



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**Polinización y morfología floral de tres especies de  
orquídeas en una región tropical estacionalmente seca del  
sur de México**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**BIÓLOGA**

**P R E S E N T A:**

**Yazmín Malinalli Miranda Molina**



**DIRECTOR DE TESIS:**

**Dr. Eduardo Alberto Pérez García**

**Cd. Universitaria, D. F. 2015**



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.

## Hoja de datos del jurado

1. Datos del alumno  
Miranda  
Molina  
Yazmín Malinalli  
044 55 22 59 40 07  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Biología  
308134461
2. Datos del asesor  
Dr.  
Eduardo Alberto  
Pérez  
García
3. Datos del sinodal 1  
Dra.  
Guadalupe Judith  
Márquez  
Guzmán
4. Datos del sinodal 2  
Dra.  
Olivia  
Yáñez  
Ordóñez
5. Datos del sinodal 3  
Dra.  
Concepción  
Martínez  
Peralta
6. Datos del sinodal 4  
Dra.  
Mariana  
Hernández  
Apolinar
7. Datos del trabajo escrito  
Polinización y morfología floral de tres especies de orquídeas en una región tropical  
estacionalmente seca del sur de México  
81p  
2015

## **AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS**

Este trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Ecología y Diversidad Vegetal con el financiamiento de CONACYT a través del proyecto “Perspectiva paisajística de la diversidad, dinámica y regeneración de la vegetación en el trópico estacionalmente seco”, clave CB-2009-01-128136 (otorgado al Dr. Jorge A. Meave del Castillo).

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México por abrirme las puertas a la educación superior, por formarme como profesionista y por ser el lugar en donde se fijan metas y se cumplen sueños.

A mi tutor, el Dr. Eduardo A. Pérez García por su apoyo durante la realización de esta tesis.

Al Biól. Marco A. Romero Romero por toda la ayuda técnica y constante apoyo con el equipo de cómputo.

A la Dra. Olivia Yáñez Ordóñez por su apoyo en la identificación de las abejas.

Al M. en C. Armando Luis Martínez por proporcionar el material necesario para la recolección de abejas.

Al Dr. Edgar J. González Liceaga por su valiosa ayuda en los análisis estadísticos.

A la Dra. Judith Márquez Guzmán por su ayuda en el análisis micromorfológico de las orquídeas en estudio.

A la Dra. Silvia Espinosa Matías por el apoyo en Microscopía Electrónica de Barrido.

Al Dr. Leopoldo Galicia Sarmiento por prestar las cámaras para la filmación de las visitantes florales financiadas por el proyecto “Influencia de la química, morfología y área foliar de tres especies arbóreas sobre la productividad, descomposición y respiración del suelo en bosques templados del centro de México”, IN104515-DGAPA-PAPIIT.

Al Dr. Erick Alejandro García Trejo por su ayuda en la identificación de los colibríes y al Dr. Ismael Alejandro Hinojosa Díaz por la identificación de las abejas euglosinas.

A Fernando Miranda González, Sofía Molina Ortiz y al Biól. Baldemar Murga, por su apoyo en la observación de las filmaciones.

A los profesores del taller “Investigación ecológica en poblaciones y comunidades”: Dr. Jorge Meave, Dr. Carlos Martorell, Dr. Jaime Zuñiga, Dra. Consuelo Bonfil y Dra. Teresa Valverde por sus comentarios durante el desarrollo de esta tesis y por sus enseñanzas en ecología e investigación.

A mis sinodales: Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán, Dra. Olivia Yáñez Ordóñez, Dra. Concepción Martínez Peralta y Dra. Mariana Hernández Apolinar, por revisar esta tesis y por los valiosos comentarios que ayudaron a mejorar este trabajo.

## **AGRADECIMIENTOS PERSONALES**

A mis padres quienes de manera indirecta me acercaron a la biología, al mundo de la vida, y a quienes prácticamente les debo TODO lo que soy. A mi papá, quien día con día busca alcanzar nobles ideales en pro de un mundo ideal, y quien por lo tanto, me incita a ser un mejor ser humano. Eres una persona muy sabia, y soy muy afortunada y feliz de ser tu hija. A mi mamá, porque siempre admiraré tu amor y valentía por la vida y por tu familia. Gracias, mami, por apoyarme, consentirme, regañarme y amarme siempre. A ambos, gracias por su apoyo y amor incondicional, por esmerarse día con día en ser los mejores padres para mí y para mis hermanos, por dejarnos ser libres con responsabilidad y por ser tan increíbles con el mundo.

A mis hermanos: Ana Citlalli, Christopher y Ulises, quienes tienen la gran capacidad de soportarme casi a diario, y al mismo tiempo de quererme y admirarme; definitivamente su corazón es grande. A mi abuelito Juan por llenar de cariño mi vida, y a mi abuelita Elena, porque tu ausencia me recuerda que tengo que ser mejor cada día. Gracias también a mis sobrinos y a Eli por su cariño.

A Vicky, mi madrina mágica, por apoyarme a lo largo de toda mi vida, especialmente por los años universitarios en los que recibí más que un hogar. Gracias por tu cariño y apoyo incondicional, y por los consejos y las pláticas con sabor a vino y a comida gourmet.

A mi tutor, el Dr. Eduardo A. Pérez García por permitirme ser su alumna. Lalo, gracias por tomar el riesgo conmigo, por toda la paciencia y por apoyarme todo este tiempo como tutor y amigo. Tú y yo sabemos lo difícil que fue hacer este proyecto; sin embargo, me siento satisfecha y espero haber cumplido en algo con tus expectativas.

Agradezco profundamente al Dr. Edgar J. González Liceaga por ayudarme en la titánica labor de la estadística de mis datos. Gracias, Edgar, no sólo por tu apoyo profesional y por responder a mis dudas en incontables situaciones, sino también por el apoyo personal y por recordarme que nunca se debe de perder de vista el propósito de hacer ciencia. Gracias por estar ahí siempre que te necesité y por la infinita paciencia que me tuviste a lo largo de este proceso. En fin, son tantas las gracias que te debo, que al menos espero haber devuelto un poquito de lo mucho que aprendí contigo.

A la Dra. Judith Márquez Guzmán por su ayuda en el análisis micromorfológico de las orquídeas en estudio. Gracias, Judith, por todo el cariño y comprensión que me has brindado de principio a fin; por la colaboración, por los consejos, por responder a mis dudas, por tu ánimo, la disponibilidad y la dedicación que pusiste en este proyecto. Admiro la integridad que muestras como científica y como persona. Eres un gran ser humano y sin lugar a dudas, un digno ejemplo a seguir.

A la Dra. Olivia Yáñez Ordóñez por ayudarme en la identificación de las abejas. Gracias por la disposición que has mostrado desde que empezó este proyecto y por contagiarme tu gusto y pasión por estos insectos tan peculiares.

A mis profesores de la carrera por formarme como científica y por sembrar en mí tantas inquietudes como asombros posibles. Agradezco especialmente al M. en C. Iván Castellanos por acercarme al fascinante mundo de la Ecología y a la Dra. Paula Sosenski, la responsable de mi fascinación por el tema de la polinización.

Al Dr. Jorge Meave por aportar en más de una ocasión a mi formación académica. Gracias por la confianza y porque con tu peculiar forma de decir las cosas, explotaste mis cualidades.

Al Dr. Juan Fornoni, quien aunque no participó directamente en la realización de este proyecto, ha sido una pieza clave en mi formación como científica. Gracias por abrirme las puertas de tu laboratorio y por depositar la confianza en mí aún sin pertenecer directamente a tu equipo. Por acercarme a temas tan apasionantes como las interacciones bióticas y la evolución, por alimentar mi curiosidad y por el valiosísimo lugar que les das a los estudiantes.

Agradezco también a mi sitio de estudio, Nizanda, por la increíble experiencia de trabajar ahí. Gracias a toda su gente, especialmente a la familia Reyes-Manuel por su hospitalidad durante las salidas al campo. Gracias a Clau por consentirnos con rica comida calientita y agua fresca después de cada jornada de campo. A Dino por guiarnos en esos caminos a través de los cerros; a Don Malaquias por ser un digno ejemplo de entereza, sabiduría y humildad; y a Paty, porque de algún modo establecimos una amistad muy especial.

A mis ayudantes de campo, que a la vez son mis amigos: Rocío Borja, Javier López (Javivis), Jorge Hernández (Pelú), Jafet Belmont, Enrique Hernández, Julia Naime y Ulises Martínez. Gracias infinitas por “aguantar vara” en campo; por sus comentarios, por su apoyo, por la compañía, la amistad, las charlas, las risas e incluso regaños, y por supuesto por sus preguntas e ideas para mi trabajo. Espero que Nizanda les haya dejado mucho más que piquetes y raspones en su vida.

A las abejas y a las orquídeas por permitirme conocer un poquito de su suspicaz interacción. A los insectos sacrificados, les pido perdón; mi más sincero reconocimiento y gratitud a ustedes por hacer posible la realización de este trabajo en pro de sueños profesionales.

A mis compañeros del taller por sus comentarios, observaciones y porras a lo largo de este proyecto. Agradezco especialmente a Víctor, Rodrigo y Gonzalo, por compartir la pasión por la ecología y por nuestras incontables (y memorables) experiencias como tesisistas.

Gracias a los laboratorio Ecología y Diversidad Vegetal y Ecología de Ambientes Limitantes por acogerme durante este tiempo. Gracias también por los valiosos comentarios que hicieron durante el desarrollo de esta tesis, y por los tantos y divertidos momentos que hemos generado dentro y fuera del lab. Quiero agradecer especialmente a Joni, Melbi, Rodrigo, Gina, Cris, Ale, Eunice, Gerardo, Andrés, Betito, Betote, Axel, Fer Herce, Marce, Diego, Vero, Luis, Gonzalo, Edgar,

Fernando, Alí y Daniel. Gracias por ser el mejor equipo de trabajo y por la entrañable amistad que hemos construido.

Al laboratorio Desarrollo en Plantas por su ayuda y hospitalidad durante la realización del trabajo de laboratorio. Especialmente a Judith, Moni y Ricardo por su apoyo en la descripción de la morfología floral. También a Mague y a Soni por la buena vibra, y a los alumnos que cálidamente me tendieron la mano durante la pequeña pero grata estancia en el laboratorio.

A mis amigos de toda la vida y especialmente a mis mejores amigos de la universidad: Penny, Juanjo y Adri. Agradezco haberlos conocido desde el primer día de la carrera, pero agradezco aún más seguirlos conservando en mi vida. Gracias por todo el cariño y apoyo que siempre he recibido de ustedes.

A mis amigos fiesteros de la universidad: Rod, Clari, Juan, Chayo, Tetsu, Leo, Pame, Eric, Alfres, Porfi, Pololis, Héctor y Pau, por “adoptarme” y quererme en su reventado y loco clan, y por las diversas anécdotas construidas.

A las “esporitas”: Chelito, Ale, Adri y Frau por compartir la ñoñez y la infinita locura de la que sólo F. Ciencias y el mismo Darwin es testigo (jaja). A Enya, Puppy y Carito por ser tan lindas conmigo y por quererme de una manera muy especial. A July Naime por la increíble amistad que hemos generado en tan poco tiempo y por toda la confianza, apoyo y experiencias construidas.

A la gente de la Facultad de Ciencias, UNAM, especialmente a los biólogos por ser tan chidos y aventureros, y por compartir la pasión por la ciencia, la naturaleza y la vida. Gracias por todas las salidas al campo, por las experiencias de las que sólo un biólogo es testigo, y por el gran compañerismo construido. Llevo en mi ñoño y cursi corazón todas y cada una de las experiencias que generamos dentro, en las aulas y laboratorios de la facultad, y fuera en las montañas, bosques, desiertos, selvas, pantanos, ríos y mares.

A mi *alma mater*, la gloriosa UNAM, por acogerme en estos maravillosos años universitarios. A la ciencia por permitirme ver el mundo con otros ojos y a la Biología porque me ha permitido maravillarme de la vida misma.

A todos ustedes los amo mucho más de lo que podría expresarles con estas palabras. Soy muy afortunada (¡y feliz!) de tenerlos en mi vida, familia, amigos, profesores, mentores y universidad.

## **DEDICATORIA**

A mi familia y amigos.

A la UNAM

A mi país, porque sueño con un México en el que impere la verdad y la justicia.

*"Un hombre va al saber como a la guerra: bien despierto,  
con miedo, con respeto y con absoluta confianza en sí mismo."*

Carlos Castaneda

## Índice

RESUMEN.....	1
ABSTRACT .....	2
INTRODUCCIÓN .....	3
Polinización en orquídeas.....	4
Síndromes de polinización .....	6
Mecanismos de atracción y polinización.....	7
Recompensas florales.....	7
Despliegue floral .....	9
Mecanismos de polinización por engaño .....	10
Limitación en la polinización .....	11
Problema de investigación.....	12
Objetivos.....	13
Hipótesis y predicción .....	13
SITIO DE ESTUDIO .....	14
SISTEMA DE ESTUDIO .....	15
MÉTODO.....	19
Microscopía electrónica de barrido (MEB).....	19
Identificación de visitantes florales y polinizadores.....	20
Polinización .....	21
Análisis de datos .....	22
Visitantes florales .....	22
Éxito de polinización.....	22
Despliegue floral .....	22
RESULTADOS .....	25
Micromorfología floral.....	25
Visitantes florales y polinizadores.....	31
Éxito de polinización.....	35
Despliegue floral.....	37
DISCUSIÓN.....	45
Micromorfología floral y polinización .....	45

Visitantes florales y polinizadores.....	49
Éxito de polinización.....	53
Éxito de polinización masculino y femenino .....	55
Efecto del despliegue floral .....	59
CONCLUSIONES .....	60
LITERATURA CITADA.....	62
APÉNDICES.....	75
Apéndice 1.....	75
Apéndice 2.....	76
Apéndice 3.....	77

## RESUMEN

Las orquídeas están involucradas en interacciones complejas planta-polinizador y 60 % de sus especies tienen polinizadores específicos. Entre los mecanismos que utilizan las orquídeas para atraer polinizadores destacan las recompensas florales, los mecanismos de engaño y el despliegue floral. Sin embargo, para muchas especies todavía se desconoce el papel relativo de estos factores en el éxito de la polinización. Los objetivos del estudio fueron: (1) caracterizar la micromorfología floral en *Barkeria whartonia*, *Clowesia dodsoniana* y *Cyrtopodium macrobulbon*; (2) identificar a sus visitantes florales y posibles polinizadores; (3) estimar y comparar el éxito de polinización de las especies de orquídeas en estudio; y (4) evaluar la relación entre el despliegue floral y la polinización. Se recolectaron flores en anthesis para análisis microestructurales. Se observaron e identificaron a los visitantes florales y posibles polinizadores. Además, se monitorearon individuos marcados con flores en anthesis y se evaluó el número de flores con polinios removidos y depositados, el número de frutos producidos, así como el registro de tres variables del despliegue floral (número de flores abiertas, y número y longitud de las inflorescencias). Las orquídeas estudiadas presentan estructuras aparentemente secretoras de recompensas, aunque en *B. whartonia* y *C. macrobulbon* es probable que sólo sean parte del mecanismo de engaño. Las tasas de visita para las tres especies de orquídeas fueron muy bajas. Los visitantes florales más importantes fueron las abejas, aunque sólo se identificó con precisión que *Eufriesea* sp. y *Euglossa* sp. son los posibles polinizadores de *C. dodsoniana*. En todas las especies la remoción de polinios fue mayor que el depósito de éstos. *C. dodsoniana* fue la especie que tuvo la mayor remoción y depósito de polinios, mientras que *B. whartonia* presentó el mayor número de frutos por flor. *C. macrobulbon*, la especie con mayor número de flores, fue la que menos frutos produjo. Las variables del despliegue floral no fueron determinantes en la polinización, pero sí el factor temporada de floración en la remoción de *B. whartonia*. Este trabajo proporciona evidencia de polinización limitada en las especies estudiadas, aunque no parece ser el único determinante en la fructificación.

**Palabras clave:** bosque tropical caducifolio, despliegue floral, éxito de polinización, Orchidaceae, recompensas florales.

## ABSTRACT

Orchids are involved in complex plant-pollinator interactions and 60 % of species have specific pollinators. Among the mechanisms used by orchids to attract pollinators are floral rewards, mechanisms of deception and floral display. However, for many species the relative role of these factors in successful pollination is unknown. The aims of this study were: (1) characterize the floral micromorphology of *Barkeria whartonia*, *Clowesia dodsoniana* and *Cyrtopodium macrobulbon*; (2) identify their floral visitors and potential pollinators; (3) estimate and compare the pollination success of the studied orchid species; and (4) evaluate the relationship between floral display and pollination. Flowers were collected at anthesis for microstructural analysis. Floral visitors and possible pollinators were observed and identified. In addition, individuals with flowers at anthesis were marked and the number of flowers with removed and deposited pollinia was recorded, as well as the number of fruits produced, and three floral display variables (number of open flowers, and number and lengths of inflorescences). The studied orchids have structures which appear to be reward-producing, although for *B. whartonia* and *C. macrobulbon* they are likely part of the mechanism of deception. Visitation rates for all three orchids species were very low. The most important floral visitors were bees, although only *Eufriesea* sp. and *Euglossa* sp. were identified as potential pollinators of *C. dodsoniana*. In all species pollinia removal was greater than pollinia deposition. *C. dodsoniana* was the species with the highest removal and deposition pollinia, while *B. whartonia* had the highest number of fruits produced per flower. *C. macrobulbon*, the species with the highest number of flowers, had the lowest fruit set. The floral display variables here studied were not decisive in pollination, although the flowering season did impact pollinia removal in *B. whartonia*. This work provides evidence of limited pollination in the studied species, though this seems not to be the only determinant of fruiting.

**Key words:** tropical dry forest, floral display, pollination success, Orchidaceae, floral rewards.

## INTRODUCCIÓN

Entre las angiospermas, las orquídeas constituyen uno de los ejemplos más asombrosos de complejidad en interacciones con sus animales polinizadores (Roberts, 2003; Scopece *et al.*, 2014). Las Orchidaceae presentan una alta riqueza de especies (*ca.* 25,000 especies, Chase *et al.*, 2003), además de una amplia gama de atributos florales, motivos por los cuales han generado gran fascinación entre biólogos evolutivos y de la polinización desde los tiempos de Darwin (Cozzolino y Widmer, 2005). Estas peculiaridades han dado pie a numerosos estudios sobre los mecanismos de polinización de la familia (p.ej. Darwin, 1885; van der Pijl y Dodson, 1966; Ackerman, 1986; Nilsson, 1992; van der Cingel, 1995, 2001; Jersáková *et al.*, 2006). Se ha postulado que existe un vínculo entre la diversidad de orquídeas y los sistemas de polinización, pues la radiación adaptativa hacia polinizadores específicos impulsada por la selección de la polinización cruzada, ha jugado un papel importante en la evolución de la familia. No obstante, algunos otros factores, como la deriva génica y la selección natural, pueden influir en la diferenciación entre especies (Tremblay *et al.*, 2005).

Se estima que aproximadamente el 60 % de las especies de orquídeas tiene una única especie de polinizador (Tremblay, 1992), lo que lleva a pensar que esta especificidad implica importantes mecanismos etológicos y precigóticos que permiten el aislamiento reproductivo y la consecuente especiación (Cozzolino y Widmer, 2005). No obstante, la polinización cruzada en orquídeas rara vez se observa en condiciones naturales, debido a la baja frecuencia de visitas por parte de los polinizadores (Neiland y Wilcock, 1998; Widmer *et al.*, 2000; Tremblay *et al.*, 2005). Este último fenómeno posiblemente ha traído como consecuencia que existan pocos estudios sobre la polinización en orquídeas tropicales, particularmente para las zonas estacionalmente secas del Neotrópico. Tal situación es paradójica, ya que en las regiones tropicales es donde se encuentran los niveles más altos de diversidad de orquídeas, y a la vez, de pérdida de especies (Neiland y Wilcock, 1998; Roberts, 2003). El estudio de la polinización en los sistemas tropicales, podría arrojar muchos elementos para el entendimiento de los mecanismos de diversificación vegetal y de las interacciones con los polinizadores (Bawa, 1990). En este sentido, la gran diversidad de especies en las áreas tropicales genera escenarios donde pueden establecerse muchas interacciones interespecíficas y, en muchos casos, relaciones especialistas entre las plantas y sus polinizadores.

## **Polinización en orquídeas**

Las orquídeas muestran especializaciones florales extraordinarias; emplean tanto mecanismos de recompensa como de engaño en la atracción de sus polinizadores (Nilsson, 1992; Cozzolino y Widmer, 2005). Muchos de estos mecanismos se han sugerido como motores que impulsan la riqueza de especies de orquídeas (van der Pijl y Dodson, 1966; Dressler, 1981; Peakall, 2007). El mismo Darwin consideraba que las adaptaciones de las flores de las orquídeas con sus polinizadores, representan uno de los mejores ejemplos que apoyan la idea sobre la evolución por selección natural (Darwin, 1885; Jersáková *et al.*, 2006).

En la angiospermas, muchos de los atributos de las flores intervienen en la atracción de los visitantes florales y por lo general, son el resultado de la adaptación a un grupo determinado de polinizadores. Estas características son propias de las flores y cuando las agrupan en su conjunto se conocen como síndromes de polinización (Arditti, 1992; Willmer, 2011). Las características de los síndromes de polinización se centran principalmente en aspectos como el tamaño, el color, la forma y el tipo de recompensa, y se ha considerado uno de los ejemplos más interesantes de convergencia floral (Dressler, 1993). Sin embargo, los síndromes de polinización rara vez han sido sometidos a prueba, y los pocos estudios encaminados a este propósito han revelado que a nivel comunidad, sólo el 1 % de las plantas se ajustan a un síndrome de polinización tradicional (Ollerton *et al.*, 2009).

La morfología floral en Orchidaceae ha jugado un papel fundamental en los mecanismos de polinización de las especies. De acuerdo con Tremblay y colaboradores (2005), las Orchidaceae presentan tres características que en su conjunto las distinguen de las flores de otras familias de plantas. Estas características son:

- (1) La columna, que representa la fusión de los órganos masculinos y femeninos dentro de una sola estructura situada en el centro de la flor.
- (2) Los polinios, masas de polen compactas que se encuentran en la mayoría de las orquídeas, y que son transportadas como una unidad (el polinario) por los polinizadores (Freudenstein y Rasmussen, 1997; Pacini y Hesse, 2002).
- (3) Flores zigomorfas, es decir de simetría bilateral, con un pétalo altamente modificado llamado labelo, cuya función en la mayoría de los casos, es atraer y servir de plataforma sobre la cual se posan los polinizadores (van der Pijl y Dodson, 1966).

Las orquídeas han sido un buen sistema para evaluar los factores que influyen en el éxito de la polinización (al igual que las Asclepiadaceae), ya que la condición de que el polen se encuentre enpaquetado en polinios, hace que las tasas de extracción y depósito de polinios en las flores sea relativamente fácil de cuantificar (Coombs *et al.*, 2009), y que por lo tanto sea un buen indicador del éxito reproductivo masculino y femenino de la planta (Nilsson *et al.*, 1992). En general, en orquídeas son menos las plantas con depósito exitoso de polinios que las plantas con polinios removidos (Nilsson, 1992). En muchas otras angiospermas se ha observado una clara asimetría en la inversión de recursos en la descendencia, tanto de la función masculina como de la femenina (Tremblay *et al.*, 2005). Esta última idea, ha sido el argumento principal del principio de Bateman, en el cual se propone que la adecuación de la función masculina está más limitada por el número de “apareamientos” obtenidos, mientras que la adecuación femenina suele estar limitada por los recursos disponibles para la reproducción (Bateman, 1948). Sin embargo, la limitación en el éxito reproductivo de la función femenina debido a la recepción inadecuada de polen parece ser un fenómeno común en plantas (Burd, 1994).

La adaptación a polinizadores específicos es una característica importante en orquídeas (Cozzolino y Widmer, 2005), y trae consigo ventajas considerables; por ejemplo, la reducción en la pérdida de gametos masculinos. En orquídeas la pérdida de polen es notable, ya que el arreglo en polinios, provoca que el polen se exporte en su totalidad y en un mismo tiempo por un organismo (Tremblay, 1992), y que por lo tanto la polinización en orquídeas se convierta en un evento de todo o nada (Nilsson, 1992). Otra de las ventajas de la especificidad, es que reduce la competencia interespecífica por los polinizadores y maximiza la eficiencia de la polinización (Johnson *et al.*, 2005; Harder y Johnson, 2008). No obstante, el aumento de la especialización no está exento de riesgos, y factores como la pérdida del polinizador, pueden aumentar la probabilidad de extinción de las especies especialistas (Wilcock y Neiland, 2002).

Aunque algunas especies de orquídeas se autopolinizan, la mayoría requiere de un agente polinizador externo (Dressler, 1981); algunas son polinizadas por aves, pero la gran mayoría son polinizadas por insectos (Nilsson, 1992), particularmente por las abejas que son los polinizadores de aproximadamente el 60 % de las especies estudiadas (Cuadro 1). De todos los síndromes de polinización en orquídeas, el más ampliamente estudiado es el que involucra la participación de abejas euglosinas (Arditti, 1992).

**Cuadro 1.** Principales grupos de polinizadores de la familia Orchidaceae y porcentaje de especies polinizadas por cada uno de los grupos mencionados.

<b>Polinizador</b>	<b>Porcentaje de especies de orquídeas polinizadas (%)</b>
Hymenoptera (excluyendo abejas euglosinas)	50
Moscas	15
Abejas euglosinas	10
Polillas	8
Otros organismos	8
Mariposas	3
Aves	3
Especies autogámicas	3

Fuente: L. van der Pijl y Dodson, 1966 y modificado por Arditi, 1992.

