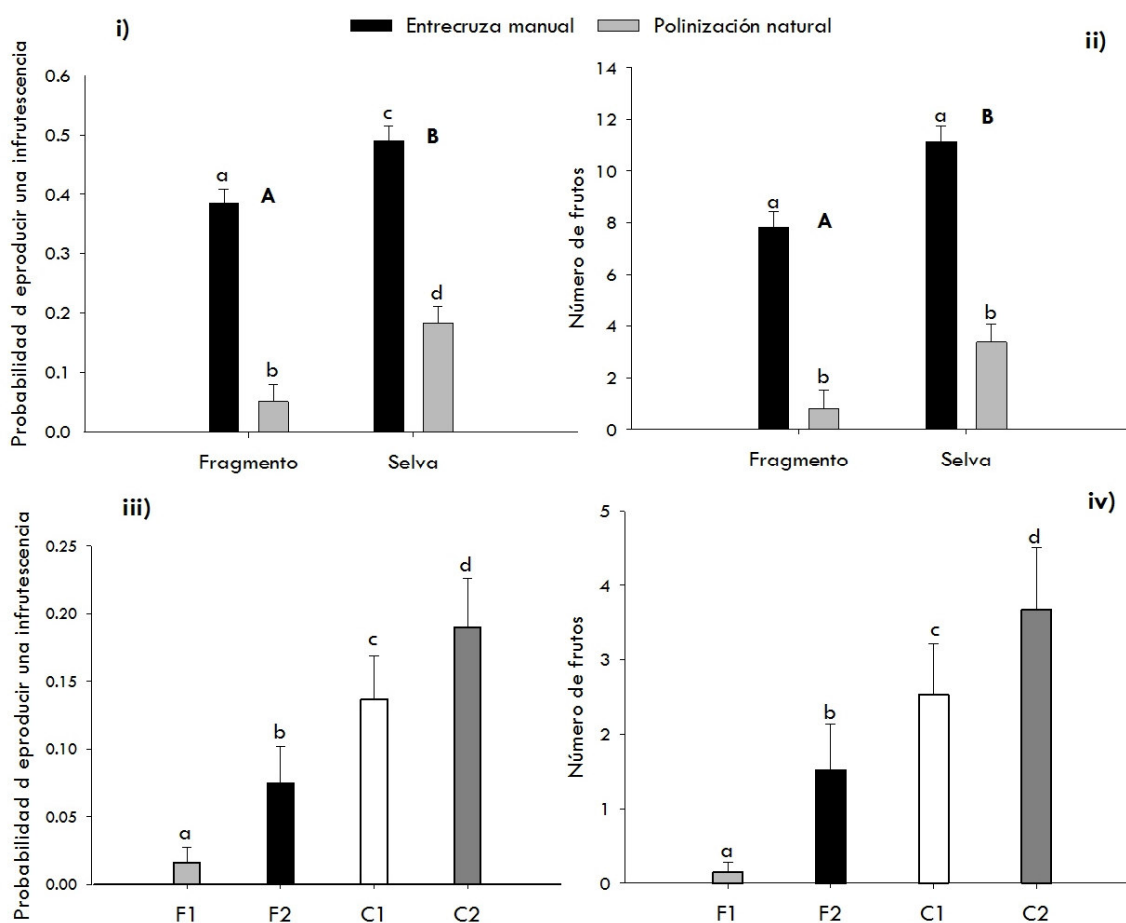


Figura 6. Gráficas de éxito reproductivo de *D. seguine* en Los Tuxtlas. i) Probabilidad de producir una infrutescencia en los tratamientos de polinización manual y natural en hábitat fragmentado y selva, ii) Número promedio de frutos producidos en inflorescencias en tratamientos de polinización manual y natural en ambos hábitats, iii) Probabilidad promedio de producir infrutescencias de manera natural en cada población y hábitat, iv) Frutos producidos en las inflorescencias con polinización natural en las poblaciones de fragmento y selva.

Tabla 7. Promedio de frutos producidos por *D. seguine* en los entrecruzamientos manuales y la polinización natural para cada hábitat.

Hábitat	<i>n</i>	Entrecruza	<i>n</i>	Natural
Fragmento	326	7.86 ± 11.72	220	0.735 ± 4.10
Selva	296	11.14 ± 13.59	234	3.09 ± 8.22
Promedio	622	9.5 ± 12.6	454	1.91 ± 6.1

Tabla 8. Número total de frutos de *D. seguine* producidos en todos los tratamientos y las poblaciones en fragmentos y la selva.

Frutos	$\bar{x} \pm D.E.$	<i>N</i>
F1	4.10 ± 9.72	255
F2	5.76 ± 10.26	287
C1	7.66 ± 12.81	293
C2	7.59 ± 11.49	241

Tabla 9. Éxito reproductivo en *D. seguine* en tratamiento de polinización manual y natural en cada hábitat calculado a partir de la fórmula de Dafni (1992), ver métodos.

Tratamiento de polinización	Núm. promedio de frutos obtenidos /		Éxito reproductivo	
	Núm. promedio de flores tratadas (% fructificación)		$\bar{x} \pm D.E.$	
	Fragmento	Selva	Fragmento	Selva
Natural	0.65/36.7 (0.01%)	3.08/38.8 (0.07%)	0.33 ± 2.16	1.89 ± 5.8
Entrecruza manual	8.05/37.4 (0.21%)	11.15/38.1 (0.29%)	5.33 ± 9.1	7.77 ± 10.8



*Producción de frutos a partir de cruzas con polen local y polen externo*

El apareamiento entre parientes tiene mayor probabilidad de ocurrir entre individuos de la misma población. Por esta razón se esperaba que las cruzas realizadas con polen externo (polen de poblaciones diferentes) produjeran mayor número de frutos en comparación con las cruzas realizadas con polen local (polen de la misma población) y así poder estimar la probabilidad de depresión por endogamia. Sin embargo, los valores de depresión por endogamia estimados a partir del número de frutos y la probabilidad de producir infrutescencias resultaron negativos (Tabla 10). Esto se debe a que las entrecruzas realizadas con polen local producen más frutos (CATMOD  $\chi^2 = 26.01$  g.l.= 1,  $P < 0.0001$ ,  $n = 614$ ) y tienen mayor probabilidad de producir infrutescencias que las cruzas realizadas con polen externo ( $r^2 = 0.02$ , g.l.=1,  $\chi^2 = 13.07$ ,  $P < 0.0003$ ,  $n = 614$ ). El número de frutos y la probabilidad de producir infrutescencias son significativamente diferentes entre los hábitats (CATMOD  $\chi^2 = 12.1$ , g.l.= 1,  $P = 0.0005$ ,  $n = 614$ ), ( $\chi^2 = 5.98$ , g.l.=1,  $P < 0.01$ ). Sin embargo, en ambas variables los tratamientos no difieren significativamente entre los hábitats (Figura 10). El número promedio de frutos es mayor en la selva (Tabla 10).

Tabla 10. Valores de depresión por endogamia estimados a partir de la fórmula ( $\delta = 1 - (\bar{W}_a / \bar{W}_e)$ ), donde  $\bar{W}_a$  es la adecuación promedio derivada de las cruzas de polen interno y  $\bar{W}_e$  es la adecuación promedio las cruzas realizadas con polen externo.

