



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

Barreras reproductivas entre dos
especies del género *Marathrum*
(Podostemaceae)

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGÍA AMBIENTAL)

P R E S E N T A

RAÚL LUNA RAMOS

DIRECTORA DE TESIS: DRA. GUADALUPE JUDITH MÁRQUEZ GUZMÁN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

OFICIO FCIE/DEP/046/10

ASUNTO: Oficio de Jurado

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 23 de noviembre de 2009, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGÍA AMBIENTAL)** del (la) alumno (a) **LUNA RAMOS RAUL** con número de cuenta **400052283** con la tesis titulada **"Barreras reproductivas entre dos especies del género *Marathrum* (Podostemaceae)"**, realizada bajo la dirección del (la) **DRA. GUADALUPE JUDITH MARQUEZ GUZMAN**:

Presidente: DR. JUAN NUÑEZ FARFAN
Vocal: DR. FELIPE CRUZ GARCIA
Secretario: DRA. GUADALUPE JUDITH MARQUEZ GUZMAN
Suplente: DRA. MARGARITA COLLAZO ORTEGA
Suplente: DR. CESAR AUGUSTO DOMINGUEZ-PEREZ TEJADA

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

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 28 de enero de 2010.

Dr. Juan Nuñez Farfán
Coordinador del Programa



Agradezco también

A la UNAM y a toda su comunidad por defender el derecho a la educación libre y mantenerse como una de las instituciones educativas más respetadas a nivel internacional.

Al Laboratorio de Desarrollo en Plantas en el cual se realizó gran parte de esta tesis.

A la Dra. Judith Márquez Guzmán por dirigir mis esfuerzos, por hacer que no perdiera la fe en este trabajo y por mantener mi interés en la biología (una vez más).

Al jurado revisor: Dra. Judith Márquez Guzmán, Dr. Juan Núñez Farfán, Dr. César Augusto Domínguez-Pérez Tejada, Dra. Margarita Collazo Ortega y Dr. Felipe Cruz García, por sus valiosos comentarios que sirvieron para que el presente manuscrito fuera un poco más decente.

Al Dr. Juan Núñez Farfán y al Dr. César Augusto Domínguez-Pérez Tejada por su paciencia y consejos durante el arduo proceso de las evaluaciones tutorales.

A la Unidad de Ambientes Controlados de la Facultad de Ciencias, UNAM. Especialmente a la Biól. Laura Patricia Olguín Santos.

Al equipo de campo (Podosteam): M. en C. Ricardo Wong, Biól. Diana Guzmán Merodio y Alfredo Pastor Vázquez Vázquez. Gracias por todo su esfuerzo y dedicación, sobra decir que sin su ayuda este trabajo ni siquiera hubiera arrancado.

A la Dra. Margarita Collazo Ortega y al Biól. Guillermo Raúl Castillo Sánchez por resolver mis reiteradas dudas sobre análisis, distribuciones, ajustes, gráficas, y todo lo que tiene que ver con el tenebroso mundo de la estadística.

A la Biól. Diana Guzmán Merodio por documentar el trabajo de campo y darme casi todas las fotos que ilustran esta tesis. También por ayudarme a la formación del manuscrito final y por corregir mi ortografía todo el tiempo.

Este trabajo está dedicado especialmente

A mis papás, por su cariño, apoyo y confianza.

A Judith y a Mague, por la infinita paciencia y la fe que me han tenido.

A Diana, mi mejor amiga, colega y compañera de aventuras.

A Gil, Huitzi y Memo, por acompañarme en tantos proyectos y sacarme de la rutina.

A toda la banda (Alan, Richi, Fab, Amane, Lilis, Mel, Alfredo, Silvia, Poncho, Leo, Erika, Toño, Lucía, Mario, Bianca, Felipe, Manolo, Pedro, Alicia, José Arcadio, y a otros que se me van pero bien merecen estar aquí), gracias por compartir su vida y tantos momentos tan misceláneos conmigo. Lo digo de nuevo: ¡Soy fan!

A todos en el laboratorio, gracias por hacer más llevadera mi incansable batalla contra las semillas.

A todos los que han ayudado a que hoy esté aquí y sea la persona que quiero ser. No soy más que el conjunto de sus enseñanzas.

En memoria del Dr. L. Alejandro Novelo Retana

-En realidad, las cosas verdaderamente difíciles son todo lo que la gente cree poder hacer a cada momento-

Julio Cortázar

1. Resumen.....	23
2. Introducción.....	25
3. Antecedentes.....	27
3.1. Biología reproductiva de las angiospermas: Implicaciones en el origen y la diversificación del grupo.....	27
3.2. Sistemas reproductivos.....	28
3.2.1. Autogamia.....	28
3.2.2. Alogamia.....	29
3.2.3 Reproducción asexual.....	30
3.2.3.1. Reproducción vegetativa.....	31
3.2.3.2. Agamospermia.....	31
3.3. Barreras reproductivas.....	32
3.3.1. Naturaleza de las barreras reproductivas.....	33
3.3.1.1. Barreras precigóticas.....	33
3.3.1.2. Barreras postcigóticas.....	34
3.3.2. Formación de híbridos.....	35
3.4. Las Angiospermas acuáticas.....	36
3.5. Características generales de la familia Podostemaceae.....	37
3.5.1. Taxonomías de Podostemaceae.....	38
3.5.2. Morfología característica de la familia.....	39
3.5.3. Hábitat y ecología.....	40
3.5.4. Podostemaceae del Nuevo Mundo.....	40
3.5.5. Problemas taxonómicos de los géneros Neotropicales.....	41
3.5.6. Podostemaceae de México.....	42
3.6. Estudios reproductivos en Podostemaceae.....	43
4. Características el género <i>Marathrum</i>	47
4.1. Descripción.....	47
4.2. <i>Marathrum rubrum</i>	48

4.3. <i>Marathrum schiedeanum</i>	49
4.4. Problemática taxonómica del género.....	52
5. Justificación.....	55
6. Hipótesis.....	56
7. Objetivos.....	57
8. Metodología.....	58
8.1.Trabajo de campo.....	58
8.1.1. Localidades.....	58
8.1.2. Polinizaciones manuales.....	60
8.1.3. Identificación, selección y aislamiento de flores para los tratamientos.....	62
8.2. Trabajo de Laboratorio.....	67
8.2.1. Mediciones de peso, longitud y diámetro de las cápsulas.....	67
8.2.2. Número de óvulos y semillas presentes por cápsula.....	68
8.2.3. Tamaño de las semillas.....	69
8.2.4. Pruebas de germinación.....	69
9. Resultados.....	72
9.1. Fenología floral y desarrollo del fruto.....	72
9.2. Identificación, selección y aislamiento de flores para los tratamientos.....	73
9.3. Peso, longitud y diámetro de las cápsulas.....	76
9.4. Número de óvulos y semillas presentes por cápsula.....	78
9.4.1. Número de óvulos.....	78
9.4.2. Número de semillas.....	80
9.5. Tamaño de las semillas.....	82
9.6. Germinación de las semillas.....	87
10. Discusión de los resultados.....	94
10.1. Diferenciación morfológica de las poblaciones.....	94
10.2. Características de los frutos.....	95
10.3. Producción y características de las semillas.....	96
10.4. Características de la germinación.....	98

10.5. Diferencias entre los sistemas reproductivos de las tres poblaciones.....	100
10.6. Compatibilidad interespecífica entre <i>M. rubrum</i> y <i>M. schiedeanum</i>	101
11. Conclusiones.....	103
12. Referencias.....	105
13. Anexo 1. Pruebas estadísticas.....	115

Lista de figuras

- Tabla 1. Características distintivas de las poblaciones de plantas acuáticas y sus posibles consecuencias evolutivas. p. 37.
- Tabla 2. Distribución climática de las Podostemaceae mexicanas. p. 43.
- Tabla 3. Descripción de las etapas identificadas con base en los cambios morfológicos de estambres y estigmas a lo largo del desarrollo de la flor de *M. rubrum*. p. 62.
- Tabla 4. Relación de flores marcadas y colectadas por localidad y por tratamiento. p. 75.
- Tabla 5. Matriz de correlación de las variables medidas en frutos de *Marathrum*. p. 76.
- Tabla 6. Características de los frutos de *Marathrum* (longitud, diámetro, peso fresco y Fruto) y sus diferencias entre las tres localidades estudiadas. p. 77.
- Tabla 7. Diferencias en el número de óvulos, semillas y en el seed set de cápsulas de *Marathrum* para todos los tratamientos realizados en las tres localidades estudiadas. p. 79.
- Tabla 8. Diferencias en el seed-set entre los distintos tratamientos realizados. p. 81.
- Tabla 9. Características de las semillas de *Marathrum* (largo, ancho y promedio) y sus diferencias entre las tres localidades estudiadas. p. 83.
- Tabla 10. Características de las semillas de *Marathrum* (largo, ancho y promedio) y sus diferencias entre todos los tratamientos realizados en las tres distintas poblaciones. p. 84.
- Tabla 11. Diferencia en el tamaño de las semillas en relación con el origen del polen utilizado para su fecundación en tres poblaciones de *Marathrum*. p. 86.

- Figura 1. *Marathrum rubrum*. p. 49.
- Figura 2. *Marathrum schiedeanum*. p. 50.
- Figura 3. Mapa de distribución de *M. rubrum* y *M. schiedeanum*. p. 51.
- Figura 4. Detalle de la estructura de las hojas de *M. rubrum* y *M. schiedeanum*. p. 52.
- Figura 5. Mapa de localización de los sitios en los que se realizó el trabajo de campo.
- Figura 6. Mapa detallado de las tres localidades donde se llevó a cabo el trabajo de campo. p. 59.
- Figura 7. Cambios morfológicos presentes durante el desarrollo de las estructuras reproductivas de *Marathrum rubrum*. p. 63.
- Figura 8. Descripción de la metodología en campo. p. 65.
- Figura 9. Flores y frutos de *M. rubrum* al momento de ser colectadas. p. 66.
- Figura 10. Flores de *Marathrum* en dehiscencia y en etapas posteriores. p. 74.
- Figura 11. Scores y Loadings del análisis de componentes principales realizado sobre la longitud, el diámetro y el peso fresco de frutos de *Marathrum*. p. 76.

- Gráfica 1. Características de los frutos de *Marathrum* (peso fresco, longitud y diámetro) en las tres poblaciones estudiadas. p. 78.
- Gráfica 2. Diferencias en el valor Fruto entre las tres poblaciones de *Marathrum* estudiadas. p. 78.
- Gráfica 3. Número de óvulos y semillas desarrolladas por localidad. p. 80.
- Gráfica 4. Diferencias en el tamaño de las semillas entre las tres localidades de *Marathrum*. p. 83.
- Gráfica 5. Comparación del promedio largo-ancho de las semillas de *Marathrum* en las tres localidades estudiadas. p. 84.
- Gráfica 6. Diferencia en el promedio de mínimos cuadrados del tamaño del fruto entre tratamientos fecundados con polen mayormente alógamo y mayormente autógeno. p. 86.
- Gráfica 7. Capacidad germinativa de *Marathrum*. p. 87.
- Gráfica 8. Germinación diaria de semillas de *Marathrum* en las tres localidades estudiadas. p. 88.
- Gráfica 9. Germinación acumulada de semillas de *Marathrum* en las tres localidades estudiadas. p. 89.

- Gráfica 10. Germinación de semillas de *M. rubrum* del río Los Horcones. p. 90.
- Gráfica 11. Germinación de semillas de *M. schiedeianum* del río Las Juntas. p. 91.
- Gráfica 12. Germinación de semillas de *M. rubrum* de Boca de Tomatlán. p. 92.
- Gráfica 13. Diferencias en los porcentajes de germinación entre semillas producidas por fecundación con polen autógeno y con polen alógeno en las tres poblaciones de *Marathrum*. p. 93.
- Gráfica 14. Diferencias en los porcentajes de germinación de semillas de las tres poblaciones de *Marathrum* producidas por fecundación con polen autógeno y alógeno a lo largo del periodo de observación. p. 93.

1. Resumen

La familia Podostemaceae es la más grande entre las angiospermas acuáticas estrictas. Las características más generales de los sistemas reproductivos de Podostemaceae continúan siendo un misterio, lo cual se debe en parte a la falta de estudios que involucren experimentación en campo. Esto limita la comprensión de procesos ecológicos y evolutivos importantes en la familia. *Marathrum* Humb. & Bonpl. está considerado como uno de los géneros Neotropicales con mayores dificultades taxonómicas. *M. rubrum* y *M. schiedeanum* son dos especies que se distribuyen en la costa del Pacífico Mexicano, presentando una distribución simpátrica en algunos puntos. Ambas especies presentan polimorfismos que pueden dificultar su distinción, por lo que se ha considerado que ambas representan ecotipos de la misma especie. El presente estudio se enfoca en demostrar si ambas especies son interfértiles y si tienen la capacidad de desarrollar semillas viables. Con este fin se realizaron una serie de experimentos de polinización manual en distintas poblaciones de *Marathrum*, con los cuales también se describen las características de los sistemas reproductivos y se presentan las diferencias entre especies y entre poblaciones.

Se comprobó la ausencia de apomixis en ambas especies, se confirmó la ausencia de barreras de autoincompatibilidad, demostrando la importancia de la autogamia en el género, así como el papel que juega la alogamia. También se demostró la ausencia de barreras reproductivas entre las dos especies estudiadas. La fertilidad entre *M. rubrum* y *M. schiedeanum* asociada a la ausencia de barreras interespecíficas posibilita el flujo génico entre especies y la introgresión en las zonas en las que ambas coexisten. Estas características apoyan la hipótesis de que la diferenciación morfológica entre estas especies podría estar determinada por fenómenos de plasticidad fenotípica asociados a las diferencias ambientales presentes en los ríos en donde habitan. Aunque es necesario llevar a cabo estudios genéticos para determinar si *M. rubrum* y *M. schiedeanum* pueden ser considerados ecotipos, los resultados obtenidos constituyen un gran avance en el conocimiento de las características reproductivas del género *Marathrum*, principalmente en lo correspondiente a la existencia de barreras reproductivas interespecíficas.

Abstract

Podostemaceae is the largest family among strictly aquatic angiosperms. Even the most general characteristics of the reproductive systems in this family remain a mystery, which is in part consequence of the lack of studies that involve in situ experiments. This lack of knowledge limits our understanding of ecological and evolutionary processes among Podostemaceae. *Marathrum* Humb. & Bonpl. is a Neotropical genera with huge taxonomic difficulties. *M. rubrum* and *M. schiedeianum* are two species which are distributed in the lowlands of the Mexican Pacific coast, showing sympatric distribution at some locations. Both species show marked polymorphisms that may difficult their distinction, which has make scientists consider that they could very well represent ecotypes of the same species. This study is focused in demonstrate if these two species are cross compatible and if they are capable of developing viable hybrid seeds. A series of experiments involving manual pollinations were realized in *Marathrum* populations. These experiments also help to understand the nature of the reproductive systems in these plants, emphasizing the differences between populations and species. The present study shows that apomixis is absent in both *Marathrum* species; it also confirms the absence of self incompatibility barriers, demonstrating the importance of autogamy in and the relevance of allogamy. The results also prove the lack of reproductive barriers between the two species considered. The reproductive compatibility between *M. rubrum* and *M. schiedeianum* opens the possibility for gene flow and introgression in sympatric zones of these species' distribution. All these characteristics support the hypothesis that the morphologic differentiation in the two *Marathrum* species could well be determined by phenotypic plasticity associated to the environment where each species inhabit. Determining if *M. rubrum* and *M. schiedeianum* are distinct taxonomic species or just ecotypes requires a genetic approach, but the results showed herein constitute a great advance in the knowledge of the reproductive characteristics in the genera, mainly in the subject of reproductive barriers between and within species.

2. Introducción

La familia Podostemaceae Rich. Ex C. Agardh se distribuye en las zonas tropicales del mundo en un hábitat bastante inusual, ya que crecen adheridas al sustrato rocoso de ríos oligotróficos de corriente rápida y caídas de agua. Son las macrófitas dominantes en los sistemas lóticos donde se distribuyen, por lo que son fundamentales para la formación de nichos que aprovechan otras especies animales y vegetales, además son consideradas indicadoras de ambientes no contaminados. Los sistemas reproductivos son de los puntos menos abordados en los estudios en Podostemaceae y el conocimiento que se tiene al respecto es, en general, de carácter observacional. Esto limita la comprensión de procesos ecológicos y evolutivos que pudieran estar actuando en las poblaciones de Podostemaceae. *Marathrum* Humb. & Bonpl. está considerado como uno de los géneros de distribución neotropical con mayores dificultades taxonómicas por problemas de delimitación genérica y subgenérica. La variación morfológica entre poblaciones de *Marathrum* es sumamente alta; no obstante, la delimitación de algunas especies está basada en caracteres morfológicos altamente variables. *Marathrum rubrum* Novelo & Philbrick es un claro ejemplo de este criterio de delimitación específica. *Marathrum rubrum* y *M. schiedeanum* (Cham.) Tul. son especies que se encuentran diferenciadas exclusivamente por caracteres morfológicos de sus hojas. La ocurrencia de altos niveles de variación en los caracteres que definen estas especies ha generado dudas con respecto a su situación taxonómica, y se ha planteado la posibilidad de que ambas pudieran verse como ecotipos de una misma especie. Es en este contexto donde surge la pregunta de si ambas especies son reproductivamente compatibles, como una primera aproximación para la resolución del problema de si *M. rubrum* y *M. schiedeanum* son una misma especie. Para tratar de responder a esta interrogante, se realizaron una serie de polinizaciones manuales entre las dos especies, en condiciones de campo, para establecer la ausencia de barreras reproductivas interespecíficas y la posible formación de semillas híbridas viables. También se realizaron polinizaciones manuales con el fin de comprender mejor el funcionamiento de los sistemas reproductivos de ambas especies, realizando pruebas que ayudaran a entender el papel que juega la alogamia y la autogamia en poblaciones naturales

de *Marathrum*. Todo esto se realizó de forma que se pudieran comparar las características reproductivas de ambas especies y de distintas poblaciones de la misma especie. También se realizaron observaciones sobre la fenología floral, la producción de semillas, el desarrollo de los frutos y el comportamiento germinativo de ambas especies. El presente estudio constituye un gran avance en la comprensión de los sistemas reproductivos y en la naturaleza de las barreras reproductivas de *Marathrum* y de Podostemaceae en general.

3. Antecedentes

3.1 Biología reproductiva de las angiospermas: Implicaciones en el origen y la diversificación del grupo

Las angiospermas forman el grupo de plantas más grande y diverso, con más de 250,000 representantes actuales (Crane *et al.*, 1995). Las características reproductivas de las plantas con flores representan una innovación en el mundo natural y son responsables tanto de la aparición, como de la muy acelerada tasa de diversificación del grupo (Friedman, 2009). La súbita aparición y diversificación de las angiospermas conforman el “abominable misterio” planteado por Charles Darwin a J. D. Hooker en 1879 (Darwin y Seward, 1903); el cual, más que centrarse estrictamente en el problema del origen de las angiospermas, denota la frustración del autor por entender un modelo de evolución acelerada que pone a prueba su principal teoría, consistente en cambios graduales y continuos (Darwin, 1859).

Aunque el debate sobre las causas del súbito origen y la acelerada radiación de las angiospermas sigue en pie (Frohlich y Parker, 2000), no hay duda con respecto a que existe una serie de innovaciones de carácter reproductivo que ha contribuido fuertemente con estos fenómenos. Dentro de las autapomorfías más importantes se pueden mencionar el surgimiento del carpelo que mantiene encerrados a los óvulos, el desarrollo de la sifonogamia, la formación de la flor y la doble fecundación con formación de endospermo (Gorelick, 2001; Raghavan, 2003). Algunos de estos factores han permitido el desarrollo de sistemas de selección natural que promueven el entrecruzamiento, pero también han sido fundamentales en el surgimiento de relaciones ecológicas que han derivado en escenarios coevolutivos muy importantes, como es el caso de la polinización (Thompson, 1994; Aigner, 2006). Todas estas características son, en parte, responsables del gran éxito que las plantas con flores han mantenido desde su origen hace ciento veinticinco millones de años (Sun *et al.*, 2002), pero en conjunto evidencian una capacidad de adaptabilidad superior a la encontrada en cualquier otro grupo de plantas. Las consecuencias de esta adaptabilidad se ven reflejadas en la rápida radiación, la riqueza específica y el éxito ecológico del que gozan las angiospermas (Crepet y Niklas, 2009).

3.2. Sistemas reproductivos

Las plantas vasculares presentan una gran variedad de historias de vida, formas de crecimiento y especializaciones fisiológicas, pero también una asombrosa variedad de formas de reproducción determinadas por diferencias estructurales, fisiológicas y ecológicas (Holsinger, 2000). Esta diversidad de sistemas reproductivos está bien representada en las angiospermas, donde se pueden encontrar grupos con mecanismos que promueven tanto la fecundación cruzada obligada como la autogamia y la reproducción asexual (Grant, 1989). Los sistemas reproductivos tienen consecuencias directas sobre la estructura genética de las especies, que se puede resumir como la identidad y frecuencia de genotipos al interior de una población, y la distribución de estos mismos genotipos entre poblaciones. La estructura genética depende directamente de los patrones de intercambio genético entre individuos y entre poblaciones, y por lo tanto de las características reproductivas (Schoen y Brown, 1991).

El control de la reproducción en plantas se lleva a cabo mediante varias estrategias. Éstas van desde la diferenciación sexual y la formación de poblaciones dioicas, hasta la separación espacial o temporal de los órganos sexuales en individuos hermafroditas que requieren de fecundación por vía alógama (Liedl y Anderson, 1993). En general, las plantas utilizan varios mecanismos en conjunto para garantizar que la fecundación se lleve a cabo de la forma más adecuada.

Las formas de reproducción en angiospermas pueden dividirse en tres grandes grupos de acuerdo con los mecanismos que siguen los individuos para propagar su material genético, y a la relación genética que existe entre los progenitores y sus descendientes: la reproducción por autogamia, la reproducción por alogamia y la reproducción asexual.

3.2.1 Autogamia

La autogamia, o autofecundación, es la fusión de los gametos masculinos y femeninos provenientes de una fuente genéticamente idéntica, que puede ser el mismo individuo o un clon. Este sistema reproductivo prevalece en condiciones en las que no se puede asegurar la entrecruza, como en poblaciones de especies pioneras o fundadoras, o en ambientes en los que son escasos los vectores de polinización (Liedl y Anderson, 1993).

Las especies que presentan sistemas autógamos tienen tamaños de población efectivos pequeños y variables, altos niveles de homocigosis, y un bajo número de alelos y loci polimórficos (Holsinger, 2000). La alta frecuencia de homocigosis puede reducir la adecuación individual al interior de las poblaciones debido a la expresión de genes deletéreos que se encuentran en forma recesiva al interior de los genomas (Charlesworth y Charlesworth, 1987).

A pesar de sus aparentes desventajas, existen varios factores que pueden llevar a reconsiderar la forma en la que se entienden los sistemas reproductivos autógamos. En primer lugar, las poblaciones autógamas se encuentran “purgadas” de la carga de alelos recesivos como consecuencia de numerosas rondas de acción selectiva. Esto explica el por qué no todas las especies autógamas sufren de depresión por endogamia en niveles comparables a los de especies no autógamas con tamaños efectivos similares (Kalisz, 1989; Wright, 1977), y también el por qué no existe una continuidad en los sistemas reproductivos con respecto al nivel de entrecruza (las especies se encuentran adaptadas a la alogamia o a la autogamia, pero no a puntos intermedios) (Schemske y Lande, 1985). La selección natural rápidamente elimina los alelos deletéreos de las poblaciones autógamas, haciendo que éstas estén mejor adaptadas a la homocigosis que sus contrapartes con sistemas alógamos (Gillespie, 2004; Lande y Schemske, 1985). En segundo lugar, la baja tasa de intercambio de alelos entre poblaciones provoca una alta estructuración y diferenciación genética (Schoen y Brown, 1991). Esta estructuración, aunada a posibles procesos de selección diferencial entre poblaciones, hace que las especies autógamas mantengan niveles de variación inter poblacional importantes. Esto las capacita para responder a cambios ambientales de forma similar a las especies alógamas, por lo que no deben ser consideradas “callejones sin salida” que frenan la acción de las fuerzas evolutivas (Stebbins, 1957).

3.2.2. Alogamia

La alogamia, o fecundación cruzada, es la vía por la cual se da la fusión de gametos masculinos y femeninos provenientes de distintos individuos. Los sistemas reproductivos alógamos presentan características genéticas distintas a las de los sistemas autógamos. Se promueve la heterocigosis, la presencia de alelos deletéreos en las poblaciones (ya que al ser recesivos no afectan la adecuación de los individuos en su forma heteróciga), y la generación de múltiples genotipos capaces de adaptarse a ambientes cambiantes (Crumpacker, 1967). El entrecruzamiento promueve la diversidad genética dentro de las poblaciones por medio de la recombinación (Schemske y Lande, 1985).

Los sistemas alógamos garantizan la entrecruza mediante varios tipos de barreras reproductivas, o sistemas de autoincompatibilidad, que impiden la interacción de los gametos masculinos y femeninos de un mismo individuo, así como también mediante vectores de dispersión del polen. Ambos sistemas son importantes y es común que una misma población evite la autogamia por la acción conjunta de éstos (Liedl y Anderson, 1993).

La polinización es el vector encargado de separar los gametos de un mismo individuo y garantizar la entrecruza. La polinización se puede dar a través de medios bióticos o abióticos (Pellmyr, 2002; Shivanna, 2003), garantizando distintos niveles de especificidad en el destino del polen. Las asociaciones bióticas entre las plantas y sus polinizadores son de gran importancia a nivel ecológico y evolutivo. Muchos autores consideran que el éxito de las angiospermas se encuentra directamente relacionado con el establecimiento de relaciones coevolutivas con sus polinizadores (Gorelick, 2001).

La principal desventaja de la alogamia (y de la reproducción sexual en general) es que se necesitan dos individuos para que el sistema funcione, lo que puede ser desventajoso en poblaciones con bajas densidades. En respuesta a esto, muchos sistemas alógamos presentan cierto grado de plasticidad que permite la ocurrencia de autogamia en cuellos de botella y otras situaciones donde no se puede garantizar la entrecruza (Stebbins, 1957). De no presentarse esta capacidad, las poblaciones alógamas estarían destinadas a extinguirse al rebasar un tamaño mínimo poblacional. Otra desventaja de los sistemas con entrecruza es que mantienen un cierto número de alelos deletéreos recesivos en las poblaciones, por lo que un decremento en el tamaño poblacional puede desencadenar eventos de depresión por endogamia (Gillespie, 2004).

3.2.3. Reproducción asexual

La reproducción asexual en plantas es un evento común. Esta forma de reproducción no involucra procesos meióticos ni de singamia e implica la producción de nuevos individuos a partir de tejidos somáticos, pudiendo estar o no en relación con los órganos reproductivos (Mogie, 1992). La reproducción asexual obligada en plantas es muchas veces consecuencia de la formación de híbridos poliploides incapaces de reproducirse por vía sexual (Stebbins, 1950).

Las poblaciones en las que la reproducción asexual es el único método de propagación presentan una serie de características genéticas específicas. El intercambio de genes entre líneas de reproducción asexual es nulo y la variación en una misma línea es producto exclusivo de la mutación somática, lo que eleva la proporción de heterocigotos en las poblaciones, aún cuando la cantidad de alelos polimórficos sea sumamente baja (Grant, 1989). La estructura genética de las poblaciones asexuales es similar a la de las poblaciones autógamas; sin embargo, la homocigosis al interior de las poblaciones no suele ser un problema en poblaciones de reproducción asexual.

La reproducción asexual se da por dos vías principales: la reproducción vegetativa y mediante la producción de semillas o esporas con una composición genética idéntica a la planta madre, proceso conocido como agamosperimia (Holsinger, 2000).

3.2.3.1. Reproducción vegetativa

La reproducción vegetativa consiste en la fragmentación del cuerpo de la planta y en la posterior regeneración de los fragmentos a partir de yemas. En este tipo de reproducción, una estructura vegetativa da lugar a otra, y no requiere de la formación de semillas o esporas.

Existen varias estructuras vegetales especializadas en la reproducción vegetativa: estolones, rizomas, bulbos, cormos, tubérculos, yemas y, en general, cualquier estructura que mantenga células meristemáticas no comprometidas.

La reproducción vegetativa es de gran importancia en las plantas acuáticas. Las estructuras mediante las cuales se da este proceso son similares a las presentes en plantas terrestres, pero la frecuencia con la cual ocurre es mucho mayor. La razón por la cual se da este fenómeno no está totalmente comprendida (Barret *et al.*, 1993).

3.2.3.2. Agamosperimia

La agamosperimia se refiere al desarrollo de semillas o esporas sin fecundación. Las semillas producidas por este mecanismo no pasan por eventos meióticos y no requieren de singamia para su desarrollo (Raghavan, 1997). El proceso por el cual generalmente se lleva a cabo la agamosperimia se conoce con el nombre de apomixis.

Aunque el término apomixis fue originalmente utilizado para denominar todo evento de reproducción asexual, en la actualidad hace referencia al evento de reproducción asexual que se lleva a cabo en el óvulo y que culmina con la producción de semillas (Koltunow *et al.*, 2002). El proceso de apomixis imita los pasos de la reproducción sexual, pero genera sacos embrionarios no reducidos y culmina con la producción de un embrión genéticamente idéntico a la planta madre.

La apomixis puede clasificarse de forma muy general en apomixis obligada y apomixis facultativa. La primera hace referencia a sistemas en los que toda la descendencia se produce por esta vía y, por lo tanto, comparte el genotipo de la planta madre. En el caso de la apomixis facultativa, la descendencia es en parte producida por apomixis y en parte producto de reproducción sexual (Raghavan, 1997). Existen muchas clasificaciones para los distintos tipos de procesos apomícticos dependiendo de la fase en la que se inicia la diferenciación celular o del conjunto de pasos necesarios para desarrollar un embrión. Estas clasificaciones rebasan el objetivo del presente estudio, pero pueden consultarse los trabajos de Koltunow (1993) y Koltunow *et al.* (1995, 2002) para obtener mayor información al respecto.