En general la interdependencia entre las plantas y sus polinizadores es tal, que la evolución de uno puede influir en la del otro. Sin embargo, en orquídeas el escenario es distinto debido a la unilateralidad de la relación, pues en muchos casos es la orquídea la que depende del polinizador y no al revés (Nilsson, 1992). Se ha sugerido que esta relación asimétrica es una consecuencia directa de la evolución de la polinización por engaño (van der Cingel, 2001), donde se explotan a los polinizadores que buscan alimento a través de su semejanza visual/olfativa con las plantas que sí ofrecen recursos (Ackerman, 1986; Nilsson, 1992). Las orquídeas explotan las relaciones planta-polinizador ya existentes o incluso los sistemas sexuales que hay entre insectos (Jersáková *et al.*, 2006).

### Síndromes de polinización

El conjunto de rasgos florales (p. ej. morfología, color, olor, tamaño, recompensas, fenología) asociado a determinados grupos de polinizadores, es conocido como síndromes florales o de polinización (Faegri y van der Pijl, 1979; Fenster *et al.*, 2004). Este concepto se basa en la idea de que la morfología actual de las flores es el producto de su historia evolutiva con un grupo particular de polinizadores (Domínguez y Pérez-Ishiwara, 2013)

La hipótesis de los síndromes de polinización ha sido muy cuestionada debido a la amplia generalización en los sistemas de polinización (Rosas-Guerrero *et al.*, 2014). De hecho, se ha visto que bajo esta hipótesis, el polinizador común podría no ser predicho con éxito en aproximadamente  $\frac{2}{3}$  de las especies de plantas de una comunidad (Ollerton *et al.*, 2009),

además de que con frecuencia, las flores son visitadas por diferentes tipos de polinizadores pertenecientes a diversos grupos taxonómicos, e incluso con patrones de visita que varían en el tiempo y espacio (Robertson, 1928; Willmer, 2011).

Aunque se ha sugerido que muchos rasgos florales reflejan las respuestas de adaptación a la selección de los polinizadores, es probable que la adaptación floral también pueda estar influenciada por otros factores, por ejemplo los visitantes florales antagonistas, inclusive por los polinizadores menos frecuentes y/o menos eficientes (Aigner, 2001, 2006; Rosas-Guerrero *et al.*, 2014).

Si bien el estudio de los síndromes de polinización ha servido de buen modelo para el entendimiento de la biología de la polinización y de procesos evolutivos como la selección natural (Willmer, 2011), la hipótesis tiene limitaciones porque en muchos casos no describe con éxito la diversidad de fenotipos florales ni predice a los polinizadores de las especies de plantas (Ollerton *et al.*, 2009).

## **Mecanismos de atracción y polinización**

La probabilidad de que una flor se convierta en fruto está influenciada por numerosos factores que pueden intervenir en el éxito reproductivo de las especies (Tremblay *et al.*, 2005). Los principales factores que destacan en la reproducción de orquídeas son: (1) las recompensas florales, las cuales son usadas por los polinizadores, y que por lo tanto, juegan un papel importante en la polinización de las plantas porque aumentan las visitas florales que conducen a la polinización (Stpiczyńska *et al.*, 2003; Flach *et al.*, 2004). (2) El despliegue floral, que se refiere a un conjunto de características que forman parte de las plantas o grupos de ellas como el número de flores, la altura de las inflorescencias, la densidad o el patrón espacial (Arditti, 1992; Willmer, 2011); y (3) mecanismos de engaño, muy característicos en orquídeas, y en el que las flores de las plantas no ofrecen recompensas y atraen a los polinizadores mediante otras señales (van der Pijl y Dodson 1966; Dressler, 1981; Dafni, 1984; Schiestl, 2005; Jersáková *et al.*, 2006; Scopece *et al.*, 2010).

### **Recompensas florales**

Las recompensas florales se consideran un componente de una flor o inflorescencia que es utilizada por los animales y, debido a este uso, asegura las visitas repetidas que conducen a la

polinización (Simpson y Neff, 1981). En orquídeas se presentan tres tipos de recompensas que han sido esenciales en la atracción de los polinizadores. El primero es el néctar, que constituye el tipo de recompensa nutricional más común en muchas orquídeas y en términos energéticos, es el más importante (Tremblay *et al.*, 2005). El néctar debe cumplir al menos dos funciones: la atracción de los mutualistas y la protección contra los organismos no mutualistas como los robadores de néctar y los microorganismos que infectan a las plantas. En la función de la atracción, los carbohidratos y las proteínas son los compuestos más importantes (Heil, 2011). En muchas ocasiones, la composición del néctar determina el tipo de consumidores del mismo. Por ejemplo, los colibríes, mariposas, polillas y abejas de lengua larga normalmente prefieren néctar floral ricos en sacarosa, a igual que las especies de hormigas que se alimentan de néctar extrafloral, mientras que las abejas de lengua corta y las moscas, prefieren néctar floral rico en hexosa (Blüthgen y Fiedler, 2004; Nepi y Stpiczyńska, 2008; Nepi *et al.*, 2009; González-Teuber y Heil, 2009). El néctar, que está compuesto principalmente por azúcares y pequeñas cantidades de otras sustancias (Fahn, 1988), es secretado de un nectario a través de células epidermales, tricomas o por células nectaríferas del parénquima que segregan la sustancia hacia los espacios intercelulares y de ellos a la superficie a través de los estomas modificados o atróficos (Fahn, 1979).

El segundo tipo de recompensa floral son los aromas o fragancias florales, y es particular de orquídeas polinizadas por abejas euglosinas macho (Tremblay *et al.*, 2005). Las abejas son atraídas por las fragancias florales que recogen, y aparentemente las usan como feromonas sexuales para atraer a las abejas hembra (Dressler, 1982). Los aromas florales, además de su función en la reproducción, pueden operar como defensa para repeler insectos o detener la colonización de bacterias y hongos fitopatógenos (Marín-Loaiza y Céspedes, 2007). El aroma de las plantas es producido por las glándulas llamadas osmóforos y se componen principalmente de aceites volátiles (Vogel, 1963,1990). Por lo general, se conforman de una sola capa de células epidérmicas, aunque también pueden estar compuestos por papilas secretoras (Curry *et al.*, 1991; Endress, 1994; Cseke *et al.*, 2007).

El tercer tipo de recompensa floral lo constituyen las ceras y las resinas que son recogidas por avispa y abejas para ser utilizadas en la elaboración de nidos (Tremblay *et al.*, 2005; Grajales-Conesa *et al.*, 2011). Este material es colectado por aproximadamente 320 especies de abejas especializadas, y junto con el polen, es empleado para alimentar a las larvas y como material de construcción de los nidos (Cane *et al.*, 1983). Las abejas solitarias del

género *Centris*, son importantes polinizadores de plantas que producen recompensas florales de lípidos (Buckmann 1987, Bradleigh *et al.*, 1996; Vinson *et al.* 1996). En las plantas, estas sustancias lipofílicas se producen generalmente en las áreas superficiales del labelo y son secretados por glándulas llamadas elaióforos (van der Pijl y Dodson, 1966; Vogel, 1974), aunque también pueden ser secretados por idioblastos, áreas de células epidérmicas, tricomas o cavidades (Fahn, 1988).

Se ha sugerido al pseudopolen como una cuarta recompensa, aun cuando son pocos los géneros que lo usan para atraer a sus polinizadores. Sin embargo, no hay evidencia directa de que el pseudopolen sea empleado en la nutrición de los polinizadores (Davies y Turner, 2004; Tremblay *et al.*, 2005; Jersáková *et al.*, 2006).

## Despliegue floral

El despliegue floral en una planta es una función compuesta por el tamaño de la flor, el número de flores abiertas, el arreglo espacial de las flores, la longevidad de la flor, y otras características de la planta como el tamaño y el número de las inflorescencias. La suma de los despliegues individuales de muchas plantas también puede ser importante en la atracción de los visitantes florales (Willmer, 2011).

Numerosos estudios han reportado que la variación en el tamaño del despliegue floral marca alteraciones en el comportamiento de los polinizadores, además de que conduce a una diferencia sustancial en la dispersión del polen y en la adecuación de las plantas (Chittka y Thomson, 2001). Especialmente han sido reconocidos dos tipos de respuesta en la polinización al aumento del despliegue floral desde la perspectiva de la dispersión del polen: (1) una gran exhibición del despliegue floral atrae a más polinizadores por unidad de tiempo, lo cual promueve la polinización cruzada en términos del aumento en la remoción y el depósito de polen (Harder y Barret, 1996). (2) El número de flores que los polinizadores sondean por planta también aumenta con el tamaño del despliegue floral, con lo cual incrementa la polinización entre flores de una misma planta (geitonogamia; Richards, 1986; de Jong *et al.*, 1993).

Algunos estudios en orquídeas han demostrado una relación positiva entre el despliegue floral y el éxito reproductivo de las plantas (p. ej. Brys *et al.*, 2008; Vandewoestijne *et al.*, 2009; Suetsugu *et al.*, 2015). Sin embargo, el efecto del despliegue

floral sobre el éxito masculino y femenino de las flores de las plantas, parece no tener resultados consistentes (Tremblay *et al.*, 2005 y sus referencias). Lo anterior puede deberse a diferentes factores que tienen distintos efectos sobre el éxito reproductivo de las plantas, y también en la manera en que dichos factores interactúan (Li *et al.*, 2011).

De igual modo, la manera en que distintos factores inciden en el éxito reproductivo masculino y femenino es diferencial. Por ejemplo, se ha visto que en algunas especies, el depósito de polen está poco correlacionado con el número de flores en una inflorescencia, pero la cantidad de polinios removidos por los polinizadores, está fuertemente correlacionado con el número de flores en la inflorescencia (Tremblay *et al.*, 2005). En este sentido, las flores que no logran convertirse en frutos, no siempre resultan ser un fracaso, ya que también pueden incrementar la adecuación de la planta a través de la donación de polen (Willson y Rathcke, 1974).

## Mecanismos de polinización por engaño

Los mecanismos o sistemas de polinización por engaño se refieren a aquellas plantas que no ofrecen recompensas y atraen a los polinizadores mediante diferentes señales engañosas (Jersáková *et al.*, 2006). Se estima que un tercio de las especies de Orchidaceae presentan mecanismos de engaño y por lo tanto, los polinizadores no reciben recompensas (van der Pijl y Dodson, 1966; Ackerman, 1984; Jersáková *et al.*, 2006). De acuerdo con Jersáková *et al.* (2006), los tipos más comunes de polinización por engaño en orquídeas son:

- (1) *Engaño alimenticio*: es el mecanismo de engaño más común en orquídeas en el que las plantas explotan el comportamiento de forrajeo de los polinizadores (Nilsson, 1980; Dafni, 1983). Con el fin de atraer a los polinizadores, las orquídeas emiten señales florales generales, que son típicos de las especies de plantas gratificantes, como la forma de la inflorescencia, color de la flor, olor, guías de néctar y el polen (Gumbert y Kunze, 2001; Galizia *et al.*, 2005).
- (2) *Engaño sexual*: las flores imitan las señales de apareamiento de los insectos, especialmente de las feromonas de la hembra, y son polinizadas por los insectos machos atraídos, que a menudo tratan de copular con la flor (Jersáková *et al.*, 2006).
- (3) *Imitación de refugio*: algunas flores ofrecen a los insectos un tubo floral en el que éstos pueden descansar o dormir, o como un escondite durante el clima ventoso y lluvioso

(Gumprecht, 1977). En orquídeas, este mecanismo parece estar limitado al género mediterráneo *Serapias*, cuyas flores de color rojo muy oscuro parecen imitar entradas de nidos de abeja (Dafni *et al.*, 1981).

(4) *Imitación del sitio de anidamiento*: las plantas emplean la atracción por engaño en insectos (la mayoría dípteros y coleópteros), quienes buscan un lugar apropiado para poner sus huevos. Las flores tienden a imitar sitios de ovoposición como carroña, estiércol, o el cuerpo frutífero de un hongo. Este mecanismo se presentan en orquídeas tropicales y subtropicales (Jersáková *et al.*, 2006).

### **Limitación en la polinización**

La limitación en la polinización se refiere al poco o nulo depósito de polen en el estigma, y esto puede ser causado por distintos factores (Wada, 1999; Wilcock y Neiland, 2002). Por ejemplo, en las plantas polinizadas por animales, la cantidad de polen puede reducirse como resultado de un menor número de visitas de polinizadores en las plantas, así como por una baja cantidad de polen depositado durante la visita (Ashman *et al.*, 2004)

La limitación en la polinización ha tenido un efecto relevante en la evolución de la familia Orchidaceae (Tremblay *et al.*, 2005), ya que la baja producción de frutos es una característica distintiva en orquídeas (Ackerman y Zimmerman, 1994; Sabat y Ackerman, 1996; Neiland y Wilcock, 1998). Por ejemplo, en orquídeas epífitas el promedio de producción de frutos es menor al 20 % (Tremblay *et al.*, 2005).

Los rasgos florales también tienen un impacto significativo en la polinización, pues en muchos casos la ausencia de recompensas florales aumenta la limitación en la polinización. Por ejemplo, se ha visto que las orquídeas que no ofrecen néctar no suelen ser tan exitosas en términos reproductivos respecto a las que sí ofrecen recompensas, ya que estas últimas experimentan mayores tasas de visita y una mayor duración de las mismas (Cibula y Zimmerman, 1987; Smithson Gigord, 2001). En este sentido, la producción de recompensas puede representar una estrategia evolutiva para escapar de la limitación en la polinización debido a la baja frecuencia de visitas por parte de los polinizadores (Neiland y Wilcock, 1998).

De acuerdo con Wilcock y Neiland (2002), la polinización puede fallar en varias etapas durante el proceso de liberación, transporte y depósito de polen en el estigma. El proceso de

fracaso ha sido diversamente atribuido a la limitación de polen, limitación en la polinización, a la limitación de los polinizadores o a la combinación entre todos estos factores. Estos autores distinguen tres diferentes etapas en las que el fracaso en la polinización puede ocurrir, y en el caso particular de orquídeas esto puede deberse a causas como: (1) Pre-dispersión: remoción nula de polen o pérdida de polen durante el transporte. (2) Dispersión: muy frecuente por la limitación de polinizadores, ya sea por la pérdida o la reducción en la abundancia, por fragmentación o por las condiciones ambientales que afectan la actividad del polinizador. (3) Pos-dispersión: dada por (i) la viabilidad del polen, (ii) cantidad de polen, (iii) calidad del polen, y (iv) presencia de polen heteroespecífico (Wilcock y Neiland, 2002).

## **Problema de investigación**

Considerando el tamaño de la familia Orchidaceae, nuestro conocimiento de ella es aún superficial, lo que indica que todavía hay mucho que aprender sobre la familia. Los estudios sobre la biología floral y de la polinización ofrecen elementos para la descripción de la historia natural de las especies, sobre todo si se evalúan en su conjunto. Sin embargo, para muchas orquídeas aún se desconocen cuáles son los factores ecológicos que influyen en la polinización, así como la manera en que dichos factores afectan la interacción planta-polinizador. La escasez de estudios sobre la biología reproductiva de las orquídeas tropicales, sobre todo para su polinización, genera interrogantes. Esto resulta especialmente importante en las zonas tropicales estacionales, en donde la marcada temporalidad se convierte en un factor limitante tanto para las plantas como para sus polinizadores. Por lo tanto, la pregunta central de este trabajo es: ¿cómo es la biología de la polinización de tres especies de orquídeas (*Barkeria whartonia*, *Clowesia dodsoniana* y *Cyrtopodium macrobulbon*) en términos de la morfología floral, visitantes florales y éxito de polinización?

A su vez se plantean los siguientes cuestionamientos particulares: (1) ¿qué especies de orquídeas presentan estructuras secretoras de recompensas florales?, (2) ¿qué organismos visitan y/o polinizan a cada una de las especies de plantas y con qué frecuencia?, (3) ¿cuál es el éxito de polinización de las orquídeas estudiadas en términos de la función masculina (remoción de polinios) y función femenina (depósito de polinios)?, y (4) ¿cuál es la relación entre el despliegue floral (número de flores, número de inflorescencias y longitud de las inflorescencias) y la polinización?

## **Objetivos**

El objetivo general del presente trabajo es estudiar la polinización en tres especies de orquídeas (*Barkeria whartonia*, *Clowesia dodsoniana* y *Cyrtopodium macrobulbon*) en la región de Nizanda en Oaxaca. A su vez, se establecen los siguientes objetivos particulares:

1. Caracterizar la micromorfología floral en *Barkeria whartonia*, *Clowesia dodsoniana* y *Cyrtopodium macrobulbon*.
2. Identificar a los visitantes florales y a los posibles polinizadores.
3. Estimar y comparar el éxito de polinización masculino y femenino de las especies de orquídeas en estudio.
4. Evaluar la relación entre el despliegue floral y el éxito de polinización (masculino y femenino).

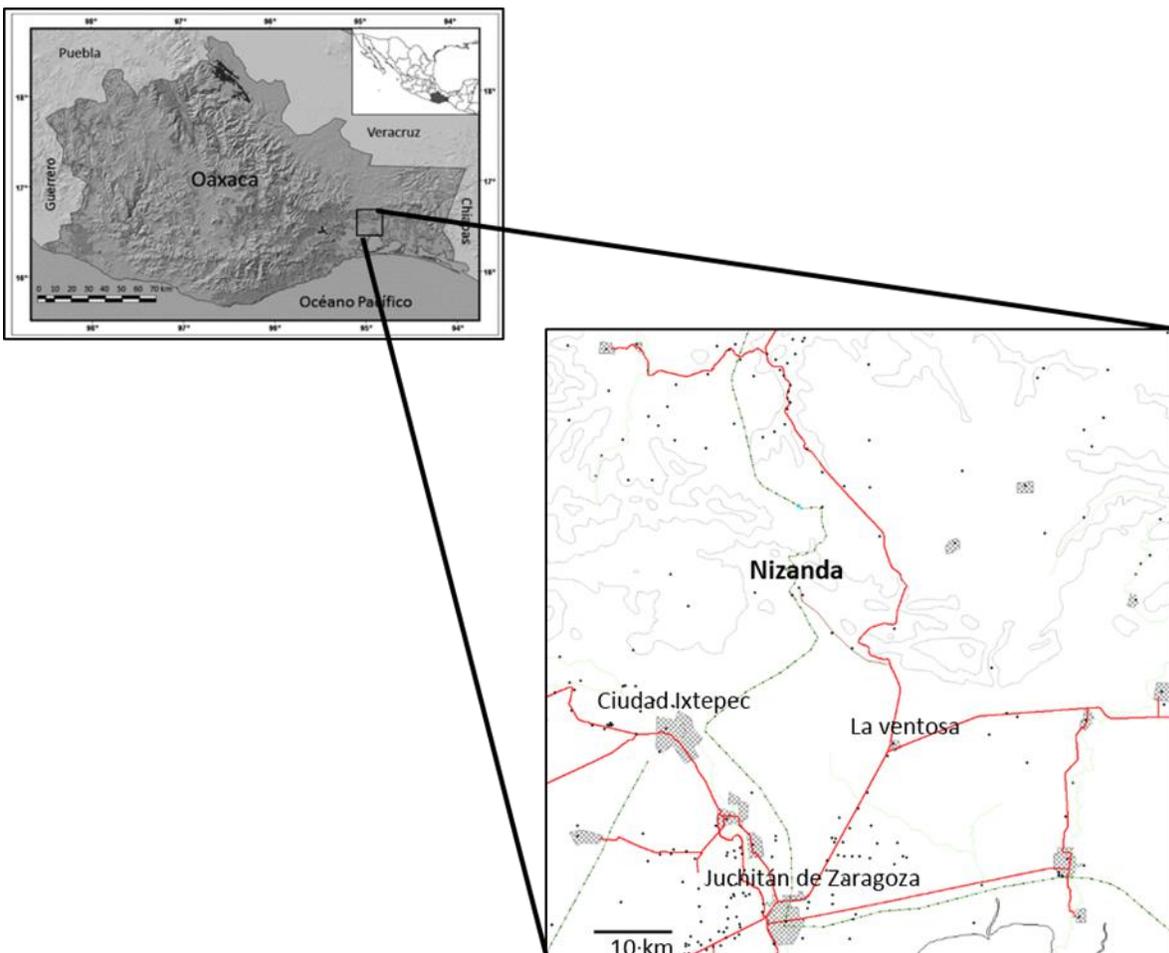
## **Hipótesis y predicción**

De los objetivos planteados, sólo el punto cuatro permitió establecer una hipótesis clara. Se ha documentado que en varias especies de orquídeas el despliegue floral hace más atractiva a una planta para los polinizadores, aumentando con ello el éxito de polinización de las plantas. Por lo tanto, se espera que el despliegue floral (medido como número de flores abiertas, y número y longitud de las inflorescencias) tenga un efecto positivo en la remoción y depósito de polinios.

## SITIO DE ESTUDIO

Este estudio se llevó a cabo en los alrededores del poblado de Nizanda, ubicado en las coordenadas 16°39' N, 95°00' O, y perteneciente al municipio de Asunción Ixtaltepec (Distrito de Juchitán, Oaxaca), en el sur del Istmo de Tehuantepec (Figura 1). Se trata de una región muy estacional donde el clima predominante es cálido subhúmedo con lluvias en verano (junio-septiembre) (Aw0; García, 2004). Cuenta con una temperatura promedio anual de 27.7° C, y una precipitación media anual de 898 mm (Kupers, 2013).

Nizanda presenta distintos tipos de vegetación, entre los que se encuentran bosque de galería, matorral espinoso, matorral xerófilo, sabana, selva baja caducifolia, selva mediana subcaducifolia y subperennifolia, y vegetación acuática y subacuática (Pérez-García *et al.* 2001).



**Figura 1.** Ubicación del sitio de estudio localizado en las inmediaciones del poblado de Nizanda, en el Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, México (Tomado de González-Rebeles, 2015).

## SISTEMA DE ESTUDIO

Se seleccionaron tres especies de orquídeas que fueran abundantes, de fácil localización, con floración sincrónica, y cuyo tamaño floral no variara mucho.

*Barkeria whartonia* (C. Schweinf.) Soto Arenas



**Figura 2.** *Barkeria whartonia*. (A) (*in situ*) creciendo sobre cactus columnar *Neobuxbaumia scoparia*. (B) Inflorescencia con flores en antesis. Fotografías tomadas por: Eduardo A. Pérez García.

*Barkeria whartonia* es una especie rupícola o epífita que crece principalmente sobre *Beaucarnea recurvata* Lem., *Comocladia engleriana* Loes., *Neobuxbaumia scoparia* (Poselg.) Backeb. y *Plumeria rubra* L. a una altitud promedio de 200-300 m. Llega a medir hasta 70 cm de alto, incluyendo las inflorescencias (Figura 2-A). Las inflorescencias están formadas por una sucesión de uno a cinco racimos, cada uno con 2-15 flores. Las flores son atractivas, sin aroma, color rosado-lila, desde muy pálido hasta intenso, y son autocompatibles (Figura 2-B). El labelo está fusionado basalmente a la columna cerca de 2 mm, formando un nectario aparentemente seco que penetra unos 4 mm en el ápice del ovario. El polinario tiene cuatro

polinios en dos pares (Soto-Arenas y Solano-Gómez, 2007). Las plantas de esta especie presentan floración sucesiva. La floración en campo se extiende aproximadamente de noviembre a enero.

*Barkeria whartonia* es una orquídea endémica de la región de Nizanda, ya que su distribución parece estar restringida a condiciones microambientales específicas, y el número de individuos en estado silvestre es bajo (< 500). Este escenario pone a *B. whartonia* en una situación vulnerable, por lo que se encuentra en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 en la categoría de Protección Especial (SEMARNAT, 2010).

No se conocen estudios sobre la biología floral y de la polinización en esta especie. Sin embargo, estudios en *Barkeria lindleyana* Bateman ex Lindl. de Costa Rica (una orquídea cercanamente relacionada a *B. whartonia*), sugieren que es polinizada por las abejas carpinteras *Xylocopa tabaniformis* Smith, 1854 (van der Pijl y Dodson, 1966). No ha podido determinarse con certeza si *B. whartonia* presenta un mecanismo de polinización por engaño, pues aunque no produce recompensas visibles, la producción de cápsulas puede ser más alta que en la mayoría de los sistemas por engaño (Soto-Arenas y Solano-Gómez, 2007).

### *Clowesia dodsoniana* Ag. León



**Figura 3.** *Clowesia dodsoniana*. (A) Planta *in situ*. (B) Flor en antesis. Fotografías tomadas por: (A) Yazmín Miranda y (B) Eduardo A. Pérez García.

*Clowesia dodsoniana* es una especie con plantas epífitas medianas, de aproximadamente 50 cm de alto que crece a una altitud de 200-400 m (Figura 3-A). Esta especie suele crecer entre las bases secas de los pecíolos de las hojas de las palmas, o en ramas o troncos muertos de los árboles. Produce de una a dos inflorescencias colgantes por brote, cada una con hasta 20 flores que abren al mismo tiempo (Figura 3-B). Las flores presentan un polinario con dos polinios. La autogamia no se presenta en esta especie y las flores son autoincompatibles (Aguirre, 1979). La floración se extiende aproximadamente de mediados de mayo a mediados de junio. Las flores de *Clowesia dodsoniana* producen un aroma intenso y particularmente agradable (Pérez-García, 2009). Sin embargo, no se han reportado los compuestos aromáticos que presenta la fragancia.

En México, se cuenta con un estudio sobre la polinización del género *Clowesia* (Aguirre, 1979), encontrando como polinizadores a las abejas *Eufriesea caerulescens* (Lepeletier, 1841) para *Clowesia glaucoglossa* (Rchb. f.) Dodson; *Euglossa viridissima* Friese, 1899 para *Clowesia rosea* Lindl.; y *Eulaema* sp. Lepeletier para *Clowesia russelliana* (Hook.) Dodson.

*Cyrtopodium macrobulbon* (La Llave & Lex.) G.A. Romero-González & Carnevali



**Figura 4.** *Cyrtopodium macrobulbon*. (A) Planta *in situ*. (B) Flor en antesis. Fotografías tomadas por: Eduardo A. Pérez García.