	$\delta$	$\delta$
	Número de frutos	Probabilidad de producir una infrutescencia
Global	-0.73	-0.36
Selva	-0.69	-0.34
Fragmentos	-0.89	-0.45

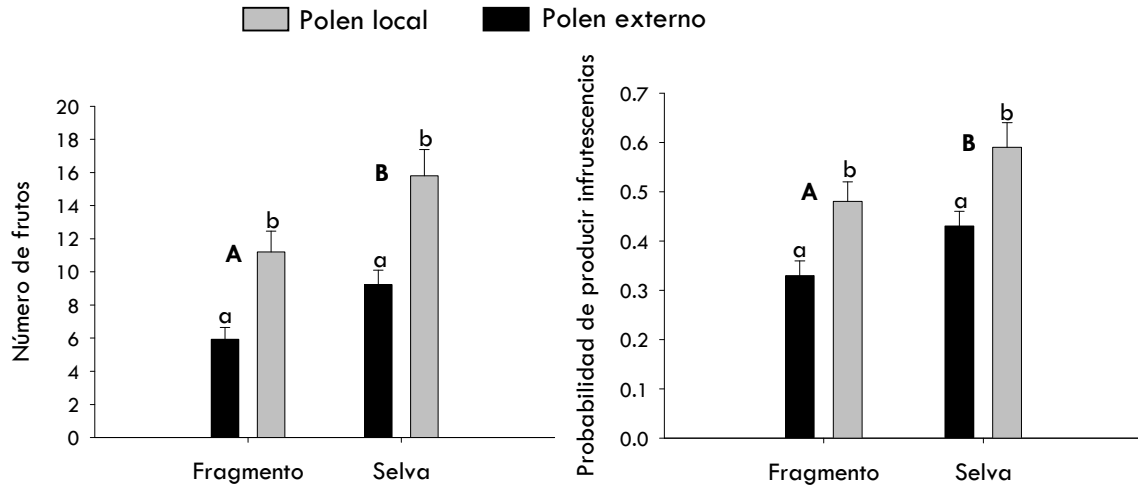


Figura 10. Éxito reproductivo en las inflorescencias de *D. seguine* a las que se aplicó el tratamiento de polinización natural y entrecruzamiento con polen local y externo para cada hábitat.

Tabla 10. Número de frutos producidos por *D. seguine* por tratamiento de polen (local y externo) en cada hábitat.

Polen	<i>n</i>	Externo	<i>n</i>	Local
Fragmento	205	5.92 ± 10.33	113	11.2 ± 13.45
Selva	207	9.23 ± 12.61	88	15.81 ± 14.87
Total	412	7.58 ± 11.64	201	13.22 ± 14.24

#### Variación entre donadores de polen

Debido a que los entrecruzamientos realizados con polen local produjeron mayor número de frutos se analizó la variación entre los donadores de polen (CATMOD  $\chi^2 = 26.01$ ,  $g.l.= 1$ ,  $P < 0.0001$ ,  $n = 614$ ). Se encontró que el 40 % de la variación en la producción de frutos de entrecruzas manuales es explicado por las diferencias entre los donadores de polen ( $r^2 = 0.40$ ,  $\chi^2 = 219.3$ ,  $g.l.= 147$ ,  $P < 0.0001$ ,  $n = 448$ ). El éxito en la probabilidad de producir frutos se reduce hasta el 65% después del primer día en que se colectó el polen ( $r^2 = 0.01$ ,  $\chi^2 = 8.20$ ,  $g.l.= 3$ ,  $P < 0.03$ ,  $n = 447$ ) (Figura 11). Sin

embargo, la interacción entre variables no pudo realizarse debido a que no se tienen suficientes réplicas de los donadores en cada hábitat.

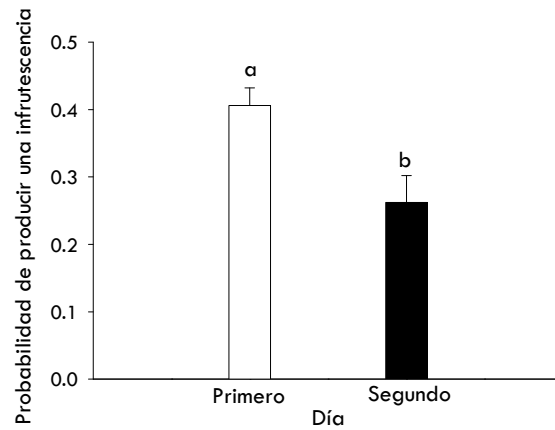


Figura 11. Probabilidad de producir infrutescencias después del primer día en que se colectó el polen ( $P < 0.05$ ).

El hábitat de los donadores tuvo un efecto significativo en la probabilidad de producir infrutescencias ( $\chi^2 = 7.44$ ,  $g.l. = 1$ ,  $P = 0.006$ ,  $n = 501$ ). En el modelo se utilizó el número de óvulos de las plantas receptoras como covariable y se encontró que no es significativa su contribución a la varianza ( $\chi^2 = 0.63$ ,  $g.l. = 1$ ,  $P = 0.4$ ,  $n = 501$ ). Los donadores de polen procedentes de la selva también producen más frutos ( $\bar{x} = 9.62 \pm 0.79$ ) que los donadores de fragmento ( $\bar{x} = 6.85 \pm 0.84$ ) (CATMOD  $\chi^2 = 9.54$ ,  $g.l. = 147$ ,  $P < 0.002$ ,  $n = 510$ ) (Figura 12).

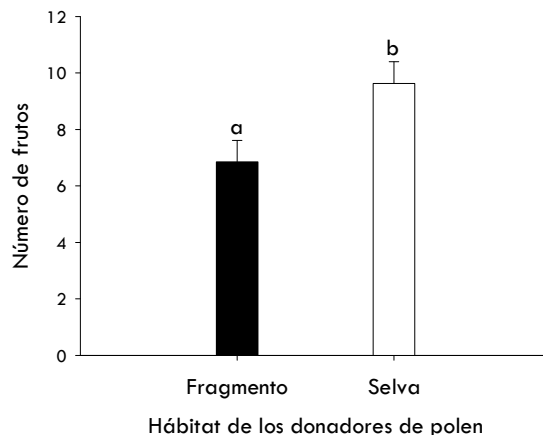


Figura 12. Éxito reproductivo de las plantas donadoras de polen de *D. seguine* en ambos hábitats ( $P < 0.05$ ).

#### *Variación entre patrones de asignación temporal*

Los resultados indican diferencias en los recursos asignados por la planta a sus inflorescencias. Algunos caracteres de las inflorescencias difieren significativamente entre la primera inflorescencia y segunda inflorescencia. La primera inflorescencia producida por la planta tiene mayor tamaño ( $\chi^2 = 31.23$ ,  $g.l.=1$ ,  $P < 0.0001$ ,  $n = 140$ ), mayor número de flores femeninas ( $\chi^2 = 22.79$ ,  $g.l.=1$ ,  $P < 0.0001$ ,  $n = 56$ ) y mayor longitud de la inflorescencia cubierta por flores masculinas ( $\chi^2 = 16$ ,  $g.l.=1$ ,  $P < 0.0001$ ,  $n = 153$ ) (Tabla 11).

Tabla 11. Media y desviación estándar de los caracteres medidos para la primera y segunda inflorescencias producidas por la misma planta.

Caracteres	Primera inflorescencia	Segunda inflorescencia
Flores femeninas (óvulos)	$42.5 \pm 7.4$	$33.7 \pm 5.36$
Flores masculinas	$8.48 \pm 0.12$	$7.78 \pm 0.12$
Tamaño de la inflorescencia	$20.9 \pm 0.23$	$19 \pm 0.23$

Se encontró que existe una disyuntiva entre la producción de frutos en la primera y segunda inflorescencias que produce una planta madre de *D. seguine* ( $t = -2.93$ ,  $g.l.=4$ ,  $P = 0.04$ ,  $n = 5$ ) (Figura 13).

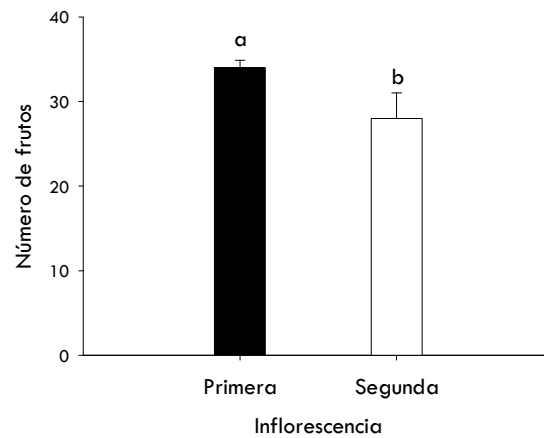


Figura 13. Producción de frutos entre las inflorescencias producidas en una planta madre de *D. seguine* ( $P < 0.05$ ).

## **Discusión**

Debido a la importancia de la polinización en la adecuación de las plantas, es necesario entender los efectos que causa la fragmentación del hábitat en la interacción planta-polinizador, en el sistema de apareamiento y en el éxito reproductivo de las plantas (Harris y Johnson, 2004). Los resultados confirman que *Dieffenbachia seguine* presenta un sistema de apareamiento autoincompatible y que requiere de los escarabajos polinizadores para asegurar la polinización cruzada. La fragmentación del hábitat en Los Tuxtlas tiene efectos negativos en la interacción de *D. seguine* y sus escarabajos polinizadores. En el hábitat fragmentado disminuye la abundancia y número de especies de los polinizadores, aumenta la limitación por polen y en consecuencia se reduce el éxito reproductivo de *D. seguine*.