La agamosperma también puede ser consecuencia de un proceso conocido como embriogénesis somática, el cual, como su nombre lo indica, se refiere a la producción de embriones a partir de células no sexuales. En este caso, la embriogénesis se da a partir de tejidos que presentan actividad meristemática, ya sea mediante la formación de un tejido indiferenciado conocido como callo, o de forma directa a partir de una célula desdiferenciada que se ha tornado meristemática (Conger *et al.*, 1987). La embriogénesis somática puede distinguirse de la apomixis porque: (1) el embrión apomíctico se desarrolla en una célula diferenciada, mientras que el embrión somático se genera a partir de tejido meristemático totipotencial; (2) el embrión apomíctico se desarrolla a partir de una célula gametofítica necesariamente; y (3) el patrón de embriogénesis en la apomixis es prácticamente idéntico al proceso derivado de la reproducción sexual, mientras que la embriogénesis somática presenta algunas diferencias, como la ausencia de cigoto (Koltunow, 1993).

3.3. Barreras reproductivas

Las plantas poseen barreras reproductivas que limitan las posibles vías de fecundación dentro y entre especies. Las barreras de reproducción intraespecíficas, mejor conocidas como sistemas de autoincompatibilidad, promueven la entrecruza de individuos de la misma

especie, mientras que las barreras interespecíficas mantienen la identidad genética de las especies, limitando el flujo génico entre individuos de distintos linajes evolutivos (Liedl y Anderson, 1993). En este estudio se hablará específicamente de las barreras utilizadas para impedir el flujo génico entre especies y la consecuente producción de híbridos.

3.3.1. Naturaleza de las barreras reproductivas

Las barreras reproductivas se clasifican de acuerdo a su relación temporal con el proceso de la fecundación. Los mecanismos que impiden la fecundación se conocen con el nombre de barreras precigóticas, mientras que las barreras que afectan el desarrollo y viabilidad de los cigotos se conocen con el nombre de barreras postcigóticas (Riesberg y Carney, 1998).

3.3.1.1. Barreras precigóticas

Los mecanismos que impiden la fecundación pueden ser de origen espacial, temporal, etológico (en el caso de los polinizadores), fisiológico y genético. Los tres primeros están relacionados con procesos ecológicos como la polinización, la fenología floral y la distribución o el hábitat de las especies. Estos mecanismos limitan la llegada del polen de una especie al estigma de otra (Campbell *et al.*, 1997; Emms y Arnold, 1997; Nagy, 1997a, 1997b). Los últimos dos mecanismos se relacionan con procesos bioquímicos que se llevan a cabo una vez que el polen ha arribado al estigma y afectan procesos como la adhesión e hidratación del polen, o la germinación y el crecimiento del tubo polínico (Barret, 1998).

Los mecanismos genéticos de reconocimiento pueden considerarse como una extensión de los sistemas de autoincompatibilidad (Raghavan, 1997; Barrett, 1998; de Nettancourt, 2001; Cruz-García y McClure, 2001) o estar relacionadas con una no-correspondencia genética o incongruencia (Hogenboom, 1975; de Nettancourt, 2001).

Otro evento precigótico que lleva a una fecundación no azarosa con respecto al genotipo del polen es la competencia entre granos de polen. La competencia entre gametos no sólo previene la hibridación, sino que promueve la entrecruza y permite que se seleccionen los organismos más vigorosos en dos etapas independientes del ciclo de vida: durante la fase gametofítica y durante la fase esporofítica (Riesberg y Carney, 1998).

3.3.1.2 Barreras postcigóticas

El hecho de que pueda existir un evento de fecundación entre individuos de dos especies distintas no garantiza la formación de individuos híbridos vigorosos y viables; de hecho, ni siquiera garantiza la formación de embriones híbridos. Dentro de los eventos que pueden presentarse como una barrera postcigótica se encuentran la debilidad o inviabilidad de los híbridos, la esterilidad, y un fenómeno conocido como colapso híbrido en el cual la inviabilidad o esterilidad no se presenta sino hasta la segunda generación (Gillet, 1972). Sin embargo, la presencia de inviabilidad o esterilidad puede ser sumamente variable, por lo que este tipo de barreras no siempre son completamente eficientes (Stebbins, 1957).

Estos fenómenos pueden deberse a rearrreglos cromosómicos, originados por una falta de correspondencia entre los cariotipos de las especies hibridizantes. Chandler *et al.* (1986) y Tadmor *et al.* (1987) realizaron estudios en los que comprueban que la inviabilidad del polen en plantas híbridas está directamente relacionada con la presencia de translocaciones cromosómicas en las mismas. Estudios más recientes han demostrado que algunas especies presentan una barrera genómica contra la introgresión; esta barrera está asociada a las diferencias de la estructura cromosómica presentes entre especies (Riesberg, *et al.*, 1996).

La inviabilidad o esterilidad de los híbridos también puede ser consecuencia de alteraciones a nivel genético. Dobzhansky (1937) planteó que los genes de distintas especies podrían interactuar en formas negativas. Esto se ha reinterpretado como la falta de correspondencia entre los genes de una especie y el trasfondo genético de la otra, o una mala adaptación a los alelos de la otra especie, lo cual puede ser considerado como una extensión del fenómeno de incongruencia (Hermsen y Sawicka, 1979). Esta falta de correspondencia genética se puede interpretar como la acción antagónica de un gen -modelo estándar- que promueva la inviabilidad o esterilidad, o como la acción acumulativa de una serie de alelos antagónicos -modelo poligénico- (Riesberg y Carney, 1998). La mayoría de los estudios realizados hasta la fecha se han enfocado en corroborar el modelo estándar; sin embargo, es bastante más probable que este tipo de barrera reproductiva sea consecuencia de la acción o inacción de varios genes (Li *et al.*, 1997).

3.3.2. Formación de híbridos

Aun con la ocurrencia de barreras reproductivas limitando el flujo génico entre distintas especies de plantas, la ocurrencia de híbridos en la naturaleza no es poco común (Levin, 1979) y constituye un mecanismo importante en la evolución de muchos grupos de plantas (Carney *et al.*, 1996; Howard, 1999). En especies taxonómicamente cercanas con distribución simpátrica o parapátrica es fácil encontrar zonas híbridas que pueden estar controladas por selección exógena (dependiente del ambiente), o endógena (dependiente de las barreras reproductivas) (Emms y Arnold, 1997).

Se han propuesto varios modelos para explicar la prevalencia de estas zonas híbridas (Campbell *et al.*, 1997). El modelo de la desventaja de los híbridos propone que estas clinas representan el balance entre la selección favoreciendo a los morfos parentales, sin tomar en cuenta el ambiente, y teniendo en cuenta el flujo génico entre éstos. El modelo de clina ambiental propone que la selección natural favorece a los alelos de los dos morfos de forma diferencial en ambos extremos del gradiente, manteniendo la gradación de híbridos por selección y flujo génico. El modelo de la ventaja del híbrido propone la existencia de un ecotono en el rango de distribución, donde los híbridos presentan una mayor adecuación que los morfos parentales. El modelo de difusión neutral propone la mezcla de alelos neutros después del contacto inicial de los morfos parentales. Por último, el modelo de oleaje propone que uno de los morfos parentales tiene una ventaja selectiva sobre el otro y su rango de distribución está en constante avance.

Otro fenómeno que comúnmente se desprende de la interfertilidad heteroespecífica es el vigor híbrido o heterosis. Este fenómeno consiste en una elevación drástica de la adecuación de la primera generación de híbridos con respecto a las especies parentales, y es común en especies cercanamente relacionadas (Grant, 1989). Una escala más amplia de actividad enzimática, así como una versatilidad bioquímica elevada, generadas a partir de modelos genéticos basados en dominancia, sobredominancia y epistasis, podrían ser factores que expliquen este fenómeno (Mitchell-Olds, 1995). El principal problema con la heterosis es que el vigor que ésta confiere a los organismos puede perderse rápidamente debido a problemas de infertilidad o a una dilución de las propiedades ventajosas en generaciones sexuales sub-

secuentes. Una forma para mantener las propiedades benéficas de la heterosis es la alopoliploidia (Grant, 1989). Por este medio se pueden mantener poblaciones híbridas estables, haciendo del vigor híbrido un evento de consecuencias evolutivas importantes.

3.4. Las angiospermas acuáticas

Aproximadamente el 2% de las angiospermas ha reconquistado el agua después de conquistar la tierra (Cook, 1996). Las angiospermas acuáticas se han establecido en sistemas lóticos (ríos y arroyos) y lénticos (lagos, lagunas y esteros); se han adaptado a la vida en ambientes de agua dulce, salobre y salina; y se encuentran distribuidas en todas las zonas climáticas del mundo, adaptándose incluso a hábitats de condiciones extremas (Sculthorpe, 1967). La reconquista del ambiente acuático ha generado una gran diversidad de formas de vida: desde aquellas que mantienen la mayoría de las estructuras y procesos de sus parientes terrestres, hasta las que presentan fuertes adaptaciones al ambiente acuático (Cook, 1996; Philbrick y Les, 1996). Esta diversidad ha dificultado incluso la definición de “plantas acuáticas” (Sculthorpe, 1967; Hutchinson, 1975).

Existen características comunes a la mayoría de las plantas acuáticas que son importantes para la comprensión de los procesos ecológicos y evolutivos que ocurren en sus poblaciones (Ver Tabla 1). Entre estas características destacan: un alto grado de convergencias morfológicas entre grupos -consecuencia de las adaptaciones necesarias para la vida acuática-; una tendencia generalizada a la reducción de estructuras vegetativas y reproductivas; y un elevado polimorfismo dentro y entre poblaciones. Estas mismas características son responsables de que la clasificación de los grupos de plantas acuáticas sea un problema considerable para los taxónomos (Barrett *et al.*, 1993).

La variedad de formas de vida en las angiospermas acuáticas, y en las hidrófitas vasculares en general, fue descrita en detalle por Sculthorpe (1967). Esta clasificación hace énfasis en la relación de las plantas con el sustrato, con el nivel del agua y con la relación entre las estructuras vegetativas y reproductivas con el ambiente aéreo. De esta forma, distingue entre formas de vida adheridas al sustrato y plantas que se encuentran en flotación libre; pero también, entre las plantas con estructuras aéreas y sumergidas, y entre algunas que tienen modificaciones morfológicas del cuerpo vegetativo.

Tabla 1. Características distintivas de las poblaciones de plantas acuáticas y sus potenciales consecuencias evolutivas. Tomado de Barret *et al.*, (1993)

Característica	Ocurrencia	Consecuencias evolutivas
Alta plasticidad fenotípica	Mayoría de los grupos	Protege genotipos contra heterogeneidad ambiental y reduce la intensidad de la selección
Propagación clonal prolífica	Especies perennes, especialmente sumergidas y flotantes	Puede formar poblaciones genéticamente uniformes y reducir el riesgo de mortalidad genotípica
Reproducción sexual limitada	Especies clonales, aquellas de origen híbrido	Limita la recombinación y reduce la diversidad genética
Reproducción precoz	Especies anuales en hábitats en hábitats efimeros	Permite la radiación a nuevos ambientes
Polinización hidrófila	Muchas especies sumergidas	El flujo génico por polen se limita a fuentes de agua
Esporas dispersadas por agua	Muchos grupos	Provee oportunidades para dispersión local y a larga distancia

El alto polimorfismo característico de las plantas acuáticas podría estar asociado a una gran incidencia de diferenciación ecotípica (Sculthorpe, 1967; Barrett *et al.*, 1993). Esto quiere decir que las diferencias presentes entre dos poblaciones de plantas acuáticas podrían no tener una base genética, sino más bien estar definidas con base en diferencias ambientales. Barrett *et al.* (1993) recomiendan la realización de estudios genéticos y ecológicos para determinar la naturaleza de las adaptaciones en poblaciones de plantas acuáticas.

3.5. Características generales de la familia Podostemaceae

La familia Podostemaceae Rich Ex C Agardth (Magnoliopsida) es considerada la más grande y diversa dentro de las angiospermas acuáticas estrictas (Philbrick y Novelo, 1995) con cerca de 280 especies distribuidas en 49 géneros (Cook, 1996). Estas plantas crecen adheridas al sustrato rocoso de ríos rápidos y cascadas en zonas tropicales de todo el mundo (Philbrick y Novelo, 2004). Se encuentran en el este de Asia, el noreste de Australia, Nueva Guinea, África central, Madagascar y América (Cook, 1996). El ciclo de vida de estas plantas tiene correspondencia con la estacionalidad de los ríos en los que se desarrollan; el mayor crecimiento vegetativo se da durante la época de lluvias, y una vez que el nivel de los

ríos empieza a decrecer inicia el desarrollo de estructuras reproductivas, las cuales necesitan de un ambiente seco para desarrollarse (Philbrick y Novelo, 1995). Las características ecológicas, morfológicas y los patrones evolutivos presentes en esta familia contrastan de forma significativa con los demás grupos de angiospermas; sin embargo, los estudios en la familia no son abundantes y gran parte de su biología continúa siendo un misterio.

3.5.1 Taxonomía de Podostemaceae

Las especies de este grupo presentan fuertes modificaciones anatómicas, morfológicas, fisiológicas y ecológicas con respecto a otras angiospermas. Estas modificaciones pueden entenderse como adaptaciones al hábitat peculiar de estas plantas, y han representado un gran reto para el trabajo taxonómico (Les *et al.*, 1997). Tanto la posición de Podostemaceae al interior de las angiospermas (APG, 2003), como el ordenamiento interno del grupo, han sido frecuentes objetos de discusión; y las modificaciones y re conceptualizaciones taxonómicas -desde la definición de subfamilias hasta la de especies- no son poco comunes (Philbrick y Novelo, 2004).

La ubicación taxonómica de Podostemaceae estuvo en debate durante mucho tiempo. La falta de acuerdos taxonómicos y la poca comprensión de la morfología de la familia, llevaron a muchos autores a considerar este grupo como un Orden (Podostemales) (Dahlgren, 1980; Takhtajan, 1980) o como una Clase distinta dentro de las angiospermas (Podostemopsida) (Cusset y Cusset, 1988). Finalmente se recurrió a la utilización de diversos marcadores moleculares (Soltis *et al.*, 1999; Soltis *et al.*, 2000; Kita y Kato, 2001), con lo cual se reunió suficiente evidencia para ubicarla en el clado de las Malpighiales, junto con Malpighiaceae, Turneraceae, Passifloraceae, Salicaceae, Euphorbiaceae, Violaceae, Linaceae, Chrysobalanaceae, Trigoniaceae, Humiriaceae, y Ochnaceae. Dicho clado está dentro del grupo denominado Eurósidas I (APG, 2003).

Engler (1930) dividió a la familia en tres subfamilias: Podostemoideae, Tristichoideae y Wedellinoideae. Posteriormente van Royen (1951, 1953) la dividió sólo en Podostemoideae y Tristichoideae. Sin embargo, estudios recientes (Jäger-Zürn, 1997; Rutishauser, 1997; Kita y Kato, 2001) apoyan la división originalmente propuesta por Engler, en la cual se reconoce la tercer subfamilia Wedellinoideae (Rutishauser, 1997), siendo esta última un grupo hermano

de Podostemoideae (Kita y Kato, 2001). Podostemoideae es la subfamilia más grande con 42 géneros y alrededor de 270 especies; Tristichoideae agrupa cinco géneros y diez especies; mientras que Wedellinoideae es monotípica con *Wedellina squamulosa* como única representante (Cook, 1996).

3.5.2. Morfología característica de la familia

Estas plantas presentan características morfológicas muy peculiares que hacen difícil su comparación con cualquier otro grupo de plantas vasculares. Esto se debe a la falta de correspondencia aparente entre los elementos estructurales básicos -raíz, tallo y hoja- en relación con otros grupos de angiospermas, lo que ha llevado a algunos autores a referirse a la morfología del grupo como confusa (Rutishauser, 1995, 1997). El cuerpo vegetativo de las podostemáceas se presenta como una estructura “taloidé” dorsiventralmente aplanada que incorpora raíces, tallo y hojas (Sculthorpe, 1967). Esto hace que su morfología se apegue más a la de algas y briofitas que a otras plantas vasculares.

Los conflictos para interpretar el origen de estructuras a todo nivel continúan, aún con las técnicas utilizadas hoy en día. Por ejemplo, Rutishauser *et al.* (2003) plantearon la ausencia de una región apical en el tallo y, consecuentemente, la ausencia de un meristemo apical del tallo en algunos géneros de la familia, principalmente en la subfamilia Podostemoideae. La hipótesis de estos autores es que la estructura que funge como tallo en estas plantas es, en realidad, una sucesión de bases foliares. Estudios posteriores en especies del género *Marathrum* (Jäger-Zürn, 2005a) demostraron que las interpretaciones anteriores eran erróneas y que en realidad sí existe una zona apical del tallo con una región meristemática en las especies de Podostemoideae, al igual que en el resto de las angiospermas.

Además de la morfología peculiar, se debe tener en cuenta que Podostemaceae presenta el elevado nivel de polimorfismo característico de plantas acuáticas (Barrett *et al.*, 1993), tanto a nivel individual como poblacional. Estos polimorfismos no se limitan a las estructuras vegetativas, sino que se presentan igualmente en los órganos reproductivos de las plantas (Rutishauser, 1995). La gran plasticidad presente en todos los grupos de podostemáceas indica que su peculiar morfología podría no ser consecuencia de las adaptaciones a hábitats extremos (Sculthorpe, 1967) y estar más bien determinada por el azar (Rutishauser, 1997;

Barrett *et al.*, 1993). El nicho ecológico específico de Podostemaceae y la ausencia de competencia con otros grupos, sirven para fundamentar esta idea.

3.5.3 Hábitat y ecología

Las podostemáceas se encuentran restringidas a las corrientes rápidas y caídas de agua de ríos oligotróficos, con un rango de temperatura aproximado de 14 a 27°C, alcanzando profundidades de hasta un metro (Sculthorpe, 1967). Todos los géneros de la familia requieren de las mismas condiciones ecológicas para su correcto desarrollo: un sustrato sólido, una periodicidad en los niveles de agua ligado a cambios estacionales, agua limpia y corriente, alta intensidad lumínica, y la presencia de un biofilm de cianobacterias que les ayuda en el intercambio de nutrientes y en la fijación al sustrato (Philbrick y Novelo, 2004).

Las corrientes rápidas pueden ser las zonas más productivas de los ríos (Horne y Goldman, 1994). Debido a que las podostemáceas son las macrófitas dominantes en este hábitat, resulta factible pensar que desempeñan un papel central en la ecología de estos cuerpos de agua. Las poblaciones de Podostemaceae pueden variar las condiciones del hábitat mediante la alteración de corrientes superficiales, la generación de refugios, fuentes de alimento y zonas de apareamiento para la biota (peces y artrópodos principalmente), además de contribuir con el sistema lótico como la fuente autóctona de carbono más importante (Philbrick y Novelo, 1995; Quiroz *et al.*, 1997). A pesar de su importancia ecológica, son pocos los estudios que se han realizado en podostemáceas y es aún menor el número de estudios en especies neotropicales.

3.5.4 Podostemaceae del Nuevo Mundo

En América las podostemáceas se distribuyen desde México hasta el noreste de Argentina, con excepción de *Podostemum ceratophyllum* Michx., que al ser una especie de clima templado, se encuentra representada en latitudes más elevadas que van desde el sureste de Canadá hasta el sur de Estados Unidos (Philbrick y Novelo, 1995). El 60% (ca. 160 spp.) de las especies de la familia, representando 20 géneros, tiene una distribución Neotropical (Philbrick y Novelo, 2004). De estas especies, cerca de 70% se agrupa en cuatro géneros, todos pertene-

cientes a la subfamilia Podostemoideae: *Apinagia* Tul. con 50 especies, *Marathrum* Humb. & Bonpl. con 25 especies, *Rhyncholacis* Tul. con 25 especies (Philbrick y Novelo, 1995) y *Podostemum* Michx. con 11 especies (Philbrick y Novelo, 2001, 2004).

3.5.5 Problemas taxonómicos de los géneros neotropicales

La taxonomía de gran parte de los géneros americanos de la familia es problemática (Rutishauser, 1997; Rutishauser *et al.*, 1999; Rutishauser y Cook, 2001). El mayor avance en la clasificación de las especies americanas de la familia se realizó a mediados del siglo XX por van Royen (1951, 1953, 1954), quien clasificó cerca de una tercera parte de las especies reconocidas actualmente. La monografía de van Royen fue una gran contribución para la mejor comprensión del grupo. Sin embargo, los estudios subsecuentes han sido muy limitados.

Philbrick y Novelo (1995) reportan que sólo se publicaron seis artículos sobre podostemáceas del Nuevo Mundo entre 1971 y 1993. En los últimos años se ha prestado mayor atención a los grupos neotropicales de la familia (Novelo y Philbrick, 1997, 1997a; O'Neill *et al.*, 1997; Philbrick y Novelo, 1997, 2004; Quiroz *et al.*, 1997; Oropeza *et al.*, 1998; Rutishauser *et al.*, 1999; Osborn *et al.*, 2000; Murguía-Sánchez, 2003; Murguía-Sánchez *et al.*, 2001, 2002; Passarelli *et al.*, 2002; Philbrick *et al.*, 2004; Jäger-Zürn, 2005; Jäger-Zürn *et al.*, 2006). Sin embargo, la información taxonómica continúa siendo insuficiente para establecer una clasificación robusta y confiable, especialmente a nivel de género y especie (Philbrick y Novelo, 1995; Rutishauser, 1997; Rutishauser *et al.*, 1999).

El trabajo taxonómico en Podostemaceae se ha visto dificultado por varias características propias del grupo. En primer lugar, se debe tener en cuenta que la forma de las plantas y los patrones de desarrollo siguen estando poco entendidos en muchos de los géneros, y no se pueden explicar -o por lo menos no fácilmente- por medio de un esquema clásico de raíz-tallo-hoja (Rutishauser, 1997). En segundo lugar, es necesario considerar que estas plantas presentan una plasticidad fenotípica considerable que no ha sido suficientemente estudiada (Rutishauser *et al.*, 1999). La presencia de polimorfismos es común en plantas acuáticas (Sculthorpe, 1967), lo que dificulta el trabajo de clasificación, sobre todo cuando se utilizan características morfológicas vegetativas para definir a las especies, como ha sucedido en varios géneros importantes de podostemáceas Neotropicales como *Marathrum* (Novelo

y Philbrick, 1993, 1997), *Podostemum* (Philbrick y Novelo, 2004), *Apinagia* y *Rhyncholacis* (Rutishauser, 1997). La variación en características morfológicas vegetativas no se ha correlacionado con factores ambientales, lo que en ciertos casos impide catalogar una población de morfología particular como una especie distinta o como una variedad inducida por el ambiente (Philbrick y Novelo, 1995). En tercer lugar, cabe mencionar que ciertas características de la historia de vida de las podostemáceas dificultan el trabajo de colecta. Philbrick y Novelo (1995) mencionan varios problemas asociados con la existencia de colecciones deficientes, destacando la dificultad para acceder al hábitat de ciertas especies, la existencia de una morfología vegetativa alternante (las hojas presentan características distintas en temporada de lluvias y en temporada de secas), la separación temporal de la etapa de desarrollo vegetativa con respecto a la etapa reproductiva, y la degeneración de ciertos tejidos como consecuencia de la desecación de las hojas.

Todos estos factores pueden estar influyendo sobre las categorías taxonómicas vigentes, y ciertas características distintivas de la familia podrían ser un artefacto derivado de un desconocimiento taxonómico (Philbrick y Novelo, 1995). El hecho de que la mayoría de los géneros presenten muy pocas especies (44% de los géneros de la familia son monotípicos), la gran cantidad de géneros presentes en la familia, así como el elevado nivel de endemismos (van Royen, 1951; Cook, 1996), podrían ser consecuencias de este desconocimiento taxonómico.

3.5.6 Podostemaceae de México

En México se distribuyen cinco géneros y nueve especies de Podostemaceae: *Marathrum* Humb & Bonpl. (*M. rubrum* Novelo & Philbrick, *M. schiedeanum* (Cham.) Tul., *M. tenue* Liebm. y *M. minutiflorum* Engler), *Oserya* Tul. & Wedd. (*O. coulteriana* Tul. y *O. longifolia* Novelo & Philbrick), *Podostemum* Michx. (*P. ricciiiforme* (Liebm.) P. Royen), *Tristicha* Du Petit-Thouars (*T. trifaria* (Bory ex Willd.) Spreng.) y *Vanroyenella* Novelo & Philbrick (*V. plumosa* Novelo & Philbrick). De éstos, un género (*Vanroyenella*) y cuatro especies (*M. rubrum*, *O. coulteriana*, *O. longifolia* y *V. plumosa*) son endémicas (Novelo y Philbrick, 1997; Bueno *et al.*, 2005). En algunos ríos, como el Horcones, en Jalisco, se presentan hasta cuatro especies distintas, que corresponden a cuatro diferentes géneros: *Marathrum*, *Oserya*, *Tristicha* y *Vanroyenella* (Novelo y Philbrick, 1997).

Las podostemáceas mexicanas se encuentran distribuidas en tres tipos de climas, según la clasificación de Köeppen (1948) y García (1988): climas calientes y húmedos, climas secos y climas templados húmedos (Ver Detalles en la Tabla 2). Estas plantas se pueden ubicar principalmente en ocho provincias fisiográficas, según la clasificación de Rzedowski (1988), las cuales corresponden a la Planicie Costera Noroccidental, la Sierra Madre Oriental, el Eje Volcánico Transversal, la Planicie Costera Nororiental, la Depresión del Balsas, la Sierra Madre del Sur, el Sistema Montañoso de la Región Norte de Oaxaca y la Planicie Costera Suroriental (Novelo y Philbrick, 1997).

Tabla 2. Distribución climática de las Podostemaceae mexicanas. Basado en datos de Novelo y Philbrick (1997).

Tipo de clima	Subtipo	Especies reportadas
Climas calientes y húmedos Tipo A	Aw: Amplia temporada de secas	<i>Podostemum ricciforme</i> <i>Tristicha trifaria</i> <i>Vanroyenella plumosa</i> <i>Marathrum</i> spp. <i>Oserya</i> spp.
	Am: Temporada de secas reducida	<i>P. ricciforme</i> <i>T. trifaria</i> <i>Marathrum</i> spp.
	Af: Lluvias todo el año	<i>P. ricciforme</i> <i>T. trifaria</i> <i>Marathrum</i> spp.
Climas secos Tipo B	Bw: Muy árido	<i>O. coulteriana</i>
	Bs: Árido	<i>Oserya</i> spp. <i>P. ricciforme</i> <i>T. trifaria</i>
Climas templados húmedos Tipo C	Cw: Lluvias de verano	<i>Marathrum</i> spp. <i>Oserya</i> spp. <i>P. ricciforme</i> <i>T. trifaria</i>

3.6. Estudios reproductivos en Podostemaceae

Los sistemas reproductivos juegan un papel determinante en la biología de todas las especies vegetales. La estructura poblacional, la diversidad genética y la especiación, son fenómenos que se encuentran fuertemente relacionados con las características reproductivas de una especie (Lloyd y Barrett, 1996). A pesar de su importancia, los sistemas reproductivos de la familia Podostemaceae se encuentran poco estudiados, principalmente como consecuencia de la dificultad de llevar a cabo estudios experimentales en campo (Philbrick y Novelo, 1993).

Los miembros de Podostemaceae se contraponen a un paradigma ampliamente reconocido en plantas acuáticas, que es la prevalencia de bajas tasas de especiación como consecuencia del abatimiento de la reproducción sexual por métodos de reproducción clonal (Sculthorpe, 1967; Les *et al.*, 1997). Esta prevalencia de la asexualidad en plantas acuáticas también se relaciona con bajos tamaños efectivos de población y en consecuencia, con la presencia de variación no adaptativa resultado de procesos de deriva (Barrett *et al.*, 1993). Es evidente que la predominancia de la reproducción sexual en Podostemaceae conlleva consecuencias ecológicas y evolutivas para la familia, mismas que se verán afectadas por las características del sistema reproductivo de cada especie.

La morfología de las flores en algunos géneros de Podostemaceae indica que estos podrían presentar sistemas autógamos (Cook, 1988), aunque la presencia de sistemas mixtos (autogamia - alogamia) es más probable (Kholza, *et al.*, 2000; Okada y Kato, 2002). Se han propuesto sistemas de polinización entomófila (von Grubert, 1974; Cook, 1988; Rutishauser, 1997) y anemófila (Willis, 1902; Sculthorpe, 1967) para distintos géneros de la familia; sin embargo, la mayoría de estas aseveraciones no tiene el respaldo de estudios experimentales. Hasta la fecha, pocas investigaciones se han enfocado en determinar los sistemas reproductivos presentes en Podostemaceae con base en datos experimentales obtenidos específicamente para dicho fin.

El estudio sobre la biología reproductiva de *Podostemum ceratophyllum* realizado por Philbrick (1984) constituye un gran avance en el conocimiento de los sistemas reproductivos de la familia. *P. ceratophyllum* es una especie de climas templados del Nuevo Mundo que se distribuye en ríos de Estados Unidos y Canadá. Esta especie presenta un sistema reproductivo totalmente autógamo, con un mecanismo de polinización cleistógamo. Este estudio y otros posteriores (Kholza *et al.*, 2000, 2001) demuestran que aún cuando la relación polen-óvulo suele ser muy grande y la viabilidad del polen siempre es cercana al 100%, la producción de semillas se encuentra muy por debajo de la capacidad reproductiva óptima, lo que indica un sistema no del todo eficiente. Las poblaciones de *P. ceratophyllum* presentan desarrollo carpelar aún en ausencia de polinización y sin producción de semillas.

Otros estudios reportan la presencia de sistemas reproductivos de características similares al descrito por Philbrick. La ocurrencia de autogamia obligada por cleistogamia se ha reportado en *Cladopus nymanii* (Möller, 1899), *C. japonicus* (Imamura, 1928) y *Griffithella*

hookeriana (Kholsa *et al.* 2001). Este tipo de polinización es el que aparentemente presentan todos los sistemas de fecundación subacuática observados en la familia, ya que la velocidad de la corriente en los ríos rápidos impide la ocurrencia de cualquier tipo de sistema hidrófilo (Okada y Kato, 2002).

Okada y Kato (2002) utilizaron la proporción polen/óvulo (p/o) para determinar la naturaleza autógena o alógama de veinte especies de Podostemaceae correspondientes a quince géneros, incluyendo especies de Australia, Brasil, Guyana, Sri Lanka y Tailandia. Observaciones en campo y en laboratorio permitieron establecer rangos en los cuales el logaritmo de p/o identificara la presencia de autogamia o alogamia. Los autores establecieron valores de $\log(p/o)$ superiores a 2.5 como correspondientes a especies alógamas, mientras que valores menores a 2.0 se asociaron a especies autógenas. Los resultados de dicho estudio indican que la familia presenta una gran variedad de sistemas reproductivos que van desde la autogamia estricta con flores cleistógamas, hasta la alogamia mediada por vectores bióticos (entomofilia en el caso de especies de *Apinagia* y *Rhyncolacis*).