*Cyrtopodium macrobulbon* es una planta litófito muy común en sitios de roca caliza, crece a una altitud aproximada de 200-950 (-2200) m. Las plantas tienen una altura de hasta 50 cm, con inflorescencias que pueden ramificar y que llegan a tener hasta 50 flores (Figura 4-A,B). La floración tiene lugar de abril a mayo (Pérez-García, 2007).

En esta especie no se ha reportado la presencia de recompensas florales y se desconoce su biología de la polinización. Sin embargo, existen estudios sobre especies del género, como en *Cyrtopodium punctatum* (Linnaeus) Lindley, una especie que presenta polinización por engaño usando compuestos aromáticos para atraer a los polinizadores, en la cual se ha registrado a *Xylocopa* sp. como posible polinizador (Dutra *et al.*, 2009). En otra especie de este mismo género, *Cyrtopodium polyphyllum* (Vell.) Pabst ex F. Barros (que tampoco ofrece recompensas pero que presenta mimetismo como mecanismo de polinización), se tienen reportadas a *Centris tarsata* Smith, 1874 y a *Centris labrosa* Friese, 1899 como polinizadores (Pansarin *et al.*, 2008).

## MÉTODO

Se colectó material biológico de las tres especies de orquídeas para la caracterización de su micromorfología floral, se hicieron observaciones de los visitantes florales para la identificación de los posibles polinizadores y se tomaron datos para evaluar la polinización. Estos datos se tomaron en dos temporadas de floración: 2013 y 2014 para cada especie, a excepción de *Barkeria whartonia* en la que sólo se tomó en cuenta una temporada de floración correspondiente al año 2013 pero dividida en dos periodos de observación: inicio y término de la floración (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Meses de observación para cada especie de orquídea en donde se especifica el número de días de observación por mes.

Especie	2013				2014		Días totales de observación
	Abr	Jun	Nov	Dic	Abr	Jun	
<i>Barkeria whartonia</i>	-	-	6	7	-	-	13
<i>Clowesia dodsoniana</i>	-	7	-	-	-	5	12
<i>Cyrtopodium macrobulbon</i>	4	-	-	-	6	-	10

### Microscopía electrónica de barrido (MEB)

Con la finalidad de localizar estructuras de secreción en las flores, se caracterizó micromorfológicamente a las orquídeas en estudio. Se recolectaron flores en antesis en campo que fueron fijadas en FAA (formaldehído-ácido acético-alcohol-agua) durante una semana. Luego se hicieron cortes longitudinales de las siguientes estructuras: labelo, columna e intersección labelo-columna. Se hicieron lavados con agua destilada de cada una de las muestras y éstas se deshidrataron en una serie gradual de etanoles (50 %, 70 %, 85 %, 96 % y 100 %), dejando las muestras durante un día en cada concentración de alcohol, a excepción del alcohol 50 % en la que sólo permanecieron un par de horas. Tras la deshidratación en alcoholes, las muestras se deshidrataron a punto crítico en una desecadora CPD-030 Bal-tec. Se cubrieron con oro en una ionizadora Denton Vacuum Desk-II, y se observaron al microscopio electrónico de barrido Jeol JSM-5310 LV.

## **Identificación de visitantes florales y polinizadores**

Las observaciones de los visitantes florales y posibles polinizadores se obtuvieron a partir de dos procedimientos. El primero correspondió a observaciones directas en campo con la asistencia de dos a tres personas por periodo de observación. Cada periodo fue de 8:00 a 16:00 hrs (horario de invierno), y de 7:00 a 15:00 hrs (horario de verano), por lapsos de dos horas de observación y una hora de descanso. Los periodos de observación son largos debido a la baja frecuencia de visitas por parte de los polinizadores.

El segundo procedimiento se llevó a cabo a través del uso de dos cámaras de video marca Canon R400 Full HD. Estas observaciones se hicieron de manera continua en un horario de 8:00 a 13:00 hrs. Es necesario aclarar que el uso de cámaras de video se empleó para todo el muestreo de *Barkeria whartonia* (en el año 2013) y sólo para el segundo año de observación de *Clowesia dodsoniana* y *Cyrtopodium macrobulbon* (durante 2014). El número total de horas observadas (observaciones personales y videos) se presenta en el Cuadro 3. Se contó como visita floral cada vez que un animal tuviera contacto directo con la flor, ya sea de forma repetida en la misma flor o entre flores distintas de una misma planta.

**Cuadro 3.** Número total de horas empleadas para la observación de los visitantes florales durante cada muestreo.

Especie	Horas de observación						Total
	2013				2014		
	Abr	Jun	Nov	Dic	Abr	Jun	
<i>Barkeria whartoniana</i>	-	-	39	132	-	-	171
<i>Clowesia dodsoniana</i>	-	80	-	-	-	55	135
<i>Cyrtopodium macrobulbon</i>	48	-	-	-	94	-	142

Se procuró capturar a los visitantes florales mediante redes entomológicas para luego colocarlos en cámaras letales de acetato de etilo donde fueron sacrificados para su posterior identificación. Además, se intentó determinar la identidad de los visitantes florales en campo y a través de los videos, sobre todo para el caso de las abejas, pues fueron en muchos casos los visitantes más comunes. El resto de los visitantes se agrupó de acuerdo al grupo taxonómico más próximo y reconocible de organismos. Las abejas recolectadas fueron identificadas con la ayuda de la Dra. Olivia Yáñez Ordóñez y el Dr. Ismael Alejandro Hinojosa Díaz de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Los insectos recolectados serán depositados en la Colección Himenopterológica del Museo de Zoología “Alfonso L. Herrera” de la Facultad de Ciencias, UNAM.

## Polinización

Se marcaron en el campo individuos reproductivos con flores en anthesis de las tres especies estudiadas. Cada individuo fue monitoreado y en cada caso se registró: número de flores abiertas, número de inflorescencias y longitud de cada inflorescencia. Dado que la remoción y el depósito de polinios se emplean como medidas de éxito reproductivo masculino y femenino respectivamente (Nilsson, 1992), se marcaron todas las flores de cada planta y se llevó a cabo un registro por flor de los polinios removidos y depositados por temporada de observación. Adicionalmente, se regresó después de un par de meses a registrar el número de frutos producidos por cada planta marcada. Cabe señalar que muchos de los frutos registrados no necesariamente corresponden al número de flores marcadas, debido a que el periodo de observación no abarcó toda la temporada de floración y por ende no hubo un seguimiento continuo de la flor. No obstante, el registro total de las flores por planta permitió hacer un estimado de cuántos frutos por flores se formaron.

## Análisis de datos

### Visitantes florales

Para cada especie de orquídea se calculó la tasa de visita ( $TV$ ) por periodo de observación y visitante floral. El cálculo se hizo con base en el número de visitas por flor en las horas de observación, con la finalidad de obtener valores comparables entre especies, de tal modo que:

$$TV = \frac{NVF/NF}{NH}$$

donde NVF es el número de visitas florales en el periodo de observación, NF es el número de flores vistas en el periodo de observación, y NH es el número de horas observadas en el periodo de observación (Apéndice 1).

### Éxito de polinización

Para evaluar el éxito de polinización de las especies de orquídeas, se obtuvieron estimaciones de la función masculina y femenina de la flor. De este modo se tomaron en cuenta los siguientes componentes y sus porcentajes: (a) remoción de polinios: % (número de flores con polinios removidos/número de flores producidas) para el éxito masculino; y (b) depósito de polinios en la cavidad estigmática: % (número de flores con polinios depositados/número de flores producidas) para el éxito femenino (Ackerman *et al.*, 1997; Parra-Tabla y Vargas, 2004).

### Despliegue floral

Para evaluar el efecto del despliegue floral sobre la probabilidad de remoción y depósito de polinios en las flores, los datos fueron analizados mediante un enfoque de modelos lineales generalizados de efectos mixtos (GLMM), utilizando un error con distribución binomial en el paquete lme4 (Bates *et al.*, 2014) en el programa R (R Core Team, 2015). Se usó este análisis al tenerse más de una flor registrada por planta, lo que viola el supuesto de independencia de los datos.

Las variables explicativas del despliegue floral fueron: número de flores abiertas, número de inflorescencias y longitud de las inflorescencias. Además se incorporó el año para el caso de *Clowesia dodsoniana* y *Cyrtopodium macrobulbon* en las que se tuvieron dos años de muestreo, esto con la finalidad de conocer si la temporada de floración es un factor

determinante en la remoción y depósito de polinios. Para el caso de *Barkeria whartonia* se tomaron en cuenta los dos periodos de observación registrados de la única temporada de floración estudiada (inicio y final). Asimismo, el factor individuo (planta) fue designado como factor aleatorio.

Se construyeron modelos en el que se incluyó el efecto de cada una de las variables explicativas sobre cada variable de respuesta (remoción y depósito de polinios), incorporando una, dos o tres de ellas (Cuadro 4). Para la elección del mejor modelo primero se obtuvo el valor de  $AIC_c$  para cada uno de ellos. Este valor es una versión de AIC (criterio de información de Akaike) para tamaños de muestra pequeños, cuando  $n/k$  es menor a 40 (en nuestro caso 18.8) donde  $n$  es el tamaño de muestra y  $k$  es el número de parámetros ajustados en el modelo más complejo (Symonds y Moussalli, 2011), usando la siguiente fórmula:

$$AIC_c = AIC + \frac{2k(k+1)}{n-k-1}$$

**Cuadro 4.** Conjunto de modelos lineales generalizados de efectos mixtos (GLMM) y variables explicativas empleadas para cada uno de ellos. NF: número de flores; NI: número de inflorescencias; LI: longitud de las inflorescencias; TA: año para el caso de *Clowesia dodsoniana* y *Cyrtopodium macrobulbon*; TF: inicio y final de la temporada de floración en *Barkeria whartonia*; PL: planta como factor aleatorio (modelo nulo).

<b>Modelo</b>	<b>Variables explicativas</b>
0	(PL)
1	NF + NI + LI + TA o TF + (PL)
2	NF + NI + LI + (PL)
3	NF + NI + TA o TF + (PL)
4	NF + LI + TA o TF + (PL)
5	NI + LI + TA o TF + (PL)
6	NF + NI + (PL)
7	NF + LI + (PL)
8	NF + TA o TF + (PL)
9	NI + LI + (PL)
10	NI + TA o TF + (PL)
11	LI + TA o TF + (PL)
12	TA o TF + (PL)
13	LI + (PL)
14	NI + (PL)
15	NF + (PL)

Posteriormente se obtuvo el valor de  $\Delta_i$  para cada modelo (la diferencia entre el valor de  $AIC_c$  del modelo analizado respecto al valor de  $AIC_c$  del mejor modelo). Con la finalidad de evaluar la contribución relativa de las variables de cada modelo, se calculó el peso ( $\omega_i$ ) de cada uno de ellos a partir de los valores de  $\Delta_i$ , como:

$$\omega_i = \frac{\exp(-\frac{1}{2} \Delta_i)}{\sum_{r=1}^R \exp(-\frac{1}{2} \Delta_r)}$$

donde  $\omega_i$  es el peso relativo del modelo  $i$ ,  $r$  es la suma de cada modelo y  $R$  es la suma de todos los modelos. Con la finalidad de considerar sólo a los mejores modelos se eligieron aquellos que acumularan el 95 % del peso, el resto fue descartado. Algunos modelos no se pudieron para todas las especies debido a que el tamaño de muestra no fue suficiente.

Para conocer si las variables explicativas tienen un efecto en las variables de respuesta, se calculó un modelo promedio de los parámetros asociados a cada variable independiente, así como su intervalo de confianza para evaluar la confiabilidad de los valores estimados; esto se hizo en el paquete `AICcmodavg` (Mazerolle, 2015) del paquete de cómputo R (R Core Team, 2015). Bajo este procedimiento, cuando los intervalos de confianza asociados al valor del parámetro no incluyen al cero, se concluye que hay suficiente evidencia de que la variable independiente en cuestión explica la variación en la remoción o en el depósito de polinios. Por el contrario, cuando los intervalos de confianza son muy amplios e incluyen al cero, se concluye que no hay un efecto importante de las variables explicativas. Para el caso del año y periodo de observación en el que se tienen dos niveles (año 2013 y 2014, e inicio y final de la floración, respectivamente), el criterio de elección fue: si los intervalos de confianza asociados a cada año o periodo de observación se sobrelapan no hay efecto sobre la variable de respuesta. Por el contrario, si los intervalos de confianza no se sobrelapan, sí hay efecto de la variable explicativa sobre la variable de respuesta.

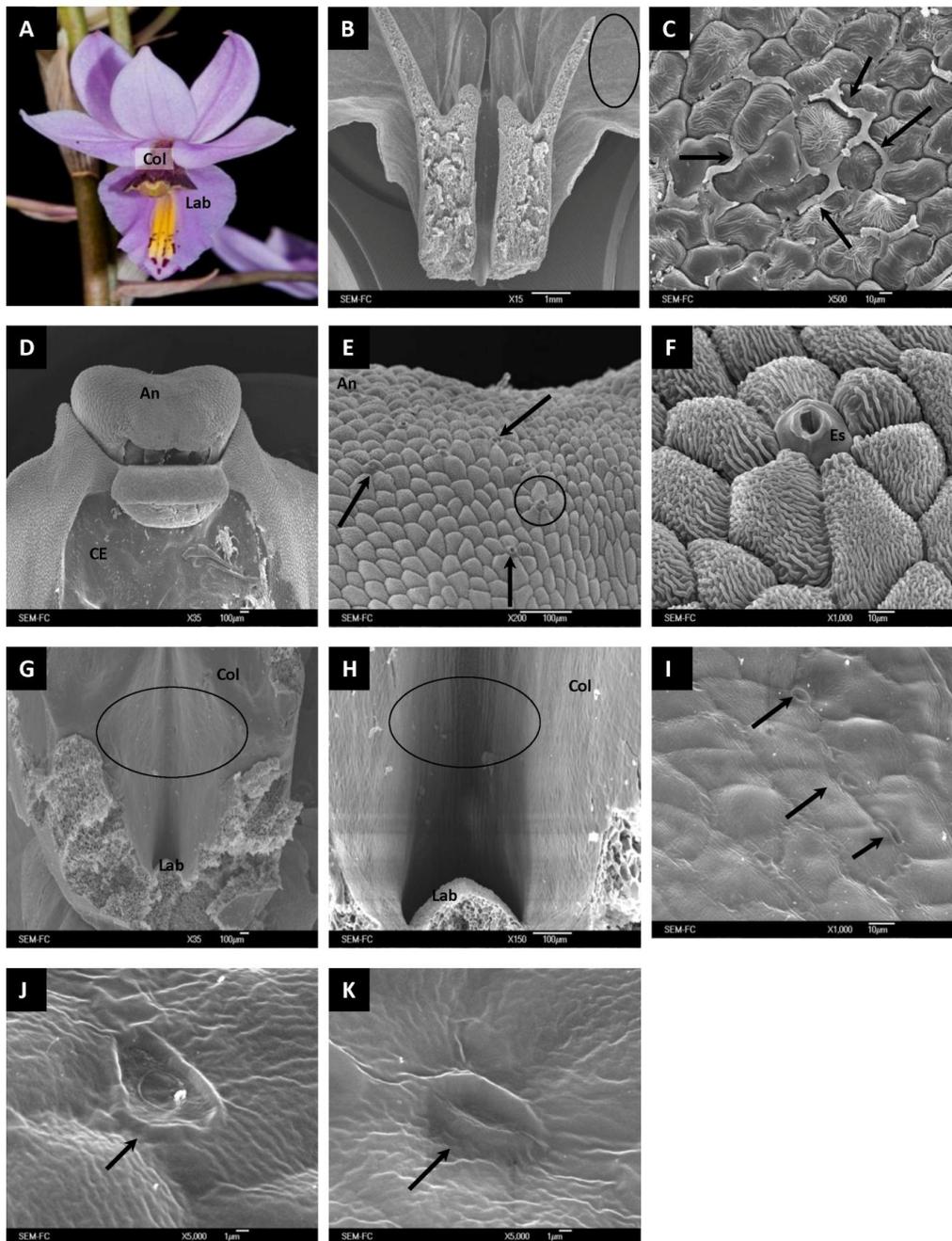
## RESULTADOS

### Micromorfología floral

Se examinó mediante el microscopio electrónico de barrido (MEB) la superficie adaxial de tres estructuras (labelo, columna e intersección labelo-columna) en las tres especies de orquídeas estudiadas. En cada una de las especies se encontraron estructuras en la epidermis que sugieren su participación en procesos de secreción. Estas estructuras difirieron entre las zonas analizadas de las flores de una misma especie, así como entre flores de las diferentes especies.

#### *Barkeria whartonia*

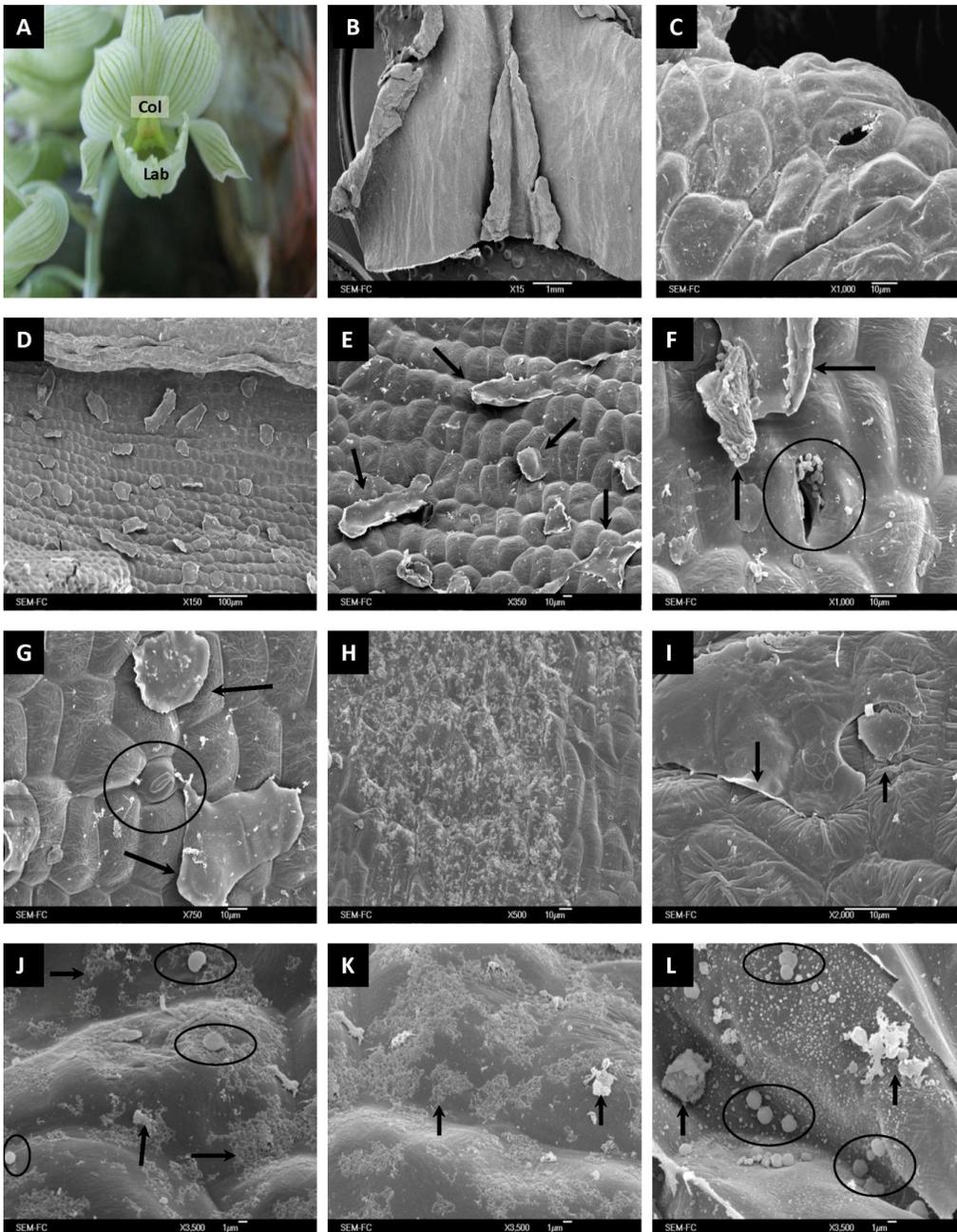
La flor es de tamaño pequeño aproximadamente de 2.5 cm de diámetro, de color blanquecino durante los primeros días en antesis y de color lila en etapa madura (Figura 5-A). Tanto los pétalos como los sépalos presentan una apariencia brillante. En las tres zonas analizadas se encontraron estructuras que sugieren la salida de secreciones. En el ápice del labelo, en la zona lateral de éste (Figura 5-B) se encontró indicios de secreción en los espacios intercelulares (Figura 5-C). Esta posible forma de secreción se localizó a lo largo de toda la zona entre una célula y otra. Por el contrario, en la columna de la flor específicamente en la antera (Figura 5-D), se encontraron series de estomas distribuidos de manera heterogénea (Figura 5-E). El arreglo y la apariencia de los estomas indican que podría tratarse de estomas atróficos o no funcionales (Figura 5-F), es decir, estomas que perdieron la función del intercambio gaseoso pero que fungen como un medio a través del cual se liberan sustancias que la flor está produciendo. Finalmente en la zona que corresponde a la intersección labelo-columna (Figura 5-G, H), se encontró un patrón de hendiduras a lo largo de la franja de la columna adyacente al labelo (Figura 5-I). Estas estructuras intercelulares, podrían indicar la vía de salida de sustancias (Figura 5-J, K).



**Figura 5.** Análisis micromorfológico de *Barkeria whartonianana* en la superficie adaxial del labelo, columna e intersección labelo-columna. (A) Flor de *B. whartonianana* en antesis. (B) Corte longitudinal de labelo señalando la zona de secreción. (C) Zona de secreción hacia el espacio intercelular. (D) Imagen panorámica de la columna de la flor con vista a la antera y cavidad estigmática. (E) Vista superior de la antera en la que se indica la presencia de estomas. (F) Estoma localizado en la antera. (G) Vista panorámica de la zona de intersección columna-labelo en la que se señala la zona donde se encontraron estructuras de secreción. (H) Zona de intersección columna-labelo con mayor aumento. (I) Hendiduras encontradas a lo largo de la columna. (J)-(K) Hendiduras localizadas en la columna. **An:** Antera, **CE:** Cavidad Estigmática, **Col:** Columna, **Es:** Estomas, **Lab:** Labelo.

### *Clowesia dodsoniana*

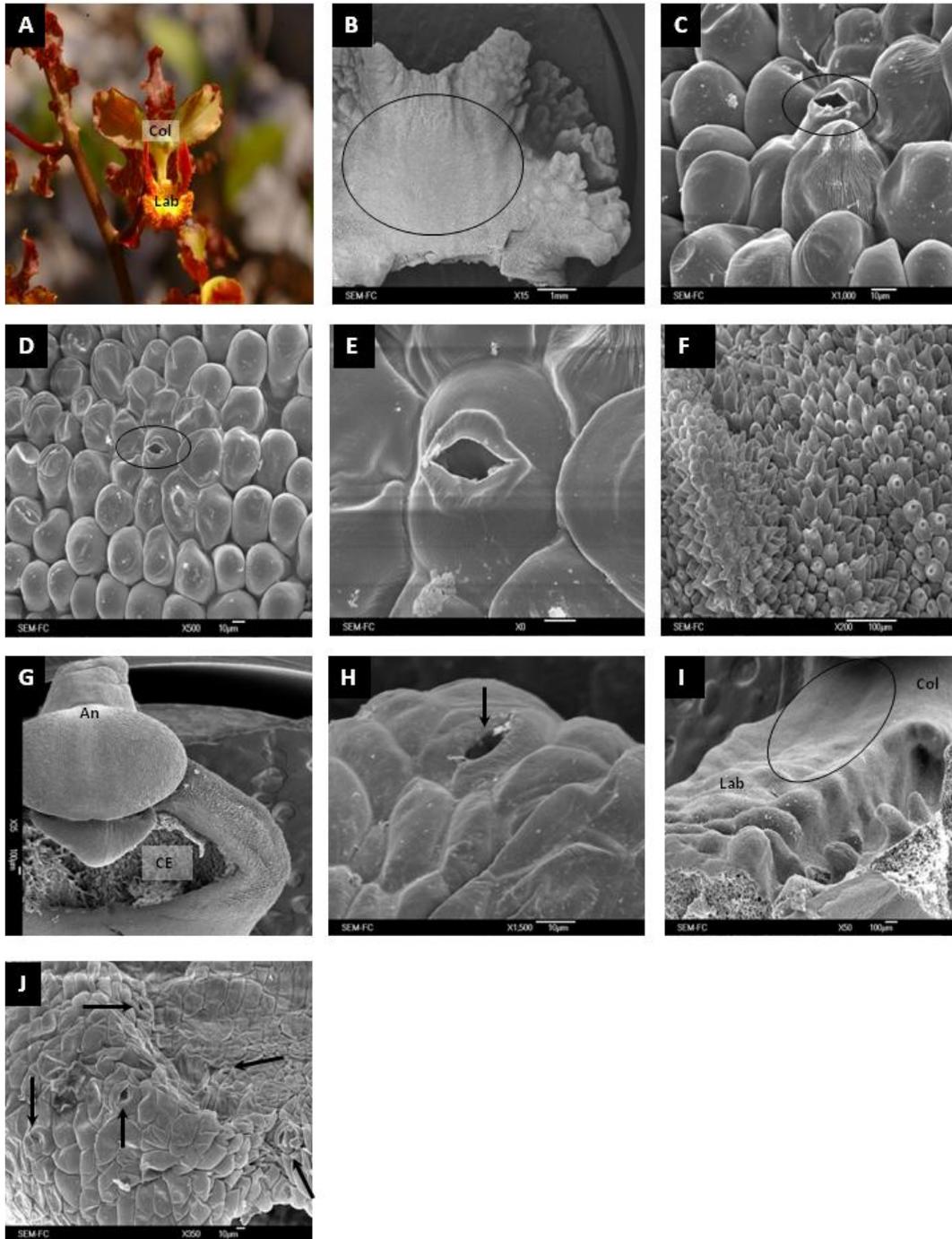
La flor de esta especie es más grande en comparación con las flores de las otras dos especies; tiene un diámetro aproximado de 4 cm. Las flores son de color verde claro y con rayas longitudinales verde oscuro (Figura 6-A). En cuanto al análisis micromorfológico se observaron estructuras secretoras. Sin embargo, las estructuras encontradas únicamente fueron observadas en el labelo, el resto de las zonas de la flor no las presentaron. A lo largo del labelo de la flor (Figura 6-B), se encontraron estructuras con posible función de secreción y con diferente morfología. En la zona apical cercana a los pliegues del labelo, se localizaron aberturas en la superficie epidérmica (Figura 6-C), mientras que en la zona media del labelo, se observaron desprendimientos cuticulares (Figura 6-D). Los desprendimientos cuticulares fueron muy evidentes en el pliegue del labelo y podrían tratarse también de secreciones (Figura 6-E). Conforme las observaciones se aproximaron a la zona basal, se encontraron otras estructuras de salida, algunas incluso con secreción alrededor (Figura 6-F). La ubicación de estructuras con sustancias alrededor de ellas, hizo evidente la posibilidad de una secreción líquida a través de las grietas cuticulares (Figura 6-G), las cuales se encontraron distribuidas de manera uniforme a lo largo de la zona (Figura 6-H). Los desprendimientos cuticulares se repitieron en la zona próxima a la base del labelo (Figura 6-I) y con frecuencia se observaron acompañados de estructuras esféricas (Figura 6-J), además de sustancias dispuestas alrededor de la zona (Figura 6-K, L).