## **Polinizadores**

La fragmentación del hábitat afecta la abundancia y el número de especies de polinizadores de *D. seguine* en Los Tuxtlas. Este resultado coincide con los efectos negativos de la fragmentación en la abundancia de escarabajos polinizadores en la palma *Astrocaryum mexicanum* en Los Tuxtlas, en otras especies de escarabajos de ecosistemas tropicales y templados (Didham *et al.* 1998b; Davies *et al.* 2000; Barbosa y Marquet, 2002; Jennings y Tallamy 2006; Ewers y Didham, 2008; Aguirre y Dirzo, 2008). La disminución en el número de escarabajos puede deberse a los cambios provocados en la calidad del hábitat y el efecto de borde (Murcia 1995; Davies *et al.*, 2001). El efecto de borde en los fragmentos genera un microclima en el que se reduce la humedad y las temperaturas son extremas, provocando condiciones ambientales muy diferentes a las del interior de la selva (Chen *et al.*, 1999). La cantidad de escarabajos polinizadores de *D. seguine* disminuye en los fragmentos a pesar de la gran oferta floral. Se ha sugerido que la distribución de los escarabajos depende más de la humedad que de la oferta floral; las especies de escarabajos asociadas a un clima seco son más

abundantes en los fragmentos mientras que las especies asociadas a la humedad son más abundantes en el interior de la selva (Blake *et al.*, 2003, Grimbacher 2006). Es posible que las especies *C. maffafa* y *C. sanguinicolis* tengan mayor capacidad para sobrevivir y completar su ciclo de vida en las condiciones ambientales de los fragmentos a diferencia de *C. sexpunctata* que sólo fue observada en la selva. Se sabe que las especies de escarabajos con requerimientos específicos de temperatura y compactación del suelo son más sensibles a los cambios antropogénicos (Navarrete y Halffter 2008). Es posible que *C. sexpunctata* esté asociada a mayores condiciones de humedad dentro de la selva y que el aumento de la temperatura del suelo en los fragmentos afecte la mortalidad de sus crías (Davies y Margules, 1998). Por otro lado, la capacidad de vuelo de los escarabajos indica la respuesta y la vulnerabilidad de las especies a la fragmentación (Driscoll y Weir, 2005). Los escarabajos vuelan distancias cortas de 50m a 1 km entre los fragmentos, en algunas especies el movimiento esta restringido al interior de los fragmentos (Harris y Johson, 2004). En sistemas templados los escarabajos viajan 18.2 m en promedio, en otras aráceas tropicales como *Dieffenbachia longispatha* y *Xanthosoma daguense* se desplazan en promedio 83 m y 86.5 m, respectivamente (Young, 1986; Englund, 1993; García-Robledo *et al.*, 2004). En este estudio se registraron pocos datos sobre el movimiento de los escarabajos *Cyclocephala* (n = 4), la tendencia observada indica que las especies de escarabajos no se desplazan en grandes distancias. Los desplazamientos van de 2 a 21 m entre las plantas que visitan y en promedio se mueven 13 m. Estos datos se aproximan al desplazamiento del escarabajo polinizador de *Amorphophallus johnsonii* (Araceae) que van de 8 a 37.5m (Beath, 1996).

El entrecruzamiento de *D. seguine* sólo puede ocurrir a través de la polinización de los escarabajos, por lo que su abundancia y eficiencia determinan el éxito del apareamiento (Aizen y Harder, 2007). La probabilidad de visita de los escarabajos a una inflorescencia es menor en los fragmentos, sólo el 1% de las inflorescencias fueron visitadas reduciendo la probabilidad de entrecruzarse. Mientras que en la selva continua el 11% de las

inflorescencias fueron visitadas. Esta diferencia en la probabilidad de visita de los polinizadores se debe a la baja abundancia de los polinizadores y a la gran oferta de inflorescencias en los fragmentos. En otros estudios con aráceas también se han reportado bajas tasas de visita de escarabajos (*Philodendron solimoesense* 0%, Gibernau *et al.* 1999; *Xanthosoma violaceum* 3 a 31%, Young 1986) y en particular para *Xanthosoma daguense* la tasa de visita de los polinizadores y el número de frutos disminuyó cuando la oferta floral aumentó (García-Robledo *et al.*, 2005).

### **Éxito reproductivo y limitación por polen**

El éxito reproductivo de *D. seguine* en Los Tuxtlas es mayor en la selva continua que en las poblaciones de fragmento. La baja disponibilidad de polinizadores y la limitación por polen (de calidad o cantidad) afectan el éxito reproductivo en especies auto-incompatibles con altas tasas de entrecruzamiento como *D. seguine* (Dudash y Fenster, 1997; Cuartas-Hernández, 2006; Ferrer *et al.*, 2009; Aguilar *et al.*, 2006). La limitación por polen es un fenómeno común en las plantas (Burd 1994), tanto las poblaciones de *D. seguine* en selva como en fragmentos presentan limitación por polen. Sin embargo, la limitación puede incrementar con las perturbaciones ambientales (Ashman *et al.* 2004). La disminución de polinizadores de *D. seguine* en los fragmentos provoca que aumente la limitación por polen y disminuya el éxito reproductivo. La limitación por polen incorpora ciertos aspectos del proceso reproductivo, en el caso de la limitación por cantidad de polen incluye la producción de óvulos, la importación de polen, la fertilización y el desarrollo de semillas, mientras que en la limitación por calidad de polen depende únicamente de la producción de óvulos y del desarrollo de semillas (Aizen y Harder, 2007). En *D. seguine* existe bajo movimiento o importación de polen por parte de los polinizadores al igual que en otras aráceas como *Dieffenbachia longispatha*, *Arum italicum*, *Arisaema serratum* y *Arisaema triphyllum* (Bierzychudek 1982; Young, 1986; Nishizawa *et al.* 2005; Cuartas-Hernández y Núñez-Farfán 2006; Albre y Gibernau, 2008). La



limitación en el número de óvulos se debe a que las plantas producen pocos óvulos y ocurre cuando todos los óvulos son fertilizados pero pocos embriones sobreviven al desarrollo (Harder y Routley, 2006 Aizen y Harder, 2007). Las poblaciones fragmentadas de *D. seguine* tienen en promedio menor número de flores femeninas y por lo tanto menor número de óvulos. Sin embargo, esta diferencia sólo es un efecto numérico que no influye en el éxito reproductivo debido a que el número de óvulos utilizado como covariable no fue significativo.

Los experimentos de polinización manual realizados en selva y fragmentos incrementan el éxito reproductivo de *D. seguine* en comparación con la polinización natural. Sin embargo aún en un escenario artificial en el que no faltan polinizadores que transporten el polen (entrecruzas manuales) el éxito reproductivo en los fragmentos es menor. Esto puede estar relacionado con 1) la limitación por calidad de polen, 2) la mayor asignación a la reproducción vegetativa y los costos en la adecuación y 3) a la depresión por endogamia. 1) La limitación por calidad de polen puede presentarse en especies auto-incompatibles como resultado de endogamia en poblaciones genéticamente estructuradas (Aizen y Harder, 2007). Las poblaciones de *D. seguine* en Los Tuxtlas presentan endogamia local y están altamente estructuradas; en ellas el movimiento de polen es restringido y la mayoría de los apareamientos se dan sólo entre dos individuos. Sin embargo, sólo en las poblaciones de fragmento el área efectiva de polinización se reduce disminuyendo la distancia de transferencia de polen (Cuartas- Hernández, 2006; Cuartas-Hernández y Núñez-Farfán 2006). Los efectos de la baja calidad del polen asociados con el apareamiento entre parientes pueden reducir la producción de semillas, esto puede deberse a que los embriones homócigos para alelos deletereos mueren durante el desarrollo (Aizen y Harder, 2007). Los cambios en la disponibilidad de cruza pueden ser ocasionados de manera indirecta por los cambios en la abundancia y el comportamiento de los polinizadores (Young y Brown, 1999). Se ha reportado limitación