También se han realizado estudios sobre los sistemas reproductivos en *Polypleurum* (Kholsa *et al.*, 2000), *Griffithella* (Kholsa *et al.*, 2001) e *Indotristicha ramosissima* (Kholsa y Sehgal, 2009). Todos estos estudios han demostrado que estas especies presentan sistemas reproductivos principalmente autógenos, aunque no descartan la ocurrencia de alogamia por anemofilia.

Philbrick y Novelo (1998) realizaron un estudio en *Marathrum rubrum*, donde arrojan detalles sobre su sistema reproductivo, estableciendo la ausencia de sistemas de autoincompatibilidad y de procesos apomícticos; la ocurrencia de autofecundación y de entrecruza como vías reproductivas; y la posible ocurrencia de anemofilia.

Los estudios de Podostemaceae en México están constituyéndose como herramientas invaluable para la resolución de problemas a nivel taxonómico, morfológico y ecológico, necesarios para una mejor comprensión de la biología de estas extrañas plantas (Rutishauser *et al.*, 1999).

4. Características del género *Marathrum*

4.1 Descripción

Marathrum es un género neotropical conformado por cerca de 25 especies que se distribuyen en México, América central, las Antillas y en porciones noroccidentales de Sudamérica (van Royen, 1951). Este género posee especies tanto anuales como perennes (Murguía-Sánchez, 2003). Son hierbas pequeñas o grandes, postradas, aplanadas, con raíces alargadas. Tienen un talo postrado, alargado y grueso. Hojas alternas, peciolo cilíndrico o ligeramente comprimido, lámina pinnada, repetidamente bifurcada o subentera con unos pocos lóbulos a lo largo del margen, pinnas primarias alternas o subopuestas, las divisiones posteriores capiliformes, filiformes o spatuladas. Flores hermafroditas, actinomorfas o zigomorfas, pediceladas que surgen axilarmente entre la base de las hojas, solitarias o en fascículos, cubiertas por una spatela en forma de saco. La spatela es clavada. Los pedicelos se alargan durante y después de la antesis, con o sin un ápice expandido formando una estructura en forma de copa en torno a la base de la cápsula. Presenta de tres a diez tépalos con apariencia de escamas, alternos con los estambres. Presenta de dos a once estambres, libres, en un verticilo que circunda el pistilo o sobre un lado del mismo; son deciduos, las anteras son basifijas, con dehiscencia introrsa o latrorsa. El polen se libera en mónadas. El ovario es bilocular. No presenta estilo. Tiene dos estigmas libres o basalmente fusionados, cónicos. Los óvulos son numerosos con placentación axilar. Las cápsulas son biloculares, con valvas iguales, persistentes, cada una con tres o cuatro costillas, y márgenes de la sutura engrosados. Contiene semillas numerosas (Novelo y Philbrick, 1997).

La peculiar morfología de estas plantas ha provocado debates en la interpretación de algunas de sus estructuras. Jäger-Zürn (2005a, 2005b) y Jäger-Zürn *et al.* (2006) consideran que la lámina de las hojas de *Marathrum* no es en realidad pinnada, sino ensiforme, repetidamente ramificada, con proyecciones no vascularizadas (enaciones) clavadas, que se desarrollan como filamentos elongados. Este tipo de disección foliar es similar al que se presenta en otras plantas acuáticas, como en el género *Hydrostachys* (Hydrostachyaceae), que además tiene un nicho ecológico semejante al de Podostemaceae (Jäger-Zürn *et al.*, 2006).

Este carácter podría verse como una adaptación al ambiente subacuático ya que aumenta la superficie de contacto de la lámina con el medio y reduce la resistencia de las hojas a la corriente, disminuyendo el daño foliar. Estas hojas ensiformes de ramificación pinnada representan una convergencia evolutiva con las hojas pinnadas verdaderas, comunes en otras angiospermas.

En México se encuentran cuatro especies reportadas de *Marathrum*: *M. minutiflorum* (Bueno *et al.*, 2005), *M. rubrum* Novelo y Philbrick, *M. schiedeanum* Cham Tul y *M. tenue* Liebm (Novelo y Philbrick, 1997). Estas especies generalmente crecen junto a *Tristicha trifaria* (Bory ex Willd.) Spreng. *M. tenue* está comúnmente asociada con *Podostemum rutilifolium* subsp. *ricciiforme* (Liebm.) Novelo & C. T. Philbrick, mientras que *M. schiedeanum* se encuentra frecuentemente junto con *Oserya coulteriana* y *Vanroyenella plumosa* Novelo & Philbrick (Novelo y Philbrick, 1997).

M. rubrum y *M. schiedeanum* son especies muy similares en términos morfológicos (Philbrick y Novelo, 1995; Rutishauser, 1997). Como las especies de estudio del presente trabajo, ambas serán descritas a continuación.

4.2. *Marathrum rubrum*

De acuerdo con Novelo y Philbrick (1993), *Marathrum rubrum* (Figura 1) es una hierba perenne; presenta raíces elongadas, postradas y aplanadas, de alrededor de 1 mm de diámetro; los peciolo son cilíndricos, ligeramente aplanados; la hoja tiene un raquis central expandido y prominente, pinnado repetidamente. La pinnación primaria suele ser alterna, mientras que las divisiones subsecuentes son capilosas, de 1.2 a 4.5 mm de largo y de 0.02 a 0.06 mm de ancho, el ápice es agudo; los pedicelos van de 3 a 5.5 cm de largo y presentan un ápice expandido en forma de copa alrededor de la base de la cápsula. Este ápice mide entre 1.5 y 2 mm de diámetro y presenta un borde irregular; tiene entre siete y nueve tépalos, de 0.5 a 0.9 mm de largo, y triangulares, insertados de forma alternada con los estambres. Presenta de siete a nueve estambres, insertados en un anillo que rodea el pistilo; los filamentos van de 2.3 a 4 mm de largo; las anteras, de 1.5 a 2.8 mm de largo; los estigmas, de 0.6 a 1.5 mm de largo; las cápsulas, de 4.5 a 5 mm de largo y de 1.7 a 2.2 mm de diámetro; cada valva presenta tres costillas; la media de semillas por cápsula es de 676 (SD 296, n=29).

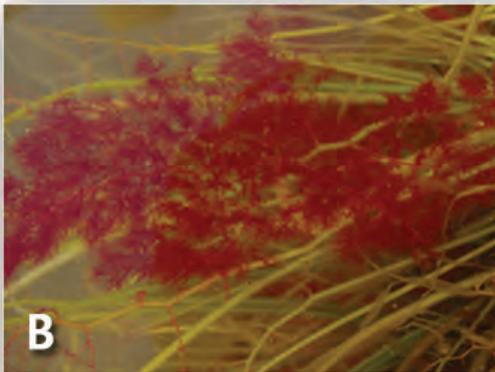
Los caracteres distintivos de *M. rubrum* se encuentran en las hojas. Es la única especie del género que presenta divisiones capiliformes y una coloración rojiza tanto en la superficie

adaxial como en la abaxial de sus hojas. Otras especies de *Marathrum* presentan esta coloración únicamente en la parte abaxial de las hojas (Novelo y Philbrick, 1993).

Marathrum rubrum es endémica de las partes bajas de la costa del Pacífico de México. Ha sido colectada sólo en algunos ríos de Jalisco y Guerrero (Figura 3), donde puede encontrarse junto con *O. coulteriana*, *T. trifaria* y *V. plumosa* (Novelo y Philbrick, 1993).



Figura 1. *Marathrum rubrum*. A. Hojas donde se puede apreciar el color característico de la especie. río Los Horcones, Noviembre de 2005. B. Acercamiento de las hojas donde se aprecian las divisiones foliares, nótese que las últimas divisiones son sumamente delgadas y que la lámina no presenta una estructura definida. río Los Horcones, Enero de 2007. C. Acercamiento de un conjunto de flores, todas se encuentran fuera de la espata en etapas pre o post antesis. río Los Horcones, enero de 2008.



4.3 *Marathrum schiedeantum*

De acuerdo a Novelo y Philbrick (1997), *Marathrum schiedeantum* (Figura 2) es una planta anual o perenne (sic); el tallo llega a medir hasta 20 cm de largo, algunas veces se encuentra ramificado, postrado o aplanado, con hasta 2.5 cm de diámetro; las hojas son verdes, pero frecuentemente se puede observar un color rojizo en la superficie abaxial; miden hasta 80

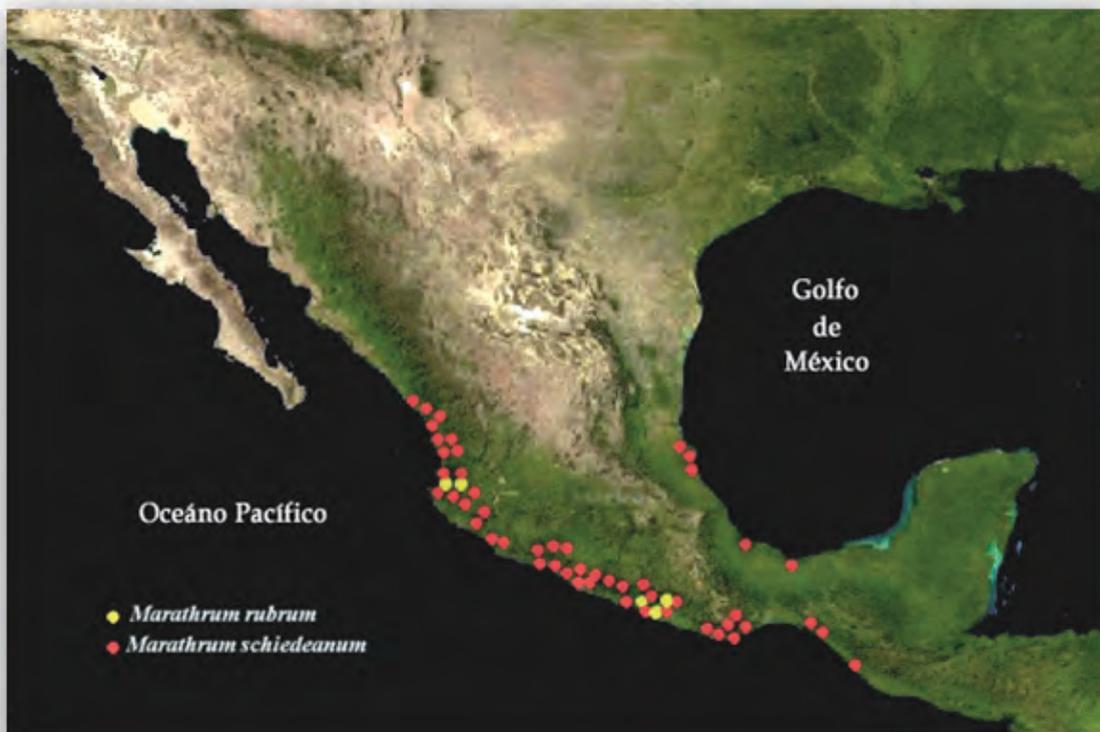
cm de largo; los peciolos van de cilíndricos a ligeramente aplanados; la hoja tiene un raquis central expandido y prominente, pinnado, dividido repetidamente; la pinnación primaria es comúnmente alterna, las divisiones posteriores pueden ser filiformes o espatuladas, de 2 a 4 mm de largo y de 0.18 a 0.6 mm de ancho; el ápice es agudo. Los pedicelos van de 4 a 10 cm de largo con un ápice expandido en forma de copa alrededor de la base de la cápsula; este ápice va de 1.3 a 3 mm de diámetro, con un borde que puede ser liso o irregularmente denticado. Presentan de seis a diez tépalos, que van de 0.4 a 1 mm de largo, triangulares, insertados alternadamente con los estambres, que son de siete a nueve, insertados en un anillo que rodea el pistilo. Los filamentos van de 3.8 a 6.5 mm de largo; las anteras, de 1.4 a 2.8 mm de largo; los estigmas, de 0.1 a 1.5 mm de largo; las cápsulas, de 4 a 6 mm de largo y de 1.7 a 2.5 mm de diámetro. Cada valva presenta tres costillas; la media de semillas por cápsula es de 392 (SD 279, n=76).

Figura 2. *Marathrum schiedeanum*.

A. Detalle de las hojas. Se aprecia una estructura más definida que en el caso de *M. rubrum*. Río Mismaloya, Jalisco. Enero de 2007. B. Vista de una planta que se encuentra por encima del nivel del río. Barra inferior=10 cm. Tomada de Jäger-Zürn *et al.*, 2007. Río Majagua, Chiriqui, Panama (fotografía de M. Piepenbrig). C. Acercamiento de un conjunto de flores en distintas etapas de desarrollo. Nótese que no se observan hojas cercanas a este manchón de flores. Río Las Juntas.



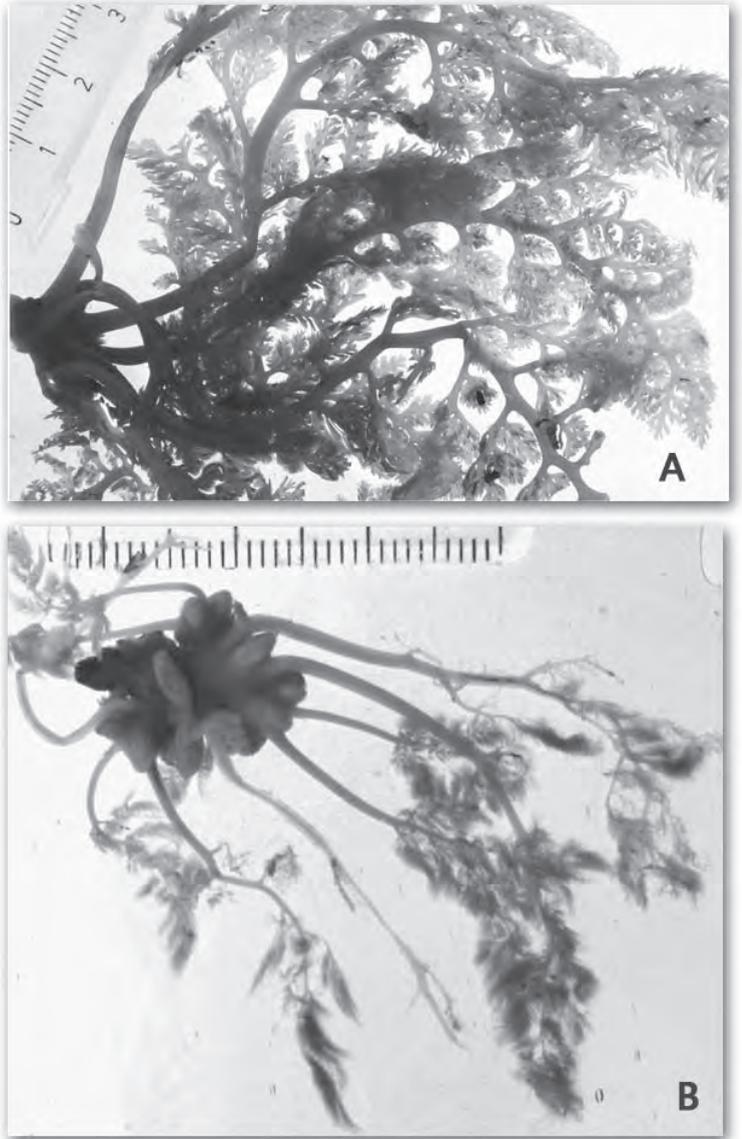
Marathrum schiedeanum tiene una amplia distribución en las zonas bajas de México (por debajo de los 1,000 msnm), de Nayarit a Chiapas en la costa del Pacífico, y en Veracruz en la costa del Atlántico. *M. schiedeanum* se distribuye también en Guatemala, Belice y Costa Rica (Novelo y Philbrick, 1997) (Figura 3).



Según Jäger-Zürn *et al.* (2006) *M. rubrum* se distingue de *M. schiedeanum* principalmente por la forma de las proyecciones parenquimáticas (o enaciones) que se desprenden de las divisiones foliares. Mientras que las hojas de *M. rubrum* se encuentran divididas en fascículos con filamentos numerosos y alargados derivados de enaciones posicionadas irregularmente, *M. schiedeanum* presenta fascículos derivados de enaciones con una distribución bien organizada, formando unidades clavadas y subuladas que asemejan pequeños árboles (Figura 4).

Figura 3. Mapa de distribución de *M. rubrum* y *M. schiedeanum*. Se muestran los sitios donde se ha colectado *M. rubrum* en color amarillo y los sitios donde se ha colectado *M. schiedeanum* en color rojo. Basado en las colectas de van Royen y Novelo y Philbrick. Modificado de Novelo y Philbrick, 1997.

Figura 4. Detalle de la estructura de las hojas de *M. rubrum* y *M. schiedeanum*. A. Hojas de *M. schiedeanum*. Las enaciones se presentan en forma de pequeños árboles con una ramificación organizada en unidades subuladas, clavadas y cortas. B. Hojas de *M. rubrum*. La lámina de las hojas de esta especie se distingue por sus numerosas proyecciones en forma de filamentos estrechos y muy elongados provenientes de enaciones que mantienen un posicionamiento irregular. Tomado de Jäger-Zürn *et al.*, 2007.



4.4. Problemática taxonómica del género

A pesar de los esfuerzos por incrementar el conocimiento sobre los géneros americanos de la familia Podostemaceae, *Marathrum* continúa siendo uno de los grupos con mayores problemas taxonómicos (Rutishauser, 1997), su taxonomía es generalmente confusa debido al alto grado de variación en las estructuras vegetativas en algunas especies (Rutishauser *et al.*, 1999).

Novelo y Philbrick (1997) reconocen el complejo *M. schiedeanum* tratando como una sola especie a tres especies originalmente propuestas por van Royen en 1951: *M. elegans* P. Royen, *M. haenkeanum* Engl. y *M. shiedeanum*. Esta decisión se toma debido a que la variación en la morfología foliar dentro y entre estas tres especies hacía sumamente difícil su distinción. Este complejo deja fuera a otras especies afectadas por el mismo problema, como *M. rubrum* y *M. minutiflorum*.

M. rubrum presenta características foliares muy específicas que hacen posible su distinción de las demás integrantes del complejo *M. schiedeanum*, aún cuando dichas características no se encuentran exentas del elevado polimorfismo característico del género (Novelo y Philbrick, 1993, 1997; Rutishauser, 1995, 1997; Rutishauser *et al.*, 1999). La compleja morfología foliar de *Marathrum* y los problemas taxonómicos que de ésta se desprenden no son exclusividad de las especies mexicanas (Burger, 1983; Rutishauser *et al.*, 1999), sino que constituyen una constante del género, lo que hace necesaria una reevaluación taxonómica integral de *Marathrum*.

En el caso específico de *M. rubrum* y *M. schiedeanum*, se ha propuesto en más de una ocasión que ambas podrían representar formas ambientales o ecotipos de una misma especie (Philbrick y Novelo, 1995; Rutishauser, 1997). El principal problema para interpretar las interacciones entre las estructuras vegetales que están genéticamente determinadas, y aquellas que están en función del ambiente, se debe a la falta de conocimiento sobre los patrones de desarrollo y sobre la estructura corporal básica de las plantas del género *Marathrum* y de la familia en general (Rutishauser *et al.*, 1999). Otro problema es que no existe evidencia clara acerca de los factores ecológicos que podrían favorecer la presencia de características distintivas entre ecotipos. El único estudio que ha abordado las diferencias en el hábitat de estas dos especies fue realizado por Quiroz *et al.* (1997), y está enfocada a la cantidad de nutrientes y contaminantes presentes en los ríos en los que se distribuye Podostemaceae en México. Los resultados de este trabajo demuestran que *M. schiedeanum*, a diferencia de *M. rubrum*, puede encontrarse en ríos con una alta disponibilidad de nutrientes, aunque también se encuentra presente en sistemas oligotróficos. Los resultados de estos estudios deben tomarse con reservas, ya que se basan en mediciones puntuales que no necesariamente reflejan las características prevaletentes en los ríos a lo largo de un año.

Una característica destacable con respecto a la distribución de estas especies es la presencia de una sola especie residente por río (Philbrick y Novelo, 1995). Un claro ejemplo de este fenómeno se presenta en los ríos Los Horcones y Los Veranos en Jalisco. *M. rubrum* se presenta en Los Horcones y *M. schiedeanaum* en Los Veranos, y sólo *M. rubrum* se encuentra presente después de que ambos ríos confluyen. La desaparición de *M. schiedeanaum* después de la confluencia de los ríos es un evento inesperado, ya que esta especie se encuentra ampliamente distribuida en los ríos de la región.

Estudios previos sobre barreras reproductivas entre *M. rubrum* y *M. schiedeanaum* (Luna-Ramos, 2006) demostraron la ausencia de barreras precigóticas entre estas dos especies.

5. Justificación

La falta de información sobre la interacción entre factores ambientales y la variabilidad morfológica en géneros como *Marathrum* hace necesaria una revisión integral de la taxonomía de éste y otros grupos (Rutishauser *et al.*, 1999). Esta revisión debe entenderse como el resultado de una mejor comprensión de la familia Podostemaceae en términos ecológicos, reproductivos y genéticos. La reconceptualización de algunas especies como ecotipos o razas locales implica un replanteamiento de las características paradigmáticas de la familia, como su riqueza taxonómica, la prevalencia de grupos monotípicos y el elevado nivel de endemismo (Philbrick y Novelo, 1993). Pero también implica una revalorización del papel ecológico de los miembros de esta familia, ya que estas plantas son las macrófitas dominantes en los ríos donde se distribuyen, y los cambios ambientales que pudieran fomentar su distinción podrían verse exponenciados por las propias plantas, generando comunidades claramente distintas (Novelo y Philbrick, 1997).

La presencia de interfertilidad entre *M. rubrum* y *M. schiedeanum* no demuestra que ambas especies puedan ser consideradas ecotipos, pero es un paso en esa dirección, además de aportar información importante sobre las características reproductivas del género.

6. Hipótesis

Si la variación morfológica presente entre *M. rubrum* y *M. schiedeianum* es producto de plasticidad fenotípica, se espera que no existan barreras reproductivas que impidan la formación de semillas viables en cruces heteroespecíficas. También se espera que las semillas híbridas mantengan un vigor similar a las semillas producidas por cruces conespecíficas y que no existan alteraciones en el desarrollo temprano de las plántulas.

H_0 : Las flores en las que se llevaron a cabo polinizaciones interespecíficas producen frutos y semillas viables, igual que las flores fecundadas por polen conespecífico.

H_a : Las flores en las que se llevaron a cabo polinizaciones interespecíficas presentan alteraciones en el desarrollo de frutos y/o semillas en comparación con flores fecundadas por polen conespecífico.

7. Objetivos

Objetivo general

Determinar el grado de compatibilidad reproductiva entre *Marathrum rubrum* y *M. schiedeanum*.

Objetivos particulares

Describir y comparar las características de la reproducción sexual de *M. rubrum* y *M. schiedeanum* en tres poblaciones distintas.

Determinar si existen eventos de aislamiento reproductivo en *M. rubrum* y *M. schiedeanum* que impidan el desarrollo de semillas viables en cruzas heteroespecíficas.

Establecer si existen diferencias en la viabilidad de las semillas híbridas en comparación con semillas de las especies parentales.

Establecer si existen diferencias en la viabilidad de las semillas producto de la alogamia y semillas producto de autogamia.

8. Metodología

8.1. Trabajo de campo

8.1.1. Localidades

El trabajo de campo se llevó a cabo durante enero y diciembre de 2007 y en enero de 2008. Consistió en la realización de experimentos de polinización manual in situ para evaluar varios aspectos de la biología reproductiva de *Marathrum rubrum* y *M. schiedeana*, en dos ríos de fuerte corriente del estado de Jalisco, México (Figuras 5 y 6).



Figura 5. Mapa de localización de los sitios en los que se realizó el trabajo de campo. La zona ampliada, marcada con un recuadro blanco, corresponde a una parte del estado de Jalisco. En el mapa ampliado se señalan tanto la ciudad de Puerto Vallarta como las tres localidades donde se realizó este estudio.



Los experimentos con *M. rubrum* se llevaron a cabo en dos localidades ubicadas en el río Los Horcones. La primera localidad se encuentra ubicada 27 km al sur de Puerto Vallarta, cerca del puente Los Horcones, a una altitud de 350 msnm, en el municipio de Cabo Corrientes ($20^{\circ} 27' 45'' \text{N}$, $105^{\circ} 17' 30'' \text{O}$); la segunda localidad se encuentra en la desembocadura del río Los Horcones, cerca del poblado de Boca de Tomatlán, en el municipio de Puerto Vallarta ($20^{\circ} 31' 50'' \text{N}$, $105^{\circ} 17' 15'' \text{O}$). Los experimentos con *M. schiedeanum* se llevaron a cabo en el río Las Juntas, 50 km al sur de Puerto Vallarta, cerca del puente Las Juntas del Sur, a una altitud de 300 msnm, en el municipio de El Tuito ($20^{\circ} 29' 00'' \text{N}$, $105^{\circ} 17' 35'' \text{O}$). Los ejemplares de referencia se encuentran depositados en el Herbario Nacional de México (MEXU): *M. rubrum*, Los Horcones, Novelo & Tellez 982 (MEXU); Novelo & Tellez 979 (MEXU); Novelo & Philbrick 1035 (MEXU); *M. schiedeanum*, Las Juntas, Novelo & Tellez 986 (MEXU).

Figura 6. Mapa detallado de las tres localidades donde se llevó a cabo el trabajo de campo (en letras amarillas), así como los principales ríos de la zona.

Los dos ríos en los que se llevó a cabo el trabajo de campo muestran características muy similares de acuerdo con el estudio de Quiroz *et al.* (1997). Según estos autores, tanto Los Horcones como Las Juntas presentan bajos niveles de contaminación y pueden considerarse como oligotróficos o ultraoligotróficos, con bajos niveles de nitrógeno, fósforo, sodio, potasio, magnesio y calcio, con un pH cercano a 8 y una temperatura de 24°C. El clima de la región es del tipo Aw, de acuerdo a la clasificación de García (1988). Este clima es de tipo cálido húmedo con una prolongada temporada de secas. La vegetación asociada a estas poblaciones es una selva baja subperennifolia (Rzedowski, 1988; Novelo y Philbrick, 1997).

8.1.2. Polinizaciones manuales

En las tres localidades se llevaron a cabo experimentos correspondientes a nueve tratamientos, los cuales corresponden a una serie de polinizaciones manuales con distintos donadores de polen y a un grupo de controles para detectar posibles efectos asociados a la manipulación de las flores. A continuación se enumeran los nueve tratamientos realizados y se hace una breve descripción de la metodología seguida, así como de la justificación de cada uno:

1. **Prueba de autopolinización:** se aislaron las flores en una etapa previa a la antesis, y una vez en antesis se realizó la polinización de forma manual utilizando su mismo polen. Con este tratamiento se pretendió conocer si existía algún mecanismo de autoincompatibilidad que impidiera el desarrollo de semillas por la vía de la autofertilización.
2. **Prueba de apomixis:** se emascularon y se aislaron las flores en una etapa previa a la antesis; el aislamiento se mantuvo hasta el momento de la colecta. Este tratamiento pretendió establecer si existía formación de semillas por vía apomíctica.
3. **Prueba de entrecruza:** se emascularon las flores en una etapa previa a la antesis y se dejaron expuestas de forma que se posibilitara la polinización con polen de otras flores de la población. Esta prueba no distingue entre geitonogamia y xenogamia debido a la dificultad para reconocer “individuos” en el campo y a la imposibilidad de impedir la geitonogamia por la continua y rápida producción de flores por parte de una misma planta. Mediante este tratamiento se puede estimar el papel que juega el polen no autógeno en la producción de semillas.
4. **Cruzas conespecíficas intrapoblacionales:** las flores fueron emasculadas y aisladas antes de la antesis, y una vez receptivas, se polinizaron manualmente con polen procedente de flo-

res del mismo río que estuvieran a por lo menos cinco metros de distancia (para incrementar la probabilidad de que se tratara de distintos individuos). Este tratamiento constituyó un testigo contra el cual debían compararse los resultados de las cruzas heteroespecíficas, ya que el tipo de manipulación fue idéntico al que se lleva a cabo en estos tratamientos.

5. Cruzas conespecíficas interpoblacionales: las flores fueron emasculadas y aisladas antes de la antesis, y una vez receptivas, se polinizaron manualmente con polen procedente de otra localidad, pero de la misma especie. Este tratamiento fue exclusivo para *M. rubrum*, ya que sólo se trabajó en una localidad con *M. schiedeana*. Las cruzas realizadas fueron Los Horcones x Boca de Tomatlán y Boca de Tomatlán x Los Horcones. Este tratamiento también fue un testigo comparable al Tratamiento 4 (Cruzas conespecíficas intrapoblacionales) y los resultados no deberían de ser distintos a éstos.

6. Cruzas heteroespecíficas (*M. rubrum* x *M. schiedeana* y *M. schiedeana* x *M. rubrum*): las flores fueron emasculadas y aisladas antes de la antesis, y una vez receptivas, se polinizaron manualmente con el polen de otra especie. Las cruzas realizadas fueron Las Juntas x Los Horcones, Las Juntas x Boca de Tomatlán, Los Horcones x Las Juntas y Boca de Tomatlán x Las Juntas. Este tratamiento fue el más importante de este estudio, ya que establecía la capacidad de formación de híbridos presente entre estas dos especies.

7. Control de daño por manipulación I (emasculación): las flores fueron emasculadas antes de la antesis sin ser aisladas posteriormente; una vez que las flores estaban receptivas fueron polinizadas manualmente con polen de la misma especie sin importar si procedía del mismo individuo o de uno distinto, asegurándose que la cantidad de polen depositada en el estigma fuese mayor a la que se encuentra normalmente en flores receptivas. Este tratamiento fue un testigo para determinar el efecto de manipulación en los resultados como consecuencia del proceso de emasculación. Los resultados de este tratamiento se pueden comparar con el tratamiento Control (descrito más adelante).

8. Control de daño por manipulación II (aislamiento): las flores fueron embolsadas antes de la antesis; sin embargo, las bolsas utilizadas para este tratamiento solo estaban cerradas por el extremo del pedicelo, permitiendo el ingreso de polen a la flor. Las anteras no fueron removidas en este caso. Este tratamiento fue un testigo para medir efectos de manipulación asociados con la fijación de la bolsa de aislamiento a los pedicelos de las flores jóvenes.