**Figura 6.** Análisis micromorfológico de *Clowesia dodsoniana* en la superficie adaxial del labelo. (A) Flor de *C. dodsoniana* en antesis. (B) Corte longitudinal de labelo. (C) Abertura en la superficie epidérmica en la zona apical del labelo. (D) Desprendimientos cuticulares en la zona apical del labelo. (E) Desprendimientos cuticulares en la zona media del labelo. (F) Estructura de salida en zona media del labelo con secreciones alrededor. Las flechas señalan la secreción en la periferia. (G) Estructura de salida con sustancia a través de las grietas cuticulares. (H) Secreciones cuticulares en la zona media del labelo próxima a la base. (I) Secreciones cuticulares en la zona próxima a la base del labelo. (J) Elementos en la superficie epidérmica en la zona basal del labelo. Se señalan las sustancias encontradas. (K) Sustancias dispuestas en la superficie basal del labelo. (L) Diferentes tipos de secreciones ubicados en la base del labelo. Se señalan las estructuras encontradas. **Col:** Columna, **Lab:** Labelo.

### *Cyrtopodium macrobulbon*

Las flores de esta especie son relativamente pequeñas, aproximadamente de 3 cm de diámetro, de color amarillo y con puntos guindas. Las brácteas florales son muy coloridas, semejantes a los sépalos (Figura 7-A). Las estructuras secretoras fueron localizadas en las tres zonas analizadas de la flor: labelo, columna e intersección labelo-columna, aunque fueron más evidentes en el labelo (Figura 7-B). A lo largo de la zona media del labelo, se encontraron células globosas distribuidas de manera uniforme (Figura 7-C, D), algunas de las cuales presentaron aberturas en forma de labios en la pared periclinal externa de las células (Figura 7-E). En algunas de las células globosas, se observaron sustancias alrededor de la abertura, probablemente secretadas por ellas. En la zona próxima a la base del labelo, se encontraron células globosas y fue evidente que a diferencia de las células del labelo medio, las células de la zona basal se encontraron sin aberturas (Figura 7-F). En relación a la columna de la flor (Figura 7-G), se encontró sólo una estructura de salida en la epidermis localizada entre la cavidad estigmática y la antera (Figura 7-H). Y finalmente, en la intersección labelo-columna (Figura 7-I), se observó la presencia de una serie de poros distribuidos a lo largo de la región (Figura 7-J).



**Figura 7.** Análisis micromorfológico de *Cyrtopodium macrobulbon* en la superficie adaxial del labelo, columna e intersección labelo-columna. (A) Flor de *C. macrobulbon* en antesis. (B) Corte longitudinal de labelo señalando la zona donde se encontraron estructuras de secreción. (C) Células globosas distribuidas en el labelo. (D) Células globosas en el labelo medio. (E) Célula globosa con abertura en la pared periclinal externa de la célula. (F) Células en la zona basal del labelo. (G) Columna de la flor con vista a la cavidad estigmática y a la antera. (H) Estructura de salida localizada en la superficie epidérmica de la columna. (I) Intersección labelo-columna, señalando las estructuras de secreción. (J) Serie de poros. **An:** Antera, **CE:** Cavidad Estigmática, **Col:** Columna, **Lab:** Labelo.

## Visitantes florales y polinizadores

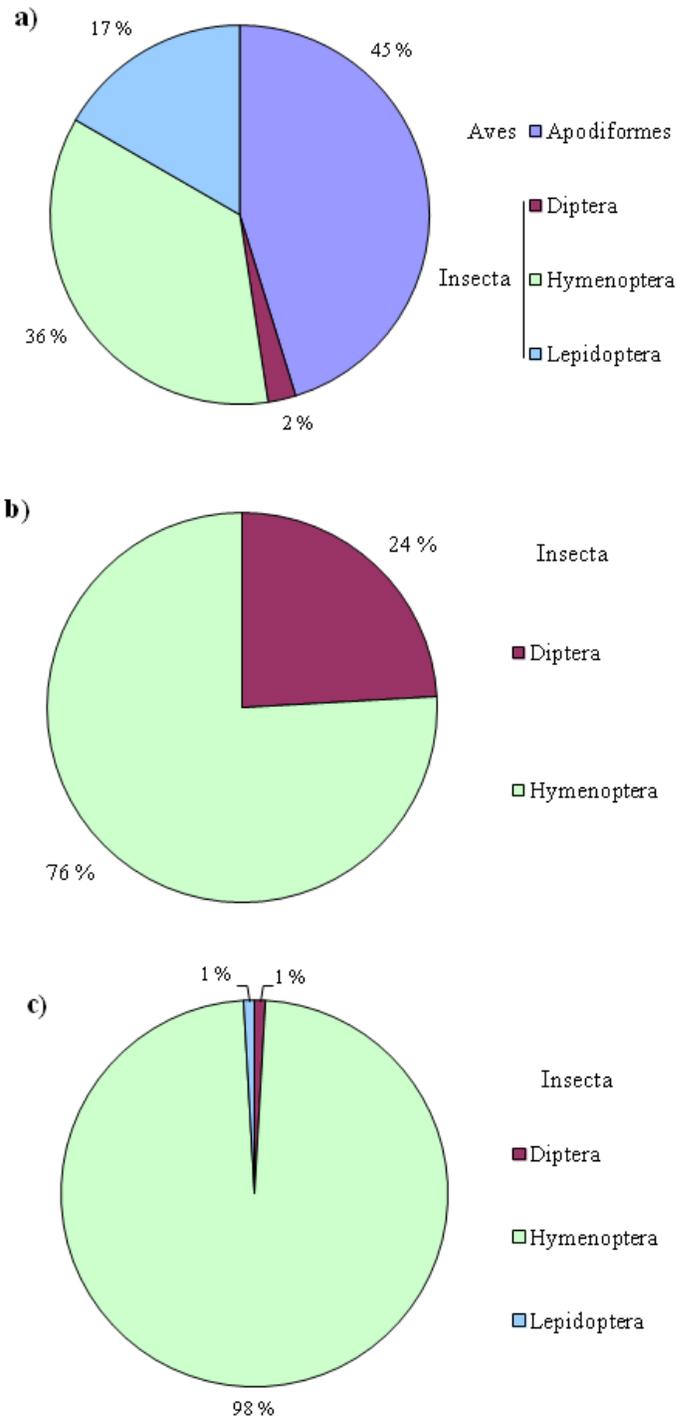
Las orquídeas estudiadas fueron visitadas por diferentes grupos de insectos e incluso aves (colibríes), pero la gran mayoría de los visitantes no resultaron ser sus polinizadores (Figura 8). En el caso de *Barkeria whartonia*, 45 % de las visitas fueron colibríes; el resto de las visitas las efectuaron los insectos, de tal forma que el 36 % fueron de Hymenoptera, 17 % Lepidoptera y 2 % Diptera (Figura 8a). Para *Clowesia dodsoniana*, 76 % de las visitas fueron de Hymenoptera y 24 % de Diptera (Figura 8b). Finalmente, en *Cyrtopodium macrobulbon* el orden Hymenoptera contribuyó con 98 % de visitas, seguido de Lepidoptera y Diptera con 1 % respectivamente (Figura 8c).

En general, las tasas de visita para las orquídeas estudiadas fueron bajas, aunque hubo variación entre especies y periodos de observación (Cuadro 5). La especie que tuvo la tasa de visita promedio más alta fue *Clowesia dodsoniana* (0.0124 visitas/flor/hora). Curiosamente, *Barkeria whartonia* y *Cyrtopodium macrobulbon* no difirieron mucho en sus tasas de visita promedio (0.0053 visitas/flor/hora y 0.0052 visitas/flor/hora, respectivamente; Cuadro 5). En todas las especies, en cada periodo de observación, se detectaron diferentes tasas de visita; por ejemplo, se observó que para *C. dodsoniana* la tasa de visita de 2014 (0.0233 visitas/flor/hora) fue notoriamente superior a las de 2013 (0.0014 visitas/flor/hora). En *B. whartonia*, el valor más alto se registró durante el primer periodo de observación (2013a; 0.0081 visitas/flor/hora), mientras que para *C. macrobulbon* fue en 2013 (0.0089 visitas/flor/hora; Cuadro 5).

La contribución relativa de los gremios de visitantes florales también difirió entre especies de orquídeas. En *Barkeria whartonia* los visitantes florales estuvieron representados por insectos y aves, mientras que para las otras dos especies las visitas únicamente fueron de insectos. La contribución de aves e insectos a las visitas florales de *B. whartonia* no fue particularmente diferente, ya que en promedio los insectos aportaron 0.0027 visitas/flor/hora, mientras que los colibríes contribuyeron con 0.0026 visitas/flor/hora. Para el caso de *Clowesia dodsoniana*, los insectos en promedio tuvieron 0.0124 visitas/flor/hora y en *Cyrtopodium macrobulbon* la tasa fue de 0.0052 visitas/flor/hora. Para las tres especies, el grupo de insectos más frecuente fue el de las abejas, mientras que el resto de los insectos (avispa, hormigas y mariposas) estuvieron muy subrepresentados (Cuadro 5).

La gran mayoría de los visitantes atraídos por las plantas no realizaron visitas efectivas, es decir no se llevaron ni depositaron polinios. Sólo para *Clowesia dodsoniana* se observó a

los posibles polinizadores que fueron abejas identificadas como *Eufriesea* (*caerulescens* o *micheneri*) y *Euglossa* (Glossura) posiblemente de la especie *E. imperialis*. De acuerdo a la información de la literatura y a las observaciones de campo, estas abejas pueden considerarse los posibles polinizadores de *C. dodsoniana*. A pesar de que los otros visitantes florales no fueron los polinizadores, éstos presentaron algunos comportamientos interesantes que se describen en el Apéndice 3. En *Barkeria whartoniana* la visita más frecuente por parte de las aves fue hecha por colibríes de la especie *Archilochus colubris* (Linnaeus, 1758) tanto hembras como machos.



**Figura 8.** Visitantes florales y porcentajes de visitas en: **(a)** *Barkeria whartoniiana*, **(b)** *Clowesia dodsoniana* y **(c)** *Cyrtopodium macrobulbon*. Los resultados están agrupados en Clase (Aves o Insecta) y Orden (Apodiformes, Coleoptera, Diptera, Hymenoptera y Lepidoptera).

**Cuadro 5.** Tasas de visita (visitas/flores/hora) en *Barkeria whartoni*, *Clowesia dodsoniana* y *Cyrtopodium macrobulbon*. Se desglosa la información por periodo de observación (2013 y 2014), y en promedio (2013-2014), a excepción de *B. whartoni* en cuyo caso los datos corresponden a dos periodos de observación pero en una sola temporada de floración (2013 *a-b*). Además, se presenta el valor promedio de visitas florales de ambos periodos de observación ( $\bar{x}$ ) para cada especie de orquídea. Los visitantes florales están agrupados en clase, orden, visitante (col = colibrí, mos = mosquito, abe = abeja, avi = avispa, hor = hormiga, mar = mariposa) y la taxonomía correspondiente por visitante. NI corresponde a los ejemplares no identificados. Se resaltan en negritas los valores promedio del total de visitantes florales en cada especie de orquídea. Se subraya los valores más altos de las especies entre temporadas de observación. Los guiones indican que no hubo visita del taxón en cuestión.

Clase	Orden	Visitante	Taxón visitante	<i>Barkeria whartoni</i>			<i>Clowesia dodsoniana</i>			<i>Cyrtopodium macrobulbon</i>		
				2013a	2013b	$\bar{x}$	2013	2014	$\bar{x}$	2013	2014	$\bar{x}$
Aves	Apodiformes	col	<i>Archilocus colubris</i> (Linnaeus, 1758)	<u>0.0045</u>	0.0007	<b>0.0026</b>	-	-	-	-	-	-
Insecta	Diptera	mos	NI	-	0.0002	0.0001	-	0.0061	0.0030	0.0001	-	-
Insecta	Hymenoptera	abe	<i>Apis mellifera</i> (Linnaeus, 1758)	-	-	-	-	-	-	-	0.0002	0.0001
Insecta	Hymenoptera	abe	<i>Euglossini</i> spp.	0.0009	0.0002	0.0005	-	0.0148	0.0074	-	-	-
Insecta	Hymenoptera	abe	<i>Melipona</i> sp.	-	-	-	-	-	-	0.0001	-	-
Insecta	Hymenoptera	abe	<i>Mesocheira bicolor</i> (Fabricius, 1804)	-	-	-	-	-	-	0.0001	-	-
Insecta	Hymenoptera	abe	<i>Partamona bilineata</i> (Say, 1837)	-	-	-	0.0002	0.0006	0.0004	0.0001	-	-
Insecta	Hymenoptera	abe	<i>Plebeia moureana</i> (Ayala, 1999)	-	-	-	-	-	-	0.0001	-	0.0001
Insecta	Hymenoptera	abe	<i>Trigona fulviventris</i> (Guérin-Méneville, 1844)	-	-	-	-	-	-	0.0013	0.0003	0.0008
Insecta	Hymenoptera	abe	<i>Trigona nigra</i> (Cresson, 1878)	-	-	-	-	0.0012	0.0006	-	0.0008	0.0004
Insecta	Hymenoptera	abe	<i>Trigonisca mixteca</i> (Ayala, 1999)	-	0.0002	0.0001	-	-	-	0.0005	-	0.0003
Insecta	Hymenoptera	abe	<i>Xylocopa</i> sp.	0.0009	0.0007	0.0008	-	-	-	-	0.0001	0.0001
Insecta	Hymenoptera	abe	NI	0.0006	0.0002	0.0004	-	-	-	0.0058	-	0.0029
<b>Total (abe)</b>				<u>0.0024</u>	0.0012	<b>0.0018</b>	0.0002	<u>0.0167</u>	<b>0.0084</b>	<u>0.0079</u>	0.0014	<b>0.0047</b>
Insecta	Hymenoptera	avi	<i>Polybia</i> sp.	-	-	-	0.0012	-	0.0006	0.0006	0.0001	0.0003
Insecta	Hymenoptera	hor	NI	-	-	-	-	0.0006	0.0003	0.0004	-	0.0002
<b>Total Hymenoptera (abe + avi + hor)</b>				<u>0.0024</u>	0.0012	<b>0.0018</b>	0.0014	<u>0.0173</u>	<b>0.0093</b>	<u>0.0088</u>	0.0015	<b>0.0052</b>
Insecta	Lepidoptera	mar	NI	0.0012	0.0005	0.0009	-	-	-	-	-	-
<b>Total insecta (Diptera + Hymenoptera + Lepidoptera)</b>				<u>0.0036</u>	0.0018	<b>0.0027</b>	0.0014	<u>0.0233</u>	<b>0.0124</b>	<u>0.0089</u>	0.0016	<b>0.0052</b>
<b>Total (Aves+Insecta)</b>				<u>0.0081</u>	0.0025	<b>0.0053</b>	0.0014	<u>0.0233</u>	<b>0.0124</b>	<u>0.0089</u>	0.0016	<b>0.0052</b>

## Éxito de polinización

El número de individuos reproductivos, así como la exhibición del número de flores abiertas y del número de inflorescencias presentes, fue muy diferente en cada especie. En las dos temporadas de muestreo se estudiaron en total 106 individuos reproductivos de las tres especies de orquídeas, de los cuales 45 corresponden a *Barkeria whartonia* (Bawh), 18 a *Clowesia dodsoniana* (ClDo) y 43 a *Cyrtopodium macrobulbon* (Cyma). El número total de flores registradas fue de 1338, de las cuales 84 pertenecen a *B. whartonia*, 290 a *C. dodsoniana* y 964 a *C. macrobulbon* (Cuadro 6).

Los datos obtenidos muestran que en todos los casos la función masculina presentó los valores más altos de éxito en comparación con la función femenina. En general, *Clowesia dodsoniana* fue la especie con mayor éxito masculino (32.07 % de flores con remoción de polinios en total) respecto a las otras dos especies. Le siguió *Barkeria whartonia* con 22.62 %, y finalmente *Cyrtopodium macrobulbon* donde sólo un 5.60 % de las flores presentaron remoción de polinios. El éxito masculino entre periodos de observación fue diferente para *B. whartonia* (46.88 % y 7.69 %, respectivamente) y para *C. dodsoniana* (17.65 % y 48.18 %); mientras que para *C. macrobulbon* la remoción de polinios se mantuvo constante en los dos periodos de observación (5.60 %; Cuadro 6).

Respecto al éxito femenino, se observó que en general fue bajo. *Clowesia dodsoniana* tuvo en total el mayor depósito de polinios por flor (6.21 %), seguido de *Barkeria whartonia* (4.76 %) y en último lugar se encontró *Cyrtopodium macrobulbon* (0.62 %). El éxito femenino entre periodos de observación fue diferente sólo para *B. whartonia* (de 12.50 % a 0 %); en las otras dos especies no hubo diferencias sustanciales (Cuadro 6).

La proporción en la cual el éxito masculino superó al femenino varió notoriamente entre especies. En *Barkeria whartonia* se presentó la menor diferencia (en una proporción de 4.7 veces), seguida de *Clowesia dodsoniana* (por 5.2 veces), mientras que en *Cyrtopodium macrobulbon* el éxito masculino superó en 9.3 veces al femenino. El número de frutos encontrados tiempo después del periodo de observación (el valor no necesariamente corresponde al número de flores marcadas), varió de forma importante entre especies, de 18 (en *B. whartonia*) a 6 (en *C. macrobulbon*) frutos en total (Cuadro 6).

**Cuadro 6.** Éxito de polinización en *Barkeria whartoni* (Bawh), *Clowesia dodsoniana* (Cldo) y *Cyrtopodium macrobulbon* (Cyma). Se desglosa la información por periodo de observación (2013 y 2014), y en total (2013-2014), a excepción de Bawh en cuyo caso los datos corresponden a dos periodos de observación pero en una sola temporada de floración: inicio y final (2013 *a-b*). Se presenta el número total de individuos reproductivos (n), número total de inflorescencias (Infl), número total de flores en antesis en el periodo de observación (Fl), número total de remociones de polinios de las flores (Rem), número total de depósitos de polinios de las flores (Dep) y número total de frutos producidos en la temporada (Fr). Se muestran los índices de polinización en términos del éxito masculino y femenino de las flores. El éxito masculino (♂) corresponde al porcentaje de polinios removidos, y el éxito femenino (♀) es el porcentaje de polinios depositados en el estigma, ambos para las flores en antesis en el periodo de observación. Se resaltan en negritas los valores totales de cada especie (suma de las dos temporadas de observación) y en doble subrayado los valores promedio más altos entre las tres especies en los periodos de observación.

Especie	Año	n	Infl	Fl	Rem	Dep	Fr*	Éxito ♂ (%)	Éxito ♀ (%)
Bawh	2013 <i>a</i>	15	18	32	15	4	12	46.88	12.50
Bawh	2013 <i>b</i>	30	34	52	4	0	6	7.69	0.00
<b>Bawh</b>	<b>2013<i>a,b</i></b>	<b>45</b>	<b>52</b>	<b>84</b>	<b>19</b>	<b>4</b>	<b>18</b>	<b>22.62</b>	<b>4.76</b>
Cldo	2013	7	9	153	27	8	6	17.65	5.23
Cldo	2014	11	14	137	66	10	5	48.18	7.30
<b>Cldo</b>	<b>2013-2014</b>	<b>18</b>	<b>23</b>	<b>290</b>	<b>93</b>	<b>18</b>	<b>11</b>	<b><u>32.07</u></b>	<b><u>6.21</u></b>
Cyma	2013	8	11	107	6	0	0	5.61	0.00
Cyma	2014	35	49	857	48	6	6	5.60	0.70
<b>Cyma</b>	<b>2013-2014</b>	<b>43</b>	<b>60</b>	<b>964</b>	<b>54</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>5.60</b>	<b>0.62</b>

\* El número de frutos no necesariamente corresponden a las flores marcadas.

## **Despliegue floral**

En las tres especies de orquídeas para las dos variables de respuesta (remoción y depósito de polinios), se encontró que los valores más altos de  $\omega_i$  (peso relativo) en cada serie de modelos fueron muy bajos, ya que en todos los casos hubo un peso  $\omega_i < 0.95$ ; más aun, hubo varios modelos que en conjunto sumaron un peso de 0.95. Si bien hubo modelos que resultaron mejores que otros, la diferencia en peso no fue tan alta como para decir que un sólo modelo fue el mejor (Cuadro 7 y 8). Esto significa que, dado que no hay un único modelo con mejor ajuste de datos, existe más de una hipótesis que pueda llegar a explicar la remoción y depósito de polinios en estas especies, y por lo tanto no hay un patrón claro, al menos no con las variables explicativas empleadas.

**Cuadro 7.** Análisis GLMM para la remoción de polinios. Se presentan los valores por especie y por modelos del número de parámetros (k), Criterio de Información de Akaike (AIC<sub>c</sub>), la diferencia entre el valor de AIC<sub>c</sub> del modelo analizado respecto al valor de AIC<sub>c</sub> del mejor modelo ( $\Delta_i$ ), peso relativo ( $\omega_i$ ), peso relativo acumulado (acc  $\omega_i$ ) y verosimilitud (L). Se presentan los modelos en orden decreciente de peso y se resaltan en negritas los modelos que acumulan el 95 % del peso para cada especie. Se presentan los diferentes modelos con cada una de las variables explicativas del despliegue floral: NF: número de flores, NI: número de inflorescencias y LI: longitud de la inflorescencia, así como el factor año (TA) para *Clowesia dodsoniana* y *Cyrtopodium macrobulbon*, y el factor temporada de floración (TF) para *Barkeria whartonia*. En todos los modelos se considera el factor aleatorio planta (PL).