de apareamientos en las poblaciones fragmentadas de *Rutidosia leptorrhynchoides* y *Linnaea borealis* (Young y Brown, 1999; Scobie y Wilcock, 2009). 2) El crecimiento clonal puede tener costos en la adecuación de las plantas asociados al patrón de dispersión de polen, reduciendo la probabilidad de apareamiento en las especies auto-incompatibles. En promedio las poblaciones clonales de especies auto-incompatibles tienen menos genotipos y la abundancia de éstos dominan la población (Honnay y Jacquemy, 2007). Las poblaciones dentro de los fragmentos de *D. seguine* tienen mayor establecimiento de plantas producidas vegetativamente y menor diversidad de genotipos (Cuartas-Hernández, 2002; Cuartas-Hernández y Núñez-Farfán, 2006, 2010); es posible que las poblaciones de *D. seguine* en fragmentos dominen sólo ciertos genotipos en los individuos reproductivos, reduciendo la probabilidad de cruza compatibles y el éxito reproductivo aún cuando existan suficientes polinizadores. 3) La depresión por endogamia y la reducción en el éxito reproductivo pueden estar asociadas a la baja calidad del polen y a las cruza entre parientes (endogamia biparental) (Young y Brown, 1999; Griffin y Eckert, 2003). Estos eventos están asociados a especies de plantas con una alta tasa de abortación, baja germinación, alta mortalidad de plántulas y un pobre crecimiento y floración de la descendencia (Oostermeijer *et al.*, 2003; Dudash y Fenster, 2000). Si las poblaciones de *D. seguine* en los fragmentos tienen depresión por endogamia, puede ser consecuencia de la reducción en la riqueza genotípica y la disponibilidad de cruza compatibles que pueden aumentar el apareamiento entre parientes y provocan la disminución del éxito reproductivo de las plantas, incluso en un escenario con polinizadores y movimiento de polen. Aún falta comprobar esta hipótesis, para ello es necesario producir progenies derivadas de entrecruzamiento y autogamia y evaluar su adecuación.

En resumen, es posible que la diferencia en el éxito reproductivo y la limitación por polen de *D. seguine* entre los hábitats se deba a la baja abundancia de polinizadores y a la

reducción del área efectiva de polinización, que afectan el movimiento de polen y reducen el éxito reproductivo a través de la reproducción sexual.

### **Producción de frutos a partir de cruza con polen local y polen externo**

Contrario a lo esperado, los entrecruzamientos realizados con polen de la misma población (local) produjeron mayor número de frutos que las polinizaciones manuales realizadas con polen de otras poblaciones (externo). Este resultado puede deberse a diversos factores como la gran variación que existe entre los donadores de polen, la baja duración en la viabilidad del polen o a depresión por exogamia. La viabilidad del polen de *D. seguine* en las cruza realizadas fue muy baja ya que la probabilidad de producir frutos se redujo hasta el 65 % después del primer día en que el polen fue colectado. En muchas especies de plantas, el polen es viable sólo por unas horas (Stanley y Linskens, 1974); en plantas del género *Arum* y *Amorphophallus* (Araceae) la viabilidad del polen es muy breve en condiciones naturales. En *Arum italicum* y *Arum maculatum* los granos de polen son viables por 2 o 3 días. Para *Amorphophallus johnsonii* se ha sugerido que la transferencia del polen debe realizarse el mismo día en que fue liberado (Beath, 1996). Consecuentemente, para *D. seguine* y otras especies de aráceas el polen debe ser dispersado rápidamente entre las inflorescencias maduras y receptivas para que la polinización sea eficiente (Beath, 1996; Gibernau *et al.*, 2003). En los entrecruzamientos realizados se utilizó el polen de varios días y esto podría modificar el resultado debido a la baja viabilidad del polen. Sin embargo, el polen local produjo mayor número de frutos aún si se aplica dos o tres días después. A pesar de la abundancia de las plantas de *D. seguine*, sólo algunas se encontraron en fase masculina, lo que dificultó la colecta de polen viable y es posible que el polen de algunos individuos perdiera su viabilidad incluso en el primer día en que fueron colectados. Sin embargo, se evitó colectar polen cuyo color y consistencia fuera diferente del polen recién liberado.

La depresión exogámica es un fenómeno en el que la descendencia producida a través del entrecruzamiento con otras poblaciones tiene menor adecuación o desempeño que los padres. La baja adecuación en la progenie híbrida se debe a la dilución de genes asociados con la adaptación local y la hibridación entre dos poblaciones puede resultar en la interrupción de complejos de genes adaptados. Por lo tanto, la consecuencia de mezclar bancos de genes distantes dependerá de si la interacción genética prevalece o si la selección es responsable de la diferenciación adaptativa (Fenster y Dudash, 1994; Galloway y Fenster 1999). Se ha reportado depresión por exogamia en la reproducción de las cruas realizadas entre las poblaciones fragmentadas de *Echinaceae angustifolia* (Wagenius *et al.* 2009). Sin embargo, para poder atribuir a la depresión exogámica el resultado de nuestro experimento en *D. seguine* es necesario conocer la adecuación de la progenie híbrida.

#### **Variación entre donadores de polen**

El éxito reproductivo de una planta está determinado por la cantidad de polen necesario para fertilizar a los óvulos así como los recursos para la producción de semillas (ej. agua, nutrientes, etc.) (Zimmerman y Pike, 1988). Los donadores de *D. seguine* de la selva produjeron más frutos que los donadores de los fragmentos, lo cual puede estar relacionado con la adaptación local de las poblaciones, en escalas pequeñas la adaptación local a las condiciones abióticas o los factores bióticos como los competidores, parasitoides, patógenos o mutualistas pueden ser muy importantes para la evolución adaptativa de las especies de plantas (Gauthier *et al.*, 1998; Linhart y Grant, 1996; Prati y Schmid, 2000). En algunos casos se ha encontrado que los genotipos tienen mayor adecuación en su sitio de origen que genotipos externos lo que indica adaptación local (van Andel 1998; Hufford y Mazer, 2003). Es posible que los genotipos de *D. seguine*, aún en fragmentos, se encuentren adaptados localmente a las condiciones ambientales y bióticas de la selva continua. Las diferentes condiciones ambientales, la reducción del

vecindario genético y la posible disminución de cruzas compatibles en los fragmentos podrían promover un menor desempeño del polen. Sin embargo, es necesario realizar experimentos específicos de adaptación local que involucren transplantes recíprocos.

### **Variación entre patrones de asignación temporal**

Las plantas reparten recursos entre funciones como el crecimiento, el mantenimiento y la reproducción. Cuando la planta asigna mayores recursos a la reproducción, la asignación para otras funciones se reduce (Matsuyama y Sakimoto, 2008). La variación entre los caracteres florales de fragmento y selva puede estar relacionada con el ambiente y la diferente asignación de recursos en la reproducción vegetativa y sexual. La asignación de recursos depende de la dominancia competitiva, el tiempo de vida, los factores genéticos, y las condiciones ambientales. Si los diferentes modos de reproducción representan estrategias adaptativas en diferentes ambientes, se espera mayor asignación de recursos a la reproducción sexual en hábitats con mayor fluctuación ambiental y competencia, mientras que el crecimiento clonal debería ser dominante en hábitat estable (Zhang y Zhang, 2007). Sin embargo en *D. seguine* las plantas de los fragmentos utilizan la reproducción vegetativa en mayor medida (Cuartas-Hernández, 2002). En cuanto a las condiciones ambientales es posible que en los fragmentos las plantas tengan menor vigor debido a la falta de agua y nutrientes. Además la alta densidad de plantas de *D. seguine* en los fragmentos puede incrementar la competencia por los recursos. Se ha documentado la plasticidad de caracteres florales en respuesta a los cambios en la humedad del suelo, nutrientes, luz y competencia (Weinig 2002; Dorken y Barret, 2004; Wolfe y Mazer, 2005; Caruso, 2006).