9. **Controles:** estas flores solamente fueron marcadas antes de la antesis y se colectaron al mismo tiempo que el resto de los tratamientos.

Para determinar si existían diferencias en el desarrollo de semillas como consecuencia del tipo de polen utilizado (autógamo o alógamo), estos mismos tratamientos fueron divididos en dos grupos de acuerdo al polen con el que principalmente fueron fecundadas las flores. Los frutos de las pruebas de autopolinización, de apomixis y los controles fueron considerados como de origen principalmente autógamo. Los frutos de las pruebas de entrecruza, las cruza interespecíficas, interpoblacionales e intrapoblacionales se consideraron como de origen principalmente alógamo.

8.1.3. Identificación, selección y aislamiento de flores para los tratamientos

La identificación, selección y aislamiento de flores se realizó siempre entre diez y once de la mañana. A esta hora del día las anteras de las flores en antesis aún no han liberado sus granos de polen y, dado que las flores elegidas para los experimentos recién emergieron de la espata, la probabilidad de contaminación por polen local se elimina. El número de flores con las características necesarias para ser utilizadas en este estudio fue suficiente en cada una de las tres poblaciones. La identificación y selección de flores donadoras de polen se realizó alrededor de las doce del día, cuando la mayoría de las flores maduras libera el polen.

Tabla 3. Descripción de las etapas identificadas con base en los cambios morfológicos de estambres y estigmas a lo largo del desarrollo de la flor de *M. rubrum* (Guzmán-Merodio, 2006). La etapa seleccionada para llevar a cabo los experimentos de polinización manual de este estudio fue la 3.

	Morfología de los estambres	Morfología de los estigmas
Etapa 1	Dentro de la espata / Anteras en forma de flecha	Coloración púrpura / Cerrados
Etapa 2	Ápice de las anteras fuera de la espata / Anteras en forma de flecha con coloración magenta	Coloración púrpura/ Cerrados
Etapa 3	Estambres totalmente fuera de la espata / Los estambres se encuentran adheridos al ovario / Anteras en forma de flecha con coloración magenta	Coloración púrpura / Cerrados
Etapa 4	Las anteras adquieren una posición perpendicular con respecto al filamento / Los estambres se separan del ovario / El polen se encuentra expuesto	Coloración púrpura / Separados
Etapa 5	Las anteras presentan una coloración café y comienzan a degenerar	Coloración café / Separados

Las flores seleccionadas para todos los experimentos se encontraban en la misma etapa de desarrollo, la cual coincide con la Etapa 3 de desarrollo floral descrita por Guzmán-Merodio (2006) (ver Tabla 3 y Figura 7). En esta etapa el pedicelo se elonga, causando que la cubierta protectora o espatale quede por debajo del ovario, por lo que todas las estructuras reproductoras se encuentran totalmente expuestas. Sin embargo, al inicio de esta etapa, los estigmas aún no se encuentran receptivos.

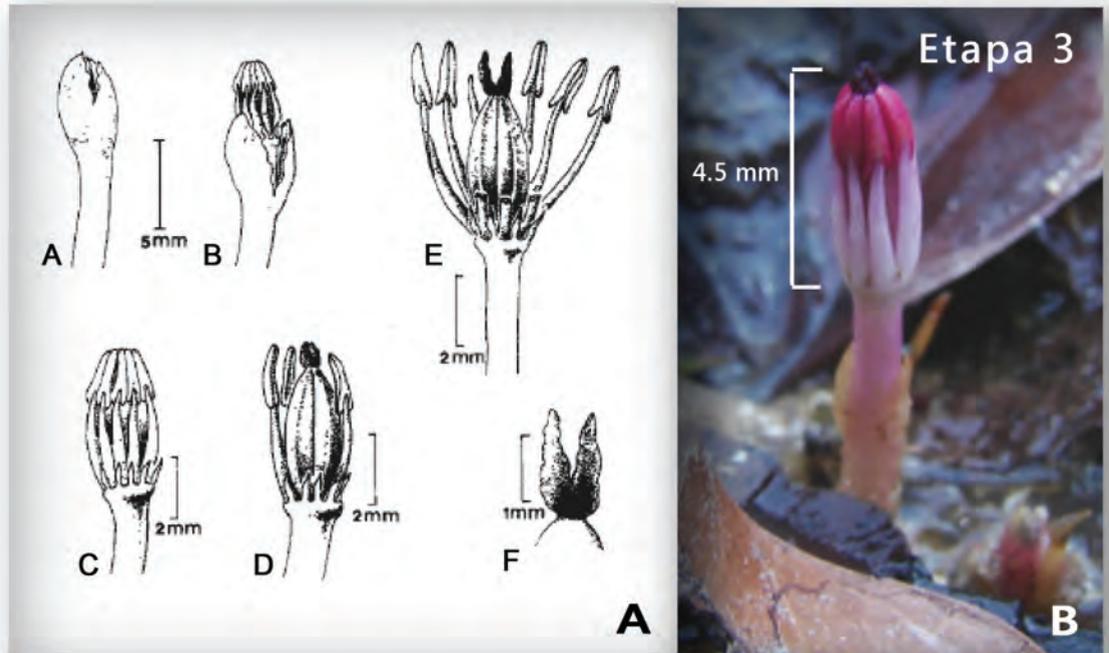


Figura 7. 7A. Ilustraciones de los cambios morfológicos presentes durante el desarrollo de las estructuras reproductivas de *Marathrum rubrum* en correspondencia con las etapas establecidas por Guzmán-Merodio (2006). (A) Botón floral al momento de la ruptura de la espatale (etapa 1); (B) Flor con el ápice por fuera de la espatale (etapa 2); (C) Flor totalmente fuera de la espatale, las anteras aún no se encuentran dehiscentes (etapa 3); (D) Flor en etapa 3; se aprecian claramente los estigmas, los cuales aún se encuentran juntos; (E) Flor al momento de la dehiscencia de las anteras; los estigmas se encuentran separados y receptivos (etapa 4); (F) Detalle de los estigmas durante la etapa 4. (Modificada de Novelo y Philbrick, 1993). 7B. Flor de *M. rubrum* en etapa 3, se aprecian todos los rasgos característicos de esta etapa (Los Horcones, Jalisco; enero de 2008).

Las emasculaciones se llevaron a cabo de forma manual con ayuda de pinzas de disección, teniendo cuidado de que las anteras retiradas no se quedaran adheridas a la flor. Este es un error que puede presentarse frecuentemente ya que las anteras son sumamente pequeñas (2 mm de largo aproximadamente), y se adhieren con gran facilidad a cualquier superficie, además de presentar una coloración similar al resto de los órganos florales durante esta etapa.

En todos los tratamientos que requirieron de aislamiento se siguió la técnica de Philbrick y Novelo (1998), utilizando membranas de diálisis Spectra^{mr} de 32 mm (Figura 8). Las membranas de diálisis son el instrumento ideal para el aislamiento de estas pequeñas flores, ya que su porosidad permite el libre intercambio de gases, pero impide el paso de cualquier partícula de tamaño similar al de los granos de polen, por lo que constituyen una barrera efectiva contra la polinización. Estas membranas de forma tubular se cortaron en secciones de 5 cm que fueron amarradas con hilos de algodón o nylon por un extremo, para después ser colocadas alrededor de las flores (a manera de capucha) y fueron amarradas al pedicelo por el otro extremo, manteniendo un nudo no muy apretado que fuera capaz de mantener la capucha unida a la flor sin dañar el pedicelo. Las membranas de diálisis no fueron retiradas de las flores tratadas hasta que los estigmas degeneraron o hasta que éstas fueron colectadas.

Todas las polinizaciones manuales se realizaron 24 horas después de la selección y aislamiento de las flores. Este periodo es suficiente para que los estigmas se tornen receptivos (Guzmán-Merodio, 2006; Luna-Ramos, 2006). Las flores receptoras fueron polinizadas por contacto directo de los estigmas con las anteras de las flores donadoras evitando la presencia de polen ajeno al utilizado en el experimento.

Inicialmente se identificaron y marcaron entre cincuenta y sesenta flores por tratamiento por río, teniendo un total aproximado de 500 flores marcadas en cada población y alrededor de 1,500 flores marcadas en las tres localidades. En la medida de lo posible se intentó marcar flores en el mayor número de rocas de una misma sección del río, intentando mantener una distribución homogénea de los nueve tratamientos en dicha sección. Todas las flores marcadas estaban al menos 5 cm por encima del nivel del río a la hora del marcaje (entre 10 y 11 de la mañana) para evitar que la corriente las pudiera arrastrar.

Todos los experimentos se montaron lo más rápido posible en cada una de las localidades para evitar que alteraciones en el ambiente (temperatura, nivel de los ríos, humedad, etc.)



provocaran cambios en el desarrollo y reproducción de las plantas. Los experimentos se realizaron en su totalidad entre el 10 y el 14 de enero de 2008 en el caso de Las Juntas, del 15 al 19 de enero en Los Horcones y del 20 al 23 de enero en Boca de Tomatlán.

Aún con las precauciones tomadas se perdió una proporción variable de las flores marcadas en cada tratamiento. Se colectaron entre 30 y 54 frutos por tratamiento (Detalles en la Tabla 4, en la sección de Resultados). La colecta de las flores se llevó a cabo una semana después de efectuadas las polinizaciones (ocho días después de que las flores fueron marcadas, emasculadas y/o aisladas), ya que este lapso es suficiente para que éstas se

Figura 8. 8A. Flores de *M. schiedeanum* emasculadas y aisladas durante la etapa 3 del desarrollo; 8B. Flor de *M. rubrum* emasculada y polinizada después de 24 h de aislamiento, se observan otras flores aisladas correspondientes a distintos tratamientos; 8C. Flor de *M. schiedeanum* aislada después de haber sido polinizada; 8D. Flor de *M. schiedeanum* al momento de ser polinizada manualmente, obsérvese que no hay flores con polen expuesto en la misma zona para evitar cualquier tipo de contaminación por polen no deseado. La localidad y la fecha se indican en cada una de las fotografías.

sequen externamente, exhibiendo la morfología y coloración típica de los frutos maduros (Figura 9). Los pedicelos en esta etapa se encuentran lignificados y se presume que existe obliteración de los haces vasculares que conectan al fruto con la parte vegetativa de la planta. Esto hace posible la colecta de frutos inmaduros sin afectar el proceso de maduración de las semillas.

Figura 9. 9A. Flores de *M. rubrum* al momento de ser colectadas, siete días después de la polinización. 9B. Frutos maduros y dehiscentes de *M. rubrum*. Nótese que la morfología de las flores al momento de la colecta y la de los frutos no difiere notablemente. Los pedicelos se muestran estrechos y la coloración de todas las estructuras ha cambiado a café oscuro. La localidad y la fecha se indican en cada una de las fotografías



8.2. Trabajo de laboratorio

Los frutos colectados se mantuvieron almacenados a temperatura ambiente durante un periodo de cuarenta días, que es el tiempo aproximado de maduración (Philbrick y Novelo, 1998). Una vez concluido este periodo se dio inicio a las mediciones en frutos y semillas para detectar si existían diferencias asociadas a los distintos tratamientos y, de ser así, caracterizarlas de acuerdo con los mismos. Los parámetros analizados fueron los siguientes:

1. Peso de las cápsulas.
2. Longitud y diámetro de las cápsulas.
3. Número de óvulos por cápsula.
4. Número de semillas desarrolladas por cápsula.
5. Tamaño de las semillas desarrolladas.
6. Características germinativas de las semillas desarrolladas.

8.2.1. Mediciones de peso, longitud y diámetro de las cápsulas

Para las mediciones de las cápsulas se seleccionaron 30 frutos al azar de cada uno de los tratamientos realizados, midiendo un total de 630 frutos (210 frutos por cada rí). Las medidas de longitud y diámetro de las cápsulas se obtuvieron con un vernier digital, mientras que el peso se obtuvo con una balanza analítica.

Se establecieron las correlaciones entre las tres variables medidas y se realizó un análisis de componentes principales. Se eligió el componente principal que explicara un mayor porcentaje de la variación entre los tres factores medidos, y se tomó como una nueva variable para explicar de forma más integral las diferencias en las características del fruto como consecuencia de la población de la que procedía y también como resultado de los tratamientos realizados. Este componente, renombrado como *Fruto*, se obtuvo mediante la fórmula:

$$\text{Fruto} = (0.903 \times \text{Longitud}) + (2.501 \times \text{Diámetro}) + (619.251 \times \text{Peso fresco}) + (-10.944)$$

Los valores de *Fruto* fueron comparados mediante un análisis de varianza (ANOVA) para establecer si existían diferencias significativas entre las tres poblaciones analizadas, y entre los tratamientos. En los casos donde se obtuvieron diferencias significativas, se realizó una prueba de comparación de medias independientes de Tukey-Kramer para determinar el sentido en el que se establecían dichas diferencias.

8.2.2. Número de óvulos y semillas presentes por cápsula

Para los conteos de óvulos y semillas se estableció una muestra inicial de diez frutos por tratamiento; a partir de dicha muestra se estableció el número de óvulos presentes por cápsula en cada río y cada tratamiento. El número de semillas desarrolladas por cápsula es sumamente variable, por lo que se necesitó aumentar la muestra inicial de diez frutos y utilizar todo el material disponible para mejorar la calidad de los datos. La proporción óvulo/semilla, o seed-set, se estableció para cada uno de los frutos analizados.

En todos los frutos se contó la totalidad de semillas y óvulos presentes en cada cápsula. Las diferencias en el número de óvulos entre poblaciones y entre tratamientos se analizaron mediante una prueba no paramétrica de comparación de rangos de Kruskal-Wallis. Esta misma prueba fue utilizada para comparar el seed-set entre localidades y entre tratamientos, pero en este caso se aplicó sobre datos transformados mediante la transformación angular de Bliss, ya que esta transformación normaliza los datos que se obtienen como porcentajes o proporciones (Knudsen y Curtis, 1947). Las comparaciones en el seed-set entre ríos se basaron exclusivamente en la proporción de semillas desarrolladas por las cápsulas del tratamiento Control, ya que éstas reflejan el comportamiento reproductivo natural de las poblaciones a las que pertenecen.

Las pruebas no paramétricas se utilizaron en todos los casos en los que las variables analizadas no presentaron una distribución normal y/o homocedasticidad, y sólo cuando los datos no pudieron ser corregidos mediante algún tipo de transformación. En los casos en los que se obtuvieron diferencias significativas se realizó una prueba de comparaciones múltiples de Dunn (1964) para establecer el sentido de las diferencias encontradas. El error tipo 1 para esta prueba se fijó mediante el método propuesto por Neave y Worthington (1988) y Pett (1997).

8.2.3. Tamaño de las semillas

Para establecer el tamaño de las semillas desarrolladas se mezcló el contenido de diez frutos de cada tratamiento. De este conjunto de semillas se seleccionaron cincuenta de forma aleatoria (tomando en cuenta únicamente semillas desarrolladas) y se les midió tanto la longitud como el ancho por medio de técnicas de micrometría en un microscopio de luz.

Con los datos de ancho y largo de las semillas se obtuvo un nuevo componente: la *Forma*, que se puede ver como la relación ancho/largo de cada una de las semillas analizadas. Se realizó un ANOVA sobre el resultado de esta relación para establecer si las semillas presentaban la misma forma en las tres poblaciones.

Una vez comparada la forma de las semillas, se comparó el tamaño. Para esto, se realizó el promedio del largo y ancho de las semillas medidas. Las diferencias en el tamaño de las semillas se analizaron por medio de una ANOVA para las comparaciones entre poblaciones y mediante una prueba de Kruskal-Wallis para las comparaciones entre tratamientos. Cuando se presentaron diferencias significativas se aplicaron pruebas de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer y de Dunn respectivamente.

Las diferencias en el tamaño de las semillas con respecto a la naturaleza alógama o autógama del polen utilizado, se estableció mediante un ANOVA factorial (Población*Origen del polen). Esta comparación se basó en el promedio del largo y ancho de las semillas.

8.2.4. Pruebas de germinación

Para realizar las pruebas de germinación se utilizaron las mezclas de semillas por tratamientos utilizadas para establecer el tamaño de las semillas, seleccionando exclusivamente semillas desarrolladas (no vanas ni óvulos no desarrollados) para ser sembradas en cajas petri con papel absorbente. Se sembraron 50 semillas por caja y se realizaron tres repeticiones por tratamiento. Según Baskin y Baskin (2001), estas repeticiones son suficientes para detectar diferencias entre tratamientos. Se sembraron 2,550 semillas en total, correspondientes a diecisiete tratamientos distintos. De este total, 900 semillas corresponden a los tratamientos de Tomatlán, otras 900 a tratamientos de Las Juntas y 750 a los tratamientos de Los Horcones.

Se colocó el papel absorbente dentro de las cajas petri y se añadieron 6 mL de agua potable baja en sales. Este volumen de agua es suficiente para mantener el papel totalmente húme-

do sin inundar la caja. Esta decisión se basó en pruebas previamente realizadas, donde se comprobó que la máxima germinación se obtenía sobre superficies totalmente húmedas pero no inundadas. Las semillas fueron colocadas sobre el papel humedecido con ayuda de una aguja de insulina. Se agregarán 2 mL de agua a cada caja cada tres días hasta el término del experimento.

Las cajas se mantuvieron desde el día de la siembra hasta el final del experimento en una cámara de ambiente controlado a una temperatura de 25°C, humedad relativa del 21% y un fotoperiodo de 16/8. Estas condiciones se asemejan a las establecidas como óptimas para la germinación de ambas especies, así como a las condiciones prevalecientes en los ríos durante la época de germinación natural de estas semillas (Reyes-Ortega *et al.*, 2009).

A partir del día de la siembra, se realizaron observaciones diarias al microscopio estereoscópico para establecer el momento de la germinación de cada una de las semillas. La germinación se estandarizó como el punto en el cual la radícula ha emergido de la cubierta seminal y ésta tuvo un tamaño de por lo menos la mitad de la longitud de las cubiertas seminales. Esta medida se tomó debido a la dificultad para visualizar la radícula cuando ésta recién ha emergido de la cubierta seminal. La germinación se confirmó finalmente una vez observados los cotiledones y la presencia de tejido fotosintético, las plántulas que murieron antes de presentar todas estas características fueron categorizadas como no germinadas. La germinación de las semillas se siguió durante once días.

A partir de los datos obtenidos se estableció la capacidad germinativa por río y por tratamiento. Los resultados de capacidad germinativa se analizaron mediante la prueba no paramétrica de comparación de rangos de Kruskal-Wallis y mediante un análisis de varianza para muestras con desviaciones independientes, seguida de una prueba de comparaciones múltiples de Dunn.

Para analizar los resultados de la germinación a lo largo del tiempo entre ríos y entre tratamientos, se realizó un ANOVA con mediciones repetidas. Las comparaciones posteriores se llevaron a cabo con un análisis de Tukey-Kramer. Todos los datos de germinación fueron corregidos mediante una transformación angular de Bliss antes de ser utilizados en estos análisis. Las diferencias en estos mismos resultados con respecto a la naturaleza autógena o alógama del polen se establecieron con un ANOVA factorial de mediciones repetidas (Población*Origen del polen).

Para todos los análisis antes mencionados se incluyeron en primera instancia los nueve tratamientos propuestos. Cuando los tratamientos Daño por manipulación I y II no mostraron diferencias significativas con el tratamiento Control correspondiente fueron retirados del análisis, el cual se realizó nuevamente con los siete tratamientos restantes. Lo anterior se realizó con el fin de tener un resultado menos sesgado, capaz de evidenciar la diferencia entre los tratamientos de forma más efectiva.

Todos los análisis estadísticos se realizaron en JMP 7.0, excepto el ANOVA de mediciones repetidas, que se realizó en Statistica 7.0, y la prueba de Dunn, que se realizó de forma manual.

9. Resultados

Todos los resultados presentados a continuación corresponden al trabajo de campo realizado durante diciembre y enero de 2008. Los correspondientes a 2007 no se presentan debido a una serie de problemas metodológicos que interfirieron con los resultados y provocaron que los mismos fueran deficientes.

9.1. Fenología floral y desarrollo del fruto

Ambas especies de *Marathrum* presentan flores hermafroditas sumamente reducidas, de 5 mm de longitud por 2 mm de diámetro como máximo. Estas flores presentan un gineceo constituido por un ovario bilocular con dos estigmas fusionados en su parte basal. El androceo está constituido por una ronda de siete estambres en *M. rubrum*, y de siete o nueve en *M. schiedeantum*. La longitud de estambres y anteras en conjunto es de alrededor de 4 mm. Las estructuras reproductivas están desnudas; existen tépalos, pero éstos se encuentran reducidos a escamas que se insertan entre los estambres y no se distinguen fácilmente a simple vista. Al momento de la ruptura de la espata, los pedicelos presentan una longitud variable que oscila entre 5 mm y 10 cm aproximadamente.

La fenología floral y el desarrollo del fruto resultaron muy similares en las dos especies y las tres poblaciones de *Marathrum* analizadas. Las flores emergen de la espata durante la mañana o durante la tarde del día anterior. Al momento de salir de la espata, los estigmas aún no están receptivos y las anteras se encuentran indehiscentes. La antesis –considerada como el momento en el que los estambres se separan de la pared del ovario y se da la dehiscencia de las anteras- ocurre cerca del medio día. La dehiscencia de las anteras no ocurre de forma sincrónica en la misma flor. Al principio solamente una antera presenta polen expuesto pero, en poco tiempo, la antera adyacente a ésta empieza a abrirse y así sucesivamente hasta abarcar todo el verticilo. La mayor cantidad de flores con polen expuesto se puede observar entre la una y las dos de la tarde; a esta misma hora los estigmas de la mayoría de estas flores se encuentran receptivos y totalmente cubiertos de polen. Durante la tarde, las anteras de estas flores quedan vacías de polen y eventualmente se caen. Los frutos permanecen cerra-

dos alrededor de cuarenta días, que es el tiempo que tarda el desarrollo de las semillas. Una vez concluido este lapso, los frutos se abren por dos líneas de dehiscencia longitudinales; los frutos se abren súbitamente, permitiendo que las semillas se dispersen en un radio de unos quince centímetros. Aún cuando se encontraron grandes cantidades de frutos abiertos en las tres localidades, no se encontró una cantidad elevada de semillas en las rocas analizadas. Tampoco observamos ninguna señal de germinación o de presencia de plántulas.

9.2. Identificación, selección y aislamiento de flores para los tratamientos

La identificación, selección y aislamiento de flores se realizó siempre entre diez y once de la mañana. A esta hora del día las anteras de flores en anthesis aún no han liberado sus granos de polen y, dado que las flores elegidas para los experimentos recién emergieron de la espata, la probabilidad de contaminación por polen local se elimina. El número de flores con las características necesarias para ser utilizadas en este estudio fue suficiente en cada una de las tres poblaciones.

La identificación y selección de flores donadoras de polen se realizó alrededor de las doce del día, cuando la mayoría de las flores maduras libera el polen. La identificación de flores con anteras dehiscentes resultó sencilla, ya que el color magenta de estas anteras contrasta con el blanco de los granos de polen recién expuestos. Las flores maduras de días anteriores no presentan polen en las anteras, ya que prácticamente todo se libera momentos después de la dehiscencia (principalmente con ayuda del viento) y las anteras se tornan de color amarillo; esto facilita la distinción entre flores recién abiertas y las remanentes de días anteriores (Ver Figura 10).

En las localidades de Los Horcones y Las Juntas se encontró gran cantidad de flores con anteras dehiscentes. Sin embargo, esto resultó más complicado en Boca de Tomatlán. En esta localidad la mayoría de las flores maduras presentaban anteras maltratadas o podridas, por lo que la obtención de polen fue más complicada. Aunque la corriente no es más fuerte que en las otras localidades, el número de residuos (hojas y ramas principalmente) que ésta arrastra sí lo es; estos residuos se acumulan en las rocas y dificultan el desarrollo de algunas flores.

Los experimentos se montaron en zonas donde la corriente no golpeará tan fuerte, ya que muchas flores -aún sin manipulación- son arrancadas o rotas por la fuerza del río.

Figura 10.A. Flores de *M. schiedeanum* en Etapa 4, las flechas marcan dos flores con anteras dehiscentes y mucho polen expuesto que se libera en grandes cantidades principalmente con ayuda del viento; este tipo de flores fue utilizado como donador de polen; 10B. Flores de *M. rubrum* en etapas posteriores a la dehiscencia de las anteras, la flecha marca una flor que liberó el polen el día previo, nótese el cambio de coloración en las anteras. La cantidad de granos de polen en estas flores es muy bajo o nulo, y no se libera con facilidad.



Las observaciones del desarrollo de las flores en cada localidad evidenciaron que una alta proporción de las flores de *M. rubrum* en Boca de Tomatlán no llegaban a la madurez, en comparación con lo que sucede en las otras dos localidades. Muchas de estas flores se pudren en algún momento del desarrollo después de haber salido de la espátula. Esta es la razón principal por la que la menor cantidad de frutos recuperados corresponde a esta localidad (62.89 %). El sitio en el que se recuperó una mayor proporción de flores durante la colecta fue en Los Horcones (87.18 %). El río Las Juntas ocupó un punto intermedio

(80.81%). En este último caso, la gran mayoría de las pérdidas se debieron a depredación por insectos. La variación en la proporción de frutos recuperados por tratamiento, dentro de cada una de las localidades, no refleja ningún patrón que identifique a alguno de los procesos de manipulación de las flores como responsable de una alteración que pudiera derivar en la pérdida de material (Detalles en la Tabla 4).

Tabla 4. Relación de flores marcadas y colectadas por localidad y por tratamiento.

Población	Frutos marcados	Frutos recuperados	Tratamientos	Frutos marcados	Frutos recuperados
<i>M. rubrum</i> Los Horcones	351	306 (87.18%)	Control	39	33 (84.6%)
			Entrecruza	39	34 (87.2%)
			Intersp. Juntas	39	37 (94.9%)
			Interpob. Tomatlán	39	35 (89.7%)
			Intrapob	39	31 (79.5%)
			Apomixis	39	34 (87.2%)
			Autopolinización	39	36 (92.3%)
			Daño emasculación	39	31 (79.5%)
			Daño aislamiento	39	35 (89.7%)
<i>M. schiedeanum</i> Las Juntas	422	341 (80.81%)	Control	62	51 (82.3%)
			Entrecruza	62	43 (69.3%)
			Intersp. Tomatlán	40	31 (77.5%)
			Intersp. Horcones	40	34 (85%)
			Intrapob.	37	35 (94.6%)
			Apomixis	37	34 (91.9%)
			Autopolinización	37	33 (89.2%)
			Daño emasculación	62	46 (74.2%)
			Daño aislamiento	44	34 (77.3%)
<i>M. rubrum</i> Tomatlán	450	283 (62.89%)	Control	50	32 (64%)
			Entrecruza	50	31 (62%)
			Intersp. Juntas	50	32 (64%)
			Interpob. Horcones	50	30 (60%)
			Intrapob.	50	30 (60%)
			Apomixis	50	30 (60%)
			Autopolinización	50	31 (62%)
			Daño emasculación	50	34 (68%)
			Daño aislamiento	50	33 (66%)

9.3. Peso, longitud y diámetro de las cápsulas

Con los resultados de la medición de estas tres variables se realizó un análisis de correlación (Tabla 5) y otro de componentes principales (Figura 11). El componente principal denominado Fruto explicó el 78.92% de la variación entre las tres variables y fue elegido como representante de la variación en las mismas.

Tabla 5. Matriz de correlación de las variables medidas en frutos de *Marathrum*. $P < 0.0001$

	Longitud	Diámetro	Peso fresco
Longitud	1.0000	0.6112	0.7065
Diámetro	-----	1.0000	0.7320
Peso fresco	-----	-----	1.0000

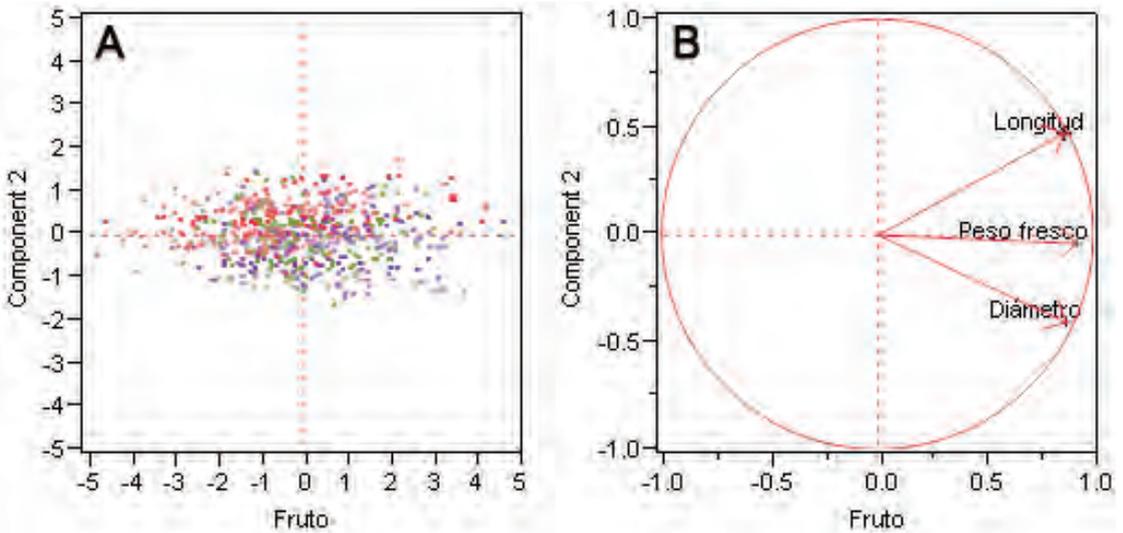


Figura 11. A. Scores del análisis de componentes principales realizado sobre la longitud, el diámetro y el peso fresco de frutos de *Marathrum*. En rojo se muestran los scores correspondientes a frutos de Los Horcones, en verde los de Las Juntas y en morado los de Boca de Tomatlán. B. Loadings de los tres factores analizados sobre los primeros dos componentes del análisis. Se observa que los tres factores analizados están fuerte y positivamente relacionados con el valor *Fruto*.