<b>Especie</b>	<b>Modelo</b>	<b>Variables</b>	<b>k</b>	<b>AIC<sub>c</sub></b>	<b><math>\Delta_i</math></b>	<b><math>\omega_i</math></b>	<b>acc <math>\omega_i</math></b>	<b>L</b>
<i>Barkeria whartonia</i>								
	<b>12</b>	<b>TF + (PL)</b>	<b>3</b>	<b>78.74</b>	<b>0.00</b>	<b>0.41</b>	<b>0.41</b>	<b>-36.22</b>
	<b>10</b>	<b>NI + TF + (PL)</b>	<b>4</b>	<b>80.68</b>	<b>1.94</b>	<b>0.15</b>	<b>0.56</b>	<b>-36.09</b>
	<b>11</b>	<b>LI + TF + (PL)</b>	<b>4</b>	<b>80.93</b>	<b>2.19</b>	<b>0.14</b>	<b>0.70</b>	<b>-36.21</b>
	<b>8</b>	<b>NF + TF + (PL)</b>	<b>4</b>	<b>80.94</b>	<b>2.20</b>	<b>0.14</b>	<b>0.83</b>	<b>-36.22</b>
	<b>3</b>	<b>NF + NI + TF+ (PL)</b>	<b>5</b>	<b>82.92</b>	<b>4.18</b>	<b>0.05</b>	<b>0.88</b>	<b>-36.08</b>
	<b>5</b>	<b>NI + LI + TF + (PL)</b>	<b>5</b>	<b>82.94</b>	<b>4.20</b>	<b>0.05</b>	<b>0.93</b>	<b>-36.08</b>
	<b>4</b>	<b>NF + LI + TF + (PL)</b>	<b>5</b>	<b>83.19</b>	<b>4.44</b>	<b>0.04</b>	<b>0.98</b>	<b>-36.21</b>
	1	NF + NI + LI + TF + (PL)	6	85.24	6.50	0.02	0.99	-36.08
	0	(PL)	2	88.76	10.02	0.00	1.00	-42.31
	15	NF + (PL)	3	90.54	11.80	0.00	1.00	-42.12
	13	LI + (PL)	3	90.87	12.13	0.00	1.00	-42.28
	14	NI + (PL)	3	90.91	12.17	0.00	1.00	-42.31
	6	NF + NI + (PL)	4	92.63	13.89	0.00	1.00	-42.06
	7	NF + LI + (PL)	4	92.75	14.01	0.00	1.00	-42.12
	9	NI + LI + (PL)	4	93.07	14.33	0.00	1.00	-42.28
	2	NF + NI + LI + (PL)	5	94.89	16.15	0.00	1.00	-42.06
<i>Clowesia dodsoniana</i>								
	<b>1</b>	<b>NF + NI + LI + TA + (PL)</b>	<b>6</b>	<b>283.74</b>	<b>0.00</b>	<b>0.23</b>	<b>0.23</b>	<b>-135.72</b>

Continúa

Continúa

<b>Especie</b>	<b>Modelo</b>	<b>Variables</b>	<b>k</b>	<b>AIC<sub>c</sub></b>	<b><math>\Delta_i</math></b>	<b><math>\omega_i</math></b>	<b>acc <math>\omega_i</math></b>	<b>L</b>
<i>Clowesia dodsoniana</i>								
	<b>11</b>	<b>LI + TA + (PL)</b>	<b>4</b>	<b>284.18</b>	<b>0.44</b>	<b>0.18</b>	<b>0.41</b>	<b>-138.02</b>
	<b>12</b>	<b>TA + (PL)</b>	<b>3</b>	<b>284.36</b>	<b>0.62</b>	<b>0.17</b>	<b>0.58</b>	<b>-139.14</b>
	<b>4</b>	<b>NF + LI + TA + (PL)</b>	<b>5</b>	<b>285.82</b>	<b>2.08</b>	<b>0.08</b>	<b>0.66</b>	<b>-137.80</b>
	<b>10</b>	<b>NI + TA + (PL)</b>	<b>4</b>	<b>285.99</b>	<b>2.25</b>	<b>0.07</b>	<b>0.73</b>	<b>-138.93</b>
	<b>5</b>	<b>NI + LI + TA + (PL)</b>	<b>5</b>	<b>286.06</b>	<b>2.32</b>	<b>0.07</b>	<b>0.81</b>	<b>-137.93</b>
	<b>8</b>	<b>NF + TA + (PL)</b>	<b>4</b>	<b>286.15</b>	<b>2.41</b>	<b>0.07</b>	<b>0.87</b>	<b>-139.01</b>
	<b>0</b>	<b>(PL)</b>	<b>2</b>	<b>287.75</b>	<b>4.01</b>	<b>0.03</b>	<b>0.90</b>	<b>-141.85</b>
	<b>3</b>	<b>NF + NI + TA + (PL)</b>	<b>5</b>	<b>288.06</b>	<b>4.32</b>	<b>0.03</b>	<b>0.93</b>	<b>-138.92</b>
	<b>2</b>	<b>NF + NI + LI + (PL)</b>	<b>5</b>	<b>289.04</b>	<b>5.30</b>	<b>0.02</b>	<b>0.95</b>	<b>-139.41</b>
	<b>15</b>	<b>NF + (PL)</b>	<b>3</b>	<b>289.56</b>	<b>5.82</b>	<b>0.01</b>	<b>0.96</b>	<b>-141.74</b>
	14	NI + (PL)	3	289.61	5.87	0.01	0.97	-141.76
	13	LI + (PL)	3	289.79	6.05	0.01	0.98	-141.85
	6	NF + NI + (PL)	4	290.45	6.70	0.01	0.99	-141.15
	7	NF + LI + (PL)	4	291.26	7.52	0.01	1.00	-141.56
	9	NI + LI + (PL)	4	291.66	7.92	0.00	1.00	-141.76
<i>Cyrtopodium macrobulbon</i>								
	<b>0</b>	<b>(PL)</b>	<b>2</b>	<b>416.15</b>	<b>0.00</b>	<b>0.23</b>	<b>0.23</b>	<b>-206.07</b>
	<b>13</b>	<b>LI + (PL)</b>	<b>3</b>	<b>417.38</b>	<b>1.23</b>	<b>0.12</b>	<b>0.35</b>	<b>-205.68</b>
	<b>15</b>	<b>NF + (PL)</b>	<b>3</b>	<b>417.55</b>	<b>1.40</b>	<b>0.11</b>	<b>0.47</b>	<b>-205.76</b>
	<b>14</b>	<b>NI + (PL)</b>	<b>3</b>	<b>418.03</b>	<b>1.88</b>	<b>0.09</b>	<b>0.56</b>	<b>-206.00</b>
	<b>12</b>	<b>TA + (PL)</b>	<b>3</b>	<b>418.16</b>	<b>2.01</b>	<b>0.08</b>	<b>0.64</b>	<b>-206.07</b>
	<b>7</b>	<b>NF + LI + (PL)</b>	<b>4</b>	<b>418.97</b>	<b>2.82</b>	<b>0.06</b>	<b>0.70</b>	<b>-205.46</b>
	<b>11</b>	<b>LI + TA + (PL)</b>	<b>4</b>	<b>419.24</b>	<b>3.09</b>	<b>0.05</b>	<b>0.75</b>	<b>-205.60</b>

Continúa

Continúa

<b>Especie</b>	<b>Modelo</b>	<b>Variables</b>	<b>k</b>	<b>AIC<sub>c</sub></b>	<b><math>\Delta_i</math></b>	<b><math>\omega_i</math></b>	<b>acc <math>\omega_i</math></b>	<b>L</b>
<i>Cyrtopodium macrobulbon</i>								
	<b>9</b>	<b>NI + LI + (PL)</b>	<b>4</b>	<b>419.26</b>	<b>3.11</b>	<b>0.05</b>	<b>0.80</b>	<b>-205.61</b>
	<b>6</b>	<b>NF + NI + (PL)</b>	<b>4</b>	<b>419.45</b>	<b>3.30</b>	<b>0.04</b>	<b>0.84</b>	<b>-205.71</b>
	<b>8</b>	<b>NF + TA + (PL)</b>	<b>4</b>	<b>419.57</b>	<b>3.41</b>	<b>0.04</b>	<b>0.88</b>	<b>-205.76</b>
	<b>10</b>	<b>NI + TA + (PL)</b>	<b>4</b>	<b>420.05</b>	<b>3.90</b>	<b>0.03</b>	<b>0.91</b>	<b>-206.00</b>
	<b>4</b>	<b>NF + LI + TA + (PL)</b>	<b>5</b>	<b>420.87</b>	<b>4.72</b>	<b>0.02</b>	<b>0.94</b>	<b>-205.41</b>
	<b>2</b>	<b>NF + NI + LI + (PL)</b>	<b>5</b>	<b>420.95</b>	<b>4.80</b>	<b>0.02</b>	<b>0.96</b>	<b>-205.45</b>
	5	NI + LI + TA + (PL)	5	421.15	5.00	0.02	0.98	-205.54
	3	NF + NI + TA + (PL)	5	421.47	5.32	0.02	0.99	-205.70
	1	NF + NI + LI + TA + (PL)	6	422.85	6.70	0.01	1.00	-205.38

**Cuadro 8.** Análisis GLMM para el depósito de polinios. Se presentan los valores por especie y por modelos del número de parámetros (k), Criterio de Información de Akaike ( $AIC_c$ ), la diferencia entre el valor de  $AIC_c$  del modelo analizado respecto al valor de  $AIC_c$  del mejor modelo ( $\Delta_i$ ), peso relativo ( $\omega_i$ ), peso relativo acumulado (acc  $\omega_i$ ) y verosimilitud (L). Se presentan los modelos en orden decreciente de peso y se resaltan en negritas los modelos que acumulan el 95 % del peso para cada especie. Se presentan los diferentes modelos con cada una de las variables explicativas del despliegue floral: NF: número de flores, NI: número de inflorescencias y LI: longitud de la inflorescencia, así como el factor año (TA) para *Clowesia dodsoniana* y *Cyrtopodium macrobulbon*, y el factor temporada de floración (TF) para *Barkeria whartonia*. En todos los modelos se considera el factor aleatorio planta (PL).

<b>Especie</b>	<b>Modelo</b>	<b>Variables</b>	<b>k</b>	<b><math>AIC_c</math></b>	<b><math>\Delta_i</math></b>	<b><math>\omega_i</math></b>	<b>acc <math>\omega_i</math></b>	<b>L</b>
<i>Barkeria whartonia</i>								
	<b>0</b>	<b>(PL)</b>	<b>2</b>	<b>36.31</b>	<b>0.00</b>	<b>0.39</b>	<b>0.39</b>	<b>-16.08</b>
	<b>13</b>	<b>LI + (PL)</b>	<b>3</b>	<b>38.15</b>	<b>1.84</b>	<b>0.16</b>	<b>0.55</b>	<b>-15.93</b>
	<b>14</b>	<b>NI + (PL)</b>	<b>3</b>	<b>38.34</b>	<b>2.03</b>	<b>0.14</b>	<b>0.69</b>	<b>-16.02</b>
	<b>15</b>	<b>NF + (PL)</b>	<b>3</b>	<b>38.46</b>	<b>2.15</b>	<b>0.13</b>	<b>0.83</b>	<b>-16.08</b>
	<b>9</b>	<b>NI + LI + (PL)</b>	<b>4</b>	<b>40.29</b>	<b>3.97</b>	<b>0.05</b>	<b>0.88</b>	<b>-15.89</b>
	<b>7</b>	<b>NF + LI + (PL)</b>	<b>4</b>	<b>40.32</b>	<b>4.01</b>	<b>0.05</b>	<b>0.93</b>	<b>-15.91</b>
	<b>6</b>	<b>NF + NI + (PL)</b>	<b>4</b>	<b>40.49</b>	<b>4.18</b>	<b>0.05</b>	<b>0.98</b>	<b>-15.99</b>
	<b>2</b>	<b>NF + NI + LI + (PL)</b>	<b>5</b>	<b>42.55</b>	<b>6.24</b>	<b>0.02</b>	<b>1.00</b>	<b>-15.89</b>
<i>Clowesia dodsoniana</i>								
	<b>0</b>	<b>(PL)</b>	<b>2</b>	<b>96.47</b>	<b>0.00</b>	<b>0.28</b>	<b>0.28</b>	<b>-46.21</b>
	<b>13</b>	<b>LI + (PL)</b>	<b>3</b>	<b>98.38</b>	<b>1.92</b>	<b>0.11</b>	<b>0.39</b>	<b>-46.15</b>
	<b>12</b>	<b>TA + (PL)</b>	<b>3</b>	<b>98.45</b>	<b>1.99</b>	<b>0.10</b>	<b>0.49</b>	<b>-46.19</b>
	<b>14</b>	<b>NI + (PL)</b>	<b>3</b>	<b>98.47</b>	<b>2.00</b>	<b>0.10</b>	<b>0.60</b>	<b>-46.20</b>
	<b>15</b>	<b>NF + (PL)</b>	<b>3</b>	<b>98.50</b>	<b>2.03</b>	<b>0.10</b>	<b>0.70</b>	<b>-46.21</b>
	<b>11</b>	<b>LI + TA + (PL)</b>	<b>4</b>	<b>100.22</b>	<b>3.75</b>	<b>0.04</b>	<b>0.74</b>	<b>-46.04</b>
	<b>7</b>	<b>NF + LI + (PL)</b>	<b>4</b>	<b>100.30</b>	<b>3.83</b>	<b>0.04</b>	<b>0.78</b>	<b>-46.08</b>
	<b>9</b>	<b>NI + LI + (PL)</b>	<b>4</b>	<b>100.37</b>	<b>3.90</b>	<b>0.04</b>	<b>0.82</b>	<b>-46.11</b>
	<b>10</b>	<b>NI + TA + (PL)</b>	<b>4</b>	<b>100.48</b>	<b>4.01</b>	<b>0.04</b>	<b>0.86</b>	<b>-46.17</b>
	<b>8</b>	<b>NF + TA + (PL)</b>	<b>4</b>	<b>100.51</b>	<b>4.04</b>	<b>0.04</b>	<b>0.90</b>	<b>-46.19</b>

Continúa

Continúa

<b>Especie</b>	<b>Modelo</b>	<b>Variables</b>	<b>k</b>	<b>AIC<sub>c</sub></b>	<b><math>\Delta_i</math></b>	<b><math>\omega_i</math></b>	<b>acc <math>\omega_i</math></b>	<b>L</b>
<i>Clowesia dodsoniana</i>								
	<b>6</b>	<b>NF + NI + (PL)</b>	<b>4</b>	<b>100.53</b>	<b>4.06</b>	<b>0.04</b>	<b>0.93</b>	<b>-46.19</b>
	<b>4</b>	<b>NF + LI + TA + (PL)</b>	<b>5</b>	<b>102.19</b>	<b>5.73</b>	<b>0.02</b>	<b>0.95</b>	<b>-45.99</b>
	5	NI + LI + TA + (PL)	5	102.23	5.76	0.02	0.97	-46.01
	2	NF + NI + LI + (PL)	5	102.36	5.89	0.01	0.98	-46.07
	3	NF + NI + TA + (PL)	5	102.52	6.05	0.01	0.99	-46.16
	1	NF + NI + LI + TA + (PL)	6	104.28	7.81	0.01	1.00	-45.99
<i>Cyrtopodium macrobulbon</i>								
	<b>0</b>	<b>(PL)</b>	<b>2</b>	<b>76.93</b>	<b>0.00</b>	<b>0.33</b>	<b>0.33</b>	<b>-36.46</b>
	<b>14</b>	<b>NI + (PL)</b>	<b>3</b>	<b>78.35</b>	<b>1.42</b>	<b>0.16</b>	<b>0.49</b>	<b>-36.16</b>
	<b>13</b>	<b>LI + (PL)</b>	<b>3</b>	<b>78.53</b>	<b>1.61</b>	<b>0.15</b>	<b>0.64</b>	<b>-36.25</b>
	<b>15</b>	<b>NF + (PL)</b>	<b>3</b>	<b>78.60</b>	<b>1.67</b>	<b>0.14</b>	<b>0.78</b>	<b>-36.29</b>
	<b>9</b>	<b>NI + LI + (PL)</b>	<b>4</b>	<b>79.98</b>	<b>3.05</b>	<b>0.07</b>	<b>0.85</b>	<b>-35.97</b>
	<b>7</b>	<b>NF + LI + (PL)</b>	<b>4</b>	<b>80.30</b>	<b>3.38</b>	<b>0.06</b>	<b>0.91</b>	<b>-36.13</b>
	<b>6</b>	<b>NF + NI + (PL)</b>	<b>4</b>	<b>80.37</b>	<b>3.44</b>	<b>0.06</b>	<b>0.97</b>	<b>-36.16</b>
	2	NF + NI + LI + (PL)	5	81.96	5.03	0.03	1.00	-35.95

Con los estimadores promedio y los intervalos de confianza, se encontró que la remoción y el depósito de polinios para las tres especies no se vieron afectados de manera importante por ninguna variable del despliegue floral ni por el año (Cuadro 9 y 10). La mayoría de los intervalos de confianza fueron muy amplios y por lo tanto, no hubo evidencia suficiente que explicara la variación en las variables de respuesta. No obstante, resultó que la temporada de floración afectó la remoción de *Barkeria whartoni*, y además se observaron diferencias en los dos periodos registrados (al final de la temporada hubo menos remoción que al principio; Cuadro 9).

**Cuadro 9.** Estimadores promedio de los parámetros asociados a cada variable independiente para la variable remoción de polinios en cada especie de orquídea. NF: número de flores, NI: número de inflorescencias, LI: longitud de la inflorescencia. TA: año para *Clowesia dodsoniana* y *Cyrtopodium macrobulbon*; TF: temporada de floración para *Barkeria whartoni*; inicio de la floración (2013a) y final de la floración (2013b). Además se muestran el error estándar (SE) y los intervalos de confianza asociados a cada estimador. Se resaltan en negritas los valores que muestran que sí hubo un efecto de la variable explicativa sobre la variable de respuesta, dado que los intervalos no se superlaparon.

<b>Especie</b>	<b>Variable</b>	<b>Estimador promedio</b>	<b>SE</b>	<b>Intervalo de confianza</b>
<i>Barkeria whartoni</i>				
	NF	-0.01	0.36	-0.70, 0.69
	NI	-0.18	0.35	-0.86, 0.50
	LI	0.04	0.32	-0.59, 0.66
	TF			
	<b>2013a</b>	<b>-0.12</b>	<b>0.36</b>	<b>-0.82, 0.57</b>
	<b>2013b</b>	<b>-2.49</b>	<b>0.52</b>	<b>-3.51, -1.47</b>
<i>Clowesia dodsoniana</i>				
	NF	-2.00	2.15	-6.22, 2.22
	NI	1.54	1.44	-1.28, 4.36
	LI	1.63	1.18	-0.68, 3.95
	TA			
	2013	-2.50	0.78	-4.04, -0.96
	2014	0.41	0.76	-1.09, 1.91
<i>Cyrtopodium macrobulbon</i>				
	NF	0.21	0.31	-0.40, 0.82
	NI	0.03	0.29	-0.53, 0.59
	LI	0.17	0.21	-0.23, 0.58
	TA			
	2013	-3.10	0.56	-4.20, -2.00
	2014	-3.02	0.25	-3.52, -2.53

La falta de certidumbre fue aún más evidente para el depósito de polinios. En ella no se pudieron evaluar algunos modelos porque no hubo suficiente variación en los datos. Igualmente para las tres especies, ni las variables del despliegue floral ni el año y la temporada de floración fueron relevantes en el depósito (Cuadro 10).

**Cuadro 10.** Estimadores promedio de los parámetros asociados a cada variable independiente para la variable depósito de polinios en cada especie de orquídea. NF: número de flores, NI: número de inflorescencias, LI: longitud de la inflorescencia. TA: año para *Clowesia dodsoniana* y *Cyrtopodium macrobulbon*; TF: temporada de floración para *Barkeria whartonia*; inicio de la floración (2013a) y final de la floración (2013b). Además se muestran el error estándar (SE) y los intervalos de confianza asociados a cada estimador. Los guiones indican la exclusión de la variable en cuestión por su ausencia en el modelo más complejo y por su falta de evidencia en la influencia del depósito de polinios.

<b>Especie</b>	<b>Variable</b>	<b>Estimador promedio</b>	<b>SE</b>	<b>Intervalo de confianza</b>
<i>Barkeria whartonia</i>				
	NF	0.01	0.55	-1.07, 1.10
	NI	-0.20	0.61	-1.40, 1.00
	LI	0.28	0.49	-0.69, 1.25
	TF			
	2013a	-	-	-
	2013b	-	-	-
<i>Clowesia dodsoniana</i>				
	NF	-0.27	2.20	-4.59, 4.05
	NI	-0.41	2.18	-4.67, 3.86
	LI	0.72	1.62	-2.46, 3.89
	TA			
	2013	-9.51	3.57	-16.50, -2.51
	2014	-8.52	3.50	-15.39, -1.65
<i>Cyrtopodium macrobulbon</i>				
	NF	0.16	0.45	-0.71, 1.03
	NI	0.29	0.42	-0.53, 1.12
	LI	-	-	-
	TA			
	2013	-	-	-
	2014	-	-	-

## DISCUSIÓN

El hallazgo de estructuras con posible función secretora, el registro de los visitantes florales y posibles polinizadores, así como la evaluación del éxito de polinización para especies en donde esto nunca había sido estudiado, son aspectos relevantes de esta investigación. De igual manera, el resultado de la valoración del despliegue floral, tanto en el éxito de la función masculina como femenina es notable, debido a que las especies estudiadas tuvieron un comportamiento diferente a lo planteado en la literatura para otros grupos de plantas.

### **Micromorfología floral y polinización**

La localización de diferentes tipos de estructuras, no sólo entre especies sino también dentro de las diferentes estructuras de la flor de una misma especie, toma importancia por la función que desempeñan en el contexto de la polinización. Nuestro estudio únicamente arrojó evidencia de posibles estructuras secretoras a nivel microestructural; sin embargo, es importante investigar la anatomía de las estructuras secretoras a través de análisis histológicos e histoquímicos para evaluar su naturaleza y función real, debido a que algunas especies de orquídeas tienen estructuras que no producen una recompensa y atraen a sus polinizadores mediante engaño (Ackerman, 1986; Pansarin *et al.*, 2008, 2009). Asimismo, sería importante explorar los compuestos que segregan, particularmente los volátiles dado que el olor desempeña un papel clave en la atracción (Schlüter y Schiestl, 2008).

A primera vista, en las flores de *Barkeria whartonianana* no se observaron secreciones; sin embargo, a nivel microscópico se detectó lo siguiente: (1) presencia de secreciones intercelulares en el labelo, así como (2) estomas en la antera y (3) hendiduras entre las células de la columna adyacente al labelo que pudieran indicar otro tipo de secreciones. Las secreciones intercelulares con apariencia cristalina encontradas en el labelo, aparentemente corresponden a azúcares que podrían interpretarse como una recompensa para los polinizadores (Fahn, 1988). No obstante, estas secreciones se presentan en pequeñas cantidades y las flores no presentan algún tipo de macroestructura evidente (como espolones o cámaras septales) que permita la acumulación de azúcares. Por ello, es muy probable que estas secreciones no representen una recompensa verdadera sino que por el contrario, formen parte de un mecanismo de polinización por engaño. En los sistemas por engaño, la producción de pequeñas cantidades de néctar tienen poco efecto en el presupuesto energético de las

orquídeas, por lo que no representa un elevado costo en la reproducción de las mismas (Jersáková *et al.*, 2006)

Por otro lado, la presencia de estomas en las anteras es poco frecuente en las angiospermas (Keijzer *et al.*, 1987; Rudall, 2007). Sin embargo, estomas atróficos como los encontrados en *Barkeria whartonia*, han sido relacionados con la secreción de néctar. Este fenómeno se ha reportado en las familias Rosaceae (Radice y Galati, 2003; Weryszko-Chmielewska *et al.*, 2003), Brassicaceae (Davis *et al.*, 1998), Scrophulariaceae (Graffal *et al.*, 1998; Nepi *et al.*, 2003), Myrtaceae (O'Brien *et al.*, 1996; Davis, 1997) y Fabaceae (Teuber *et al.*, 1980; Davis y Gunning, 1991; Razem y Davis, 1999). Los estomas atróficos difieren de los estomas típicos en que los primeros son incapaces de cerrar completamente debido a que las células acompañantes se cuticulizan (Davies *et al.*, 2005), por lo que representan un buen medio de salida por el cual pueden atravesar secreciones.

En orquídeas, la presencia de estomas en las anteras se ha reportado en los géneros *Barkeria*, *Maxillaria* y *Acampe*, aunque en estos dos últimos, parece tener función secretora de néctar y aromas (Stpiczyńska *et al.*, 2003; Davies *et al.*, 2005; Telepova-TeXier, 2009). En el género *Barkeria*, en el trabajo de Valencia-Nieto (2012) se reporta para *B. uniflora* Dressler & Halb. la presencia de estomas de tipo actinocítico distribuidos principalmente hacia el centro de los lóbulos de las anteras. Sin embargo, en ese estudio se descarta la posibilidad de que los estomas presentes en las anteras tengan función secretora debido a que las flores de la especie carecen de aromas y de néctar (Valencia-Nieto, 2012). En *B. whartonia* puede suceder algo similar, ya que las flores de esta especie no son olorosas y aunque es posible que presenten azúcares, tampoco se ha demostrado la presencia de néctar. Por lo tanto, la presencia de estomas en las anteras puede ser debido a que sean (1) estructuras vestigiales o (2) parte del mecanismo de engaño, aunque no queda claro cuál podría ser su función. Algo similar se puede decir de las hendiduras celulares localizadas en la columna, que si bien no reflejan una estructura definida, es posible que se traten de la formación de una vía de salida para las secreciones.

Para *Clowesia dodsoniana* se tienen razones para pensar que sus flores sí ofrecen recompensas florales. Una de ellas, es que las flores en anthesis emiten aromas dulces e intensos. La presencia de aromas florales en otras especies del género como *C. glaucoglossa*, *C. russelliana* y *C. thylaciochila* ha sido interpretada como una recompensa para los

polinizadores (Aguirre, 1979). Asimismo, los análisis microestructurales arrojaron evidencia tanto de estructuras secretoras en la epidermis del labelo, como secreciones a su alrededor. Las estructuras secretoras presentan una tapa cutinizada que aparentemente impide el libre flujo de las sustancias por la epidermis. Las sustancias producidas se liberarían sólo hasta que estas estructuras se llenan y la capa cutinizada se quiebra, exponiendo de esta forma a los poros o estructuras de salida. Cuando las sustancias producidas se liberan, es posible que se distribuyan a lo largo de la zona, en cuyos casos se solidificarían formando estructuras esféricas como las encontradas en algunas partes del labelo.

Otro punto que sugiere que esta especie sí produce recompensas es la presencia de los posibles polinizadores encontrados, que fueron dos especies de abejas de la tribu Euglossini (*Eufriesea* sp. y *Euglossa* sp.). Se ha encontrado que las abejas macho de esta tribu tienen afinidad por los olores emitidos por las flores de las orquídeas y de otras plantas (Dressler 1982). Los machos recogen las sustancias volátiles (la mayoría terpenoides y compuestos aromáticos) con los pelos de los tarsos y los almacenan en las tibias posteriores (Vogel 1966; Whitten *et al.*, 1989; Eltz *et al.*, 1999). Este comportamiento en los polinizadores potenciales de *C. dodsoniana* se refleja en la estructura y localización de las secreciones, ya que la mayoría se encontraron en el labelo medio y en la zona basal del mismo, una región estratégica si tomamos en consideración la posición en la cual permanece el polinizador con respecto a la columna y los polinios. De este modo, es posible que las abejas euglosinas que visitan a *C. dodsoniana* al llegar a las flores y comenzar a forrajear, rasquen sobre la superficie del labelo y provoquen el rompimiento de la cutícula, liberando de este modo las sustancias producidas por la flor y recogiendo durante el forrajeo.

Respecto a *Cyrtopodium macrobulbon*, se puede mencionar que dentro de este género es más probable encontrar especies que no ofrezcan recompensas, que especies con producción de aceites y perfumes (Chase y Hills, 1992). Para algunas especies del género se han registrado glándulas secretoras e incluso compuestos aromáticos para atraer a los polinizadores. Por ejemplo, Pansarin *et al.* (2008) documentaron para *C. polyphyllum* la presencia de osmóforos en la superficie adaxial del labelo con secreción de compuestos aromáticos. Sin embargo, la fragancia de *C. polyphyllum* no parece ser un recurso que colecten las abejas, por lo que sugieren que la presencia de compuestos aromáticos producidos por las flores de la especie podrían ser parte del mecanismo de engaño (Pansarin *et al.*, 2008). De

igual forma para *C. punctatum*, Dutra *et al.* (2009) reportaron la presencia de compuestos aromáticos y señales visuales para atraer a los insectos visitantes; sin embargo, al igual que *C. polyphyllum*, los autores sugieren que los componentes de atracción de la especie son usados para engañar a los visitantes florales.