*D. seguine* asigna mayores recursos a la primera inflorescencia que produce en el pico de floración. En la aráceo *Arum italicum* el desarrollo de la segunda inflorescencia depende de las condiciones climáticas y la limitación de recursos (Albre y Gibernau, 2008). En *D. seguine* existe una disyuntiva entre la producción de frutos y la primera inflorescencia,

posiblemente se debe a que en la primera inflorescencia la planta tiene y puede invertir más recursos en la producción de frutos que en la última inflorescencia. Invertir en dos o más inflorescencias podría constituir una estrategia para asegurar el entrecruzamiento y aumentar el número de frutos ya que las aráceas tienen tasas muy bajas de producción de frutos: 13% *Symplocarpus renifolius* (Uemura et al., 1993), 50% para *Dieffenbachia longispata* (Young, 1986), 25% para *Xanthosoma daguense* (García-Robledo et al., 2004) y en este estudio 8 % para *Dieffenbachia seguine*.

#### *Cantidad de varianza explicada*

Según Moller y Jennions (2002) los estudios ecológicos y evolutivos explican una pequeña cantidad de varianza en comparación con otros estudios. En el presente estudio los análisis realizados también explican un pequeño porcentaje de la varianza (1-40%). Esto puede estar relacionado con varias variables que pueden explicar la baja tasa de fructificación de *D. seguine*. Estas variables pueden ser la gran producción de inflorescencias, la falta de polinizadores y el arreglo espacial de las plantas que afectan el movimiento de los polinizadores y el éxito de los tratamientos naturales. La cantidad de inflorescencias abiertas al mismo tiempo y la proporción de inflorescencias que se encuentran en las diferentes fases reproductivas (femenina, masculina, no receptiva) pueden ser factores que limiten la cantidad y la calidad de las polinizaciones, incluso en los experimentos de entrecruza manual. La viabilidad del polen así como la aleatorización causada por variables ambientales dentro de las poblaciones también pueden ser otros factores importantes que no fueron controlados en los experimentos.

#### **Perspectivas**

Es necesario analizar la limitación de apareamientos para poder determinar si las poblaciones de fragmento tienen depresión por endogamia. Para ello, se deben identificar los genotipos de las plantas reproductivas con marcadores genéticos y

determinar si existen relaciones de parentesco. Con ello es posible definir si existe alguna relación endogámica entre las cruas realizadas en este estudio y el número de frutos que produjeron. Por otro lado, realizar experimentos de trasplantes recíprocos nos permitiría detectar la interacción de los genotipos y el ambiente, ya que es posible evaluar la adecuación de las plantas en un ambiente nativo (selva continua) y en un ambiente foráneo (fragmentos). Desde el punto de vista reproductivo existen aún varias interrogantes. Es necesario realizar estudios más específicos sobre la calidad, viabilidad y competencia entre los granos de polen en cada uno de los hábitats. Para las flores femeninas se pueden realizar estudios sobre variación entre las flores dentro de las inflorescencias así como la competencia por los recursos para la producción de los frutos. Otra pregunta interesante es ¿cómo afectan la dos estrategias reproductivas (sexual y clonal) la evolución de los caracteres de vida y la adecuación de *D. seguine* en cada uno de los hábitats? En el caso de los escarabajos polinizadores falta conocer los efectos de la fragmentación en su ciclo de vida y qué tan efectivas son las especies como polinizadores. Las inflorescencias de *D. seguine* interactúan con una gran diversidad de especies por lo que es buen sistema para estudiar interacciones bióticas en las selvas tropicales.

## **Conclusiones**

La fragmentación del hábitat sí afecta el éxito reproductivo de *D. seguine* en Los Tuxtlas debido a los cambios provocados en la abundancia y el número de especies de polinizadores. La escasez de polinizadores disminuye el movimiento de polen en las poblaciones de los fragmentos aumentando la limitación por polen y reduciendo de manera importante el éxito reproductivo de *D. seguine*. La reproducción sexual de *D. seguine* puede ser afectada indirectamente por los efectos negativos de la fragmentación en la abundancia de sus polinizadores.

## Apéndice 1

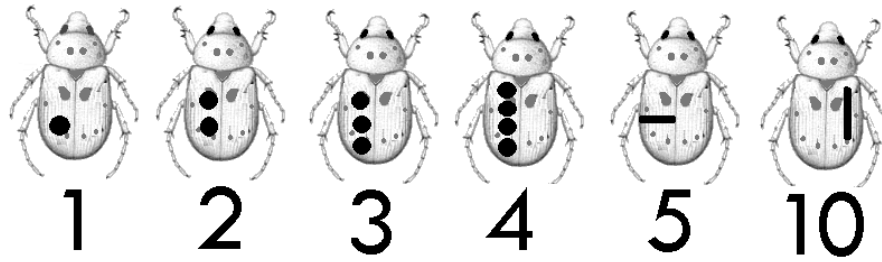


Figura 1. Esquema de la clave de puntos y líneas en los élitros y/o en el pronoto utilizada en los escarabajos del género *Cyclocephala*.

## Apéndice 2

Los experimentos realizados para observar la formación de tubos polínicos por medio de fluorescencia aún son preliminares. Sin embargo, en las preparaciones se puede observar que existe mayor número de tubos polínicos germinando en flores con entrecruzamiento manual (Figura 6 B y C) que en las flores con tratamiento de autofertilización (Figura 6D).

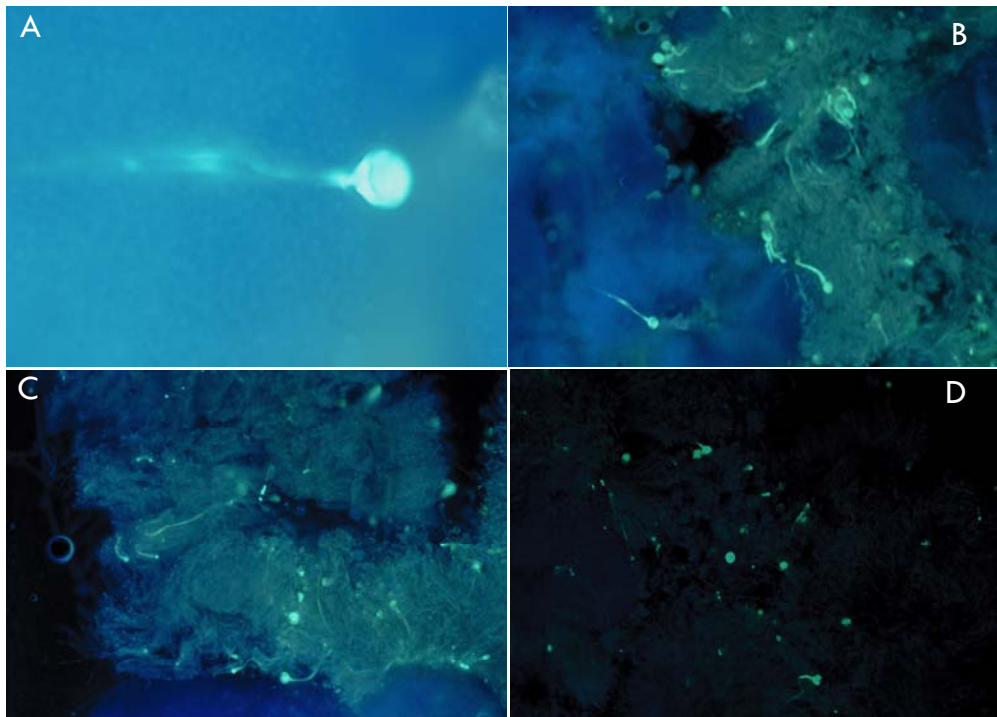


Figura 1. Tubos polínicos de *D. seguine*. (A) Germinación del grano de polen mostrando el crecimiento del tubo polínico (B) Granos de polen germinando en el estigma producto de entrecruzamiento (C) Tubos polínicos avanzando en el estigma producto de entrecruza (D) Granos de polen sin germinar en una polinización autoincompatible.



### Apéndice 3

Tabla 1. Grupos artrópodos e insectos observados en las inflorescencias de *D. seguine* en hábitat fragmentado y selva continua. Porcentaje individuos observados (%); índice

Orden	$n_s$	% Selva	$H'$ selva	$n_f$	% Fragmento	$H'$ fragmento
Coleoptera	73	28.7	0.35	10	5.95	0.16
Hemiptera	77	30.3	0.36	107	63.69	0.28
Ortoptera	12	4.72	0.14	15	8.92	0.21
Diptera	16	6.29	0.17	4	2.38	0.08
Larvas diptera	41	16.14	0.29	12	7.14	0.18
Hymenoptera	2	0.78	0.03	7	4.16	0.13
Blatidae	2	0.78	0.03	0	0	0
Acari	2	1.96	0.07	1	0.59	0.03
Aracnidae	26	10.23	0.23	12	7.14	0.18
<b>Total</b>	<b>254</b>	<b>100</b>	<b><math>1.71 \pm 0.128</math></b>	<b>168</b>	<b>100</b>	<b><math>1.29 \pm 0.09</math></b>

de diversidad de Shannon ( $H'$ ) y tamaño de muestra para selva y fragmento  $n_s$  y  $n_f$ .