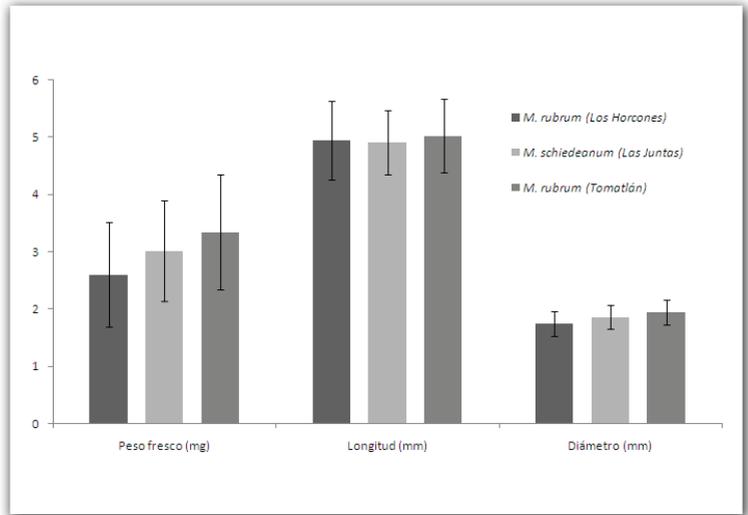
La longitud de las cápsulas no varió entre las distintas poblaciones. Sin embargo, el diámetro, el peso fresco y el valor *Fruto* si presentaron diferencias entre éstas (Ver Tabla 6). El análisis de Tukey-Kramer demostró que los frutos más grandes corresponden a Boca de Tomatlán (*M. rubrum*); seguidos en orden descendente por los de Las Juntas (*M. schiedeana*); y los de Los Horcones (*M. rubrum*), que fueron los menores. El patrón de tamaño de los frutos entre poblaciones se mantiene sin importar si se analizan los caracteres de forma separada (diámetro y peso fresco) o si se analizan en conjunto a través del valor Fruto (Ver Gráficas 1 y 2).

Tabla 6. Características de los frutos de *Marathrum* (longitud, diámetro, peso fresco y Fruto) y sus diferencias entre las tres localidades estudiadas.

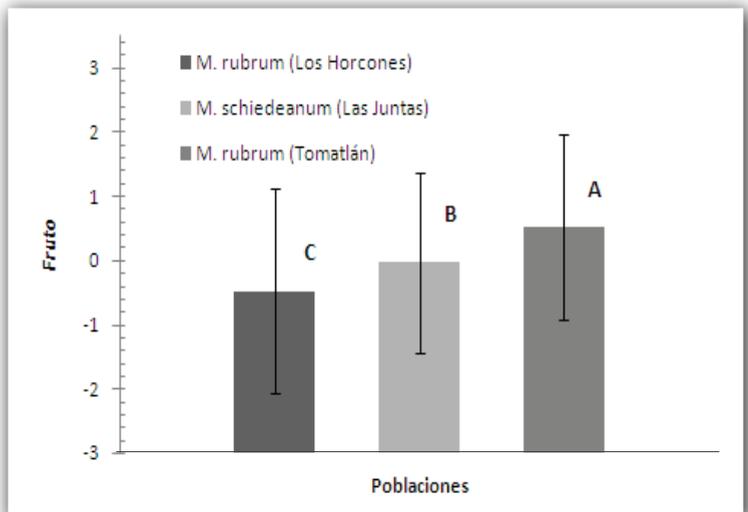
	<i>M. rubrum</i> Los Horcones	<i>M. schiedeana</i> Las Juntas	<i>M. rubrum</i> Tomatlán	F _(2,627)	P
N	210	210	210		
Longitud (± Desv. Est.)	4.961 mm (± 0.691)	4.876 mm (± 0.562)	5.026 mm (± 0.606)	3.0775	0.0468
Diámetro (± Desv. Est.)	1.748 mm (± 0.217)	1.853 mm (± 0.206)	1.949 mm (± 0.217)	49.9667	<0.0001
Peso fresco (± Desv. Est.)	2.603 mg (± 0.916)	3.021 mg (± 0.883)	3.309 mg (± 0.961)	31.2554	<0.0001
<i>Fruto</i> (± Desv. Est.)	-0.48217 (± 0.0252)	-0.03616 (± 0.0252)	0.51833 (± 0.0252)	23.9056	<0.0001

Las características de los frutos no presentaron diferencias entre los distintos tratamientos al interior de cada una de las poblaciones (detalles en Anexo 1). Los frutos se desarrollaron de forma similar independientemente del grado de manipulación y del origen del polen utilizado, incluso en ausencia de polinización.

Gráfica 1. Características de los frutos de *Marathrum* (peso fresco, longitud y diámetro) en las tres poblaciones estudiadas. Las barras de error corresponden a la desviación estándar.



Gráfica 2. Diferencias en el valor *Fruto* (que representa la variación en peso y tamaño de los frutos) entre las tres poblaciones de *Marathrum* estudiadas. Las barras de error corresponden a la desviación estándar. Las letras corresponden a los distintos niveles obtenidos a partir de una prueba de Tukey-Kramer.



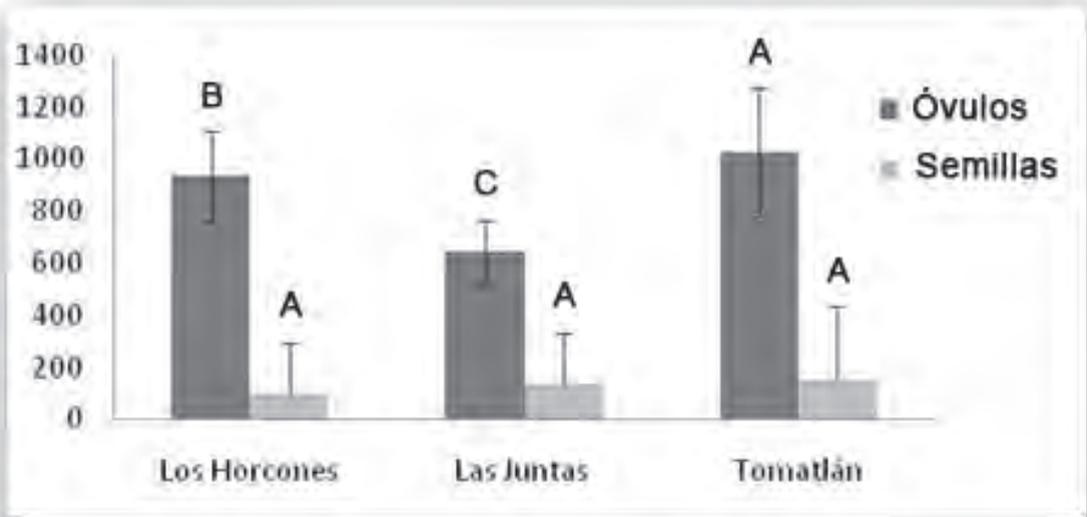
9.4. Número de óvulos y semillas presentes por cápsula

9.4.1. Número de óvulos

El número de frutos analizados por tratamiento en cada localidad, así como el número de óvulos, semillas y el seed-set se muestran en la Tabla 7 y en la Gráfica 3. La diferencia entre el número de frutos analizados por río y por tratamientos, se explica por las diferencias en la cantidad de material disponible. El seed-set y el número de semillas por cápsula se obtuvieron exclusivamente a partir de cápsulas del tratamiento control. Las diferencias en el número de óvulos por fruto entre los tratamientos de una misma localidad no resultaron significativas en ninguna de las tres localidades.

Tabla 7. Diferencias en el número de óvulos, semillas y en el seed-set de cápsulas de *Marathrum* para todos los tratamientos realizados en las tres localidades estudiadas. El número de óvulos se obtuvo a partir de los frutos de todos los tratamientos realizados (N Población), mientras que el número de semillas y el seed set se calculó a partir de los frutos del tratamiento control (N Control).

Población (N)	Óvulos (Desv. Est.)	Semillas (Desv. Est.)	Seed-set (Desv. Est.)	Tratamientos (N)	Óvulos (Desv. Est.)	Semillas (Desv. Est.)	Seed-set (Desv. Est.)
<i>M. rubrum</i> Los Horcones (193)	934.843 (± 174.896)	313.381 (± 287.546)	0.332 (± 0.304)	Control (21)	920.6 (± 200.045)	313.381 (± 287.546)	0.332 (± 0.304)
				Entrecruza (22)	917.8 (± 249.892)	62.273 (± 176.116)	0.067 (± 0.190)
				Intersp. Juntas (39)	992.8 (± 129.796)	0	0
				Interpob. Tomatlán (32)	980.3 (± 259.471)	37.281 (± 174.43)	0.034 (± 0.164)
				Intrapob (24)	879.3 (± 118.011)	23.292 (± 46.038)	0.026 (± 0.052)
				Apomixis (30)	939.1 (± 119.833)	0	0
				Autopolinización (25)	914 (± 95.305)	145.2 (± 223.712)	0.161 (± 0.254)
<i>M. schiedeianum</i> Las Juntas (179)	642.171 (± 125.035)	242.973 (± 228.54)	0.394 (± 0.361)	Control (37)	600.1 (± 135.213)	242.973 (± 228.54)	0.394 (± 0.361)
				Entrecruza (21)	650.3 (± 106.407)	35.095 (± 89.089)	0.057 (± 0.141)
				Intersp. Tomatlán (13)	614 (± 122.381)	80.077 (± 122.382)	0.126 (± 0.191)
				Intersp. Horcones (22)	693.9 (± 148.204)	151.863 (± 211.503)	0.201 (± 0.269)
				Intrapob. (29)	639.7 (± 124.336)	153.965 (± 179.351)	0.231 (± 0.26)
				Apomixis (33)	668.5 (± 118.902)	0	0
				Autopolinización (24)	628.7 (± 129.773)	130.542 (± 203.927)	0.19 (± 0.289)
<i>M. rubrum</i> Tomatlán (123)	1023.972 (± 247.729)	357.5 (± 391.768)	0.343 (± 0.366)	Control (16)	1031.9 (± 149.511)	357.5 (± 391.768)	0.343 (± 0.366)
				Entrecruza (21)	1054.3 (± 318.483)	27.143 (± 60.116)	0.024 (± 0.046)
				Intersp. Juntas (16)	1147.9 (± 242.631)	45.25 (± 101.057)	0.043 (± 0.087)
				(Interpob. Horcones) (10)	1084.3 (± 204.046)	165.2 (± 308.052)	0.136 (± 0.240)
				Intrapob. (15)	958.4 (± 286.451)	206.2 (± 276.071)	0.229 (± 0.289)
				Apomixis (26)	863.4 (± 263.637)	0	0
				Autopolinización (19)	1018.7 (± 211.981)	283.526 (± 330.491)	0.272 (± 0.315)
$\chi^2(z)$	101.402		0.1937				
P	<0.0001		0.9077				



Gráfica 3. Número de óvulos y semillas desarrolladas por localidad. Las letras corresponden a niveles definidos a partir de la prueba de Dunn para el número de óvulos por cápsula y para el seed-set; las localidades con la misma letra no son significativamente diferentes. Las barras de error corresponden al error estándar de la media.

9.4.2 Número de semillas.

El número de semillas producidas fue sumamente bajo y altamente variable en todos los tratamientos de las tres poblaciones. Los patrones de producción de semillas pueden observarse de forma general en la Tabla 7 y con mayor detalle en la Tabla 8.

Los frutos del tratamiento de apomixis no produjeron semillas en ninguna de las tres poblaciones. Se puede descartar la ocurrencia de procesos apomíticos en *M. rubrum* y *M. schiedeanaum*, cuando menos bajo las condiciones experimentales establecidas en este estudio. Tampoco se produjeron semillas en la cruce heteroespecífica Los Horcones x Las Juntas (receptor x donador). En todos los demás tratamientos se presentaron algunos -aunque pocos- frutos con bastantes semillas, incluyendo las cruces heteroespecíficas restantes. Cuando algún fruto presentó menos de diez semillas (seed-set por debajo del 0.0015), éstas no se tomaron en cuenta, ya que dichas semillas pudieran estar

asociadas con algún tipo de error durante el desarrollo de los experimentos, como la contaminación con polen no detectada en campo o la contaminación con semillas de algún otro tratamiento en el laboratorio.

Tabla 8. Diferencias en el seed-set entre los distintos tratamientos realizados. Los tratamientos marcados con asteriscos (**) son aquellos que presentaron un seed-set significativamente diferente de cero de acuerdo con una prueba de Dunn ($\alpha=0.00139$). Se muestra también la proporción de cápsulas por tratamiento que presentaron un seed-set de cero, mayor a 0.5, mayor a 0.75 y mayor a 0.9.

Población	Tratamiento	N	Seed-set				$\chi^2_{(6)}$	P
			0%	> 50%	> 75%	> 90%		
<i>M. rubrum</i> Los Horcones	Control**	21	0.19	0.333	0.095	0	78.921	<0.0001
	Entrecruza	22	0.591	0.045	0.045	0		
	Intersp. Juntas	39	1	0	0	0		
	Interpob. Tomatlán	32	0.875	0.031	0.031	0.031		
	Intrapob.	24	0.542	0	0	0		
	Apomixis	30	1	0	0	0		
	Autopolinización**	25	0.44	0.12	0.08	0		
<i>M. schiedeanum</i> Las Juntas	Control**	37	0.216	0.378	0.243	0.081	51.863	<0.0001
	Entrecruza	21	0.667	0.048	0	0		
	Intersp. Tomatlán	13	0.308	0.077	0	0		
	Intersp. Horcones**	22	0.364	0.136	0.091	0.045		
	Intrapob.**	29	0.379	0.207	0.034	0		
	Apomixis	33	1	0	0	0		
	Autopolinización**	24	0.5	0.208	0.083	0		
<i>M. rubrum</i> Tomatlán	Control**	16	0.187	0.312	0.187	0.187	41.836	<0.0001
	Entrecruza	21	0.476	0	0	0		
	Intersp. Juntas	16	0.687	0	0	0		
	Interpob. Horcones	10	0.4	0.2	0	0		
	Intrapob.**	15	0.267	0.267	0.067	0		
	Apomixis	26	1	0	0	0		
	Autopolinización**	19	0.421	0.368	0.053	0		

El seed-set no varió entre las tres poblaciones de *Marathrum* (ver Tabla 7 y Gráfica 3), pero si entre los distintos tratamientos en las tres localidades (Tabla 8). En la mayoría de los casos, la producción de semillas no fue significativamente distinta de cero. Solamente los controles y las pruebas de autopolinización presentaron un seed-set relativamente elevado en las tres poblaciones.

La escasa producción de semillas no puede ser adjudicada a la utilización de polen heteroespecífico, ya que este mismo fenómeno se presentó de forma consistente en polinizaciones manuales de naturaleza conoespecífica y en las pruebas de entrecruza. La falta de producción de semillas se manifestó de forma constante en la mayoría de los tratamientos que incluían emasculación. Sin embargo, las pruebas de daño por manipulación resultaron significativamente distintas de cero en todos los casos (resultados no mostrados), por lo que el problema podría estar asociado con la manipulación del polen.

A partir de estos resultados podemos establecer que la producción de semillas por medio de autofecundación es significativamente superior a la producción de semillas a través de procesos de entrecruza, aunque este tipo de procesos no están ausentes en las poblaciones de *Marathrum*.

9.5. Tamaño de las semillas

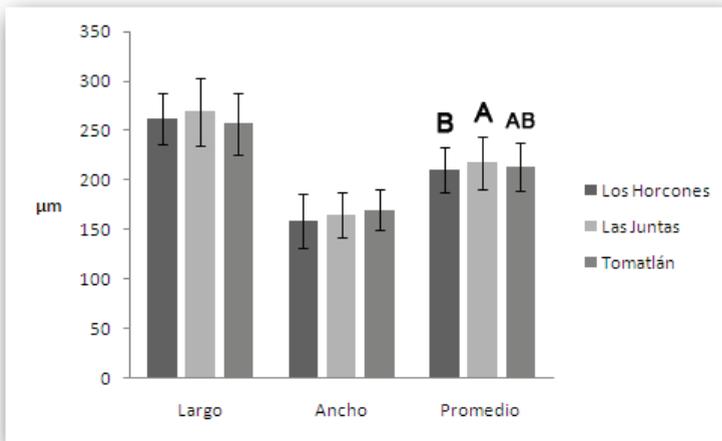
Para establecer el tamaño de las semillas se midió el largo y el ancho de un total de 850 semillas, correspondientes a 300 semillas por localidad y 50 semillas por tratamiento. Las semillas corresponden a seis tratamientos ya que el tratamiento de apomixis no desarrolló semillas en ningún caso. El total de semillas medidas para Los Horcones fue de 250, debido al nulo desarrollo de semillas en la cruce heteroespecífica Los Horcones x Las Juntas. Para las mediciones sólo se utilizaron semillas viables o llenas (no vanas). A partir de las mediciones de largo y ancho se realizó un análisis de correlación ($0.6285, P < 0.0001$) y se obtuvo el promedio de ambas variables como un estimador del tamaño de la semilla. Los detalles de estas mediciones por localidad se encuentran en la Tabla 9 y en la Gráfica 4. Los resultados obtenidos entre los distintos tratamientos se muestran a detalle en la Tabla 10 y en la Gráfica 5.

Las semillas de las tres poblaciones presentan distinta forma ($F=5.8629 (2, 847), P=0.003$). La forma se puede ver como la relación ancho/largo de la semilla. Las semillas de Tomatlán difieren significativamente de las semillas de las otras dos localidades, presentando una forma esférica que contrasta con la forma más alargada presente en las otras dos localidades. Debido a esta variación en la forma, se comparó el tamaño de las semillas entre poblaciones con base en el promedio de las dimensiones medidas. Las cápsulas con semillas más grandes

se presentan en Las Juntas y las más pequeñas en Los Horcones. Las semillas de Tomatlán no difieren significativamente de las otras poblaciones (Gráfica 4).

Tabla 9. Características de las semillas de *Marathrum* (largo, ancho y promedio) y sus diferencias entre las tres localidades estudiadas.

	<i>M. rubrum</i> Los Horcones	<i>M. schiedeanum</i> Las Juntas	<i>M. rubrum</i> Tomatlán	F (2, 847)	P
N	250	300	300		
Largo (± Desv. Est.)	262.29 µm (± 26.11)	269.35 µm (± 34.39)	257.12 µm (± 30.87)	11.828	<0.0001
Ancho (± Desv. Est.)	158.79 µm (± 26.83)	165.19 µm (± 23.07)	169.77 µm (± 20.18)	15.175	<0.0001
Promedio (± Desv. Est.)	210.54 µm (± 23.15)	217.27 µm (± 26.61)	213.45 µm (± 24.07)	5.138	0.0061



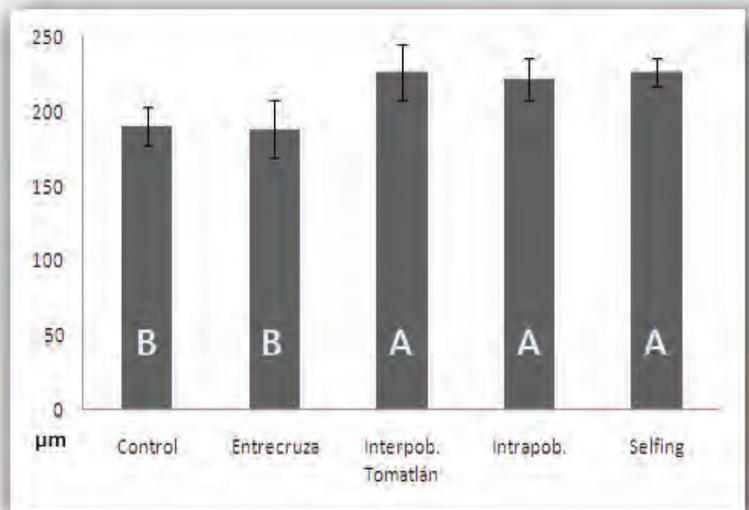
Gráfica 4. Diferencias en el tamaño de las semillas entre las tres localidades de *Marathrum*. Se muestran los grupos obtenidos a partir de una prueba de Tukey-Kramer sobre los promedios del largo y ancho. Los grupos que no comparten la misma letra son significativamente diferentes.

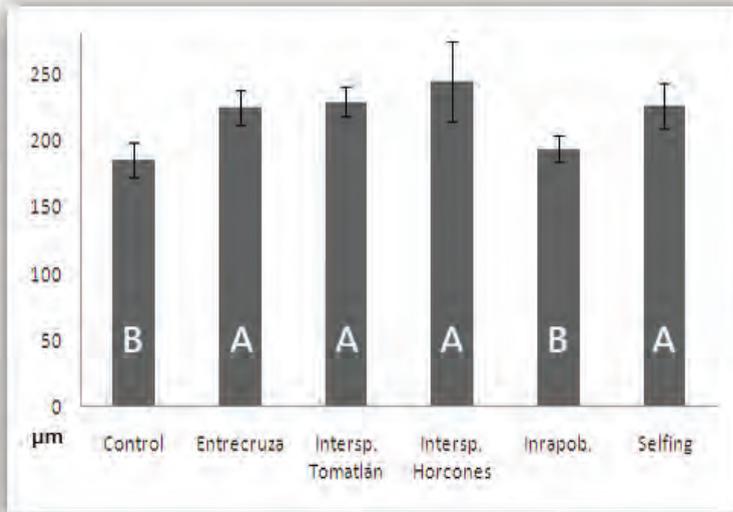
Con respecto a las diferencias entre tratamientos por río, encontramos que las semillas más grandes están asociadas a las cruza interespecíficas e interpoblacionales, mientras que los controles presentan semillas de tamaño muy pequeño de forma consistente en los tres ríos (Detalles en la Tabla 10 y Gráfica 5).

Tabla 10. Características de las semillas de *Marathrum* (largo, ancho y promedio) y sus diferencias entre todos los tratamientos realizados en las tres distintas poblaciones. Las diferencias mostradas se basan en el promedio de las mediciones de largo y ancho.

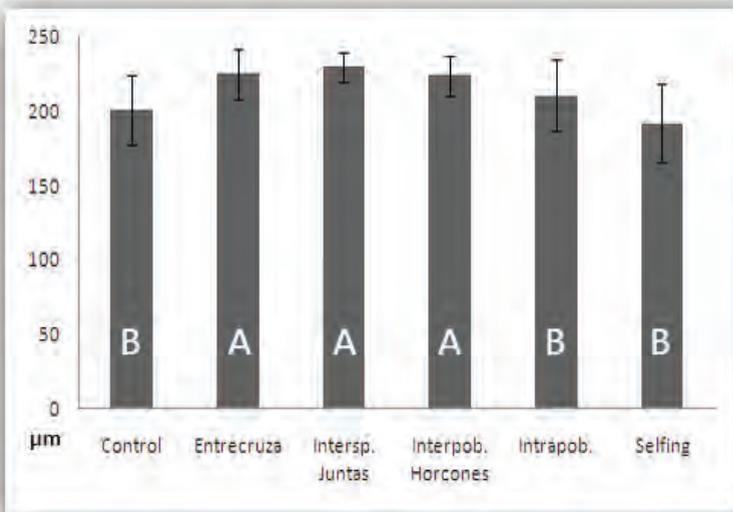
Población	Tratamiento	Largo (μm) (\pm Desv. Est.)	Ancho (μm) (\pm Desv. Est.)	Promedio (μm) (\pm Desv. Est.)	χ^2 (g.l.)	P
<i>M. rubrum</i> Los Horcones	Control	246 (\pm 16.67)	134.25 (\pm 14.47)	190.12 (\pm 13.11)	152.39 (4)	<0.0001
	Entrecruza	243.75 (\pm 34.26)	133.2 (\pm 21.08)	188.47 (\pm 19.64)		
	Interpob. Tomatlán	273.15 (\pm 20.89)	179.1 (\pm 18.9)	226.12 (\pm 18.41)		
	Intrapob.	270.15 (\pm 16.84)	173.55 (\pm 20.5)	221.85 (\pm 13.77)		
	Autopolinización	278.4 (\pm 14.97)	173.85 (\pm 8.26)	226.12 (\pm 9.5)		
<i>M. schiedeanum</i> Las Juntas	Control	225.9 (\pm 18.9)	145.2 (\pm 11.42)	185.55 (\pm 12.61)	190.93 (5)	<0.0001
	Entrecruza	279.6 (\pm 17.99)	169.2 (\pm 10.94)	224.4 (\pm 13.02)		
	Intersp. Tomatlán	289.95 (\pm 19.26)	168.84 (\pm 9.48)	229.39 (\pm 10.9)		
	Intersp. Horcones	300.6 (\pm 40.08)	187.8 (\pm 22.98)	244.2 (\pm 29.89)		
	Intrapob.	243.75 (\pm 12.7)	144.3 (\pm 11.39)	194.02 (\pm 10.1)		
Autopolinización	276.3 (\pm 14.64)	175.8 (\pm 27.03)	226.05 (\pm 16.62)			
<i>M. rubrum</i> Tomatlán	Control	246.15 (\pm 33.94)	155.7 (\pm 16.77)	200.92 (\pm 23.33)	98.30 (5)	<0.0001
	Entrecruza	267 (\pm 24.67)	182.4 (\pm 12.44)	224.7 (\pm 17.31)		
	Intersp. Juntas	271.95 (\pm 12.01)	187.05 (\pm 10.76)	229.5 (\pm 10.22)		
	Interpob. Horcones	275.7 (\pm 19.14)	171.45 (\pm 10.71)	223.57 (\pm 13.25)		
	Intrapob.	249.9 (\pm 29.44)	170.7 (\pm 19.73)	210.3 (\pm 23.77)		
Autopolinización	232.05 (\pm 34.4)	151.35 (\pm 20.25)	191.7 (\pm 26.41)			

Gráfica 5A. Comparación del promedio largo-ancho de las semillas de *M. rubrum* del río Los Horcones. Los grupos identificados con una A son significativamente más grandes que los grupos marcados con B. Las barras de error corresponden a la desviación estándar.





Gráfica 5B. Comparación del promedio largo-ancho de las semillas de *M. schiedeanum* del río Las Juntas. Los grupos identificados con una A son significativamente más grandes que los grupos marcados con B. Las barras de error corresponden a la desviación estándar.



Gráfica 5C. Comparación del promedio largo-ancho de las semillas de *M. rubrum* del río Los Horcones, localidad de Boca de Tomatlán. Los grupos identificados con una A son significativamente más grandes que los grupos marcados con B. Las barras de error corresponden a la desviación estándar.

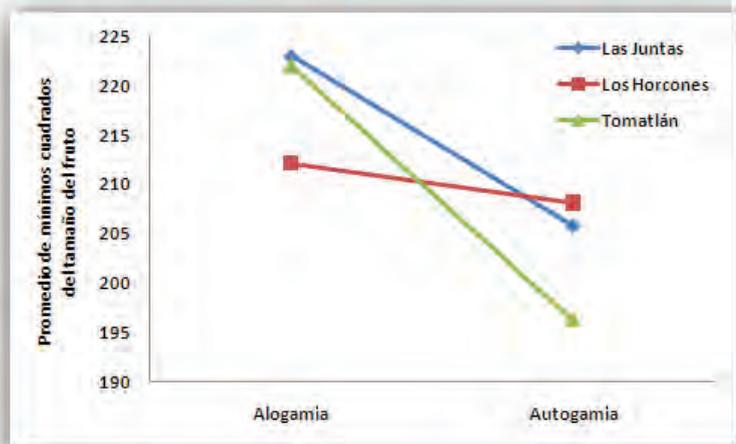
A partir del arreglo de los tratamientos con base en el origen del polen, se determinó que existen claras diferencias en el tamaño de las semillas en relación con este factor. Las semillas de origen alógamo presentaron un tamaño más grande que las semillas autóгамas en los tres ríos (Tabla 11, Gráfica 6).

Tabla 11. Diferencia en el tamaño de las semillas en relación con el origen del polen utilizado para su fecundación en tres poblaciones de *Marathrum*. Se muestran los resultados de un ANOVA multifactorial que incorpora a la población de origen y al origen del polen como posibles responsables de la variación en el tamaño de las semillas.

	Promedio del largo y ancho de las semillas (\pm Desv. Est.)	
Población	Frutos fecundados por polen principalmente alogámico	Frutos fecundados por polen principalmente autógamo
<i>M. rubrum</i> Los Horcones	212.25 μm (\pm 24.20)	208.12 μm (\pm 21.28)
<i>M. schiedeanum</i> Las Juntas	223.01 μm (\pm 25.51)	205.8 μm (\pm 25.09)
<i>M. rubrum</i> Tomatlán	222.02 μm (\pm 18.24)	196.31 μm (\pm 25.22)

Fuente de variación	g.l.	F	P
Río	2	3.8195	0.0223
Origen del polen	1	87.8498	<0.0001
Río x Origen del polen	2	13.9381	<0.0001

Gráfica 6. Diferencia en el promedio de mínimos cuadrados del tamaño del fruto entre tratamientos fecundados con polen mayormente alogámico y mayormente autógamo. Las diferencias se mantienen en el mismo sentido en las tres poblaciones de *Marathrum*.

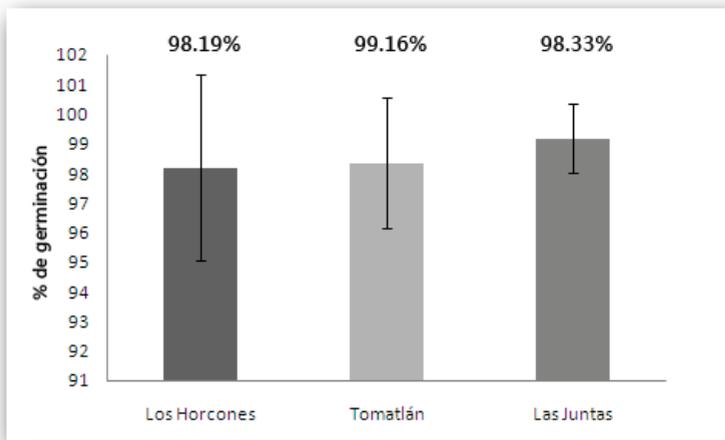


Al evaluar la variación en el tamaño de las semillas y en el número de semillas desarrolladas, se obtuvo una correlación negativa de -0.6406 entre estos factores ($P < 0.0001$). Esta correlación se realizó a partir de los promedios de semillas desarrolladas y del tamaño de las semillas por tratamiento.

9.6. Germinación de las semillas

Todas las semillas desarrolladas a partir de los tratamientos resultaron viables, con una capacidad germinativa elevada (Gráfica 7) y un comportamiento germinativo similar al reportado anteriormente para estas especies (Reyes-Ortega, *et al.*, 2009).

Después de once días de observación, el 98.58% de las semillas sembradas había germinado. No hubo diferencias significativas en la capacidad germinativa entre las semillas observadas de las tres poblaciones de acuerdo a una prueba de Kruskal-Wallis ($\chi^2_{(2)}=1.461$, $p=0.4817$) y a un ANOVA de Welch para desviaciones estándar desiguales ($F_{(2, 41.638)}=0.9917$, $p=0.3795$).