En *Cyrtopodium macrobulbon* se encontraron células globosas distribuidas principalmente en el labelo, algunas de las cuales presentaron sustancias a su alrededor, así como poros en la columna y en la intersección labelo-columna. Las estructuras encontradas podrían tratarse de osmóforos (para la secreción de compuestos aromáticos) o incluso elaióforos (para la secreción de aceites o resinas). No obstante, de ser cierto que la especie produce ceras o resinas, la producción de éstas sería en cantidades mínimas lo que sugeriría su función como parte del mecanismo de engaño, algo similar a lo encontrado en *Barkeria whartoni*.

La posibilidad de que estas plantas produzcan aceites se ve reforzada por el comportamiento de las abejas *Trigona* quienes fueron los visitantes florales más frecuentes. Este grupo de abejas pertenecientes a la tribu Meliponini con frecuencia visitan a las flores en busca de ceras y resinas que almacenan en sus corbículas para la construcción de sus nidos (Michener, 1974). La asociación de las orquídeas con las abejas sin aguijón es casi exclusiva de las especies epífitas (Dressler, 1993) en su mayoría de la tribu Maxillarieae (Epidendroideae), quienes con frecuencia usan el mecanismo de polinización por engaño para atraer a las abejas (Roubik, 2000). Otro aspecto relevante en *Cyrtopodium* es la similitud en tamaño y color de las flores de sus especies con las flores de otras especies productoras de recompensas, entre las que destacan flores de la familia Malpigiaceae y Fabaceae. Lo anterior muestra evidencia de mimetismo, como es el caso de otras orquídeas, por ejemplo *Oncidium*, *Odontoglossum* y *Ornitocephalus* (Roubik, 2000), las cuales buscan atraer principalmente a abejas del género *Centris* (Pijl y Dodson 1966; Roubik 1989).

La presencia de aceites y resinas en orquídeas se ha registrado sólo para cuatro subtribus: Maxillariinae Benth. (van der Pijl y Dodson, 1966; Davies y Turner, 2004), Bifrenariinae Dressler (Davies y Stpiczyńska, 2006), Oncidiinae Benth. (Stpiczyńska *et al.*, 2007; Stpiczyńska y Davies, 2008) y Catasetinae Benth. (Davies *et al.*, 2006; Mickeliunas *et al.*, 2006). *C. macrobulbon* pertenece a la subtribu Cyrtopodiinae, así que de ser cierto que las

estructuras encontradas se traten de elaióforos, sería la primera vez que se registra su presencia en esta subtribu.

## **Visitantes florales y polinizadores**

Las observaciones directas de los polinizadores en Orchidaceae con frecuencia son difíciles y requieren de mucho tiempo (Roberts, 2003). Esta premisa destaca en las tres especies de orquídeas aquí estudiadas, para las cuales se registraron bajas tasas de visita florales. Curiosamente, las tasas de visita coinciden con el éxito en la polinización de cada especie en términos de la más a la menos exitosa (ver más adelante). Además del posible mecanismo de engaño usado por al menos dos especies (*Barkeria whartonia* y *Cyrtopodium macrobulbon*), otros factores como los ambientales (temperatura, precipitación, velocidad del viento, radiación solar y humedad) pueden ejercer una fuerte influencia sobre la actividad de los polinizadores (Pansarin *et al.*, 2008), y por lo tanto en su comportamiento de forrajeo y las visitas florales (Roubik, 1992). Asimismo, el registro del posible polinizador que ocurrió sólo en una especie de orquídea y que resultó hasta el segundo año de muestreo, sugeriría que o bien hay una baja abundancia del polinizador, o éstos son inconstantes y/o ineficientes.

Aunque para el caso de las especies evaluadas en este trabajo, las visitas florales estuvieron representadas por una amplia gama de organismos, tanto invertebrados (insectos) como vertebrados (aves), hay una clara diferencia entre los polinizadores y los visitantes florales quienes no llevan a cabo la transferencia de polen (Dressler, 1990), ya que éstos con frecuencia pueden ser demasiado pequeños o grandes para llegar a ser el polinizador efectivo (Arditti, 1992).

*Clowesia dodsoniana* fue la única especie para la que se detectó la presencia de polinizadores potenciales y además fue la especie más visitada. Estos resultados sugerirían que aunque las tasas de visita registradas para las tres especies son bajas, la especie de orquídea que aparentemente sí recompensa a sus polinizadores experimenta mayores visitas. Este resultado coincide con lo esperado, ya que muchos estudios han advertido que las especies de orquídeas con recompensas florales, generalmente presentan una mayor tasa de visita en comparación con las que no las presentan (Nilsson, 1980, 1984; Neiland y Wilcock, 1998; Tremblay *et al.*, 2005; Smithson, 2006). Aunque aquí nos referimos a los polinizadores como “posibles” o “potenciales” porque sólo lo observamos removiendo el polen y no

depositándolo, es muy probable que sí sean los polinizadores. De hecho, Dressler (1976) reconoce que aquellos animales que retiran los polinarios de orquídeas frecuentemente son los polinizadores legítimos. Si la especie de *Clowesia* tiene dos polinizadores en esta región, se puede concluir que no es especialista estricta como a veces se suele sugerir para este grupo de orquídeas. No obstante, aparentemente sí es especialista en un grupo determinando de polinizadores, es decir, los machos de las abejas euglosinas.

A pesar de que *Clowesia dodsoniana* parece ser la única especie de este estudio con presencia de recompensas (aromas florales), su tasa de visita es baja comparada con otras especies que ofrecen recompensas florales (Tremblay *et al.*, 2005 y referencias). Una posible explicación es que las abejas macho de la tribu Euglossini colectan los aromas florales para emplearlos como feromonas durante el momento del cortejo (Schiestl y Roubik, 2003; Eltz *et al.*, 2003, 2005; Zimmermann *et al.*, 2006; Del Mazo y Damon, 2007). Sin embargo, los aromas florales que están restringidos a las abejas macho, no representan el principal recurso para una abeja como lo podrían ser el néctar o el polen del cual dependen para alimentarse y sobrevivir. Asimismo, la colecta de aromas no se limita a Orchidaceae porque las abejas pueden recolectar aromas de una amplia variedad de especies odoríferas de otras familias de plantas que estén floreciendo a lo largo del año (Dressler, 1967). En consecuencia, las abejas pueden no ser tan dependientes de las orquídeas como éstas lo son de las abejas (Ackerman, 1983), y el mutualismo que aparentemente ocurre entre las abejas euglosinas y las orquídeas, parece ser facultativo para las abejas pese a que es obligatorio para las orquídeas (Pemberton y Wheeler, 2006).

Otra explicación a las bajas tasas de visita que experimentó *Clowesia dodsoniana*, es la abundancia y actividad del polinizador. Ackerman (1983), observó para abejas euglosinas que el aumento en el número de abejas a principios del año puede proporcionar un flujo de abejas jóvenes con necesidades químicas generales. Pero cuando hay un pico en la abundancia de las abejas, hay una mayor proporción de individuos adultos que pueden tener necesidades más exigentes de compuestos químicos, cuando sus reservas llegan a su fin o cuando requieren de la reposición de determinado compuesto. Por consiguiente, las abejas adultas que visitan a las orquídeas que presentan aromas, lo hacen con menor frecuencia (Ackerman, 1983). Se ha visto además que las abejas euglosinas presentan mayor actividad en la temporada de lluvias debido a sus preferencias por las condiciones cálidas y húmedas (Roubik y Hanson, 2004).

Recientemente May-Itza *et al.* (2014) encontraron que en un sitio con marcada estacionalidad, abejas de la especie *Euglossa viridissima* se encontraron a lo largo de todo el año, aunque fue evidente que en temporada de lluvias hubo más emergencia de abejas macho que en la temporada seca, lo cual podría estar asociado a una mayor abundancia de recursos. *C. dodsoniana* florece en la temporada de lluvias de un sitio estacional, y debido a esto, es posible que la floración de la orquídea coincida con la actividad del polinizador, aunque nuevamente, esto no significaría que las abejas son totalmente dependientes de las orquídeas. El conocimiento de los números poblacionales de los polinizadores y sus fluctuaciones inter e intra anuales ayudarían a entender muchos aspectos de la interacción planta-polinizador en el sitio.

Tanto para *Barkeria whartonia* como para *Cyrtopodium macrobulbon* hubo baja tasas de visita. Esto puede deberse a que ambas especies parecen presentar algún mecanismo de engaño que limita en gran medida las visitas repetidas por parte de los polinizadores, aunque para *C. macrobulbon* es más evidente la restricción. La identidad del polinizador para ambas especies de orquídeas se desconoce, lo cual condiciona enormemente las posibles causas de este resultado, y en consecuencia, de lo que sucede en la interacción orquídea-polinizador.

En las especies de orquídeas estudiadas, el grupo de visitantes florales más frecuente fue el de las abejas. Sin embargo, resultó interesante la visita de colibríes que se observó sólo en *Barkeria whartonia*. Típicamente, las flores de orquídeas ornitófilas tienen antesis diurna, labelo curvo y posicionado hacia atrás, abundancia de néctar y sin guías de néctar (Stpiczyńska *et al.*, 2003), así como color rojo, naranja, rosa o incluso amarillo; por ejemplo, *Oncidium roseum* (Lindl.) Beer, *O. vulcanicum* (Rchb.f.) M.W.Chase & N.H.Williams, *Comparettia falcata* Poepp. & Endl., *Cyrtorchilum aureum* (Lindl.) Senghas, *C. retusum* (Lindl.) Kraenzl., *Elleanthus aurantiacus* (Lindl.) Rchb.f., *Epidendrum ibaguense* Kunth, *E. pseudepidendrum* Rchb.f. y *Maxillaria coccinea* L.O. Williams. Sin embargo, las flores de *B. whartonia* difícilmente cumplen con tales características, por lo que resulta inusual la visita de los colibríes.

Una explicación a la visita de colibríes en *Barkeria whartonia* es la posible presencia de azúcares encontrados en el labelo, que aún en cantidades bajas, puede promover breves visitas de los colibríes en secuencia a lo largo de su ruta de búsqueda de alimento

(Nunes *et al.*, 2013), tal y como se observó en campo. Sin embargo, no queda muy claro el cómo los colibríes son atraídos por las flores, ya que éstos no hicieron un intento por alimentarse de las flores, además de que se ha observado que las plantas polinizadas por colibríes, tienden a producir néctar con un concentración de azúcar del 20 % (Johnson y Nicolson, 2008).

Ciertamente en *Barkeria whartonia* parece poco probable que la polinización por colibríes ocurra, ya que aunque fue el visitante floral más frecuente en esta especie, no se observó la remoción ni depósito de polinios en ningún caso. Por el contrario, sugerimos que la polinización en esta especie puede darse por abejas. De hecho algunos estudios han documentado abejas del género *Xylocopa* como posibles polinizadores del género *Barkeria* (van der Pijl y Dodson, 1966; Stebbins, 1970), y aunque estas abejas no fueron los visitantes más frecuentes, se observó que fueron los que más tiempo permanecieron en las flores. Sin embargo, en muchas ocasiones la duración de los visitantes florales se vio interrumpida por las fuertes corrientes de aire de la zona de estudio, las cuales no favorecieron su persistencia en la flor, y probablemente tampoco la polinización.

En *Cyrtopodium macrobulbon*, la especie que recibió la menor tasa de visita, las visitas florales estuvieron representadas mayormente por abejas, particularmente por el género *Trigona*. Sin embargo, es poco probable que estas abejas sean los polinizadores legítimos de *C. macrobulbon*, ya que aunque en muchas ocasiones tuvieron contacto directo con los polinios, en ningún momento los retiraron y mucho menos los depositaron. Esto pudo haber ocurrido a causa del pequeño tamaño de las abejas, el cual impide que el mecanismo de extracción de polen se lleve a cabo. Vale la pena señalar que en *Cyrtopodium macrobulbon* ocurre la presencia de hormigas que patrullan a las plantas. Aunque no se observó ningún comportamiento agresivo por parte de las hormigas, es posible que lleguen a tener un efecto en las visitas repetidas de los polinizadores. Para futuras investigaciones, se recomienda tomar en consideración este evento.

Aunque no se logró detectar al polinizador de *Cyrtopodium macrobulbon*, sugerimos que éste puede tratarse de abejas *Centris* o *Xylocopa* por varias razones; una de ellas es que el tamaño de las abejas es ideal para que remuevan y depositen los polinios. Además, ciertas características de las flores de *C. macrobulbon* como la similitud con las flores de las familias Malpigiaceae y Fabaceae, y la presencia de posibles aceites y/o resinas, es consistente con las

preferencias de estos tipos de abejas para el forrajeo. Adicionalmente, se ha sugerido para otras especies del género *Cyrtopodium* tanto a *Centris* como a *Xylocopa* como posibles polinizadores. Por ejemplo, en Puerto Rico se reportó que *C. punctatum* fue polinizada por abejas del género *Xylocopa* (Ackerman, 1995). Pemberton y Liu (2008) observaron dos especies de abejas *Centris* visitando las flores de *C. punctatum* en el sureste de Florida. Pansarin *et al.* (2008) encontró para *C. polyphyllum* a *Centris tarsata* y a *Centris labrosa* como polinizadores. Dutra *et al.* (2009) sugieren que por la frecuencia de visitas en *C. punctatum* es posible que las abejas carpinteras (*Xylocopa* spp.) sean los principales polinizadores.

### **Éxito de polinización**

En comparación con especies de otras familias de plantas, el éxito de polinización en las especies estudiadas fue bajo y consecuentemente, el éxito reproductivo (medido como número de frutos) también fue bajo. La baja polinización ya ha sido reportada en la mayoría de las especies de la familia Orchidaceae, las cuales parecen estar fuertemente limitadas por la polinización (Ackerman, 1981, 1989; Zimmerman y Aide, 1989; Neiland y Wilcock, 1998; Aragón y Ackerman, 2004; Parra-Tabla y Vargas, 2007; Sun *et al.*, 2009).

La baja polinización parece acentuarse en las zonas tropicales, ya que se ha observado que el éxito reproductivo de las orquídeas de estos sitios es menor que las plantas de las zonas templadas (Neiland y Wilcock, 1998; Tremblay *et al.*, 2005). Una posible explicación es que las orquídeas tropicales muestran una estructura poblacional diferente a la de las zonas templadas. Las poblaciones del trópico generalmente son pequeñas y muy dispersas (Ackerman, 1986), y pueden ser incapaces de mantener el interés de los polinizadores aun si las especies presentan recompensas. Además, puede haber un mayor número de especies que florecen al mismo tiempo y por lo tanto competir por los mismos polinizadores. En el caso de las tres especies de orquídeas, *Barkeria whartonia* es la especie que se encuentra en más bajas densidades poblacionales, las plantas están alejadas entre sí y se encuentran en un microhábitat muy particular. Las plantas de *Clowesia dodsoniana* aunque también se encuentran muy dispersas, sus números poblacionales parecen no estar tan limitados como en *B. whartonia*. Mientras que para *Cyrtopodium macrobulbon* las plantas se encuentran creciendo en parches con altas densidades y con patrones de agregación. Todos estos patrones

resultan especialmente importantes para los polinizadores, ya que pueden reducir la frecuencia con la que los polinizadores encuentran a las flores, sobre todo si las flores no ofrecen recompensas (Ferdy *et al.*, 1998; Castillo *et al.*, 2002; Sun *et al.*, 2009). Aunque al mismo tiempo puede ser una ventaja porque impide la discriminación de los polinizadores inexpertos y maximiza el éxito reproductivo de las plantas que engañan (Ackerman, 1986; Sabat y Ackerman, 1996; Jersáková *et al.*, 2006).

Se ha sugerido también que la falta de los polinizadores efectivos o nativos en los trópicos pueden aumentar la magnitud de la limitación en la polinización, sobre todo para plantas nativas (Neiland y Wilcock, 1998; Knight *et al.*, 2005). El hecho de que se haya encontrado únicamente al posible polinizador de una especie de orquídea plantea la posibilidad de que las especies de polinizadores que polinizan al resto de las orquídeas carezcan de distribuciones totalmente simpátricas con ellas (Ackerman, 1983), lo cual impondría una barrera para su polinización. También es posible que los polinizadores de las especies sean poco abundantes en el sitio, por lo que valdría la pena explorar sus fluctuaciones poblacionales en la región para dilucidar mejor el proceso de polinización.

En un sitio con marcada estacionalidad como nuestra zona de estudio, es indiscutible que las variaciones ambientales pueden estar influyendo en la polinización, incluso entre temporadas como ocurrió con las especies aquí estudiadas. Las fluctuaciones anuales no sólo inciden en la actividad de los polinizadores, sino también en la fenología de las plantas. Es claro que las orquídeas necesitan más de los polinizadores, que los polinizadores de las orquídeas (Roberts, 2003), y por lo tanto los polinizadores pueden encontrar recursos en más de una especie de planta. Por lo tanto, la actividad de los polinizadores está influenciada en gran medida por la cantidad de recursos disponibles en su medio. Un suministro constante de recursos florales para los polinizadores se puede lograr mediante la fenología de floración secuencial de las especies de plantas que constituyen un gremio de determinado recurso (Rosas-Guerrero *et al.*, 2014). Particularmente en Nizanda, un estudio sobre la fenología en especies arbóreas reveló que aunque en promedio la estacionalidad de los eventos de floración es significativa en la estación seca, en realidad se observan especies en actividad reproductiva todo el año (Maldonado Romo, 2014). Lo anterior toma relevancia en el contexto de la abundancia de los recursos florales y su relación con el comportamiento de los polinizadores, ya que la baja actividad de éstos puede incrementar la probabilidad de la limitación en la

polinización (Wilcock y Neiland, 2002), sobre todo si el pico de la actividad del polinizador no coincide con la temporada de floración de las orquídeas, o las especies de orquídeas no representan un buen recurso para el polinizador.

Otra hipótesis de la baja polinización de las orquídeas es que éstas se pueden encontrar limitadas por los recursos. La insuficiencia de recursos como agua o nutrientes pueden limitar la polinización y fructificación en las plantas, ya sea dentro o entre temporadas (Nilsson, 1992), sobre todo en regiones con marcada temporalidad como nuestro sitio de estudio. La limitación por los recursos se ha registrado en especies neotropicales como *Ionopsis utricularioides* (Sw.) Lindl. (Montalvo y Ackerman, 1987), *Aspasia principissa* Rchb. f. (Zimmerman y Aide, 1989) y *Epidendrum ciliare* L. (Ackerman y Montalvo, 1990). Para el caso de las orquídeas estudiadas, valdría la pena hacer estudios fisiológicos que incorporen aspectos como el tamaño de las partes vegetativas y reproductivas para estimar los recursos destinados a la floración, e incorporarlos a la historia de vida de las especies, ya que es muy probable que la fisiología de cada especie difiera.

### Éxito de polinización masculino y femenino

Un patrón interesante para las tres especies de orquídeas es que el éxito masculino (remoción de polinios) fue mayor que el éxito femenino (depósito de polinios). En muchos estudios sobre polinización en orquídeas se ha registrado el mismo patrón, lo cual sugiere que la producción de frutos está más limitada por la inserción del polen en el estigma que por su extracción de la columna (Nilsson, 1992; Brys *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2011). La mayoría de las plantas hermafroditas producen muchas más flores que frutos; este fenómeno se explica porque en las angiospermas el fracaso en la polinización es frecuente debido a que puede ocurrir en diferentes etapas cuando el polen es removido y transportado, ya sea antes, durante o después de la dispersión del polen (Wilcock y Neiland, 2002) y las orquídeas no son la excepción (Tremblay *et al.*, 2005). En este sentido, si las orquídeas sufren un alto fracaso en la remoción de polen en comparación con otras familias de plantas (Harder, 2000), es comprensible que el depósito del mismo fuera un fracaso mayor.

En este estudio resultó evidente que la polinización en las tres especies de orquídeas estudiadas fue contrastante. Tanto para la función masculina como para la femenina *Clowesia dodsoniana* fue la especie que presentó los mayores valores. Le siguen en orden decreciente

*Barkeria whartonia* y *Cyrtopodium macrobulbon*, también para ambas funciones de la polinización. Cabe señalar que estos resultados coinciden con las tasas de visita registradas. Uno de los factores a los que se podría atribuir estos resultados es a la presencia de recompensas florales. *C. dodsoniana*, la única especie que parece recompensar a sus polinizadores, es la especie con los valores más altos de polinización. Las especies con ausencia de recompensas florales tienen el doble de riesgo de verse afectadas por la polinización limitada respecto a las especies que sí ofrecen recompensas (Zimmerman, 1983; Cibula y Zimmerman, 1987; Neiland y Wilcock, 1998, Johnson y Nilsson, 1999; Smithson Gigord, 2001).

Los resultados obtenidos muestran que la especie más exitosa en la polinización es *Clowesia dodsoniana*; sin embargo, llama la atención la proporción en la cual el éxito masculino supera al éxito femenino entre las tres especies, ya que se observa que en *Barkeria whartonia* se presenta la menor diferencia (4.7 veces), seguida de *Clowesia dodsoniana* (5.2 veces) y *Cyrtopodium macrobulbon* (9.3 veces), respectivamente. Estos resultados indican que es posible que en *B. whartonia* la eficiencia de transferencia del polen al estigma sea mayor (debido a la baja diferencia entre el éxito masculino y femenino). Johnson y colaboradores (2005) reportaron que cerca del 65 % de los polinios producidos por una especie se pierden durante el proceso de extracción y/o transporte. Si un mismo polinizador acumula muchos polinios de flores distintas, puede provocar que el polen sea más propenso a caerse. Otro motivo de pérdida de polen es el exceso de polinios en el cuerpo del polinizador que puede obstaculizar el acceso de polinios de las flores visitadas anteriormente a los estigmas de las flores visitadas posteriormente (Johnson *et al.*, 2005). Para *C. dodsoniana* se percibió que durante el forrajeo del polinizador, éste acumuló polinios en el tórax y no se observó el depósito de los mismos, lo cual apoya la idea de la poca eficiencia en el mecanismo de depósito de polen.

Otra característica que resulta de especial interés, son los sistemas de autoincompatibilidad de cada una de las especies de orquídeas. Las flores de *Barkeria whartonia* son autocompatibles (Soto-Arenas y Solano-Gómez, 2007) mientras que las flores de *Clowesia dodsoniana* son autoincompatibles (Aguirre, 1979). Se ha documentado que la autogamia puede ser una desventaja para las especies porque conduce a mayores tasas de endogamia, reduce la función femenina al disminuir el número y la calidad de la

descendencia, así como la función masculina a través de la reducción en la cantidad de polen disponible para la exportación a otras plantas (Harder y Barrett 1995; Barrett 2003; Johnson *et al.*, 2004). Sin embargo, también es cierto que en ausencia de un sistema de autoincompatibilidad, las plantas presentan alta producción de frutos en niveles incluso mucho más altos que en los sistemas autoincompatibles (Tremblay *et al.*, 2005). Este es el caso de *B. whartonianana*, la cual no sólo asegura la polinización entre las flores de una misma planta con una visita repetida del polinizador, sino que también puede producir frutos en igual o mayor proporción que una especie como *C. dodsoniana*, la cual está sujeta a las mismas presiones ambientales del sitio.

Además, la floración sucesiva en *Barkeria whartonianana* así como la producción de pocas flores, puede mitigar las posibles consecuencias de la endogamia. En sistemas autoincompatibles como *Clowesia dodsoniana* la floración sincrónica dentro de una planta (como sucede en esta especie) puede ser desventajoso porque los polinizadores se pueden mover de manera indiscriminada por las flores de una misma planta, y provocar la geitonogamia en el transcurso. De hecho, en *C. dodsoniana* fue muy frecuente observar en un mismo tiempo a diferentes flores de una misma planta con el polen removido a la vez que depositado, lo que sugería que el polinizador realizó varias visitas en las flores de una misma planta. Dichas flores incluso presentaron indicios de formación de fruto; sin embargo, pocos días después de la polinización fue evidente que muchas de las flores que aparentemente fueron fecundadas presentaron aborto de frutos en una proporción cercana al 50 %. Asimismo, se ha observado de manera experimental y empírica que en el género *Clowesia*, transcurrido un corto periodo de tiempo (aproximadamente de cuatro a cinco días posterior a la antesis) ocurre un desprendimiento funcional del viscidio, lo que conduce a la oxidación rápida de éste con lo que se elimina la posibilidad de transporte de polen (Aguirre, 1979). Para el caso de *Cyrtopodium macrobulbon* aunque se desconoce su sistema de autoincompatibilidad, es posible que sea similar al de *C. dodsoniana*, ya que de igual manera tras la aparente fecundación en las flores, días después hubo aborto de frutos. Aparentemente, existe una disyuntiva entre tener un mayor número de flores abiertas al mismo tiempo con el riesgo de que aumente la autopolinización, respecto a tener una floración sucesiva (con un despliegue floral menos atractivo), pero con menor probabilidad de autopolinización. Sin embargo, no es claro si esta disyuntiva realmente ocurra, ni cuáles son las condiciones ecológicas que

permitan que una estrategia sea mejor que la otra. En este sentido, la baja tasa de polinización puede verse no necesariamente como un fracaso, sino más bien como una consecuencia de la evolución de una estrategia de polinización compleja que maximiza la polinización cruzada (Neiland y Wilcock, 1998; Cozzolino y Widmer, 2005).