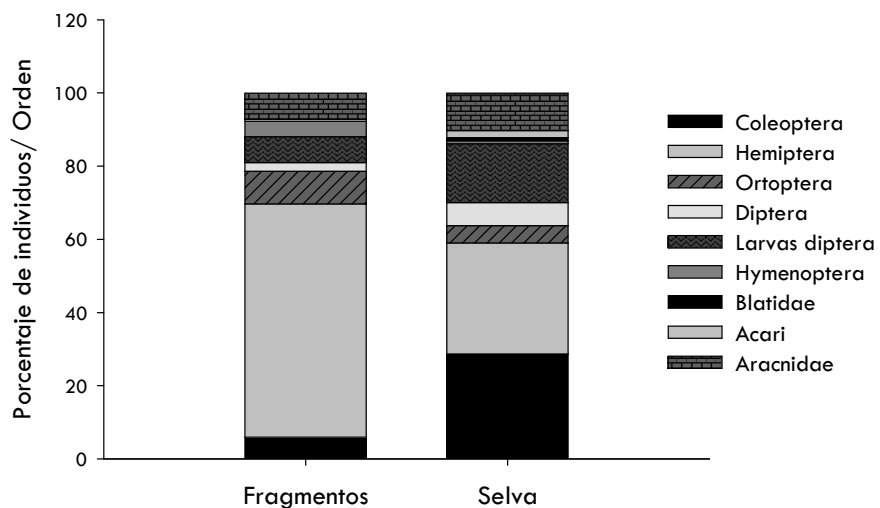


Figura 1. Insectos y artrópodos observados en las inflorescencias de *D. seguine* en el hábitat fragmentado y la selva continua.

1/3/86

Lisson



Butterflies from the wrong side of the meadow

## Referencias

- Aguilar R, Ashworth L, Galetto L, Aizen MA. 2006. Plant reproductive susceptibility to habitat fragmentation: review and synthesis through a meta-analysis. *Ecology Letters* **9**: 968-980.
- Aguirre A, Dirzo R. 2008. Effects of fragmentation on pollinator abundance and fruit set of an abundant understory palm in a Mexican tropical forest. *Biological Conservation* **141**: 375-384
- Aizen MA, Ashworth L, Galetto L. 2002. Reproductive success in fragmented habitats: do compatibility systems and pollination specialization matter? *Journal of Vegetation Science* **13**: 885-892
- Aizen MA, Feinsinger P. 2002. Bees not to be? Responses of insect pollinator faunas and flower pollination to habitat fragmentation. En: Bradshaw GA y Marquet (eds) How landscapes change: human disturbance and ecosystem fragmentation in the Americas. pp 11-121. Springer, Alemania
- Aizen MA, Harder LD. 2007. Expanding the limits of the pollen-limitation concept: effects of pollen quantity and quality. *Ecology* **88**: 271-281
- Albre J, Gibernau M. 2008. Reproductive biology of *Arum italicum* (Araceae) in the south of France. *Botanical Journal of the Linnean Society* **156**: 43-49
- Ashman TL, Knight TM, Steets JA, Amarasekare P, Burd M, Campbell DR, Dudash MR, Johnston MO, Mazer SJ, Mitchell RJ, Morgan MT, Wilson WG. 2004. Pollen limitation of plant reproduction: ecological and evolutionary causes and consequences. *Ecology* **85**: 2408-2421
- Barbosa O, Marquet PA. 2002. Effects of forest fragmentation on the beetle assemblage at the relict forest to f Fray Jorge, Chile. *Oecologia* **132**:296-306.
- Bawa KS. 1990. Plant-pollinator interactions in tropical rain forests. *Annual Review. Ecology Systematics* **21**: 299-422
- Bawa KS. 1992. Mating systems, genetic differentiation and speciation in tropical rain forest plants. *Biotropica* **24**:250-255
- Beath DDN. 1996. Pollination of *Amorphophallus johnsonii* (Araceae) by carrion Beetles (*Phaeochrous amplus*) in a Ghanaian rain forest. *Journal of Tropical Ecology* **12**:409-418
- Bierzychudek P. 1982. The demography of jac-in-the pulpit, a forest perennial that changes sex. *Ecological Monographs* **52**:336-351
- Blake S, McCracken DI, Eyre MD, Graside A, Foster GA. 2003. The relationship between the classification of Scottish ground beetle assemblages (Coleoptera, Carabidae) and the National Vegetation Classification of British plant communities. *Ecography* **26**: 602-16

- Bond WJ. 1994. Do mutualists matter? Assessing the impact of pollinator and disperser disruption on plant extinction. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Biological Science* **344**: 83-90
- Bosch M, Waser NM. 1999. Effects of local density on pollination and reproduction in *Delphinium nuttallianum* and *Aconitum columbianum* (Ranunculaceae). *American Journal of Botany* **86**: 871-879
- Bruna EM, Nardo O, Strauss SY, Harrison S. 2002. Experimental assessment of *Heliconia acuminata* growth in a fragmented Amazonian landscape. *Journal of Ecology* **90**: 639-649
- Buchman SL, Nabhan GP. 1996. The forgotten pollinators. Island, Washington, D.C.
- Burd M. 1994. Bateman's principle and plant reproductive: The role of pollen limitation in fruit and seed set. *The Botanical Review* **60**:83-139
- Busch JW, Schoen DJ. 2008. The evolution of self-incompatibility when mates are limiting. *Trends in Plant Science* **13**: 128-136
- Bierzychudek P. 1981. Pollinator limitation of plant reproductive effort. *American Naturalist* **117**:838-840.
- Campbell LG, Husband BC. 2007. Small populations are mate –poor but pollinator –rich in a rare, se-incompatible plant, *Hymenoxys herbacea* (Asteraceae). *New Phytologist* **174**: 915-925.
- Caruso CM. 2006. Plasticity of inflorescence traits in *Lobelia siphilitica* (Lobeliaceae) in response to oil water availability. *American Journal of Botany* **93**:531-538
- Carvalho FMV, Júnior PDM, Ferreira LG. 2009. The cerrado into-pieces: habitat fragmentation as a function of landscape use in the savannas of central Brazil. *Biological Conservation* **142**:1392-1403
- Charlesworth D, Charlesworth B. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics* **18**: 237-268
- Charnov EL. 1982. The theory of sex allocation. Princeton, NJ: Princeton University Press.
- Chen J, Saunders S., Crow T, Naiman RJ, Brofoske KD, Mroz GD, Brookshire BL, Franklin JF. 1999. Microclimate in forest ecosystem and landscape ecology. *Bioscience* **49**:288-97
- Chouteau M, Barabé D, Marc Gibernau M. 2006. A comparative study of inflorescence characters and pollen- ovule Ratios among the genera *Philodendron* and *Anthurium* (Araceae). *International Journal of Plant Science* **167**:817-829.
- Constanza R, d'Árge R, Groot R, Farber S, Grasso M, Hannon B, Limburg K, Naeem S, O'Neill RVO, Paruelo J, Raskin RG, Sutton P, van da Belt M.. 1997. The value of the world's ecosystem service and natural capital. *Nature* **387**:235-260
- Croat T. 2004. Revision of *Dieffenbachia* (Araceae) of Mexico, Central America, and the West Indies. *Annals of the. Missouri Botanical Garden* **91**:668-772