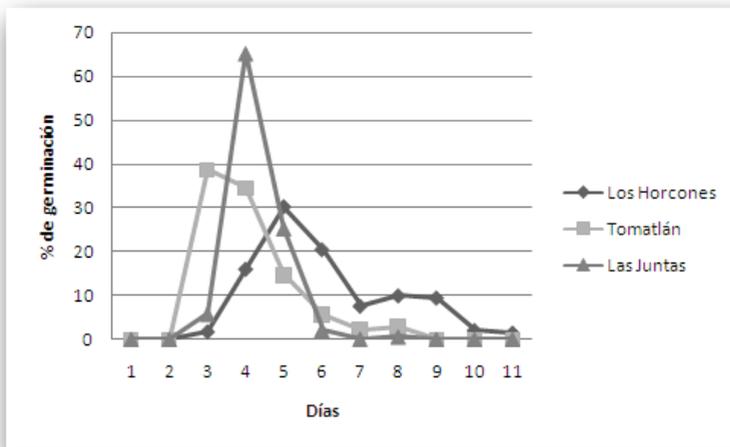
Gráfica 7. Capacidad germinativa de *Marathrum*. Se analizaron semillas de todos los tratamientos que produjeron semillas en las tres localidades seleccionadas. Las barras de error corresponden a la desviación estándar.

Estos valores altos de germinación se mantuvieron dentro de cada uno de los tratamientos. No hubo diferencias significativas entre los tratamientos en ninguna de las tres localidades (detalles en Anexo 1). Todos los análisis se realizaron sobre los datos transformados mediante la transformación angular de Bliss.

De acuerdo con los datos obtenidos, la germinación en las dos especies de *Marathrum* comienza alrededor del día tres post imbibición. El 50% de germinación se alcanza entre los días cuatro y cinco, alcanzando el 100% de su capacidad germinativa hacia el día ocho. En la Gráfica 8 se muestra la germinación diaria y en la Gráfica 9 la germinación acumulada de las semillas de todos los tratamientos por localidad. De acuerdo con un ANOVA con mediciones repetidas, el comportamiento germinativo difirió entre las tres localidades estudiadas a lo largo de los once días de observación ($F_{(16, 384)}=24.624$, $P<0.0001$). Estas diferencias se dan desde el primer día en el que hay germinación (día tres post imbibición) y se mantienen

hasta el día nueve post-imbibición. La germinación de semillas de las tres poblaciones se iguala en el día diez ($F_{(2,48)}=1.894$, $P=0.16$) y once ($F_{(2,48)}=0.724$, $P=0.489$) post imbibición. Las semillas de Boca de Tomatlán y de Las Juntas tienen un comportamiento germinativo similar que difiere con respecto al de los Horcones, cuyas semillas germinaron de forma más lenta y gradual en comparación con las otras dos poblaciones.

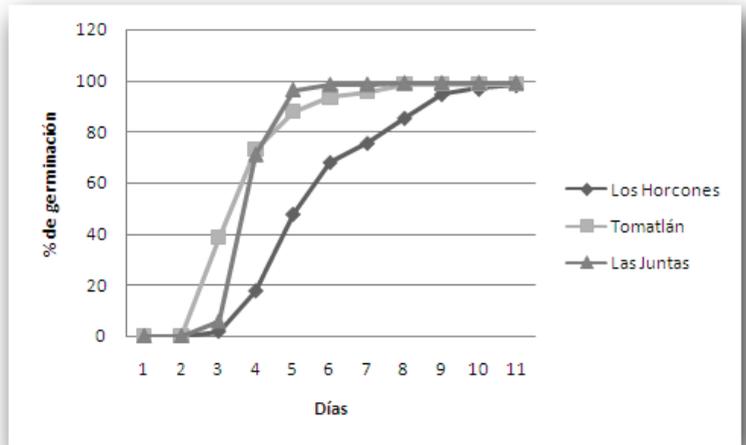
En las Gráficas 10A-D se muestran las características germinativas de las semillas de Los Horcones, incluyendo: la germinación diaria general (A), la germinación acumulada (B), la germinación diaria para cada uno de los tratamientos (C) y la germinación acumulada para cada uno de los tratamientos (D). Las características germinativas de Las Juntas y Boca de Tomatlán se muestran de forma similar en las Gráficas 11A-D y 12A-D respectivamente.



Gráfica 8. Germinación diaria de semillas de *Marathrum* en las tres localidades estudiadas.

Se realizó un ANOVA con mediciones repetidas para establecer la presencia de diferencias significativas en el comportamiento germinativo entre los distintos tratamientos dentro de cada población; este comportamiento difirió a lo largo del tiempo en Los Horcones (Gráfica 10C y D), Las Juntas (Gráfica 11C y D) y Boca de Tomatlán (Gráfica 12C y D). Las diferencias entre cada uno de los tratamientos se estableció mediante una prueba de Tukey-Kramer. Estas diferencias no fueron consistentes entre poblaciones con respecto a los tratamientos que presentaron una germinación más rápida o más lenta.

En los Horcones, los tratamientos de autopolinización yentrecruza germinaron de forma lenta, siendo significativamente distintos del Control y de la Cruza Intrapoblacional, que presentaron una velocidad de germinación mayor, y de la Cruza Interpoblacional con Tomatlán, que fue el tratamiento que germinó más rápido. Estas diferencias en la germinación



Gráfica 9. Germinación acumulada de semillas de *Marathrum* en las tres localidades estudiadas.

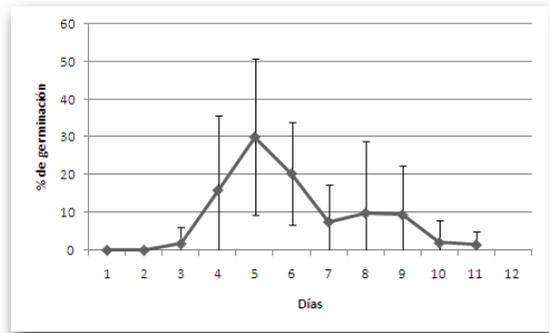
se presentaron desde el primer día de germinación (tercer día post imbibición) hasta el día nueve post imbibición. El día diez ($F_{(4,10)}=1.411$, $P=0.29$) y once ($F_{(4,10)}=0.601$, $P=0.67$) post imbibición presentaron patrones de germinación similar en todos los tratamientos.

En las Juntas, el tratamiento cruza interespecífica con Los Horcones, germinó de forma más lenta que los demás tratamientos. Los controles germinaron de forma lenta al principio, pero se igualaron a los demás tratamientos para el día ocho de las observaciones. Los demás tratamientos germinaron de forma similar. Las diferencias entre tratamientos se presentaron desde el inicio de la germinación hasta el final de las observaciones.

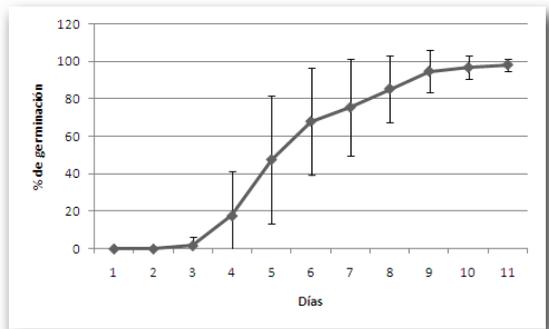
En Boca de Tomatlán el tratamiento Control fue el que presentó una germinación más lenta, y fue significativamente distinto de los tratamientos Prueba de Autopolinización y Cruza Intrapoblacional, que presentaron una velocidad de germinación intermedia, y de los tratamientos Cruza Interpoblacional con Los Horcones, Cruza Interspecífica con Las Juntas y Prueba de Entrecruza, que presentaron una velocidad de germinación más elevada con relación a los otros. Las diferencias entre tratamientos se mantuvieron desde el inicio de la germinación (tres post imbibición) hasta el final de las observaciones.

Al reordenar los datos con respecto al origen del polen que fecundó a las semillas, se observó que aquellas producidas por polen mayoritariamente alógamo germinaron de forma más rápida que las semillas producidas por polen mayoritariamente autógeno, en cada población (Gráfica 13) y a lo largo de todo el tiempo de observación en las tres poblaciones (Gráfica 14).

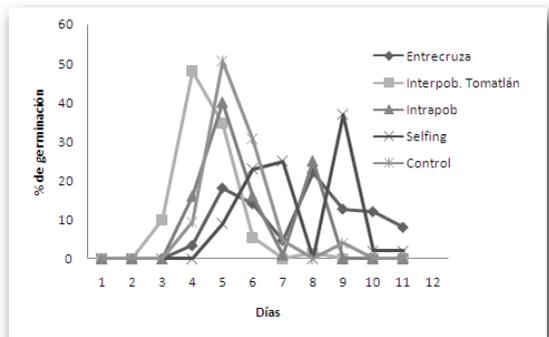
Gráfica 10A. Germinación diaria de semillas de *Marathrum rubrum* del río Los Horcones. Las barras de error corresponden a la desviación estándar.



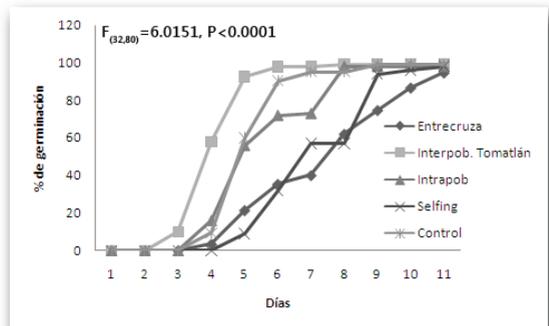
Gráfica 10B. Germinación acumulada de semillas de *Marathrum rubrum* del río Los Horcones. Las barras de error corresponden a la desviación estándar.

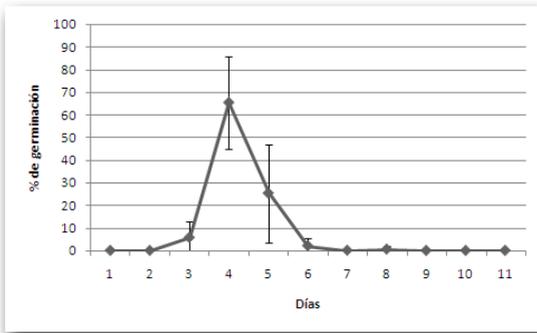


Gráfica 10C. Germinación diaria de semillas correspondientes a cinco tratamientos realizados en *Marathrum rubrum* del río Los Horcones.

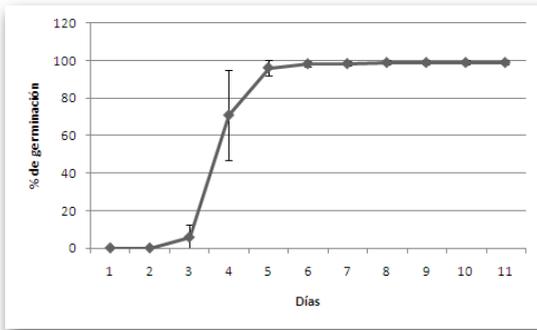


Gráfica 10D. Germinación acumulada de semillas correspondientes a cinco tratamientos realizados en *Marathrum rubrum* del río Los Horcones. Se muestra el resultado del efecto Días*Tratamiento de un ANOVA con mediciones repetidas.

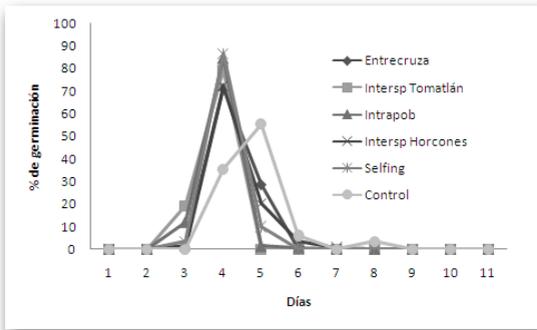




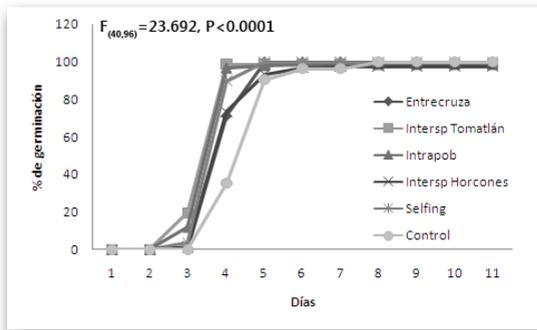
Gráfica 11A. Germinación diaria de semillas de *Marathrum schiedeanum* del río Las Juntas. Las barras de error corresponden a la desviación estándar.



Gráfica 11B. Germinación acumulada de semillas de *Marathrum schiedeanum* del río Las Juntas. Las barras de error corresponden a la desviación estándar.

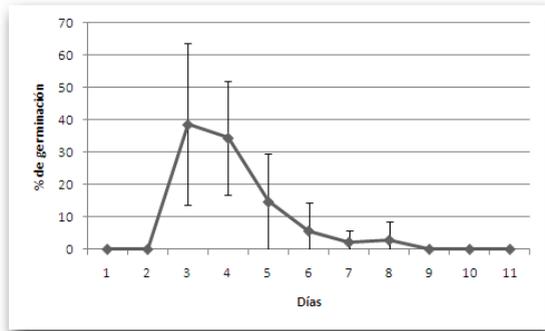


Gráfica 11C. Germinación diaria de semillas correspondientes a seis tratamientos realizados en *Marathrum schiedeanum* del río Las Juntas.

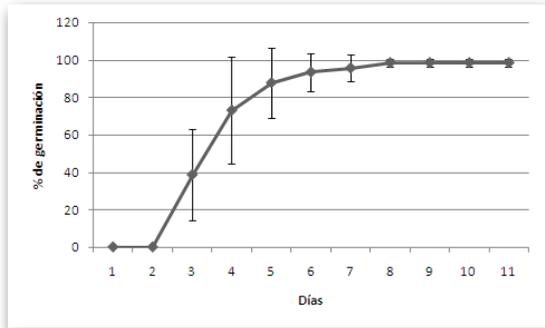


Gráfica 11D. Germinación acumulada de semillas correspondientes a seis tratamientos realizados en *Marathrum schiedeanum* del río Las Juntas. Se muestra el resultado del efecto Días*Tratamiento de un ANOVA con mediciones repetidas.

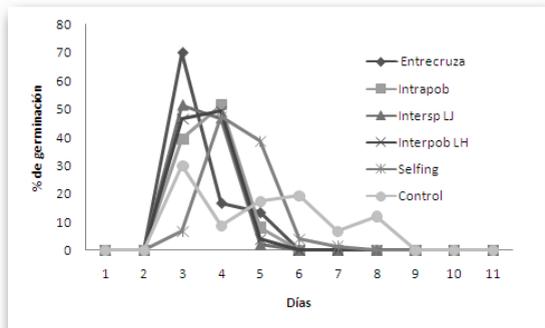
Gráfica 12A. Germinación diaria de semillas de *Marathrum rubrum* de Boca de Tomatlán. Las barras de error corresponden a la desviación estándar.



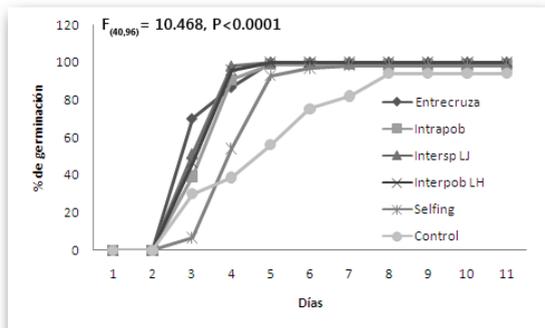
Gráfica 12B. Germinación acumulada de semillas de *Marathrum rubrum* de Boca de Tomatlán. Las barras de error corresponden a la desviación estándar.

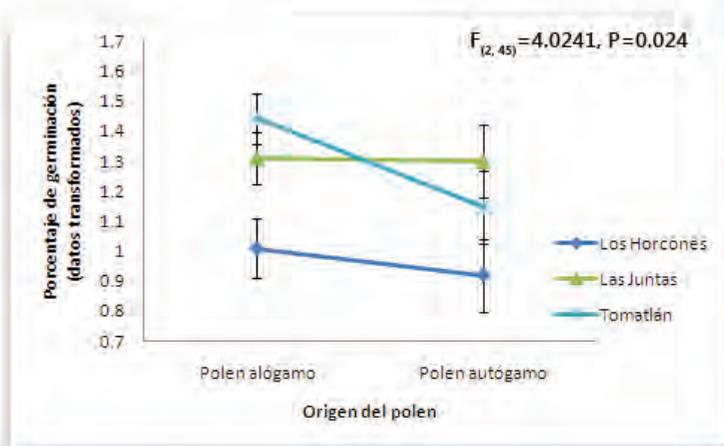


Gráfica 12C. Germinación diaria de semillas correspondientes a seis tratamientos realizados en *Marathrum rubrum* de Boca de Tomatlán.

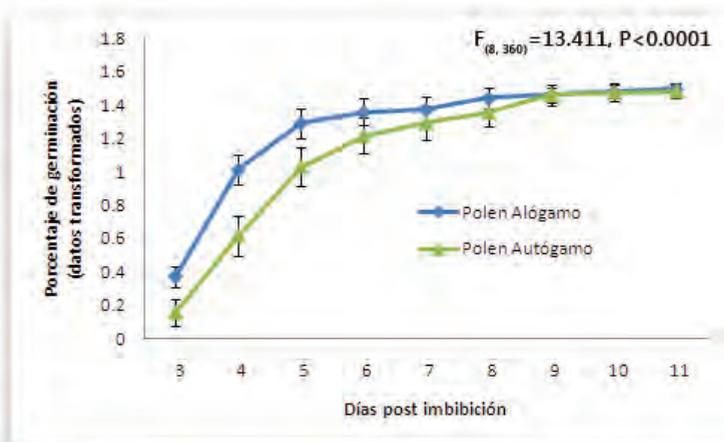


Gráfica 12D. Germinación acumulada de semillas correspondientes a seis tratamientos realizados en *Marathrum rubrum* de Boca de Tomatlán. Se muestra el resultado del efecto Días*Tratamiento de un ANOVA con mediciones repetidas.





Gráfica 13. Diferencias en los porcentajes de germinación (datos con transformación angular de Bliss) entre semillas producidas por fecundación con polen autógeno y con polen alógamo en las tres poblaciones de *Marathrum*. Se muestra el resultado del efecto Población*Origen del polen de un ANOVA con mediciones repetidas.



Gráfica 14. Diferencias en los porcentajes de germinación de semillas de las tres poblaciones de *Marathrum* producidas por fecundación con polen autógeno y alógamo a lo largo del periodo de observación. Se muestra el efecto Días*Origen del polen de un ANOVA con mediciones repetidas.

10. Discusión de los Resultados

10.1. Diferenciación morfológica de las poblaciones

Las poblaciones de *Marathrum* estudiadas presentaron una gran cantidad de polimorfismos a todo nivel. Aunque esto podría dificultar la distinción entre plantas de distintas especies y la clasificación de individuos, esto no sucede con *M. rubrum* y *M. schiedeanum*. Ambas especies pueden distinguirse de forma efectiva en el campo a partir de varias características. De acuerdo con observaciones realizadas en las poblaciones estudiadas y en otras localidades cercanas donde también encontramos a *M. rubrum* y a *M. schiedeanum*, se verificó que la morfología de las estructuras vegetativas de *Marathrum* -como forma y coloración de las hojas- es sumamente variable. Incluso podría decirse que la morfología de estas plantas difiere entre todas las localidades visitadas, aunque existe cierta “coherencia” morfológica al interior de una misma localidad. Las plantas de cada una de las localidades visitadas podrían verse como una raza local, aunque antes es necesario identificar si hay factores ambientales que estén determinando la diferenciación morfológica a esta escala espacial y si el grado de variación entre poblaciones tiene correspondencia genética. El patrón de diferenciación observado - mucha mayor diferenciación entre poblaciones que entre individuos de la misma población- corresponde claramente con el tipo de estructuración característico de especies principalmente autóгамas (Schoen y Brown, 1991)

Aún con esta variación morfológica, existen constantes que permiten identificar y distinguir (aunque no siempre de forma fácil) a *M. rubrum* y *M. schiedeanum*. La morfología de las últimas divisiones foliares es la principal de estas constantes (Novelo y Philbrick, 1993, 1997). Las últimas divisiones foliares de *M. rubrum* son mucho más delgadas (0.02-0.06 mm) y menos ordenadas (Jäger-Zürn *et al.*, 2007) que las que presenta *M. schiedeanum* (0.18-0.6 mm). Ya sea que estas estructuras se vean como pinnas (Novelo y Philbrick, 1993), o como proyecciones de una lámina ensiforme altamente modificada (Jäger-Zürn *et al.*, 2007), su forma y ordenamiento son claves en la definición de estas dos especies.

Por otro lado, la coloración característica de *M. rubrum* mencionada por Philbrick y Novelo (1993) no es un buen carácter diagnóstico para la especie, ya que algunos individuos no la

presentan y, además, es fácil encontrar individuos dentro de las poblaciones de *M. schiedeanum* con una coloración rojiza similar a la que presenta *M. rubrum*. Otras especies cercanas a *Marathrum*, como *Vanroyenella plumosa*, también exhiben un patrón de coloración foliar que puede variar entre individuos dentro de una misma población.

10.2. Características de los frutos

La variabilidad que presentan los caracteres medidos fue menor al interior de las poblaciones que entre las mismas, por lo que se puede distinguir claramente entre las tres poblaciones elegidas con base en el tamaño de los frutos. Los de *M. rubrum* en Boca de Tomatlán son los más grandes, seguidos de los frutos de *M. schiedeanum* en las Juntas y por último los frutos de *M. rubrum* de Los Horcones. Cabe mencionar que la variabilidad en el peso y diámetro de los frutos es la que establece esta categorización.

La caracterización de las diferencias en las poblaciones estudiadas hace ver que puede existir una mayor diferenciación morfológica entre poblaciones de la misma especie que entre poblaciones correspondientes a especies distintas. En este caso particular, las dos poblaciones de *M. rubrum* presentan tanto los frutos más grandes (Boca de Tomatlán), como los más pequeños (Los Horcones). Esta variación refleja la gran plasticidad fenotípica característica de la familia, incluso en caracteres de alto valor taxonómico y selectivo, como puede ser el caso de las estructuras reproductivas (van der Pijl y Dodson, 1966; Sivarajan y Robson, 1991). Los estudios realizados no permiten conocer si el origen de la variación en los frutos de *Marathrum* es provocada por diferencias genéticas, ambientales o por una combinación de ambas.

El desarrollo de los frutos no se vio afectado por ninguna de las variables manipuladas en los tratamientos realizados. Éste se dio de forma idéntica en las tres poblaciones, apegándose al modelo descrito por Philbrick y Novelo (1998) para *M. rubrum*.

El desarrollo de frutos en el tratamiento prueba de apomixis, demostró que éstos se desarrollan incluso en ausencia de polinización, por vía partenocárpica. El proceso partenocárpico presente en las especies de *Marathrum* estudiadas se conoce como partenocarpia vegetativa o autónoma, ya que no se requiere del estímulo de la polinización para que se inicie el desarrollo carpelar. Cuando dicho estímulo es un prerrequisito, se dice que la partenocarpia es

inducida (Gustafson, 1942). La presencia de partenocarpia en Podostemaceae ya había sido reportada por Philbrick (1984) en su estudio con *Podostemum ceratophyllum*.

10.3. Producción y características de las semillas

La variación en la producción de semillas es un factor de gran importancia, ya que está directamente relacionado con la adecuación de las plantas y es frecuentemente utilizada como un estimador de la misma (Primack y Kang, 1989). Debido a que *M. rubrum* y *M. schiedeanum* son dos especies que difieren significativamente en el número de óvulos presentes por flor (Philbrick y Novelo, 1997), y a que se comprobó la variabilidad en dicho número aún entre poblaciones de la misma especie -Los Horcones y Boca de Tomatlán-, se eligió comparar las proporciones de semillas desarrolladas a partir del total de óvulos por fruto, y no el número total de semillas desarrolladas.

El número de semillas desarrolladas en todos los casos fue muy bajo comparado con los estudios realizados por Philbrick y Novelo (1997, 1998). Esta comparación es importante, ya que la manipulación de las flores para el establecimiento de los distintos tratamientos de este estudio se basó en la metodología utilizada por estos autores. Existen varias posibles explicaciones para la baja proporción de semillas obtenida. En primer lugar, se debe tener en cuenta la posible variación temporal en los recursos disponibles o destinados a la reproducción en *Marathrum*. Philbrick y Novelo (1998) realizaron estudios de campo en 1992 y 1995 para determinar la importancia de la autopolinización y la entrecruza en *M. rubrum*, reportando que existe variación en el número de semillas producidas por flor en una misma población durante dos años consecutivos; el seed-set de 1992 fue mucho mayor que el de 1995 en todos sus tratamientos (0.717 y 0.458, respectivamente en controles), aunque no pudieron determinar la razón de estas diferencias. El seed set reportado para 2008 en el presente trabajo es más bajo que el reportado para 1992 y 1995 (0.332 en controles de *M. rubrum* de Los Horcones), pero la relación entre tratamientos equivalentes (pruebas de autopolinización, pruebas de entrecruza y controles) se mantiene entre este estudio y los de dichos autores.

Es posible que la variación en la producción de semillas no sólo ocurra de un año a otro, sino a lo largo de la temporada reproductiva como consecuencia de los cambios en la concentración de nutrientes en los ríos, o como consecuencia del propio ciclo de vida de

Marathrum. Si este fuera el caso, los resultados no pierden validez, ya que las variaciones temporales en el ambiente afectan de forma similar a toda la población y, probablemente, a todas las poblaciones de la misma zona y a todos los tratamientos y los controles.

En segundo lugar, se debe tener en cuenta una posible alteración en la producción de semillas como consecuencia de un factor no considerado dentro de los tratamientos prueba de daño por manipulación I y II; por ejemplo, una posible pérdida de la viabilidad del polen utilizado en las polinizaciones manuales. Se menciona esta variable ya que aunque la baja producción de semillas se expresó como un fenómeno generalizado, es claro que los tratamientos más afectados fueron aquellos que requirieron de donadores alógamos (intra o interespecíficos). Sin embargo, la probabilidad de haber utilizado polen no viable es bastante baja por distintos factores: (1) el polen utilizado se trasladó de un sitio a otro en intervalos no mayores a media hora; (2) no sólo se transportaron flores dehiscentes, sino porciones completas de la planta que contenían flores con anteras en etapas previas a la dehiscencia y que abrieron momentos antes de realizadas las polinizaciones; (3) el polen de *Marathrum* se libera en estado bicelular (Guzmán-Merodio, 2006), lo que generalmente determina un metabolismo más lento y una vida más prolongada del grano de polen posterior a la dehiscencia (Shivanna, 2003); (4) las polinizaciones manuales se realizaron en periodos de receptividad del estigma (Guzmán-Merodio, 2006; Luna-Ramos, 2006); (5) en estudios previos se aseguró la viabilidad de polen sometido a las mismas condiciones mediante la observación de tubos polínicos en *M. rubrum* y *M. schiedeianum* (Luna-Ramos, 2006). Todas estas precauciones deberían asegurar la viabilidad del polen en experimentos de polinización manual (Stone, *et al.*, 1995), pero aunque no fuera así, todo el polen utilizado fue sometido a las mismas condiciones para asegurar que las diferencias en los resultados de las polinizaciones manuales estuvieran exclusivamente relacionadas con el origen genético de los donadores, por lo que los resultados no pierden validez. Por último, también es probable que la baja producción de semillas sea producto de la combinación de las dos condiciones mencionadas –variación temporal en la capacidad reproductiva e inviabilidad de los granos de polen–, pero como ya se estableció, ninguna de éstas afecta diferencialmente a los tratamientos.

A pesar de la variación encontrada, pudimos establecer algunas generalidades de los sistemas reproductivos de *Marathrum*. En primer lugar, la ausencia de semillas en plantas no polinizadas es una clara muestra de que no hay desarrollo de semillas por vía apomíctica en

ninguna de las especies, por lo menos en ausencia del estímulo de polinización. En segundo lugar, se observó que el sistema reproductivo de *Marathrum* es mixto, habiendo un aporte autógamo y un aporte alógamo en el desarrollo de las semillas, aunque los resultados presentados indican que la autogamia tiene una mayor importancia en la producción de semillas en las tres poblaciones analizadas.

Se observó que los tratamientos en los que se utilizó una mayor proporción de polen alógamo (ya sea en polinizaciones manuales o naturales), las semillas presentaron un mayor tamaño. Esto podría referirnos a la ocurrencia de heterosis o vigor híbrido (Birchler, *et al.*, 2003) en las poblaciones de *Marathrum*. Sin embargo, no podemos estar seguros de que este fenómeno sea el responsable de la variación en el tamaño de las semillas. Un posible factor de confusión es el hecho de que los tratamientos con polen mayormente autógamo (controles y prueba de autogamia) presentaron seed-sets más elevados que los demás tratamientos. Si existe un compromiso entre el seed-set y la cantidad de recursos asignados a cada semilla, el tamaño de las semillas podría estar en función de dicho compromiso.

Se observó el desarrollo de semillas híbridas producto de cruza heteroespecíficas bidireccionales. La proporción de semillas híbridas desarrolladas fue muy baja. Sin embargo, esta proporción se asemeja a la de semillas desarrolladas a partir de polinizaciones conespecíficas. En el único caso donde no se encontró desarrollo de semillas híbridas fue en el tratamiento de la cruce heteroespecífica de Los Horcones x Las Juntas (receptor x donador); sin embargo, esto no es indicador de un sistema de incompatibilidad unidireccional ya que la cruce heteroespecífica Tomatlán x Las Juntas se constituye a partir de la misma especie donadora (*M. schiedeanum*) y la misma especie receptora (*M. rubrum*), y sí presenta desarrollo de semillas. Además, existe evidencia previa de que los granos de polen de *M. schiedeanum* de las Juntas son capaces de germinar y crecer en estigmas de *M. rubrum* de Los Horcones (Luna-Ramos, 2006). Debido a la baja y variable producción de semillas entre tratamientos y controles, es posible ver la ausencia de semillas híbridas en esta cruce como consecuencia de un tamaño de muestra demasiado pequeño.