En este estudio, aunque la evaluación del número de frutos producidos no correspondió estrictamente con las flores marcadas, se puede concluir que la fructificación en las tres especies de orquídeas es baja. *Barkeria whartonia* superó de manera considerable a la producción de frutos de las otras dos especies (21.4 % frutos por flor), e incluso fue mayor que el número de flores marcadas con polinios depositados, por lo que se considera que el valor real debe ser un poco menor. Para *Clowesia dodsoniana* el porcentaje de frutos producidos en total respecto a las flores marcadas fue de 3.8 %, y se puede considerar que este valor se acerca al éxito reproductivo real de la especie dado que la floración es muy sincrónica. En cuanto a *Cyrtopodium macrobulbon*, es muy notoria la diferencia entre el número de flores marcadas y el número de frutos producidos (0.62 % frutos por flor), lo cual sugiere que el éxito de la polinización en total, es muy bajo. La producción baja de frutos para *Cyrtopodium* ya ha sido reportada en otra especie del mismo género. En *C. polyphyllum* se observó que en condiciones naturales la producción de frutos es del 1-2 % (Pansarin *et al.*, 2007). Los promedios de producción de frutos reportados en otras especies de orquídeas tropicales sin recompensas son de  $10.8 \pm 11.2$  %; mientras que para las orquídeas en otras latitudes es de  $19.8 \pm 18.6$  % (Vale *et al.*, 2011; calculado a partir de Tremblay *et al.*, 2005). De tal forma, que la producción de frutos de *C. macrobulbon* no está muy lejos de lo que se podría esperar para el género, *C. dodsoniana* está por debajo de lo que se espera para una especie tropical que da recompensas y para *B. whartonia* se obtuvo un valor superior al esperado para una orquídea tropical y cercano a lo reportado para orquídeas de ambientes templados.

En este estudio resultó evidente que la especie con menos producción de flores (*B. whartonia*) fue la más exitosa en términos de producción de frutos que aquella especie con mayor producción de flores e inflorescencias (*C. macrobulbon*). No obstante, el costo por la baja polinización podría compensarse con una producción de frutos más grandes y con más semillas, como sucede en *C. macrobulbon*.

## Efecto del despliegue floral

En ausencia de recompensas para el polinizador, el despliegue floral puede ser la fuente más importante de variación en la atracción de los polinizadores (Calvo, 1990). Sin embargo, los resultados que arrojaron los modelos estadísticos (GLMM) no mostraron que las variables del despliegue floral tuvieran un efecto significativo en polinización. De esta forma, contrario a nuestra hipótesis, las variables del despliegue floral evaluadas (número de flores abiertas, y número y longitud de las inflorescencias) no afectaron de manera importante ni a la remoción y ni al depósito de polinios de ninguna de las especies de orquídeas estudiadas.

En muchas especies de plantas se espera que el aumento del despliegue floral incremente las tasas de visita de polinizadores que a su vez, aumenta el éxito reproductivo en las plantas. Sin embargo, para el caso de las especies estudiadas no fue el caso. De hecho, se ha visto que el efecto del despliegue floral en Orchidaceae es muy variable. Por ejemplo, en orquídeas neotropicales como *Brassavola nodosa* (L.) Lindl. (Schemske, 1980), *Ionopsis utricularioides* (Montalvo y Ackerman, 1987) y *Lepanthes wendlandii* Rchb. f. (Calvo, 1990) se ha reportado que a mayor número de flores en las inflorescencias, la probabilidad de formar frutos aumenta. No obstante, en otras orquídeas tropicales, como *Aspasia principissa* (Zimmerman y Aide, 1989), *Psychilis krugii* (Bello) Saudela (Ackerman, 1989) y *Comparettia falcata* (Rodríguez-Roblez *et al.*, 1992), el éxito reproductivo masculino y femenino no se modificó con el número de flores. La variabilidad entre especies de esta familia puede deberse a características y mecanismos de cada una de ellas, o más aun a la combinación entre diferentes estrategias de polinización (p. ej. largos periodos de floración y pequeña exhibición floral; Vale *et al.*, 2011), inclusive a la asignación de los recursos durante la época reproductiva (Zimmerman y Aide, 1989).

En *Barkeria whartonia* hubo efecto de la temporada de floración, y se observó que al inicio de la temporada hubo mayor remoción de polinios. La evidencia sugiere que la floración temprana en orquídeas que no ofrecen recompensas es ventajosa porque las plantas al inicio de la floración atraen a los polinizadores más ingenuos (Smithson y Macnair 1997; Castillo *et al.*, 2002; Johnson *et al.*, 2003; Parra-Tabla y Vargas 2004). Esta ventaja se ha demostrado en algunas especies tanto de orquídeas de ambientes templados, como *Calypso bulbosa* (L.) Oakes (Ackerman, 1981) y *Cypripedium acaule* Aiton (O'Connell y Johnston, 1998), como en orquídeas tropicales por ejemplo *Tolumnia variegata* (Sw.) Braem (Sabat y

Ackerman, 1996). Muchas orquídeas engañan a las abejas y abejorros sin experiencia a principios de la temporada reproductiva, antes de que los animales desarrollen fidelidad o cierto grado de constancia hacia una flor. Si los insectos realizan vuelos de orientación en el entorno en el que se encuentran, pueden probar las flores como posibles fuentes de alimento. Sin embargo, si las plantas no ofrecen ningún tipo de recompensa para los polinizadores, estas abejas pronto aprenderán que algunas orquídeas son engañosas (van der Cingel, 2001).

En este estudio sólo pusimos a prueba algunos factores del despliegue floral; sin embargo, el efecto de otras variables como el tamaño floral, las recompensas florales o el patrón espacial, permanece desconocido. Es posible que además otras variables como la fenología, el hábitat y el tamaño de la población de las plantas, así como la abundancia y la actividad de los polinizadores también estén influyendo el éxito de polinización de las orquídeas estudiadas. Tanto Janzen *et al.* (1980) como Campbell (1987) advierten que la generalización basada en observaciones de una sola ubicación geográfica o época reproductiva pueden dar resultados no generalizables.

## CONCLUSIONES

La complejidad de la interacción orquídea-polinizador hace evidente la necesidad de evaluar de forma integral diferentes aspectos de la biología floral de las orquídeas, sobre todo porque pueden ofrecer elementos para la descripción de su historia natural. A pesar de que había algunos rasgos en común en las orquídeas seleccionadas (misma localidad, tamaño floral similar, abundancia y periodos relativamente cortos de floración), las estrategias reproductivas son muy diferentes. Este trabajo se enfocó en tres aspectos principales: la morfología, los polinizadores y la polinización. Se encontró que las tres especies de orquídeas estudiadas presentan estructuras secretoras de posibles recompensas florales, aunque en *Barkeria whartonia* y *Cyrtopodium macrobulbon* es probable que sólo sean parte del mecanismo de engaño. Únicamente se logró identificar a los posibles polinizadores de *Clowesia dodsoniana*, dos especies de abejas de la tribu Euglossini (*Eufriesea* sp. y *Euglossa* sp.), y aunque la mayoría de la visitas florales estuvieran representadas por las abejas, resultó interesante la visita de colibríes que se produjo sólo en *B. whartonia*. La baja frecuencia de visitas florales sobre todo de polinizadores, refleja en parte la baja polinización de las especies.

En todas las especies el éxito masculino fue mayor que el femenino, lo cual refleja la limitación de producción de frutos en esta familia. Aunque *Clowesia dodsoniana* es la especie con los mayores índices de polinización y la mayor tasa de visita, es posible que *Barkeria whartonia* sea más eficiente en el transporte de polen, debido en parte a su sistema de autocompatibilidad. No así para *Cyrtopodium macrobulbon*, la cual obtuvo el menor éxito de polinización y de tasa de visita floral. Sin embargo, debido a la abundancia de plantas en el sitio y a la aparente longevidad de los individuos, probablemente los riesgos de una baja reproducción no sean tan limitantes.

Contrario a lo que se esperaba, las variables del despliegue floral (número de flores, número de inflorescencias y longitud de las inflorescencias) no fueron determinantes en la polinización de las tres especies, por lo que no ofrecen elementos para explicar su polinización. Sin embargo, en *Barkeria whartonia* el factor temporada de floración sí fue importante para la remoción de polinios, ya que hubo más remoción de polinios al inicio que al final de la temporada. Este resultado puede reflejar en parte el mecanismo de engaño que resulta más efectivo al inicio que al final de la floración.

No se descarta que otros factores como las recompensas florales, el patrón espacial, la abundancia y la actividad de los polinizadores estén influyendo en la polinización. Por ello, el entendimiento de la biología de las abejas y la biología reproductiva de las plantas ayudarían a dilucidar estas preguntas. De igual forma, la realización de observaciones a largo plazo, con más poblaciones y en otros sitios, sin duda darían lugar a una mejor comprensión de los efectos de distintas variables en el éxito reproductivo de las especies.

Es claro que el sentido de la vista, la percepción al color y a las características de las flores por parte del vector, pueden ser muy diferentes a la nuestra, y por lo tanto no se debe descartar a priori tan fácilmente un posible polinizador. De igual forma, la clasificación de las plantas de una forma dicotómica (si da recompensa o engaña), puede sobresimplificar mecanismos más complejos y dar pie a posibles rutas evolutivas.

## LITERATURA CITADA

- Ackerman JD. 1981.** Pollination biology of *Calypso bulbosa* var. *occidentalis* (Orchidaceae): a food-deception system. *Madroño* **28**: 101-110.
- Ackerman JD. 1983.** Specificity and mutual dependency of the orchid-euglossine bee interaction. *Biological Journal of the Linnean Society* **20**: 301-314.
- Ackerman JD. 1984.** Pollination of tropical and temperate orchids. En: Tan KW, ed. *Proceedings of the 11th World Orchid Conference*. Miami, FL: American Orchid Society, 98-101.
- Ackerman JD. 1986.** Mechanisms and evolution of food-deceptive pollination systems in orchids. *Lindleyana* **1**: 108-113.
- Ackerman JD. 1989.** Limitations to sexual reproduction in *Encyclia krugii* (Orchidaceae). *Systematic Botany* **14**: 101-109.
- Ackerman JD. 1995.** An orchid flora of Puerto Rico and the Virgin Islands. *Memoirs of the New York Botanical Garden* **73**:1-203.
- Ackerman JD, Montalvo AM. 1990.** Short- and long-term limitations to fruit production in a tropical orchid. *Ecology* **71**: 263-272.
- Ackerman JD, Zimmerman JK. 1994.** Bottlenecks in the life histories of orchids: resources, pollination, population structure, and seedling establishment. En: Pridgeon A, ed. *Proceedings of the 14th World Orchid Conference*. Edinburgo: HMSO, 125-129.
- Ackerman JD, Meléndez-Ackerman EJ, Salguero-Faria J. 1997.** Variation in pollinator abundance and selection on fragrance phenotypes in an epiphytic orchid. *American Journal of Botany* **84**: 1383-1390.
- Aguirre-León E. 1979.** Ecología de la Polinización en el Género *Clowesia* (Orchidaceae) en México. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 71p.
- Aigner PA. 2001.** Optimality modeling and fitness tradeoffs: when should plants become pollinator specialists? *Oikos* **95**: 177-184.
- Aigner PA. 2006.** The evolution of specialized floral phenotypes in a fine-grained pollination environment. En: Waser NM, Ollerton J, eds. *Plant-pollinator interactions: from specialization to generalization*. Chicago: University of Chicago Press, 23-46.
- Aragón S, Ackerman JD. 2004.** Does flower colour variation matter in deception pollinated *Psychilis monensis* (Orchidaceae)? *Oecologia* **138**: 405-413.
- Arditti J. 1992.** *Fundamentals of Orchid Biology*. Nueva York: Wiley-Interscience.
- Ashman TL, Knight TM, Steets JA, et al. 2004.** Pollen limitation of plant reproduction: ecological and evolutionary causes and consequences. *Ecology* **85**: 2408-2421.

- Barret SCH. 2003.** Mating strategies in flowering plants: the outcrossing- selfing paradigm and beyond. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **358**: 991-1004.
- Bateman AJ. 1948.** Intrasexual selection in *Drosophila*. *Heredity* **2**: 349-368.
- Bates D, Maechler M, Bolker B, Walker S. 2014.** lme4: Linear mixed-effects models using Eigen and S4. R package version 1.1-7. Disponible en: <http://CRAN.R-project.org/package=lme4>.
- Bawa K.S. 1990.** Plant-pollinator interactions in tropical rain forest. *Annual Review of Ecology and Systematics* **21**: 399-422.
- Blüthgen N, Fiedler K. 2004.** Preferences for sugars and amino acids and their conditionality in a diverse nectar-feeding ant community. *Journal of Animal Ecology* **73**: 155-166.
- Bond WJ. 1994.** Do mutualisms matter? Assessing the impact of pollinator and dispersal disruption on plant extinction. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **344**: 83-90.
- Bradleigh V, Frankie GW, Williams HJ. 1996.** Chemical ecology of bees of the genus *Centris* (Hymenoptera: Apidae). *Florida Entomologist* **79**: 109-129.
- Brys R, Jacquemyn H, Hermy M. 2008.** Pollination efficiency and reproductive patterns in relation to local plant density, population size, and floral display in the rewarding *Listera ovata* (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* **157**: 713-721.
- Buchmann SL. 1987.** The ecology of oil flowers and their bees. *Annual Review of Ecology and Systematics* **18**: 343-369.
- Burd M. 1994.** Bateman's Principle and plant reproduction: The role of pollen limitation in fruit and seed set. *Botanical Review* **60**: 63-139.
- Calvo RN. 1990.** Inflorescence size and fruit distribution among individuals of three orchid species. *American Journal of Botany* **77**: 1378-1381.
- Campbell DR, 1987.** Interpopulational variation in fruit production: the role of pollination-limitation in the Olympic Mountains. *American Journal of Botany* **74**: 269-273.
- Cane JG, Eickwort F, Wesley FR, Spielholz J. 1983.** Foraging, grooming and mate-seeking behaviors of *Macropis nuda* (Hymenoptera, Melittidae) and use of *Lysimachia ciliata* (Primulaceae) oils in larval provisions and cell linings. *American Midland Naturalist* **110**: 257-264.
- Castillo RA, Cordero C, Domínguez CA. 2002.** Are reward polymorphisms subject to frequency-and density-dependent selection? Evidence from a monoecious species pollinated by deceit. *Journal of Evolutionary Biology* **15**: 544-552.

- Chase MW, Hills HG. 1992.** Orchid phylogeny, flower sexuality, and fragrance-seeking- Evidence from variation in chloroplast DNA among subtribes Catasetinae and Cyrtopodiinae. *BioScience* **42**: 43-49.
- Chase MW, Cameron KM, Barrett RL, Freudenstein JV. 2003.** DNA data and Orchidaceae systematics: a new phylogenetic classification. En: Dixon KW, Kell SP, Barrett RL, Cribb PJ, eds. *Orchid conservation*. Kota Kinabalu, Sabah: Natural History Publications, 69-90.
- Chittka L, Thomson JD. 2001.** *Cognitive ecology of pollination: Animal behavior and floral evolution*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Cibula DA, Zimmerman M. 1987.** Bumblebee foraging behavior: changes in departure decisions as a function of experimental nectar manipulations. *American Midland Naturalist* **117**: 368-376.
- Coombs G, Peter CI, Johnson SD. 2009.** A test for Allee effects in the self-incompatible wasp-pollinated milkweed *Gomphocarpus physocarpus*. *Austral Ecology* **34**: 688-697.
- Cozzolino S, Widmer A. 2005.** Orchid diversity: an evolutionary consequence of deception. *Trends in Ecology and Evolution* **20**: 487-494.
- Cseke LJ, Kaufman PB, Kirakosyan A. 2007.** The biology of essential oils in the pollination of flowers. *Natural Product Communications* **2**: 1317-1336.
- Curry KJ, McDowell LM, Judd WS, Stern WL. 1991.** Osmophores, floral features, and systematics of *Stanhopea* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* **78**: 610-623.
- Dafni A. 1983.** Pollination of *Orchis caspia*- A nectarless plant which deceives the pollinators of nectariferous species from other plant families. *Journal of Ecology* **71**: 467-474.
- Dafni A. 1984.** Mimicry and deception in pollination. *Annual Review of Ecology and Systematics* **15**: 259-278.
- Dafni A, Ivri Y, Brantjes, NBM. 1981.** Pollination of *Serapias vomeracea* Briq. (Orchidaceae) by imitation of holes for sleeping solitary male bees (Hymenoptera). *Acta Botanica Neerlandica* **30**: 69-73.
- Darwin C. 1885.** *The various contrivances by which orchids are fertilised by insects*. Londres: John Murray.
- Davies KL, Turner M.P. 2004.** Pseudopollen in *Dendrobium unicum* Seidenf. (Orchidaceae): reward or deception? *Annals of Botany* **94**: 129-132.
- Davies KL, Stpiczyńska M. 2006.** Labellar micromorphology of Bifrenariinae Dressler (Orchidaceae). *Annals of Botany* **98**: 1215-1231.
- Davies KL, Stpiczyńska M, Gregg A. 2005.** Nectar-secreting floral stomata in *Maxillaria anceps* Ames & C. Schweinf. (Orchidaceae). *Annals of Botany* **96**: 217-227.

- Davies KL, Stpiczyńska M, Turner MP. 2006.** A rudimentary labellar speculum in *Cymbidium lowianum* (Rchb.f.) Rchb.f. and *Cymbidium devonianum* Paxton (Orchidaceae). *Annals of Botany* **97**: 975-984.
- Davis AR. 1997.** Influence of floral visitation on nectar-sugar composition and nectary surface changes in *Eucalyptus*. *Apidologie* **28**: 27-42.
- Davis AR, Gunning BES. 1991.** The modified stomata of the floral nectary of *Vicia faba* L. 2. Stomatal number and distribution as selection criteria for breeding for high nectar sugar production. *Acta Horticulturae* **288**: 329-334.
- Davis AR, Pylatuik, JD, Paradis, JC, Low NH. 1998.** Nectar-carbohydrate production and composition vary in relation to nectary anatomy and location within individual flowers of several species of Brassicaceae. *Planta* **205**: 305-318.
- Del Mazo A, Damon A. 2007.** Fragrance analysis of Euglossinae bee pollinated orchids from Soconusco South- East Mexico. *Plant Species Biology* **22**: 129-134.
- Domínguez CA, Pérez-Ishiwara R. 2013.** La biología de la polinización. En: Márquez Guzmán J, Collazo Ortega M, Martínez Gordillo M, Orozco Segovia A, Vázquez Santana S, eds. *Biología de angiospermas*. México: Universidad Nacional Autónoma de México, 101-106.
- Dressler RL. 1967.** Why do euglossine bees visit orchid flowers? *Atas do Simpósio sobre a Biota Amazônica* **5**: 171-180.
- Dressler RL. 1976.** How to study orchid pollination without any orchids. En: Senghas K, ed. *Proceedings of the Eighth World Orchid Conference*. Frankfurt: German Orchid Society, 534-537.
- Dressler RL. 1981.** *The orchids: Natural History and Classification*. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press.
- Dressler RL. 1982.** Biology of the orchid bees (Euglossini). *Annual Review of Ecology and Systematics* **13**: 373-394.
- Dressler RL. 1990.** *The orchids-natural history and classification*. Londres: Harvard University Press.
- Dressler RL. 1993.** *Phylogeny and classification of the orchid family*. Portland: Dioscorides Press.
- Dutra D, Kane ME, Adams CR, Richardson L. 2009.** Reproductive biology of *Cyrtopodium punctatum* in situ: implications for conservation of an endangered Florida orchid. *Plant Species Biology* **24**: 92-103.
- Eltz T, Lunau K. 2005.** Antennal response to fragrance compounds in male orchid bees. *Chemoecology* **15**: 135-138.
- Eltz T, Roubik D, Whitten M. 2003.** Fragrance, male display and mating behaviour of *Euglossa hemiclora*: a flight cage experiment. *Physiological Entomology* **28**: 251-260.

- Eltz T, Whitten WM, Roubik DW, Linsenmair KE. 1999.** Fragrance collection, storage, and accumulation by individual male orchid bees. *Journal of Chemical Ecology* **25**: 157-176.
- Endress PK. 1994.** *Diversity and evolutionary biology of tropical flowers*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Faegri K. van der Pijl L. 1979:** *The Principles of Pollination Ecology*. Oxford: Pergamon Press.
- Fahn A. 1979.** *Secretory tissues in plants*. Londres: Academic Press.
- Fahn A. 1988.** Secretory tissues in vascular plants. *New Phytologist* **108**: 229-257.
- Fenster CB, Armbruster WS, Wilson P, Dudash MR, Thomson JD. 2004.** Pollination syndromes and floral specialization. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **35**: 375-403.
- Ferdy JB, Gouyon PH, Moret J, Godelle B. 1998.** Pollinator behavior and deceptive pollination: learning process and floral evolution. *American Naturalist* **152**: 696-705.
- Flach A, Dondon RC, Singer RB, Koehler, Amaral MCE, Marsaioli AJ. 2004.** The chemistry of pollination in selected brazilian Maxillariinae orchids: floral rewards and fragrance. *Journal of Chemical Ecology* **30**: 1045-1056.
- Freudenstein JV, Rasmussen FN. 1997.** Sectile pollinia and relationships in Orchidaceae. *Plant Systematics and Evolution* **205**: 125-146.
- Galizia CG, Kunze J, Gumbert A, Borg-Karlson AK, Sachse S, Markl C, Menzel R. 2005.** Relationship of visual and olfactory signal parameters in a food-deceptive flower mimicry system. *Behavioral Ecology* **16**: 159-168.
- García E. 2004.** *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen*. 4ª ed. México, D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México.
- González-Rebeles Guerrero G. 2015.** Comparación de atributos funcionales foliares entre árboles jóvenes y adultos del bosque tropical caducifolio. Tesis de maestría. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 73p.
- González-Teuber M, Heil M. 2009.** Nectar chemistry is tailored for both attraction of mutualists and protection from exploiters. *Plant Signaling and Behavior* **4**: 809-813.
- Graffal KP, Heimler W, El-Gammal S. 1998.** The floral nectary of *Digitalis purpurea* L., structure and nectar secretion. *Annals of Botany* **81**: 251-262.
- Grajales-Conesa J, Meléndez-Ramírez V, Cruz-López L. 2011.** Aromas florales y su interacción con los insectos polinizadores. *Revista Mexicana de Biodiversidad* **82**: 1356-1367.
- Gumbert A. Kunze J. 2001.** Colour similarity to rewarding model plants affects pollination in a food deceptive orchid, *Orchis boryi*. *Biological Journal of the Linnean Society* **72**: 419-433.
- Gumprecht R. 1977.** Seltsame Bestäubungsvorgänge bei Orchideen. *Die Orchidee* **28**: 1-23.

- Harder LD. 2000.** Pollen dispersal and the floral diversity of Monocotyledons. En: Wilson KL, Morrion D, eds. *Monocots: Systematics and Evolution*. Melbourne: CSIRO, Publishing, 243-257.
- Harder LD, Barrett SCH. 1995.** Mating cost of large floral displays in hermaphrodite plants. *Nature* **373**: 512-515.
- Harder LD, Barrett SCH. 1996.** Pollen dispersal and mating patterns in animal pollinated plants. En: Lloyd DG, Barrett SCH, eds. *Floral Biology: Studies on Floral Evolution in Animal-Pollinated Plants*. Nueva York: Chapman & Hall, 140-190.
- Harder LD, Johnson SD. 2008.** Function and evolution of aggregated pollen in angiosperms. *International Journal of Plant Sciences* **169**: 59-78.
- Janzen DH, DeVries P, Gladstone DE, Higgins ML, Lewinsohn TM. 1980.** Self- and cross-pollination of *Encyclia cordigera* (Orchidaceae) in Santa Rosa National Park, Costa Rica. *Biotropica* **12**: 72-74.
- Jersáková J, Johnson SD, Kindlmann P. 2006.** Mechanisms and evolution of deceptive pollination in orchids. *Biological Reviews* **81**: 219-235.
- Johnson SD, Nilsson LA. 1999.** Pollen carryover, geitonogamy, and the evolution of deceptive pollination system in orchids. *Ecology* **80**: 2607-2619.
- Johnson SD, Nicolson SW. 2008.** Evolutionary associations between nectar properties and specificity in bird-pollination systems. *Biology Letters* **4**: 49-52.
- Johnson SD, Peter CI, Agren J. 2004.** The effects of nectar addition on pollen removal and geitonogamy in the non-rewarding orchid *Anacamptis morio*. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* **271**: 803-809.
- Johnson SD, Neal PR, Harder LD. 2005.** Pollen fates and the limits on male reproductive success in an orchid population. *Biological Journal of the Linnean Society* **86**: 175-190.
- Johnson SD, Peter CI, Nilsson LA, Agren J. 2003.** Pollination success in a deceptive orchid is enhanced by co-occurring rewarding magnet species. *Ecology* **84**: 2919-2927.
- de Jong TJ, Waser NM, Klinkhamer PGL. 1993.** Geitonogamy: the neglected side of selfing. *Trends in Ecology and Evolution* **8**: 321-325.
- Keijzer CJ, Hoek HIS, Willemse MTM. 1987.** The processes of anther dehiscence and pollen dispersal III. The dehydration of the filament tip and the anther in three monocotyledonous species. *New Phytologist* **106**: 281-287.
- Knight TM, Steets JA, Vamosi JC, et al. 2005.** Pollen limitation of plant reproduction: pattern and process. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **46**: 467- 497.