- Cuartas Hernández S. 2006. Efectos de la fragmentación del bosque tropical: biología reproductiva y sistema de apareamiento en poblaciones de *Dieffenbachia seguine* (Araceae). Tesis (Doctorado), Posgrado en Ciencias Biológicas, Instituto d Ecología, UNAM.
- Cuartas-Hernández S, Núñez-Farfán J. 2006. The genetic structure of the tropical undestory herb *Dieffenbachia seguine* L. before and after forest fragmentation. *Evolutionary Ecology Research* **8**:1061-1075
- Cuartas-Hernández S. 2002. Efectos ecológicos de la fragmentación en las poblaciones de *Dieffenbachia seguine* (Araceae) en los Tuxtlas, Veracruz, México. Tesis (Maestría). Posgrado en Ciencias Biológicas, Instituto d Ecología, UNAM.
- Cuartas-Hernández S, Núñez-Farfán J, Smouse PE. 2010. Restricted pollen flow of *Dieffenbachia seguine* populations in fragmented and continuous tropical fores. *Heredity*: 1-8.
- Cunningham SA. 2000. Depressed pollination in habitat fragments causes low fruit set. *Proceedings of the Royal Society of London* **267**:1149-52
- Dafni A. 1992. Pollination Ecology: The practical approach. Oxford University Press.
- Davies KF, Margules CR. 1998. Effects of habitat fragmentation on carabid beetles: experimental evidence. *Journal of Animal Ecology* **67**: 460-471
- Davies K, Melbourne B, Margules C. 2001. Effects of within and between-patch processes on community dynamics in a fragmentation experiment. *Ecology* **82**:1830-46
- Davies KF, Margules CH, Lawrence J. 2000. Which traits of species predict population declines in experimental forest fragments?. *Ecology* **81**: 1450-1461
- Didham RK, Ghazoul J, Strok NE. 1996. Insects in fragmented forests: a functional approach. *Trends in Ecology and Evolution* **11**: 255-260
- Didham RK, Hammond PM, Lawton JH, Eggleton P & Stork NE. 1998. Beetle species responses to tropical forest fragmentation. *Ecological Monographs* **68**: 295-323.
- Didham RK, Lawton JH, Hammond PM, Eggleton P. 1998. Trophic structure stability and extinction dynamics of beetles (Coleoptera) in tropical forest fragments. *Phil. Trans. R. Soc. Lond* **353**: 437-451
- Dirzo R, Miranda A. 1991. El límite boreal de la selva tropical húmeda en el continente Americano: contracción de la vegetación y solución de una controversia. *Interciencia* **16**: 240-247
- Dorkern ME, Barrett SCH. 2004. Phenotypic plasticity of vegetative and reproductive traits in monoecious and dioecious populations of *Sagittaria latifolia* (Alismataceae): a clonal aquatic plant. *Journal of Ecology* **92**: 32-44
- Driscoll D, Weir T. 2005. Beetle responses to habitat fragmentation depend on ecological traits, habitat condition, and remnant size. *Conservation Biology* **19**:182-94

- Dudash MR, Fenster CB. 1997. Mutiyear study of pollen limitation and cost of reproduction in the iteroparous, *Silene virginica*. *Ecology* **78**: 484-493
- Dudash M, Fenster CB. 2000. Inbreeding and outbreeding depression in fragmented populations. En: Young AG, Clarke GM (Eds.) Genetics, demography and viability of fragmented populations. Cambridge University Press, Cambridge, pp.35
- Ellstrand NC, Ellam DR. 1993. Population genetic consequences of small population size: Implications for plant conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics* **24**: 217-242
- Englund R. 1993. Movement patterns of *Cetonia* beetles (Scarabaeidae) among flowering *Viburnum opulus* (Caprifoliaceae): Option for long-distance pollen dispersal in a temperate shrub. *Oecologia* **94**: 295-302
- Eriksson O. 2000. Functional roles of remnant plant populations in communities and ecosystems. *Global Ecology and Biogeography* **9**: 443-449.
- Estrada A, Coates-Estrada R. 1996. Tropical rain forest fragmentation and wild populations of primates at Los Tuxtlas, Mexico. *International Journal of Primatology* **17**: 759-783
- Ewers R.M, Didham R.K. 2008. Pervasive impact of large-scale edge effects on a beetle community. *PNAS* **105**: 5426-5429
- Falconer DS. 1989. Introduction quantitative genetics, (2a ed). Longman, New York.
- Feinsinger P. 1987. Approaches to nectarivore-plant interactions in the New World. *Revista Chilena de historia Natural* **60**:285-319
- Fenster CB y Dudash MR. 1994. Genetic considerations for plant population restoration and conservation. pp 34-62 En: Bowles M.L. y Whelan C.J. (eds.). Restoration of endangered species, Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- Ferrer M, Good-Avila, Montaña C, Domínguez C, Eguiarte L. 2009. Effect of variation in self-incompatibility on pollen limitation and inbreeding depression in *Flourensia cernua* (Asteracea) scrubs of contrasting density. *Annals of Botany* **103**: 1077-1089
- Galetto L, Fioni A, Calviño A. 2002. Éxito reproductivo y calidad de los frutos en poblaciones del extremo sur de la distribución de *Ipomoea purpurea* (Convolvulaceae). *Darwiniana* **40**: 25-32
- Galloway LF, Fenster CB. 1999. The effect of nuclear and cytoplasmic genes on fitness and local adaptation in an annual legume, *Chamaecrista Fasciculata*. (Fabaceae). *Evolution* **53**:1734-1743
- García-Robledo C, Kattan G, Murcia C, Quintero-Marín P. 2004. Beetle pollination and fruit predation of *Xanthosoma daguense* (Araceae) in an Andean cloud forest in Colombia. *Journal of Tropical Ecology* **20**: 459-469

- García-Robledo C, Kattan G, Murcia C, Quintero-Marín P. 2005. Equal and opposite effects of floral offer and spatial distribution on fruit production and predispersal seed predation in *Xanthosoma daguense* (Araceae). *Biotropica* **37**: 373-380
- Gaston K.J. 2000. Global patterns in biodiversity. *Nature* 405, 220-7
- Gauthier P, Lumaret R, Bédécarrats A. 1998. Ecotype differentiation in an annual legume: local adaptation. *Evolution* **54**:1157-1172.
- Gibernau M, Barabé D, Cerdan P, Dejean A. 1999. Beetles pollination of *Philodendron solimoesense* (Araceae) in French Guiana. *International Journal of Plant Sciences* **160**: 1135-1143
- Gibernau M, Macquart D y Díaz A. 2003. Pollen viability and longevity in two species of *Arum.Aroideana* **26**: 58-62
- González-Varo JP, Arroyo J, Aparicio A. 2009. Effects of fragmentation on pollinator assemblage, pollen limitation and seed production of Mediterranean myrtle (*Myrtus communis*). *Biological Conservation* **142**:1058-1065
- Grimbacher PS, Catterall CP, Kitching RL. 2006. Beetle species responses suggest that microclimate mediates fragmentation effects in tropical Australian rainforest. *Austral Ecology* **31**:458-470
- Griffin CAM, Eckert CG.2003. Experimental analysis of biparental inbreeding in a self-fertilizing plant. *Evolution* **57**:1513-1519
- Harder LD, Routley MB. 2006. Pollen and ovule fates and reproductive performance by flowering plants. En: Harder LD y Barrett SCH (eds.) *Ecology and Evolution of flowers*, 61-80 pp Oxford University Press, EUA
- Harrison LF, Johnson SD. 2004. The consequences of habitat fragmentation for plant-pollinator mutualisms. *International Journal of Tropical Insect Science*. **24**: 29-43
- Honnay O, Jacquemyn H, Bossuyt B, Hermy M. 2005. Forest fragmentation effects on patch occupancy and population viability of herbaceous plant species. *New Phytologist* **166**: 723-736
- Honnay O, Jacquemyn H. 2007. Suceptibility of common and rare plant species to genetic consequence of habitat fragmentation. *Conservation Biology* **21**: 823-831
- Hufford KM, Mazer SJ. 2003. Plant ecotypes: genetic differentiation in the age of ecological restoration. *Trends in Ecology Evolution* **18**: 147-155
- Ibarra-Manríquez G, Martínez-Ramos M, Dirzo R, Núñez-Farfán J. 1997. La vegetación en: Historia Natural de Los Tuxtlas, Gonzáles Soriano E, Dirzo R, Vogt R (eds.). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Jennings V.H., Tallamy D.G. 2006. Composition and abundance of ground-dwelling Coleoptera in a fragmented and continuous forest. *Enviorn. Entomol.* **35**:1550-1560