10.4. Características de la germinación

La germinación en *M. rubrum* y *M. schiedeanum* fue recientemente descrita por Reyes-Ortega *et al.* (2009). En dicho trabajo se identificó a las semillas de ambas especies como fotoblásticas positivas, con ausencia de latencia, con una temperatura de germinación ópti-

ma entre 20 y 30 grados centígrados, y con una alta tasa de germinación. Estos resultados se ven ratificados en el presente estudio. El comportamiento germinativo también fue igual a lo largo del tiempo.

Reyes-Ortega *et al.* (2009) mencionan que la velocidad de germinación es mayor en *M. rubrum* que en *M. schiedeana*; sin embargo, a partir de los resultados expuestos en este trabajo, observamos que dicha afirmación no puede tomarse como una generalización. Estos autores trabajaron con las poblaciones de *Marathrum* de Las Juntas y Los Horcones, y por lo tanto, sus resultados coinciden con los aquí presentados, pero al tomar en cuenta nuevas poblaciones –Boca de Tomatlán en este caso–, dichas afirmaciones no necesariamente se sostienen. Si comparamos exclusivamente la velocidad de germinación entre Boca de Tomatlán y Las Juntas, por ejemplo, podríamos concluir erróneamente que ésta es igual en ambas especies.

Con respecto al comportamiento germinativo entre tratamientos para cada una de las poblaciones, observamos que la variación no se presentó de forma consistente; los tratamientos que presentaron una mayor velocidad de germinación en algunos casos, tuvieron características contrarias en otros, por lo que resulta difícil hacer algún tipo de generalización con respecto a la forma en la que afectó un determinado tratamiento al proceso de germinación. Por otro lado, el hecho de que tratamientos con polen genéticamente similar (cómo es el caso entre los tratamientos control y cruza intrapoblacional en Las Juntas) presentaran diferencias significativas, nos puede referir a que dichas diferencias podrían verse como una consecuencia de factores ajenos a las características específicas del polen utilizado. El número de frutos utilizados como proveedores de semillas para esta parte del estudio fue variable y generalmente bajo (debido a la baja producción general de semillas); esto hace posible que las diferencias en la germinación observadas entre los distintos tratamientos propuestos pudiera verse más bien como una diferencia en la adecuación a nivel individual. Es necesario llevar a cabo nuevos experimentos en los que se observe la variación en el comportamiento germinativo a nivel individual dentro de las poblaciones estudiadas.

Los tratamientos fecundados con polen de naturaleza alógama presentaron una germinación más rápida en contraste con los tratamientos mayormente autógamos. Como ya se discutió en el caso del tamaño de las semillas, esto podría ser consecuencia de un fenómeno

de heterosis o bien estar relacionado con un compromiso entre el seed-set y la cantidad de recursos asignados a cada semilla.

Aún cuando la variación en el comportamiento germinativo entre tratamientos se vio ratificada por pruebas estadísticas, es necesario considerar qué tanta importancia tiene dicha heterogeneidad en un sentido biológico y si esta pudiera afectar la adecuación de las plantas en su ambiente natural. Después de todo, la germinación alcanzó el 100% en todos los casos en menos de diez días, superando el 50% en la capacidad germinativa entre el día cuatro y el día seis post imbibición.

10.5. Diferencias entre los sistemas reproductivos de las tres poblaciones

A partir de las observaciones realizadas, podemos asegurar que el principal vector para la polinización en *M. rubrum* y *M. schiedeanum* es el viento (polinización anemófila) (Cook, 1988). Las anteras dehiscentes liberan rápidamente una gran cantidad de polen al primer contacto con cualquier brisa; la mayor parte del polen liberado cae en los estigmas de la misma flor y una menor proporción se aleja rápidamente de las anteras, siendo muy probable -dada la alta densidad de flores por roca- que se posicione en otra flor de la misma roca o incluso en flores correspondientes a plantas de otra roca cercana.

Es necesario mencionar también que en las rocas donde se desarrollan plantas de *Marathrum* y otras especies de Podostemaceae habita una gran cantidad de insectos, principalmente coleópteros. Estos insectos están en constante contacto con las flores y frecuentemente se les puede ver con polen adherido al cuerpo. Dada la estructura de la flor, con un perianto sumamente reducido, estos animales entran muy fácilmente en contacto directo con las estructuras reproductivas y por lo tanto con el polen (Murguía-Sánchez *et al.*, 2002). En Boca de Tomatlán logramos observar algunas abejas con comportamiento de polinizador en contacto con flores de *M. rubrum*. Aunque no es el objetivo de este trabajo establecer el sistema de polinización específico de *Marathrum*, las observaciones realizadas sugieren que este sistema es principalmente anemófilo, aunque no se puede descartar cierto grado de entomofilia, como lo menciona Cook (1988) para otros miembros de la familia.

Okada y Kato (2002) establecieron el sistema de polinización de veinte especies de Podostemaceae a partir de la relación polen/óvulo. De acuerdo al método utilizado por estos

autores, el logaritmo de polen/óvulo puede indicar si la especie es alógama –si dicho valor es mayor a 2.5- o autógama –si el resultado es menor a 2.0-. Si seguimos este método utilizando los valores promedio de polen reportados por Philbrick y Novelo (1998) para *M. rubrum* ($579,336 \pm 249,907$) y los valores promedio de número de óvulos reportados en este estudio, obtenemos valores de 2.8 para Los Horcones, 2.9 para Las Juntas y 2.7 para Boca de Tomatlán. Sorpresivamente, estos valores apuntan claramente a la presencia de un sistema alógamo en *Marathrum*, lo que contradice toda la evidencia expuesta en este trabajo. Aunque los resultados de este estudio carecen de datos sobre el número de granos de polen por flor, cabe mencionar que de acuerdo con los datos que presentamos en relación al número de óvulos por flor, el conteo de polen debería estar por debajo de los 100,000 granos por flor en todos los casos para evidenciar la prevalencia de autogamia en *Marathrum* mediante el modelo de Okada y Kato. Es necesario realizar conteos de granos de polen por flor en *Marathrum* para verificar estos resultados, ya que el modelo antes mencionado fue validado por sus autores mediante observaciones en campo y ha sido aplicado exitosamente en otros estudios de polinización en Podostemaceae (Kholsa y Sehgal, 2009).

10.6. Compatibilidad interespecífica entre *M. rubrum* y *M. schiedeanum*

La compatibilidad reproductiva entre *M. rubrum* y *M. schiedeanum* queda establecida a partir de los resultados presentados en este trabajo. La producción de semillas en cruzas interespecíficas demuestra la ausencia de barreras de incompatibilidad precigóticas y postcigóticas, por lo menos actuando hasta el momento de la germinación. A pesar de esto, la compatibilidad entre ambas especies podría estar restringida por fenómenos posteriores a la germinación como la esterilidad de los híbridos o el colapso híbrido, que puede impedir la formación de una segunda generación de plantas híbridas (Grant, 1989). Esto no se puede corroborar ya que, como es bien sabido, ha sido imposible la obtención de plantas adultas de Podostemaceae en condiciones de laboratorio (Mohan Ram y Sehgal, 1997; Castillo-Sánchez, 2007). Aún teniendo en cuenta estas posibles restricciones a la generación de poblaciones híbridas entre *M. rubrum* y *M. schiedeanum*, la introgresión genética entre especies es una posibilidad clara, sobre todo en poblaciones donde ambas especies muestran una distribución simpátrica o parapátrica. Como en la localidad de Las Juntas y Los Veranos, en el Municipio de Cabo Corrientes, Jalisco, donde confluyen los ríos Los Horcones (dónde

se distribuye *M. rubrum*) y Los Veranos (donde se distribuye *M. schiedeana*) y se pueden encontrar plantas de ambas especies separadas por pocos metros, haciendo posible el intercambio de polen. En estos casos, se podría mantener la identidad genética de las especies por otros medios de aislamiento, como por ejemplo, la competencia gamética de granos de polen (Riesberg y Carney, 1988).

Es necesario tener en cuenta que las características de estas plantas podrían permitir la subsistencia de híbridos en las poblaciones a través de reproducción vegetativa y mediante estructuras de perennación; por lo que las fallas reproductivas que se pudieran presentar en una primera generación de híbridos, no necesariamente impedirían la permanencia de híbridos interespecíficos en zonas de simpatria. Dada la ausencia de barreras reproductivas entre *M. rubrum* y *M. schiedeana*, es posible pensar en que en realidad existan híbridos de ambas poblaciones, pero que estos mantengan las características de los morfos parentales. Este escenario es posible sin importar la naturaleza taxonómica de *M. rubrum* y *M. schiedeana*.

La ausencia de diferencias en la producción, viabilidad y/o comportamiento germinativo de las semillas híbridas con respecto a las semillas producidas a partir de cruza conspecificas puede verse como una igualdad en la adecuación de híbridos y las especies parentales. Aunque estas características sólo representan una fracción del ciclo de vida de las plantas, la variación en caracteres que se expresan en etapas tempranas del ciclo de vida de una planta puede tener importantes consecuencias adaptativas, lo que hace de ésta, una etapa crítica para muchos organismos (Charlesworth, 1980; Kalisz, 1989).

Aunque los resultados presentados no especifican la naturaleza taxonómica de las especies de *Marathrum* estudiadas, el hecho de que ambas sean variedades ambientales o ecotipos de la misma especie continúa siendo una posibilidad. Para resolver este problema, es necesario llevar a cabo estudios genéticos en las poblaciones de ambas especies de *Marathrum*.

11. Conclusiones

Se comprobó que *Marathrum rubrum* y *M. schiedeanum* son inter compatibles. La ausencia de barreras reproductivas entre estas especies permite la formación de semillas híbridas viables, con características similares a las presentes en semillas producidas por cruza legítimas. Las cruza heteroespecíficas fueron capaces de generar semillas viables en todos los casos menos en la cruza entre *M. rubrum* de Los Horcones (especie receptora) y *M. schiedeanum* de Las Juntas (especie donadora), lo cual podría ser consecuencia de deficiencias en el manejo del polen utilizado.

Se comprobó la ausencia de procesos apomícticos en *M. schiedeanum* y *M. rubrum*. De esta forma se comprueba que todas las semillas producidas por los fruto de estas especies son producto de un evento de reproducción sexual.

El sistema reproductivo en ambas especies es mixto, con una mayor proporción de semillas producidas por vía autógena que por vía alógama. Se considera que la polinización ocurre predominantemente por vía aérea, aunque no se descarta un aporte entomófilo.

Las semillas producidas en las tres poblaciones presentan una capacidad germinativa elevada, muy cercana al 100%. La viabilidad de las semillas no se vio afectada por la naturaleza del polen usado en ninguno de los experimentos.

Se observó una gran variabilidad morfológica en los caracteres reproductivos analizados, no sólo entre especies, sino entre poblaciones de la misma especie. Otras observaciones confirman que este polimorfismo afecta también a las estructuras vegetativas de *Marathrum*.

Las semillas de *Marathrum* producidas por vía autógama presentan deficiencias en tamaño y comportamiento germinativo con respecto a las semillas producto de alogamia. Esto podría deberse a la presencia de heterosis o vigor híbrido o a un compromiso entre el seed-set y los recursos destinados a cada semilla.

Es necesario llevar a cabo estudios genéticos para resolver la situación taxonómica de *M. rubrum* y *M. schiedeana*, pero también de otras especies de *Marathrum* de México y Centroamérica.

12. Referencias

Aigner, P. A. 2006. The evolution of specialized floral phenotypes in a fine-grained pollination environment. En. Waser, N. M. y J. Ollerton. Eds. Plant pollinator interactions. From specialization to generalization. University of Chicago. Chicago.

APG (Angiosperm Phylogeny Group) II. 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. *Bot. J. Linn. Soc.* **141**: 399-436.

Barret, S. C. H. 1998. The evolution of mating strategies in flowering plants. *Trends Plant Sci.* **3**: 325-340.

Barrett, S. C. H., C. G. Eckert y B. C. Husband. 1993. Evolutionary processes in aquatic plant populations. *Aquat. Bot.* **44**: 105-145.

Baskin, C. C. y J. M. Baskin. 2001. Seeds. Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. Academic. San Diego.

Birchler, J. A., D. L. Auger y N. C. Riddle. 2003. In search of the molecular basis of heterosis. *Plant Cell.* **15**: 2236-2239.

Bueno, J., F. Álvarez, y S. Santiago-Fragoso. 2005. Biodiversidad del Estado de Tabasco. UNAM. México.

Burger, W. 1983. Flora Costaricensis. Fam. 54. Podostemaceae. *Fieldiana Bot. N.S.* **13**: 1-8.

Campbell, D. R., N. M. Waser, E. J. Melendez-Ackerman. 1997. Analyzing pollinator mediated selection in a plant hybrid zone: hummingbird visitation patterns on three spatial scales. *Am. Nat.* **149**: 295-315.

Carney, S. E., S. A. Hodges, y M. L. Arnold. 1996. Effects of differential pollen tube growth on hybridization in the Louisiana irises. *Evolution.* **50**: 1871-1878.

Castillo-Sánchez, G. R. 2007. Germinación y desarrollo temprano de plántulas de *Oserya coulteriana* (Podostemaceae). Tesis de Licenciatura (Biología). Facultad de Ciencias. UNAM. México, D.F.

- Chandler, J. M., C. Jan, B. H. Beard. 1986.** Chromosomal differentiation between the annual *Helianthus* species. *Syst. Bot.* **11**: 353-371.
- Charlesworth, B. 1980.** Evolution in age structured populations. Cambridge University Press. Cambridge.
- Charlesworth, D. y B. Charlesworth. 1987.** Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **18**: 237-168.
- Conger, B. V., F. J. Novak, R. Afza, y K. Erdelsky. 1987.** Somatic embryogenesis from cultured leaf segments of *Zea mays*. *Plant Cell Rep.* **6**: 345-347.
- Cook, C. D. K. 1988.** Wind pollination in aquatic angiosperms. *Ann. Missouri Bot. Gard.* **75**: 768-777. La Haya, Holanda.
- Cook, C.D.K. 1996.** Aquatic plant book. Amsterdam: SPB Academic Publishing.
- Crane, P. R., E. M. Friis, y K. R. Pedersen. 1995.** The origin and early diversification of angiosperms. *Nature.* **374**: 27-33.
- Crepet, W. L. y K. J. Niklas. 2009.** Darwin's second "abominable mystery": Why are there so many angiosperm species? *Am. J. Bot.* **96**: 366-381.
- Crumpacker, D. W. 1967.** Genetic loads in maize *Zea mays* L. and other cross fertilized plants and animals. *Evol. Biol.* **1**: 306-324.
- Cruz-García, F. y B. A. McClure. 2001.** Sexual incompatibility. En: Bhojwani, S. S. y W. Y. Soh (eds.), Current trends in the embryology of angiosperms. Kluwer Academic. Dordrecht, Holanda.
- Cusset C. y G. Cusset. 1988.** Etude sur les Podostemales. 9. Délimitations taxonomiques dans les Tristichaceae. *Bull. Mus. Natl. Hist. Nat.* **10**: 179-218.
- Dahlgren, R. M. T. 1980.** A revised system of classification of the angiosperms. *Bot. J. Linn. Soc.* **80**: 91-124.
- Darwin, C. R. 1859.** On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life. 1a Ed. John Murray. Londres.
- Darwin, F. y A. C. Seward. Eds. 1903.** More letters of Charles Darwin: a record of his work in a series of hitherto unpublished letters. Vol. 2. John Murray. Londres.
- Dobzhansky, T. H. 1937.** Genetics and the origin of species. Columbia University. Nueva York.

- Dunn, O. J. 1964.** Multiple comparisons using rank sums. *Technometrics*. **6**: 241-252.
- Emms, S. K. y M. L. Arnold. 1997.** The effect of habitat on parental and hybrid fitness: transplant experiments with Louisiana irises. *Evolution*. **51**: 1112-1119.
- Friedman, W. E. 2009.** The meaning of Darwin's abominable mystery. *Am. J. Bot.* **96**: 5-21.
- Frohlich, M. W. y D. S. Parker. 2000.** The mostly male theory of flower evolutionary origins: from genes to fossils. *Syst. Bot.* **25**: 155-170.
- García, E. 1988.** Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köeppen. Offset Larios. México.
- Gillespie, J. H. 2004.** Population genetics. A concise guide. 2a Ed. Johns Hopkins. Baltimore.
- Gillet, G. W. 1972.** The role of hybridization in the evolution of the Hawaiian flora. En: Valentine, D. H. (Ed.). Taxonomy, phytogeography and evolution. Academic, Londres.
- Gorelick, R. 2001.** Did insect pollination cause increased seed plant diversity? *Bot. J. Linn. Soc.* **74**: 402-427.
- Grant, V. 1989.** Especiación Vegetal. Noriega Editores. México.
- von Grubert, M. 1974.** Podostemaceen-studien. Teil I. sur Ökologie einiger venezolanischer Podostemaceen. *Beitr. Biol. Pflanzen*. **50**: 321-391.
- Gustafson, F. G. 1942.** Parthenocarpy: Natural and artificial. *Bot. Rev.* **8**: 599-654.
- Guzmán.Merodio, D. 2006.** Correlación morfo anatómica durante el desarrollo floral de *Marathrum rubrum* (Podostemaceae). Tesis de Licenciatura (Biología). Facultad de Ciencias. UNAM. México, D.F.
- Hermesen, J. G. T. y E. Sawicka. 1979.** Incompatibility and incongruity in tuber bearing *Solanum* species. En: Hawkes, J. G., R. N. Lester y A. D. Skelding (Eds.). The biology and taxonomy of the Solanaceae. Linnean Society Symposium, London. Academic. Londres.
- Hogenboon, N. G. 1975.** Incompatibility and incongruity: two different mechanisms for the non-functioning of intimate partner relationships. *Proc. R. Soc. Lond. B.* **188**: 361-375.
- Holsinger, K. E. 2000.** Reproductive systems and evolution in vascular plants. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **97**: 7037-7042.
- Horne, A. J. y C. R. Goldman. 1994.** Limnology. 2a Ed. McGraw-Hill, Nueva York.

- Howard, D. J. 1999.** Conspecific sperm and pollen precedence and speciation. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **30**: 109-132.
- Hutchinson, G. E. 1975.** A treatise of limnology. Volume III. Limnological Botany. John Wiley. Nueva York.
- Imamura, S. 1928.** Über *Hydrobryum japonicum* Imamura, eine neue Podostemaceae in Japan. *Bot. Mag Tokyo.* **43**: 332-339.
- Jäger-Zürn, I. 1997.** Embryological and floral studies in *Weddellina squamulosa* Tul. (Podostemaceae, Tristichoideae). *Aquat. Bot.* **57**: 151-182.
- Jäger-Zürn, I. 2005a.** Morphology and morphogenesis of ensiform leaves, syndesmy of shoots and an understanding of the thalloid body in species of *Apinagia*, *Mourera* and *Marathrum* (Podostemaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* **147**: 47-75.
- Jäger-Zürn, I. 2005b.** Structural analysis of the dissected ensiform leaves and shoot morphology of *Marathrum foeniculaceum* (Podostemaceae). *Flora.* **200**: 229-244.
- Jäger-Zürn, I., A. Novelo, y C. T. Philbrick. 2006.** Microspore development in Podostemaceae-Podostemoideae, with implications on the characterization of the subfamilies. *Plant Syst. Evol.* **256**: 209-216.
- Jäger-Zürn, I, A. Novelo, C. T. Philbrick, y M. Piepenbrig. 2007.** Pinnately ramified ensiform leaves in the genus *Marathrum* (Podostemaceae-Podostemoideae). *Pl. Syst. Evol.* **268**: 97-117.
- Kalisz, S. 1989.** Fitness consequences of mating system, seed weight, and emergence date in a winter annual, *Collinsia verna*. *Evolution.* **43**: 1263-1272.
- Kholsa, C., K. R. Shivanna, y H. Y. Mohan Ram. 2000.** Reproductive biology of *Polypleurum stylosum* (Podostemaceae). *Aquat. Bot.* **67**: 143-154.
- Kholsa, C., K. R. Shivanna, y H. Y. Mohan Ram. 2001.** Cleistogamy in *Griffithella hooke-riana* (Podostemaceae). *S. Afr. J. Bot.* **67**: 320-324.
- Kholsa, C. K. y A. Sehgal. 2009.** Pollination biology of *Indotristicha ramosissima* (Podostemaceae:Tristichoideae). *Aq. Bot.* **91**: 51-56.
- Kita, Y. y M. Kato. 2001.** Intrafamilial phylogeny of the aquatic angiosperm family Podostemaceae inferred from the nucleotide sequences of the matK gene. *Plant Biol.* **3**: 156-163.
- Köeppen, W. 1948.** Climatología. Fondo de Cultura Económica. México.

- Knudsen, L. F. y J. M. Curtis. 1947.** The use of the angular transformation in biological assays. *J. Am. Stat. Assoc.* **42**: 282-296.
- Koltunow, A. M. 1993.** Apomixis: embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. *The Plant Cell.* **5**: 1425-1437.
- Koltunow, A. M., R. A. Bicknell y A. M. Chaudhury. 1995.** Apomixis: molecular strategies for the generation of genetically identical seeds without fertilization. *Plant Physiol.* **108**: 1345-1352.
- Koltunow, A. M., A. Vivian-Smith, M. R. Tucker, y N. Paech. 2002.** The central role of the ovule in apomixis and parthenocarpy. En: O'Neill, S. D. y J. A. Roberts. (Eds.) *Plant reproduction. Annual plant reviews. Vol. VI.* Sheffield Academic. Sheffield.
- Lande, R. y D. W. Schemske. 1985.** The evolution of self fertilization and inbreeding depression in plants. I. Genetic Models. *Evolution.* **39**: 24-40.
- Les, D. H., C. T. Philbrick y A. Novelo. 1997.** The phylogenetic position of river weeds (Podostemaceae): Insights from rbcL sequence data. *Aquat. Bot.* **57**: 5-27.
- Levin, D. A. 1979.** Hybridization: an evolutionary perspective. Benchmark papers in genetics 11. Dowden, Hutchinson & Ross. Pennsylvania.
- Li, Z., S. R. M. Pinson, A. H. Paterson, W. D. Park, y J. W. Stansel. 1997.** Genetics of hybrid sterility and hybrid breakdown in an intersubspecific rice (*Oryza sativa* L.) population. *Genetics.* **145**: 1139-1148.
- Liedl, B. E., y N. O. Anderson. 1993.** Reproductive barriers: identification, uses, and circumvention. En: J. Janick. (ed.) *Plant Breeding Reviews. Vol 11.* John Wiley & Sons, Inc. Nueva York.
- Lloyd, D. G., y S. C. Barrett. 1996.** *Floral Biology: Studies of floral evolution in animal pollinated plants.* Chapman & Hall. Nueva York.
- Luna-Ramos, R. 2006.** Polinización cruzada entre dos especies del género *Marathrum* (Podostemaceae). Tesis de Licenciatura (Biología). Facultad de Ciencias. UNAM. México, D.F.
- Mitchell-Olds, T. 1995.** Interval mapping of viability loci causing heterosis in *Arabidopsis*. *Genetics.* **140**: 1105-1109.
- Mogie, M. 1992.** *The evolution of asexual reproduction in plants.* Chapman & Hall. Londres.

- Mohan Ram, H. Y. y A. Sehgal. 1997.** In vitro studies on developmental morphology of Indian Podostemaceae. *Aq. Bot.* **57**: 97-132.
- Möller, H. 1899.** *Cladopus nymanii* n. gen., n. sp., eine Podostemacée aus Java. *Annales du Jardin Botanique de Buitenzorg.* **16**:115-132.
- Murguía-Sánchez, G. 2003.** Embriología comparada de los géneros de la familia Podostemaceae en México. Tesis de doctorado (Biología). Facultad de Ciencias. UNAM. México D.F.
- Murguía.Sánchez, G., A. Novelo, C. T. Philbrick y G. J. Márquez.Guzmán. 2001.** Desarrollo de los verticilos sexuales de *Vanroyonella plumosa* Novelo & Philbrick (Podostemaceae). *Acta Botánica Mexicana.* **57**: 37-50.
- Murguía.Sánchez, G., A. Novelo, C. T. Philbrick y G. J. Márquez.Guzmán. 2002.** Embryo sac development in *Vanroyonella plumosa*, Podostemaceae. *Aq. Bot.* **73**: 201-210.
- Nagy, E. S. 1997a.** Frequency dependent seed production and hybridization rates: implications of gene flow between locally adapted plant populations. *Evolution.* **51**: 703-714.
- Nagy, E. S. 1997b.** Selection for native characters in hybrids between two locally adapted plant subspecies. *Evolution.* **51**: 1469-1480.
- Neave, H. R. y P. L. Worthington. 1988.** Distribution free tests. Unwin Hyman. Londres.
- de Nettancourt, D. 2001. Incompatibility and incongruity in wild and cultivated plants. 2a Ed. Springer. Berlin.
- Novelo, A. y C. T. Philbrick. 1993.** A new species of *Marathrum* (Podostemaceae) from Jalisco, México. *Novon.* **3**: 456-458.
- Novelo, A. y C. T. Philbrick. 1997.** Taxonomy of Mexican Podostemaceae. *Aquat. Bot.* **57**: 275-303.
- Novelo A., y C. T. Philbrick. 1997a.** *Podostemum ricciiforme* (Podostemaceae) rediscovered and redescribed. *Taxon.* **46**: 451-455.
- O'Neill, S. P., J. M. Osborn, C. T. Philbrick y A. Novelo. 1997.** Comparative pollen morphology of five New World genera of Podostemaceae. *Aquat. Bot.* **57**: 133-150.
- Okada, H. y M. Kato. 2002.** Pollination systems inferred from pollen-ovule ratio of some species of Podostemaceae. *Acta Phytotax. Geobot.* **53**:51-61.
- Oropeza, N., P. Mercado-Ruaro, A. Novelo y C. T. Philbrick. 1998.** Karyomorphological

studies of Mexican species of *Marathrum* (Podostemaceae). *Aquat. Bot.* **62**: 207-211.

Osborn, J. M., S. P. O'Neill y G. El-Ghazaly. 2000. Pollen morphology and ultrastructure of *Marathrum schiedeanum* (Podostemaceae). *Grana.* **39**: 221-225.

Passarelli, L. M., S. B. Girarde y N. M. Tur. 2002. Palinology of South American Podostemaceae. *Grana.* **41**: 10-15.

Pellmyr, O. 2002. Pollination by animals. En: Herrera, C. M. y O. Pellmyr (eds.). Plant animal interactions. An evolutionary approach. Blackwell Science. Oxford.

Pett, M. A. 1997. Nonparametric statistics in health care research: statistics for small samples and unusual distributions. Sage Publications Inc. California.

Philbrick, C. T. 1984. Aspects of floral biology, breeding system, and seed and seedling biology in *Podostemum ceratophyllum* Michx. (Podostemaceae). *Syst. Bot.* **9**:166-174.

Philbrick, C. T. y D. H. Les. 1996. Evolution of aquatic angiosperms reproductive systems. What is the balance between sexual and asexual reproduction in aquatic angiosperms. *Bioscience.* **43**: 813-826.

Philbrick, C. T. y A. Novelo. 1993. River weeds: a fascinating family of aquatic flowering plants. *Aquaphyte* **13**: 6-7.

Philbrick, C. T., y A. Novelo. 1995. New World Podostemaceae: ecological and evolutionary enigmas. *Brittonia.* **47**: 210-222.

Philbrick, C. T. y A. Novelo, 1997. Ovule number, seed number and seed size in Mexican and North American species of Podostemaceae. *Aquat. Bot.* **57**: 183-200.

Philbrick, C. T. y A. Novelo. 1998. Flowering phenology, pollen flow, and seed production in *Marathrum rubrum* (Podostemaceae). *Aquat. Bot.* **62**: 199-206.

Philbrick, C. T. y A. Novelo. 1991. A New Species of *Podostemum* (Podostemaceae) from the States of Paraná and Santa Catarina, Brazil. *Novon* **11**: 92-96.

Philbrick, C. T., y A. Novelo. 2004. Monograph of *Podostemum* (Podostemaceae). Systematic Botany Monographs. Vol. 70. 106 pp.

Philbrick, C. T., A. Novelo y B. E. Irgang. 2004. Two new genera of Podostemaceae from the State of Minas Gerais, Brazil. *Syst. Bot.* **29**: 109-117.

van der Pijl, L. y C. Dodson. 1966. Orchid Flowers: Their Pollination and Evolution. University of Miami Press. Florida.

- Primack, R. B. y H. Kaang. 1989.** Measuring Fitness and natural selection in wild plant populations. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **20**: 367-396.
- Quiroz, F. A., A. Novelo y C. T. Philbrick. 1997.** Water chemistry and the distribution of Mexican Podostemaceae: a preliminary evaluation. *Aquat. Bot.* **57**: 201-212.
- Raghavan, V. 1997.** Molecular Embryology of Flowering Plants. Cambridge University. Nueva York.
- Raghavan, V. 2003.** Some reflections on double fertilization, from its discovery to the present. *New Phytol.* **159**: 565-583.
- Reyes-Ortega, I., M. E. Sánchez-Coronado, y A. Orozco-Segovia. 2009.** Seed germination in *Marathrum schiedeanum* and *M. rubrum* (Podostemaceae). *Aquat. Bot.* **90**: 13-17.
- Riesberg, L. H., D. M. Arias, M. Ungerer, C. R. Linder, y B. Sinervo. 1996.** The effects on mating design on introgression between chromosomally divergent sunflower species. *Theor. Appl. Genet.* **93**: 663-644.
- Riesberg, L. H. y S. E. Carney. 1998.** Tansley Review No. 102 Plant hybridization. *New Phytol.* **140**: 599-624.
- van Royen, P. 1951.** The Podostemaceae of the New World. Part 1. *Meded. Bot. Mus. Herb. Utrecht.* **107**: 1-151.
- van Royen, P. 1953.** The Podostemaceae of the New World. Part 2. *Acta Bot. Neerl.* **2**: 1-21.
- van Royen, P. 1954.** The Podostemaceae of the New World. Part 3. *Acta Bot. Neerl.* **3**: 215-263.
- Rutishauser, R. 1995.** Developmental patterns of leaves in Podostemaceae compared with more typical flowering plants: saltational evolution and fuzzy morphology. *Can. J. Bot.* **73**: 1305-1317.
- Rutishauser, R. 1997.** Structural and developmental diversity in Podostemaceae (river weeds). *Aquat. Bot.* **57**: 29-70.
- Rutishauser, R. y C. D. K. Cook. 2001.** Name changes in Podostemaceae. *Taxon.* **50**: 1163-1167.
- Rutishauser, R., A. Novelo y C. T. Philbrick. 1999.** Developmental morphology of New World Podostemaceae: *Marathrum* and *Vanroyenella*. *Int. J. Plant Sci.* **160**: 29-45.