- Knigh TM, Steets JA, Vamosi JC, Mazer SJ, Burd M, Campbell DR, Dudash M, Johnston MO, Mitchell RJ, Ashman TL. 2005. Pollen limitation of plant reproduction: pattern and process. *Annual Review of Ecology and Systematics* **36**: 467-97
- Kremen C, Williams NM, Aizen MA, Gemmill-Herren B, LeBuhn G, Minckley R, Packer L, Potts SG, Roulston T, Steffan-Dewenter, Vázquez DP, Winfree R, Adams L, Crone EE, GreenLEAF s, Keitt TH, Klein M, Regetz J, Rocketts T. 2007. Pollination and other ecosystem services produced by mobile organisms: a conceptual framework for the effects of land-use. *Ecology Letters* **10**:299-314
- Larson B, Barrett S. 2000. A comparative analysis of pollen limitation in flowering plants. *Biological Journal of the Linnean Society* **69**: 503-520.
- Lázaro A, Traveset A. 2006. Reproductive success the endangered shrub *Buxus balearica* Lam. (Buxaceae): pollen limitation, and inbreeding and outbreeding depression. *Pl.Syst. Evol.* **261**: 117-128.
- Linhart YB, Grant MC. 1996. Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Annual Reviews of Ecology and Systematics* **27**: 237-277
- Matsuyama A, Sakimoto M. 2008. Allocation to reproduction and relative reproductive costs in two species of *Dioecius anacardiaceae* with contrasting phenology. *Annals of Botany* **101**: 1391-1400
- McGrarical K, Cushman AS. 2002. Comparative evaluation of experimental approaches to the study of habitat fragmentation effects. *Ecological Applications* **12**: 335-345.
- Moller AP, Jennious MD. 2002. How much variance can be explained by ecologists and evolutionary biologist?. *Oecologia* **132**:492-500
- Morón MA, Blackaller J. 1997. Melolonthidae y Scarabidae. En: González-Soriana R. Dirzo R y Vogt R (Eds.) *Historia Natural de Los Tuxtlas*. UNAM, México
- Murcia C. 1995. Forest fragmentation and the pollination of neotropical plants. En Shelhas & Greenberg R (eds.) *Forest patches in tropical landscapes*, pp 19-36, Island Press. Washington D.C.
- Navarrete D, Halffter G. 2008. Dung beetle (Coleoptera: Scarabaeidae: Scarabaeinae) diversity in continuous forest, forest fragments and cattle pastures in a landscape of Chiapas, Mexico: the effects of anthropogenic changes. *Biodivers Conserv* **17**:2869-2898
- Nishikawa Y. 2009. Significance of intra-inflorescence variation on flowering time of spring ephemeral, *Gagea lutea* (Liliaceae) seasonal fluctuations of pollinator and light availabilities. *Plant Ecology* **202**: 337-347.
- Nishizawa T, Watano Y, Kinoshita E, Kawahara T, Ueda K.2005. Pollen movement in a natural population of *Arisaema serratum* (Araceae), a plant with pitfall-trap flower pollination system. *American Journal of Botany* **92**:1114-1123



- Ohashi K, Yahara T. 2001. Behavioral responses of pollinators to variation in floral display size and their influences on the evolution of floral traits. 274-91 En: Chittka L y Thomson J. Cognitive ecology of pollination: animal behavior and floral evolution. Cambridge University Press, UK.
- Oostermeijer JGB, Luijten SH, den Nijs JCM. 2003. Integrating demographic and genetic approaches in plant conservation. *Biological Conservation* **113**: 389-398
- Prati D, Schmid B. 2000. Genetic differentiation of life-history traits within populations of the clonal plant *Ranunculus reptans*. *Oikos* **90**: 442-456
- Saunders DA, Hobbs RJ, Margules C.R. 1991. Biological consequences of ecosystem fragmentation: A review. *Conservation Biology* **5**:18-32.
- Schatz GE. 1990. Some aspects of pollination in Central American forests. En KS Bawa y M Hadley (eds.) Reproductive ecology of tropical forest. Man and biosphere series. UNESCO. Parthenon Publishing Group, Paris.
- Scobie AR, Wilcock. 2009. Limited mate availability decreases reproductive success of fragmented populations of *Linnaea borealis*, a rare, clonal self-incompatible plant. *Annals of Botany* **103**: 835-846
- Sherwin WB, Moritz C. 2000. Managing and monitoring genetic erosion. In: Young AG, Clarke GM (Eds.) Genetics, Demography and viability of fragmented populations. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 9-34.
- Stanley RG, Liskens HF. 1974. Pollen: Biology, Biochemistry, Management. Berlin: Springer-Verlag
- Stephenson AG. 1980. Fruit set, herbivory, fruit reduction and the fruiting strategy of *Atalpa speciosa* (Bignoniaceae) *Ecology* **61**:57-64
- Stokes ME, Davis CS, Koch GG. 2000. Categorical data analysis using the SAS system, 2<sup>nd</sup> edition. SAS Institute, Cary, North Carolina.
- Tamura S, Kudo G. 2000. Wind pollination and insect pollination of two temperate willow species, *Salix miyabeana* and *Salix sachalinensis*. *Plant Ecology* **147**: 185-192
- Totland O. 2001. Environment-dependent pollen limitation and selection on floral traits in alpine species. *Ecology* **82**: 2233-2244
- Trapnell DW, Hamrick JL. 2006. Floral display and mating patterns within populations of the neotropical epiphytic orchid, *Laelia rubescens* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* **93**:1010-1018
- Tscharntke T, Steffan-Dewenter I, Kress A, Thies C. 2002. Contribution of small habitat fragments to conservation of insect communities of grassland-cropland landscapes. *Ecological Applications* **12**:354-363.
- Turner, I.M. 1996. Species Loss in Fragments of Tropical Rain Forest: A Review of the Evidence. *Journal of Applied Ecology* **33**: 200-209.

- Uemura S, Ohkawara k, Kudo G, Wada N, Higashi S. 1993. Heat-production and cross-pollination of the Asian skunk cabbage *Symplocarpus renifolius* (Araceae). *American Journal of Botany* **80**: 635-640
- van Andel J. 1998. Intraspecific variability in the context of ecological restoration projects. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **1**: 221-237
- Wagenius S, Hangelbroek HH, Ridley CE, Shaw RG. 2009. Biparental inbreeding and interremnant mating in a perennial prairie plant: fitness consequences for progeny in their first eighth years. *Evolution*:
- Walting JI, Donnelly MA. 2007. Multivariate correlates of extinction proneness in a naturally fragmented landscape. *Diversity and Distributions* **13**:372-378
- Weinig C. 2002. Phytochrome photoreceptors mediate plasticity to light quality in flowers of the Brassicaceae. *American Journal of Botany* **89**:230-235
- Wilcock C, Neiland R. 2002. Pollination failure in plants: why happens and when it matters. *Trends in Plant Sciences* **7**:270.277
- Wolfe LM, Mazer SJ. 2005. Patterns of phenotypic plasticity and their fitness consequences in wild radish (*Raphanus sativus*: Brassicaceae) *International Journal of Plant Sciences* **166**:631-640
- Young A., Boyle T, Brown T. 1996. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends in Ecology and Evolution* **11**: 413-418.
- Young AG, Brown HD, Zich FA. 1999. Genetic structure of fragmented populations of the endangered daisy *Rufidosis leptorrhynchoides*. *Conservation Biology* **13**:256-265
- Young HJ. 1986. Beetle pollination of *Dieffenbachia longispatha* (Araceae). *American Journal of Botany* **73**: 931-944
- Young HJ. 1990. Pollination and reproductive biology of an understory neotropical aroid. En: KS Bawa & M Hadley (eds.) *Reproductive ecology of tropical forest. Man and biosphere series. Volumen 7*: 151-164. UNESCO. Parthenon Publishing Group, Paris.
- Young HJ. 1998. Differential importance of beetle species pollinating *Dieffenbachia longispatha* (Araceae). *Ecology* **69**: 832-844
- Zhang Y, Zhang D. 2007. Asexual and sexual reproductive strategies in clonal plants. *Front. Biol. China* **2**: 256-262
- Zimmerman M, Pyke GH. 1988. Reproduction in *Polemonium*: assessing the factors limiting seed ser. *American Naturalist* **131**: 723-738