- Rutishauser, R., E. Pfeifer, P. Moline y C. T. Philbrick. 2003.** Developmental morphology of roots and shoots of *Podostemum ceratophyllum* (Podostemaceae - Podostemoideae). *Rhodora* **105**: 337-353.
- Rzedowski, J. 1988.** Vegetación de Mexico. 4ª Ed. Limusa. Mexico.
- Schemske, D. W. y R. Lande. 1985.** The evolution of self fertilization and inbreeding depression in plants. II. Empirical Observations. *Evolution*. **39**: 41-52.
- Schoen, D. J. y A. H. D. Brown. 1991.** Intraspecific variation in population gene diversity and effective population size correlates with the mating system in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **88**: 4494-4497.
- Sculthorpe, C.D. 1967.** The Biology of Aquatic Vascular Plants. St. Martin 's Press, Nueva York.
- Shivanna, K. R. 2003.** Pollen Biology and Biotechnology. Science Publishers. Enfield.
- Sivarajan, V.V. y N. K. P. Robson. 1991.** Introduction to the Principles of Plant Taxonomy. Segunda Edición. Cambridge University Press. Nueva York.
- Soltis, D. E., M. E. Mort, P. S. Soltis, C. Hibsich-Jetter, E. A. Zimmer y D. Morgan. 1999.** Phylogenetic relationships of the enigmatic angiosperm family Podostemaceae inferred from 18s rDNA and rbcL sequence data. *Mol. Phylogenet. Evol.* **11**: 261-272.
- Soltis, D. E., P. S. Soltis, M. W. Chase, M. E. Mort, D. C. Albach, M. Zanis, V. Savolainen, W. H. Hahn, S. B. Hoot, M. F. Fay, M. Axtell, S. M. Swensen, L. M. Prince, W. J. Kress, K. C. Nixon y J. S. Farris. 2000.** Angiosperm phylogeny inferred from 18S rDNA, rbcL, and atpB sequences. *Bot. J. Linn. Soc.* **133**:381-461.
- Stebbins, G. L. 1950.** Variation and evolution in higher plants. Columbia University Press. Nueva York.
- Stebbins, G. L. 1957.** Self fertilization and population variability in the higher plants. *Am. Nat.* **91**: 337-354.
- Stone, J. L., J. D. Thomson y S. J. Dent-Acosta. 1995.** Assessment of pollen viability in hand pollination experiments: a review. *Am. J. Bot.* **82**: 1186-1197.
- Sun, G. Q, Ji, D. L. Dilcher, S. Zheng, K. C. Nixon, y X. Wang. 2002.** Archaeofractaceae, a new basal angiosperm family. *Science*. **296**: 899-904.
- Tadmor, Y., D. Zamir, y G. Ladizinsky. 1987.** Genetic mapping of an ancient translocation in the genus *Lens*. *Theor. Appl. Genet.* **73**: 883-892.

- Takhtajan, A. L. 1980.** Outline of the classification of flowering plants (Magnoliophyta). *Bot. Rev.* **46**: 225-359.
- Thompson, J. N. 1994.** The coevolutionary Process. University of Chicago. Chicago
- Willis, J. C. 1902.** Studies in the morphology and ecology of Podostemaceae of Ceylon and India. *Ann. Roy. Bot. Gard. Peradeniya.* **1**: 268-465.
- Wright, S. 1977.** Evolution and the genetics of populations, Vol. 3. Experimental results and evolutionary deductions. University of Chicago. Chicago.

13. Anexo 1. Pruebas estadísticas

Características de los frutos

ANOVA Longitud de los frutos entre ríos

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Prob>F
Río	2	2.38264	1.19132	3.0775	0.0468
Error	627	242.71888	0.38711		
Total	629	245.10152			

ANOVA Diámetro de los frutos entre ríos

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Prob>F
Río	2	4.275234	2.13762	46.9667	< 0.0001
Error	627	28.536960	0.04551		
Total	629	32.812194			

ANOVA Peso fresco de los frutos entre ríos

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Prob>F
Río	2	0.00005296	0.000026	31.2554	< 0.0001
Error	627	0.00053124	8.473e-7		
Total	629	0.00058421			

ANOVA Fruto entre ríos

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Prob>F
Río	2	105.5177	52.7589	23.9056	< 0.0001
Error	627	1383.7653	2.2070		
Total	629	1489.2830			

Tukey-Kramer HSD. Fruto entre ríos

q*	Alpha			
2.34929	0.05			
Abs(Dif)-LSD	Tomatlán	Juntas	Horcones	
Tomatlán	-0.34060	0.21390	0.65991	
Juntas	0.21390	-0.34060	0.10541	
Horcones	0.65991	0.10541	-0.34060	

Los valores positivos muestran pares de medias significativamente diferentes.

Nivel			Media
Tomatlán	A		0.5183330
Juntas		B	-0.0361624
Horcones			C
			-0.4821706

Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes

ANOVA Fruto entre tratamientos. Río Los Horcones

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Prob>F
Tratamientos	6	18.36498	3.06083	1.1993	0.3081
Error	203	518.09599	2.55220		
Total	209	536.46097			

ANOVA Fruto entre tratamientos. Río Las Juntas

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Prob>F
Tratamientos	6	8.98308	1.49718	0.7652	0.5981
Error	203	397.19331	1.95662		
Total	209	406.17639			

ANOVA Fruto entre tratamientos. Boca de Tomatlán

Fuentes	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Prob>F
Tratamientos	6	9.36727	1.56121	0.7340	0.6227
Error	203	431.76065	2.12690		
Total	209	441.12792			

Número de óvulos

Kruskal-Wallis número de óvulos entre ríos

Nivel	N	Suma de rangos	Rango medio	(Media-Media0)/Desvest0
Las Juntas	70	3263.00	46.614	-9.929
Los Horcones	70	8845.00	126.357	3.516
Tomatlán	70	10047.0	143.529	6.412

Aproximación por χ^2

χ^2	GL	P> χ^2
101.4006	2	< 0.0001

Prueba de Dunn. Número de óvulos entre ríos

Par	Dif. rangos	Dif. desvest	t (Dr/Dd)
Juntas-Horcones	110.69	12.2678	9.023
Juntas-Tomatlán	142.96	12.2678	11.653*
Horcones-Tomatlán	32.271	12.2678	2.630*

*Pares de medias con diferencias significativas ($\alpha=0.033$, z de tabla=2.12)

Nivel		Media
Tomatlán	A	1022.7
Horcones	B	934.8429
Juntas	C	642.1714

Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes

Kruskal-Wallis número de óvulos entre tratamientos. Río Los Horcones

Nivel	N	Suma de rangos	Rango medio	(Media-Media0)/Desvest0
Control	10	336.000	33.6000	-0.311
Entrecruza	10	298.000	29.8000	-0.948
Intersp BT	10	437.000	43.7000	1.368
Intrasp LH	10	375.500	37.5500	0.336
Intrapob	10	298.500	29.8500	-0.940
Apomixis	10	387.000	38.7000	0.529
Autopol	10	353.000	35.3000	-0.025

Aproximación por χ^2

χ^2	GL	Prob> χ^2
3.6166	6	0.7284

Kruskal-Wallis número de óvulos entre tratamientos. Río Las Juntas

Nivel	N	Suma de rangos	Rango medio	(Media-Media0)/Desvest0
Control	10	280.500	28.0500	-1.242
Entrecruza	10	384.500	38.4500	0.487
Intersp BT	10	296.500	29.6500	-0.974
Intersp LH	10	420.500	42.0500	1.091
Intrapob	10	338.500	33.8500	-0.269
Apomixis	10	408.000	40.8000	0.881
Autopol	10	356.500	35.6500	0.017

Aproximación por χ^2

χ^2	GL	Prob> χ^2
4.1575	6	0.6554

Kruskal-Wallis número de óvulos entre tratamientos. Boca de Tomatlán

Nivel	N	Suma de rangos	Rango medio	(Media-Media0)/Desvest0
Control	10	358.000	35.8000	0.042
Entrecruza	10	384.000	38.4000	0.478
Intersp	10	450.000	45.0000	1.586
Intrasp	10	407.000	40.7000	0.864
Intrapob	10	313.000	31.3000	-0.697
Apomixis	10	230.000	23.0000	-2.090
Autopol	10	343.000	34.3000	-0.193

Aproximación por χ^2

χ^2	GL	Prob > χ^2
7.2708	6	0.2965

Semillas desarrolladas

Kruskal-Wallis Seed-set entre ríos

Nivel	N	Suma de rangos	Rangos medios	(Media-Media0)/Desvest0
Las Juntas	47	1422	38.4324	0.359
Los Horcones	21	753	35.8571	-0.409
Tomatlán	16	600	37.5000	0.000

Aproximación por χ^2

χ^2	GL	Prob > χ^2
0.1937	2	=0.9077

Kruskal-Wallis Proporción de semillas desarrolladas entre tratamientos Río Los Horcones

Nivel	N	Suma de rangos	Rango medio	(Media-Media0)/Desvest0
Control	21	3260.00	155.238	6.351
Entrecruza	22	2342.50	106.477	1.059
Intersp LJ	39	2710.50	69.500	-4.319
Intrapob	24	2587.50	107.813	1.270
Interpob BT	32	2601.00	81.281	-2.186
Apomixis	30	2085.00	69.500	-3.682
Autopol	25	3134.50	125.380	3.416

Aproximación por χ^2

χ^2	GL	Prob > χ^2
78.9214	6	< 0.0001

Prueba de Dunn. Proporción de semillas desarrolladas entre tratamientos Río Los Horcones

Par	Dif. rangos	Dif. desvest	t (Dr/Dt)
Control -Entrecruza	62.69	21.0043887	2.98461436
Control-Intersp LJ	105.19	18.6350465	5.6447404*
Control-Intrapob	62.44	20.5725343	3.0351146*
Control-Interpob BT	91.346	19.3352639	4.7243213*
Control -Apomixis	105.19	19.5889708	5.3698584*
Control-Autopol	38.59	20.3796194	1.89355845
Entrecruza-Intersp LJ	42.5	18.357692	2.31510584
Entrecruza-Intrapob	0.25	20.3216403	0.01230216
Entrecruza-Interpob BT	28.656	19.0680972	1.50282431
Entrecruza-Apomixis	42.5	19.3253118	2.19918832
Entrecruza-Autopol	24.1	20.1263208	1.19743694
Intersp LJ-Intrapob	42.75	17.8619618	2.39335413
Intersp LJ-Interpob BT	13.844	16.4217217	0.84302975
Intersp LJ-Apomixis	0	16.7196977	0
Intersp LJ-Autopol	66.6	17.6394275	3.7756327*
Intrapob-Interpob BT	28.906	18.5913193	1.5548116
Intrapob-Apomixis	42.75	18.8550391	2.2672984
Intrapob-Autopol	23.85	19.6752029	1.21218572
Interpob BT-Apomixis	13.844	17.4967358	0.7912333
Interpob BT-Autopol	52.756	18.3776189	2.87066569
Apomixis-Autopol	66.6	18.6443617	3.5721255*

*Pares de medias con diferencias significativas ($\alpha=0.00139$, z de tabla=3.01)

Nivel	Media				
Control	A			0.33195882	
Autopol	A	B	C	0.16143069	
Entrecruza	A	B	C	0.06663524	
Interpob BT		B	C	0.03414355	
Intrapob			C	0.02638954	
Intersp LJ				D	0.00000000
Apomixis				D	0.00000000

Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes

Kruskal-Wallis Proporción de semillas desarrolladas entre tratamientos Río Las Juntas

Nivel	N	Suma de rangos	Rango medio	(Media-Media0)/Desvest0
Control	37	4568.00	123.459	4.718
Entrecruza	21	1474.00	70.190	-1.993
Intersp BT	13	1257.00	96.692	0.515
Intersp LH	22	2181.00	99.136	0.943
Intrapob	29	2955.50	101.914	1.446
Apomixis	33	1501.50	45.500	-5.845
Autopol	24	2173.00	90.542	0.057

Aproximación por χ^2

χ^2	GL	Prob > χ^2
51.8630	6	< 0.0001

Prueba de Dunn. Proporción de semillas desarrolladas entre tratamientos Río Las Juntas

Par	Dif. rangos	Dif. desvest	t (Dr/Dd)
Control-Entrecruza	72.824	19.2048498	3.7919588*
Control-Intersp BT	38.381	22.66313	1.69354365
Control-Intersp LH	33.783	18.9243613	1.78515933
Control-Intrapob	29.953	17.4332972	1.71814888
Control-Apomixis	104.919	16.8305619	6.2338382*
Control-Autopol	44.877	18.4232337	2.43589159
Entrecruza-Intersp BT	34.443	24.8065039	1.38846651
Entrecruza-Intersp LH	39.041	21.4447342	1.82054017
Entrecruza-Intrapob	42.871	20.1411277	2.12853027
Entrecruza-Apomixis	32.095	19.6217478	1.63568507
Entrecruza-Autopol	27.947	21.0038262	1.3305671
Intersp BT-InterspLH	4.598	24.5899946	0.18698662
Intersp BT-Intrapob	8.428	23.4618037	0.35922217
Intersp BT-Apomixis	66.538	23.0174759	2.89076006
InterspBT-Autopol	6.496	24.2064438	0.2683583
Intersp LH-Intrapob	3.83	19.8738577	0.19271548
Intersp LH-Apomixis	71.136	19.3473043	3.676791*
Intersp LH-Autopol	11.094	20.7476724	0.53471058
Intrapob-Apomixis	74.966	17.8915227	4.1900290*
Intrapob-Autopol	14.924	19.3972758	0.76938639
Apomixis-Autopol	60.042	18.8574196	3.1839987*

*Pares de medias con diferencias significativas ($\alpha=0.00139$, z de tabla=3.01)

Nivel				Media
Control	A			0.39361877
Intrapob	A	B		0.23089280
Intersp LH	A	B		0.20153305
Autopol	A	B		0.19045583
Intersp BT	A	B	C	0.12560528
Entrecruza		B	C	0.05728340
Apomixis			C	0.00000000

Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes

Kruskal-Wallis Proporción de semillas desarrolladas entre tratamientos Boca de Tomatlán

Nivel	N	Suma de rangos	Rango medio	(Media-Media0)/Desvest0
BTLH	10	682.000	68.2000	0.619
Control	16	1448.50	90.5313	3.728
Entrecruza	21	1191.00	56.7143	-0.808
Intersp LJ	16	814.500	50.9063	-1.447
Intrapob	15	1196.00	79.7333	2.232
Apomixis	26	871.000	33.5000	-4.988
Autopol	19	1423.00	74.8947	1.861

Aproximación por χ^2

χ^2	GL	Prob> χ^2
41.8358	6	< 0.0001

Prueba de Dunn. Proporción de semillas desarrolladas entre tratamientos Boca de Tomatlán

Par	Dif. rangos	Dif. desverst	t (Dr/Dd)
Interpob LH-Control	28.413	18.6770804	1.52127631
Interpob LH-Entrecruza	13.805	17.8013732	0.77550197
Interpob LH-Intersp LJ	21.712	18.6770804	1.16249432
Interpob LH-Intrapob	14.5	18.9150146	0.76658677
Interpob LH-Apomixis	43.9	17.2403819	2.5463473
Interpob LH-Autopol	8.153	18.1010807	0.4504151
Control-Entrecruza	42.218	15.3749435	2.74589626
Control-Intersp LJ	50.125	16.3808832	3.0599693
Control-Intrapob	13.913	16.6516599	0.83553232
Control-Apomixis	72.313	14.7217787	4.9119743
Control-Autopol	20.26	15.7209772	1.28872396
Entrecruza-Intersp LJ	7.907	15.3749435	0.51427831
Entrecruza-Intrapob	28.305	15.6631202	1.80711121
Entrecruza-Apomixis	30.095	13.5936134	2.21390731
Entrecruza-Autopol	21.958	14.6698561	1.49681086
Intersp LJ-Intrapob	36.212	16.6516599	2.17467809
Intersp LJ-Apomixis	22.188	14.7217787	1.50715483
Intersp LJ-Autopol	29.865	15.7209772	1.89969108
Intrapob-Apomixis	58.4	15.0224903	3.887504
Intrapob-Autopol	6.347	16.0029237	0.39661503
Apomixis-Autopol	52.053	13.9837963	3.7223797

*Pares de medias con diferencias significativas ($\alpha = 0.00139$, z de tabla=3.01)

Nivel		Media
Control	A	0.34286646
Autopol	A	0.27254292
Intrapob	A	0.22888134
Interpob LH	A B	0.13592817
Intersp LJ	B	0.04270579
Entrecruza	B	0.02364087
Apomixis	B	0.00000000

Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes

Tamaño de las semillas

ANOVA forma de las semillas entre ríos

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Prob>F
Río	2	0.384414	0.192207	5.8629	0.0030
Error	847	27.7676800	0.032784		
Total	849	28.152093			

Tukey-Kramer HSD forma de las semillas entre ríos

q*	Alpha			
2.34784	0.05			
Abs(Dif)-LSD		Tomatlán	Los Horcones	Las Juntas
Tomatlán		-0.03471	0.00492	0.01201
Los Horcones		0.00492	-0.03802	-0.03100
Las Juntas		0.01201	-0.03100	-0.03471

Los valores positivos muestran pares de medias significativamente diferentes.

Nivel		Media
Tomatlán	A	0.66262481
Los Horcones	B	0.62130019
Las Juntas	B	0.61590038

Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes

ANOVA largo de las semillas entre ríos

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Prob>F
Río	2	22576.02	11288.0	11.8287	< 0.0001
Error	847	808282.54	954.3		
C. Total	849	830858.56			

Tukey-Kramer HSD largo de las semillas entre ríos

q*	Alpha			
2.34784	0.05			
Abs(Dif)-LSD	Las Juntas	Los Horcones	Tomatlán	
Las Juntas	-5.92191	0.849046	6.303088	
Los Horcones	0.849046	-6.48713	-1.04595	
Tomatlán	6.303088	-1.04595	-5.92191	

Los valores positivos muestran pares de medias significativamente diferentes.

Nivel		Media
Las Juntas	A	269.35000
Los Horcones	B	262.29000
Tomatlán	B	257.12500

Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes

ANOVA ancho de las semillas entre ríos

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Prob>F
Río	2	16487.37	8243.69	15.1747	<. 0.0001
Error	847	460134.46	543.25		
C. Total	849	476621.83			

Tukey-Kramer HSD ancho de las semillas entre ríos

q*	Alpha			
2.34784	0.05			
Abs(Dif)-LSD	Tomatlán	Las Juntas	Los Horcones	
Tomatlán	-4.4681	0.116902	6.298819	
Las Juntas	0.116902	-4.4681	1.713819	
Los Horcones	6.298819	1.713819	-4.89456	

Los valores positivos muestran pares de medias significativamente diferentes.

Nivel			Media
Tomatlán	A		169.77500
Las Juntas		B	165.19000
Los Horcones		C	158.79000

Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes

ANOVA promedio del tamaño de las semillas entre ríos

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Prob>F
Río	2	6288.70	3144.35	5.1380	0.0061*
Error	847	518342.73	611.97		
C. Total	849	524631.43			

Tukey-Kramer HSD promedio del tamaño de las semillas entre ríos

q*	Alpha			
2.34784	0.05			
Abs(Dif)-LSD		Las Juntas	Tomatlán	Los Horcones
Las Juntas		-4.7423	-0.9223	1.756236
Tomatlán		-0.9223	-4.7423	-2.06376
Los Horcones		1.756236	-2.06376	-5.19493

Los valores positivos muestran pares de medias significativamente diferentes.

Nivel			Media
Las Juntas	A		217.27
Tomatlán	A	B	213.45
Los Horcones		B	210.54

Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes

Kruskal-Wallis. Promedio del tamaño de las semillas entre tratamientos Río Los Horcones

Nivel	N	Suma de rangos	Rango medio	(Media-Media0)/Desvest0
Control	50	2774.5	55.49	-7.664
Intrapob	50	8038	160.76	3.860
Interpob	50	8676	173.52	5.257
Entrecruza	50	2912	58.42	-7.363
Selfing	50	8974.5	179.49	5.910

Aproximación por χ^2

χ^2	GL	Prob> χ^2
152.3918	4	< 0.0001

**Prueba de Dunn. Promedio del tamaño de las semillas entre tratamientos
Río Los Horcones**

Par	Dif. rangos	Dif. desvest	t (Dr/Dd)
Control-Intrapob	105.85	14.4625954	7.3188799
Control-Interpob BT	120.02	14.4625954	8.2986487
Control-Entrecruza	2.21	14.4625954	0.15280798
Control-Autopol	123.62	14.4625954	8.5475667*
Intrapob-Interpob BT	14.17	14.4625954	0.97976882
Intrapob-Entrecruza	103.64	14.4625954	7.1660719*
Intrapob-Autopol	17.77	14.4625954	1.22868679
Interpob BT-Entrecruza	117.81	14.4625954	8.145840*
Interpob BT-Autopol	3.6	14.4625954	0.24891798
Entrecruza-Autopol	121.41	14.4625954	8.3947587*

*Pares de medias con diferencias significativas ($\alpha=0.005$, z de tabla=2.57)

Nivel		Media
Interpob BT	A	0.653363
Autopol	A	0.615353
Intrapob	A	0.419921
Control	B	-1.298809
Entrecruza	B	-1.381002

Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes

**Kruskal-Wallis. Promedio del tamaño de las semillas entre tratamientos
Río Las Juntas**

Nivel	N	Suma de rangos	Rangos medios	(Media-Media0)/Desvest0
Control	50	2113.5	42.270	-9.679
Intrapob	50	3419.5	68.390	-7.343
Intersp BT	50	10012.5	200.250	4.449
Intersp LH	50	11235.5	224.710	6.636
Entrecruza	50	9178.0	183.560	2.956
Autopol	50	9191.0	183.820	2.979

Aproximación por χ^2

χ^2	GL	Prob > χ^2
190.9321	5	< 0.0001

**Prueba de Dunn. Promedio del tamaño de las semillas entre tratamientos
Río Las Juntas**

Par	Dif. rangos	Dif. desvest	t (Dr/Dd)
Control-Intrapob	23	17.3493516	1.32569796
Control-Intersp BT	154.1	17.3493516	8.8821763
Control- Intersp LH	181.98	17.3493516	10.489152
Control -Entrecruza	139.54	17.3493516	8.0429518
Control -Autopol	141.46	17.3493516	8.1536188
Intrapob-Intersp BT	131.1	17.3493516	7.5564783
Intrapob-Intersp LH	158.98	17.3493516	9.1634548
Intrapob-Entrecruza	116.54	17.3493516	6.7172539
Intrapob-Autopol	118.46	17.3493516	6.8279208
Intersp BT-Intersp LH	27.88	17.3493516	1.60697648
Intersp BT-Entrecruza	14.56	17.3493516	0.83922445
Intersp BT-Autopol	12.64	17.3493516	0.72855749
Intersp LH-Entrecruza	42.44	17.3493516	2.44620093
Intersp LH-Autopol	40.52	17.3493516	2.33553397
Entrecruza-Autopol	1.92	17.3493516	0.11066696

*Pares de medias con diferencias significativas ($\alpha=0.0033$, z de tabla=2.72)

Nivel		Media
Intersp	A	1.533469
Intersp	A	0.726906
Selfing	A	0.626080
Entrecruza	A	0.503704
Intrapob	B	-1.049738
Control	B	-1.426351

Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes

**Kruskal-Wallis. Promedio del tamaño de las semillas entre tratamientos
Boca de Tomatlán**

Nivel	N	Suma de rangos	Rangos medios	(Media-Media0)/Desvest0
Interpob	50	9109.5	182.190	2.834
Intersp	50	10542.5	210.850	5.398
Control	50	5088.0	101.760	-4.359
Intrapob	50	7044.0	140.880	-0.860
Entrecruza	50	9653.5	193.070	3.807
Selfing	50	3712.5	74.250	-6.820

Aproximación por χ^2

χ^2	GL	Prob > χ^2
98.3052	5	< 0.0001

Prueba de Dunn. Tamaño de las semillas entre tratamientos Boca de Tomatlán

Par	Dif. rangos	Dif. desvest	t (Dr/Dd)
Interpob LH-Intersp LJ	35.68	17.3493516	2.05656101
Interpob LH-Control	78.75	17.3493516	4.5390745
Interpob LH- Intrapob	35.06	17.3493516	2.0208248
Interpob LH-Entrecruza	17.44	17.3493516	1.00522489
Interpob LH-Autopol	104.55	17.3493516	6.0261618
Intersp LJ-Control	114.43	17.3493516	6.5956355
Intersp LJ-Intrapob	70.74	17.3493516	4.0773858
Intersp LJ-Entrecruza	18.24	17.3493516	1.05133612
Intersp LJ-Autopol	140.23	17.3493516	8.0827228
Control-Intrapob	43.69	17.3493516	2.51824973
Control-Entrecruza	96.19	17.3493516	5.5442994
Control-Autopol	25.8	17.3493516	1.48708728
Intrapob-Entrecruza	52.5	17.3493516	3.0260496
Intrapob-Autopol	69.49	17.3493516	4.0053370
Entrecruza-Autopol	121.99	17.3493516	7.0313867

*Pares de medias con diferencias significativas ($\alpha = 0.0033$, z de tabla=2.72)

Nivel				Media
Intersp. LJ	A			0.863496
Entrecruza	A	B		0.612836
Interpob LH	A	B		0.482698
Intrapob		B	C	-0.122854
Control			C	-0.655272
Autopol			C	-1.103801

Los niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes

ANOVA promedio del tamaño de las semillas Entre Ríos*Origen del polen Efectos medidos

Fuente	Parámetros	GL	Suma de cuadrados	F	Prob>F
Río*	2	2	14981.181	13.9381	< 0.0001
Río	2	2	4105.393	3.8195	0.0223
Origen del polen	1	1	47207.391	87.8408	< 0.0001

Germinación de las semillas

Kruskal-Wallis. Capacidad germinativa entre ríos

Nivel	N	Suma de rangos	Rangos medios	(Media-Media0)/Desvest0
Las Juntas	24	925.500	38.5625	1.199
Los Horcones	21	699.500	33.3095	-0.511
Tomatlán	24	790.000	32.9167	-0.698

Aproximación por χ^2

χ^2	GL	Prob> χ^2
1.4610	2	0.4817

Prueba de Levene para varianzas desiguales

F	GLNum	GLDen	Prob>F
2.9597	2	66	0.0588

ANOVA de Welch para desviaciones estándar desiguales

F	GLNum	GLDen	Prob>F
0.9917	2	41.638	0.3795

Kruskal-Wallis. Capacidad germinativa entre tratamientos Río Los Horcones

Nivel	N	Suma de rangos	Rangos medios	(Media-Media0)/Desvest0
Control	3	39.500	13.1667	0.661
Interpob BT	3	39.500	13.1667	0.661
Intrapob	3	26.500	8.8333	-0.661
Entrecruza	3	24.500	8.1667	-0.882
Autopol	3	26.500	8.8333	-0.661

Aproximación por χ^2

χ^2	GL	Prob> χ^2
2.9925	6	0.8098

Kruskal-Wallis. Capacidad germinativa entre tratamientos Río Las Juntas

Nivel	N	Suma de rangos	Rangos medios	(Media-Media0)/Desvest0
Control	3	51.000	17.0000	1.337
Intersp BT	3	28.000	9.3333	-0.926
Intersp LH	3	12.000	4.0000	-2.572
Intrapob	3	28.000	9.3333	-0.926
Entrecruza	3	51.000	17.0000	1.337
Autopol	3	51.000	17.0000	1.337

Aproximación por χ^2

χ^2	GL	Prob> χ^2
12.8287	7	0.0764

Kruskal-Wallis. Capacidad germinativa entre tratamientos Boca de Tomatlán

Nivel	N	Suma de rangos	Rangos medios	(Media-Media0)/Desvest0
Control	3	7.500	2.5000	-2.829
Interpob LH	3	54.000	18.0000	1.534
Intersp LJ	3	54.000	18.0000	1.534
Intrapob	3	36.000	12.0000	-0.096
Entrecruza	3	54.000	18.0000	1.534
Autopol	3	31.500	10.5000	-0.527

Aproximación por χ^2

χ^2	GL	Prob>> χ^2
13.1723	7	0.0731

Comportamiento germinativo de las plantas

Repeated Measures ANOVA. Germinación diaria entre ríos

	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrados medios	F	p
Intercept	664.5793	1	664.5793	2626.247	0.000000
Río	11.9062	2	5.9531	23.525	0.000000
Error	12.1465	48	0.2531		
Días	62.2353	8	7.7794	387.705	0.000000
Días*Río	7.9053	16	0.4941	24.624	0.000000
Error	7.7051	384	0.0201		

Repeated Measures ANOVA. Germinación diaria entre tratamientos Río Los Horcones

	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrados medios	F	p
Intercept	127.8578	1	127.8578	937.5100	0.000000
Tratamiento	5.7475	4	1.4369	10.5358	0.001308
Error	1.3638	10	0.1364		
Días	29.8526	8	3.7316	288.7685	0.000000
Días*Tratamiento	2.4873	32	0.0777	6.0151	0.000000
Error	1.0338	80	0.0129		

Repeated Measures ANOVA. Germinación diaria entre tratamientos Río Las Juntas

	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrados medios	F	p
Intercept	276.5055	1	276.5055	16712.91	0.000000
Tratamiento	0.7643	5	0.1529	9.24	0.000842
Error	0.1985	12	0.0165		
Días	28.2335	8	3.5292	1739.13	0.000000
Días*Tratamiento	1.9231	40	0.0481	23.69	0.000000
Error	0.1948	96	0.0020		

**Repeated Measures ANOVA. Germinación diaria entre tratamientos
Boca de Tomatlán**

	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrados medios	F	p
Intercept	292.4284	1	292.4284	10830.45	0.000000
Tratamiento	3.7484	5	0.7497	27.77	0.000003
Error	0.3240	12	0.0270		
Días	10.9951	8	1.3744	342.40	0.000000
Días*Tratamiento	1.6807	40	0.0420	10.47	0.000000
Error	0.3853	96	0.0040		

Repeated Measures ANOVA. Germinación diaria entre ríos*Origen del polen

	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrados medios	F	P
Población	10.05	2	5.025	26.0	<0.0001
Origen del polen	1.84	1	1.836	9.5	0.004
Población*Origen del polen	1.56	2	0.779	4.0	0.025
Días	61.04	8	7.630	480.0	<0.0001
Días*Población	7.03	16	0.439	27.7	<0.0001
Días*Origen del polen	1.70	8	0	13.4	<0.0001
Días*Población*Origen del polen	0.28	16	0.0	1.1	0.345