- Kupers E. 2013.** The effect of climate variability on secondary succession of a tropical dry forest in Nizanda, Southern Mexico. Internship Project Report P213-21, Wageningen University, Wageningen, Países Bajos, y Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., México.
- Li P, Huang BQ, Pemberton RW, Luo YB, Cheng J. 2011.** Floral display influences male and female reproductive success of the deceptive orchid *Phaius delavayi*. *Plant Systematics and Evolution* **296**: 21-27
- Maldonado-Romero AF. 2014.** Fenología foliar y reproductiva de la comunidad arbórea del bosque tropical caducifolio en Nizanda, Oaxaca, México. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 95p.
- Marín-Loaiza J, Céspedes C. 2007.** Compuestos volátiles de plantas. Origen, emisión, efectos, análisis y aplicaciones al agro. *Revista Fitotécnica Mexicana* **30**: 327-351.
- May-Itzá W de J, Medina-Medina LA, Medina S, Paxton RJ, Quezada Euán JJG. 2014.** Seasonal nest characteristics of a facultatively social orchid bee, *Euglossa viridissima*, in the Yucatan Peninsula, Mexico. *Insectes Sociaux* **61**:183-190.
- Mazerolle MJ. 2015.** AICcmodavg: Model selection and multimodel inference based on (Q)AIC(c). R package version 2.0-3. Disponible en: <http://CRAN.R-project.org/package=AICcmodavg>.
- Michener CD. 1974.** *The social behavior of the bees: a comparative study*. Harvard: University Press.
- Mickeliunas L, Pansarin ER, Sazima M. 2006.** Biología floral, melitofilia e influência de besouros Curculionidae no sucesso reprodutivo de *Grobya amherstiae* Lindl. (Orchidaceae: Cyrtopodiinae). *Revista Brasileira de Botânica* **29**: 251-258.
- Montalvo AM, Ackerman JD. 1987.** Limitations to fruit production in *Ionopsis utricularioides*. *Biotropica* **19**: 24-31.
- Neiland MR, Wilcock CC. 1998.** Fruit set, nectar reward and rarity in the Orchidaceae. *American Journal of Botany* **85**: 1657-1671.
- Nepi M, Stpiczyńska M. 2008.** The complexity of nectar: secretion and resorption dynamically regulate nectar features. *Naturwissenschaften* **95**: 177-184.
- Nepi M, Pacini E, Nencini C, Collavoli E, Franchi GG. 2003.** Variability of nectar production and composition in *Linaria vulgaris* (L.) Mill. (Scrophulariaceae). *Plant Systematics and Evolution* **238**: 109-118.
- Nepi M, von Anderkas P, Wagner R, Mugnaini S, Coulter A, Pacini E. 2009.** Nectar and pollination drops: how different are they? *Annals of Botany* **104**: 205-219.

- Nieder J. 2004.** Distribution patterns of epiphytic orchids-present research, past causes and future consequences. En: Hermans J, Cribb P, eds. *Proc. Eur. Orchid Conf. and Show, March 2003*. Londres: The British Orchid Council and the Royal Horticultural Society, 241-258.
- Nilsson LA. 1980.** The pollination ecology of *Dactylorhiza sambucina* (Orchidaceae). *Botaniska Notiser* **133**: 367-385.
- Nilsson LA. 1984.** Anthecology of *Orchis morio* (Orchidaceae) at its outpost in the north. *Nova Acta Regiae Societatis Scientiarum Upsaliensis* **3**:167-179.
- Nilsson LA. 1992.** Orchid pollination biology. *Trends in Ecology and Evolution* **7**: 255-259.
- Nilsson LA, Rabakonandrianina E, Pettersson B. 1992.** Exact tracking of pollen transfer and mating in plants. *Nature* **360**: 666-667.
- Nunes CEP, Castro MDM, Galetto L, Sazima M. 2013.** Anatomy of the floral nectary of ornithophilous *Elleanthus brasiliensis* (Orchidaceae: Sobralieae). *Botanical Journal of the Linnean Society* **171**: 764-772.
- O'Brien SP, Loveys BR, Grant WJ. 1996.** Ultrastructure and function of floral nectaries of *Chamelaucium uncinatum* (Myrtaceae). *Annals of Botany* **78**: 189-196.
- O'Connell LM, Johnston MO. 1998.** Male and female pollination success in a deceptive orchid, a selection study. *Ecology* **79**: 1246-1260.
- Ollerton J, Alarcón R, Waser NM, Price MV, Watts S, Cranmer, L. Hingston A, Peter CI, Rotenberry J. 2009.** A global test of the pollination syndrome hypothesis. *Annals of Botany* **103**: 1471-1480.
- Pacini E, Hesse M. 2002.** Types of pollen dispersal units in orchids, and their consequences for germination and fertilization. *Annals of Botany* **89**: 653-664.
- Pansarin LM, Pansarin ER, Sazima M. 2008.** Reproductive biology of *Cyrtopodium polyphyllum* (Orchidaceae): a Cyrtopodiinae pollinated by deceit. *Plant Biology* **10**: 650-659.
- Pansarin LM, Castro MM, Sazima M. 2009.** Osmophore and elaiophores of *Grobysa amherstiae* (Catasetinae, Orchidaceae) and their relation to pollination. *Botanical Journal of the Linnean Society* **159**: 408-415.
- Parra-Tabla V, Vargas CF. 2004.** Phenology and phenotypic natural selection on the flowering time of a deceit-pollinated tropical orchid, *Myrmecophila christinae*. *Annals of Botany* **94**: 243-250.
- Parra-Tabla V, Vargas CF. 2007.** Flowering synchrony and floral display size affect pollination success in a deceit-pollinated tropical orchid. *Acta Oecologica* **32**: 26-35.
- Peakall R. 2007.** Speciation in the Orchidaceae: confronting the challenges. *Molecular Ecology* **16**: 2834-2837.

- Pemberton RW, Wheeler GS. 2006.** Orchid bees don't need orchids: Evidence from the naturalization of an orchid bee in Florida. *Ecology* **87**: 1995-2001.
- Pemberton RW, Liu H. 2008.** Potential of invasive and native solitary specialist bee pollinators to help restore the rare cowhorn orchid (*Cyrtopodium punctatum*) in Florida. *Biological conservation* **141**: 1758-1764.
- Pérez-García EA. 2007.** *Cyrtopodium macrobulbon*. *Boletín de la Asociación Mexicana de Orquideología A.C.* Junio, págs. 6-7.
- Pérez-García, EA. 2009.** *Clowesia dodsoniana*. *Boletín de la Asociación Mexicana de Orquideología A.C.* Agosto, págs. 7-8.
- Pérez-García EA, Meave JA, Gallardo C. 2001.** Vegetación y flora de la región de Nizanda, Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, México. *Acta Botánica Mexicana* **56**: 19-88.
- R Core Team. 2015.** R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponible en: <http://www.R-project.org/>.
- Radice S, Galati BG. 2003.** Floral nectary ultrastructure of *Prunus persica* (L.) Batch cv. *Forastero* (Newcomer), an Argentine peach. *Plant Systematics and Evolution* **238**: 23-32.
- Razem FA, Davis AR. 1999.** Anatomical and ultrastructural changes of the floral nectary of *Pisum sativum* L. during flower development. *Protoplasma* **206**: 57-72.
- Richards AJ. 1986.** *Plant Breeding Systems*. Londres: Allen&Unwin.
- Roberts DL. 2003.** Pollination biology: the role of sexual reproduction in orchid conservation. Orchid Conservation. En: Dixon KW, Kell SP, Barrett RL, Cribb PJ, eds. *Orchid conservation*. Kota Kinabalu, Sabah: Natural History Publications, 113-136.
- Robertson C. 1928.** *Flowers and insects: lists of visitors to four hundred and fifty-three flowers*. Carlinville, Illinois.
- Rodríguez-Robles JA, Meléndez EJ, Ackerman JD. 1992.** Effects of display size, flowering phenology, and nectar availability on effective visitation frequencies in *Comparettia falcata* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* **79**: 1009-1017.
- Rosas-Guerrero V, Aguilar R, Martén-Rodríguez S, Ashworth L, Lopezaraiza-Mikel M, Bastida JM, Quesada M. 2014.** A quantitative review of pollination syndromes: do floral traits predict effective pollinators? *Ecology Letters* **17**: 388-400.
- Roubik DW. 1989.** *Ecology and Natural History of Tropical Bees*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Roubik DW. 1992.** *Ecology and Natural History of Tropical Bees*. Cambridge: Cambridge University Press.

- Roubik DW. 2000.** Deceptive orchids with Meliponini as pollinators. *Plant Systematics and Evolution* **222**: 271-279.
- Roubik DW, Hanson PE. 2004.** *Orchid bees of tropical America, biology and field guide*. Costa Rica: Instituto Nacional de Biodiversidad.
- Rudall JP. 2007.** *Anatomy of Flowering Plants: An Introduction to Structure and Development*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Sabat A, Ackerman D. 1996.** Fruit set in a deceptive orchid: the effect of flowering phenology, display size, and local floral abundance. *American Journal of Botany* **83**: 1181-1186.
- Schemske DW. 1980.** Evolution of floral display in the orchid *Brassavola nodosa*. *Evolution* **34**: 489-493.
- Schiestl FP. 2005.** On the success of a swindle: pollination by deception in orchids. *Naturwissenschaften* **92**: 255-264.
- Schiestl FP, Roubik D. 2003.** Odour compound detection in male Euglossine bees. *Journal of Chemical Ecology* **29**:253-257.
- Schlüter PM, Schiestl FP. 2008.** Molecular mechanisms of floral mimicry in orchids. *Trends in Plant Science* **13**: 228-235.
- Scopece G, Cozzolino S, Johnson SD, Schiestl FP. 2010.** Pollination efficiency and the evolution of specialized deceptive pollination systems. *The American Naturalist* **175**: 98-105.
- Scopece G, Schiestl FP, Cozzolino S. 2014.** Pollen transfer efficiency and its effect on inflorescence size in deceptive pollination strategies. *Plant Biology*.
- Semarnat. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. 2010.** Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010. Diario Oficial de la Federación (DOF), jueves 30 de diciembre de 2010.
- Simpson BB, Neff JL. 1981.** Floral rewards: alternatives to pollen and nectar. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **68**: 301-322.
- Smithson A. 2006.** Pollinator limitation and inbreeding depression in orchid species with and without nectar rewards. *New Phytologist* **169**: 419-430.
- Smithson A, Macnair MR. 1997.** Negative frequency-dependent selection by pollinators on artificial flowers without rewards. *Evolution* **51**: 715-723.
- Smithson A, Gigord LDB. 2001.** Are there fitness advantages in being a rewardless orchid? Reward supplementation experiments with *Barlia robertiana*. *Proceedings of the Royal Society of London Series B* **268**: 1-7.
- Soto-Arenas MA, Solano-Gómez AR. 2007.** Ficha técnica de *Barkeria whartonianiana*. En: Soto-Arenas MA, (compilador). Información actualizada sobre las especies de orquídeas del PROY-NOM-

- 059-ECOL-2000. Instituto Chinoin A.C., Herbario de la Asociación Mexicana de Orquideología A.C. Bases de datos SNIB-CONABIO. Proyecto No. W029. México. D.F.
- Suetsugu K, Naito RS, Fukushima S, Kawakita A, Kato, M. 2015.** Pollination system and the effect of inflorescence size on fruit set in the deceptive orchid *Cephalanthera falcate*. *Journal of Plant Research* 1-10.
- Sun HQ, Cheng J, Zhang F, Luo YB, Song G. 2009.** Reproductive success of non-rewarding *Cypripedium japonicum* benefits from low spatial dispersion pattern and asynchronous flowering. *Annals of Botany* **103**: 1227-1237.
- Stebbins GL. 1970.** Adaptive radiation of reproductive characteristics in angiosperms: pollination mechanisms. *Annual Review of Ecology and Systematics* **1**: 307-326.
- Stpiczyńska M, Davies KL. 2008.** Elaiophore structure and oil secretion in flowers of *Oncidium trulliferum* Lindl. and *Ornithophora radicans* (Rchb.f.) Garay & Pabst (Oncidiinae: Orchidaceae). *Annals of Botany* **101**: 375-384.
- Stpiczyńska M, Davies KL, Gregg A. 2003.** Nectary structure and nectar secretion in *Maxillaria coccinea* L.O. Williams ex Hodge (Orchidaceae). *Annals of Botany* **93**:87-95.
- Stpiczyńska M, Davies KL, Gregg A. 2007.** Elaiophore diversity in three contrasting members of Oncidiinae (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* **155**: 135-148.
- Symonds MRE, Moussalli A. 2011.** A brief guide to model selection, multimodel inference and model averaging in behavioural ecology using Akaike's information criterion. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **65**: 13-21.
- Telepova-TeXier M. 2009.** *Acampe hulae* (Orchidaceae) una nouvelle espèce du Cambodge et du Laos. *Adansonia* **31**: 267-272.
- Teuber LR, Albersten MC, Barnes DK, Heichel GH. 1980.** Structure of floral nectaries of alfalfa (*Medicago sativa* L.) in relation to nectar production. *American Journal of Botany* **67**: 433-439.
- Tremblay RL. 1992.** Trends in the pollination ecology of the Orchidaceae: evolution and systematics. *Canadian Journal of Botany* **70**: 642-650.
- Tremblay RL, Ackerman JD, Zimmerman JK, Calvo RN. 2005.** Variation in sexual reproduction in orchids and its evolutionary consequences: a spasmodic journey to diversification. *Biological Journal of the Linnean Society* **84**: 1-54.
- Vale A, Rojas D, Álvarez JC, Navarro L. 2011.** Breeding system and factors limiting fruit production in the nectarless orchid *Broughtonia lindenii*. *Plant Biology* **13**: 51-61.
- Valencia-Nieto B. 2012.** Ontogenia floral comparada entre *Microepidendrum subulatifolium*, *Barkeria uniflora*, *Caularthron bilamellatum* y *Epidendrum ciliare* (Orchidaceae, Laeliinae) en el

- complejo de la alianza Epidendrum. Tesis de maestría. Facultad de ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. 63p.
- van der Cingel NA. 1995.** *An atlas of orchid pollination: European orchids.* Róterdam: Balkema Publishers.
- van der Cingel NA. 2001.** *An atlas of orchid pollination. America, Africa, Asia and Australia.* Róterdam: Balkema Publishers.
- van der Pijl L, Dodson CH. 1966.** *Orchid flowers- their pollination an evolution.* Coral Gables: University of Miami Press.
- Vandewoestijne S, Róis AS, Caperta A, Baguette M, Tyteca D. 2009.** Effects of individual and population parameters on reproductive success in three sexually deceptive orchid species. *Plant Biology* **11**: 454-463.
- Vinson SB, Williams HJ, Frankie GW, Shrum G. 1996.** Floral lipid chemistry of *Byrsonima crassifolia* (Malpighiaceae) and a use of floral lipids by *Centris bees* (Hymenoptera: Apidae). *Biotropica* **29**: 76-83.
- Vogel S. 1963.** Das sexuelle Anlockungsprinzip der Catasetinen- und Stanhopeen-Blüten und die wahre Funktion ihres sogenannten Futtergewebes. *Plant Systematics and Evolution* **110**: 308-337.
- Vogel S. 1966.** Parfümsammelnde Bienen als Bestäuber von Orchidaceen und Gloxinia. *Österr. Botan. Zeit.* **113**: 302-361
- Vogel S. 1974.** Ölblumen und ölsammelnde Bienen. Tropische und subtropische Pflanzenwelt. *Abhandlungen Akademie der Wissenschaften und der Literatur, mathematisch-naturwissenschaftliche Klasse* **7**: 283-547.
- Vogel S. 1990.** *The Role of Scent Glands in Pollination: on the Structure and Function of Osmophores.* Nueva Deli: Amerind Publishing Co.
- Wada N. 1999.** Factors affecting the seed-setting success of *Dryas octopetala* in front of Broggerbreen (Brogger Glacier) in the high Arctic, Ny-Alesund, Svalbard. *Polar Research* **18**: 261-268.
- Weryszko-Chmielewska E, Masierowska ML, Konarska A. 2003.** Characteristics of floral nectaries and nectar in two species of *Crataegus* (Rosaceae). *Plant Systematics and Evolution* **238**: 33-41.
- Whitten WM, Young AM, Williams NH. 1989.** Function of glandular secretions in fragrance collection by male euglossine bees. *Journal of Chemical Ecology* **15**: 1285-1295.
- Widmer A, Cozzolino S, Pellegrino G, Soliva M, Dafni A. 2000.** Molecular analysis of orchid pollinaria and pollinaria remains found on insects. *Molecular Ecology* **9**: 1911-1914.

- Wilcock C, Neiland R. 2002.** Pollination failure in plants: why it happens and when it matters. *Trends in Plant Science* **7**: 270-277.
- Willmer P. 2011.** *Pollination and Floral Ecology*. Princeton, Nueva Jersey: Princeton University Press.
- Willson MF, Rathcke BJ. 1974.** Adaptive design of the floral display in *Asclepias syriaca* L. *American Midland Naturalist* **92**: 47-57.
- Zimmerman M. 1983.** Plant reproduction and optimal foraging: experimental nectar manipulations in *Delphinium nelsonii*. *Oikos* **41**: 57-63.
- Zimmerman JK, Aide TM. 1989.** Patterns of fruit production in a Neotropical orchid: pollinator vs. resource limitation. *American Journal of Botany* **76**: 67-73.
- Zimmermann Y, Roubik D, Eltz T. 2006.** Species-specific attraction to pheromonal analogues in orchid bees. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **60**: 833-843.

## APÉNDICES

**Apéndice 1.** Número de flores observadas, horas empleadas y número de visitas florales para cada especie de orquídea en cada periodo de observación: año 2013 y 2014 para *Clowesia dodsoniana* y *Cyrtopodium macrobulbon*; (a) inicio de la floración y (b) termino de la floración para *Barkeria whartonia*.

<b>Especie</b>	<b>Periodo de observación</b>	<b>Flores</b>	<b>Horas</b>	<b>Visitas</b>
<i>Barkeria whartonia</i>	2013a	85	39	27
	2013b	46	132	15
<i>Clowesia dodsoniana</i>	2013	54	80	6
	2014	60	55	77
<i>Cyrtopodium macrobulbon</i>	2013	338	48	144
	2014	510	94	75

**Apéndice 2.** Visitas absolutas en *Barkeria whartonia*, *Clowesia dodsoniana* y *Cyrtopodium macrobulbon* en cada periodo de observación (2013 y 2014), y en total (2013-2014), a excepción de *B. whartonia* en cuyo caso los datos corresponden a dos periodos de observación pero en una sola temporada de floración (2013 *a-b*). Los visitantes florales están agrupados en clase, orden, visitante (col = colibrí, mos = mosquito, abe = abeja, avi = avispa, hor = hormiga, mar = mariposa) y la taxonomía correspondiente por visitante. NI corresponde a los ejemplares no identificados.

Clase	Orden	Visitante	Taxón visitante	<i>Barkeria whartonia</i>			<i>Clowesia dodsoniana</i>			<i>Cyrtopodium macrobulbon</i>		
				2013a	2013b	Total	2013	2014	Total	2013	2014	Total
Aves	Apodiformes	Col	<i>Archilochus colubris</i>	15	4	19	0	0	0	0	0	0
Insecta	Diptera	Mos	NI	0	1	1	0	20	20	1	0	1
Insecta	Hymenoptera	abe	<i>Apis mellifera</i>	0	0	0	0	0	0	0	8	8
Insecta	Hymenoptera	abe	Euglossini spp.	3	1	4	0	49	49	0	0	0
Insecta	Hymenoptera	abe	<i>Melipona</i> sp.	0	0	0	0	0	0	1	1	2
Insecta	Hymenoptera	abe	<i>Mesocheira bicolor</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Insecta	Hymenoptera	abe	<i>Partamona bilineata</i>	0	0	0	1	2	3	1	0	1
Insecta	Hymenoptera	abe	<i>Plebeia moureana</i>	0	0	0	0	0	0	2	0	2
Insecta	Hymenoptera	abe	<i>Trigona fulviventris</i>	0	0	0	0	0	0	21	16	37
Insecta	Hymenoptera	abe	<i>Trigona nigra</i>	0	0	0	0	4	4	0	37	37
Insecta	Hymenoptera	abe	<i>Trigonisca mixteca</i>	0	1	1	0	0	0	8	1	9
Insecta	Hymenoptera	abe	<i>Xylocopa</i> sp.	3	4	7	0	0	0	0	5	5
Insecta	Hymenoptera	abe	NI	2	1	3	0	0	0	94	1	95
<b>Total (abe)</b>				<b>8</b>	<b>7</b>	<b>15</b>	<b>1</b>	<b>55</b>	<b>56</b>	<b>128</b>	<b>69</b>	<b>197</b>
Insecta	Hymenoptera	avi	<i>Polybia</i> sp.	0	0	0	5	0	5	9	4	13
Insecta	Hymenoptera	hor	NI	0	0	0	0	2	2	6	1	7
<b>Total Hymenoptera (abe + avi + hor)</b>				<b>8</b>	<b>7</b>	<b>15</b>	<b>6</b>	<b>57</b>	<b>63</b>	<b>143</b>	<b>74</b>	<b>217</b>
Insecta	Lepidoptera	mar	NI	4	3	7	0	0	0	0	1	1
<b>Total insecta (Diptera + Hymenoptera + Lepidoptera)</b>				<b>12</b>	<b>11</b>	<b>23</b>	<b>6</b>	<b>77</b>	<b>83</b>	<b>144</b>	<b>75</b>	<b>219</b>
<b>Total (Aves + Insecta)</b>				<b>27</b>	<b>15</b>	<b>42</b>	<b>6</b>	<b>77</b>	<b>83</b>	<b>144</b>	<b>75</b>	<b>219</b>

### **Apéndice 3.** Visitantes florales y polinizadores

A continuación se describen las observaciones de los visitantes florales para cada especie de orquídea y la manera en que se llevaron a cabo.

#### *Barkeria whartonia*

En esta especie no fue posible identificar al polinizador efectivo; sin embargo, fue interesante que la gran mayoría de las visitas fueron de colibríes. Se logró identificar a individuos hembra y macho de la especie *Archilochus colubris* (Figura 9); algunas de estas visitas se observaron directamente en campo pero la gran mayoría a través de las filmaciones. No obstante, en todas las visitas de colibríes se observó el mismo patrón de comportamiento en las flores visitadas. Los colibríes sobrevolaron a las plantas y únicamente introdujeron su pico en la flor a través del labelo; en cada flor visitada tardaron sólo un par de segundos, y generalmente visitaron a más de una flor de una misma planta en secuencia sucesiva (Figura 9A-D).

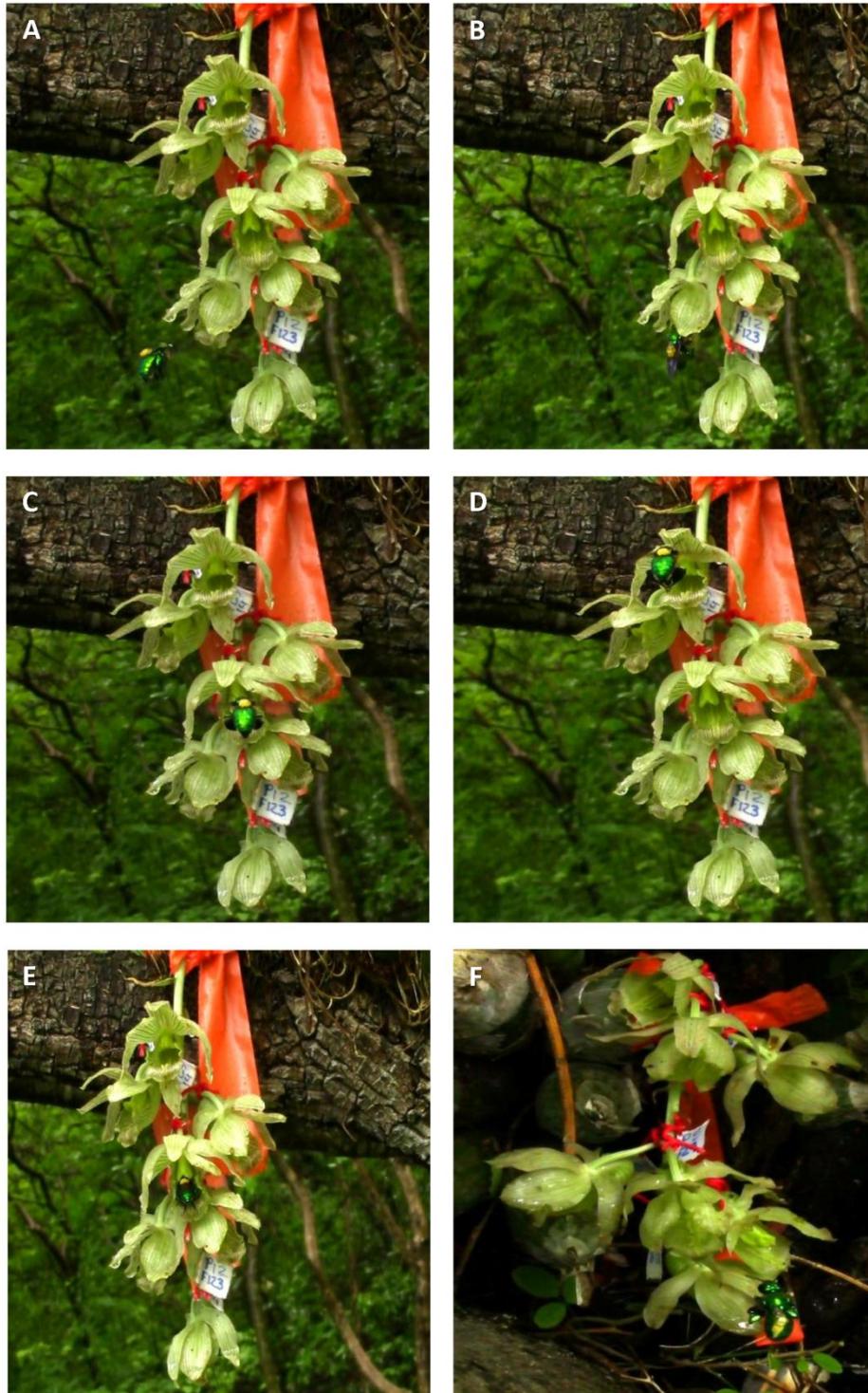


**Figura 9.** Visita floral en *Barkeria whartonia* del colibrí *Archilochus colubris*

## *Clowesia dodsonina*

La detección de los polinizadores en esta especie se llevó a cabo durante el año 2014, tanto en campo como a través de las filmaciones (una vez en campo y en cuatro ocasiones a través de las grabaciones con cámaras de video.). Se identificaron dos especies de abejas de la tribu Euglossini: *Eufriesea* sp. (Figura 10-A-E) y *Euglossa* sp. (Figura 10-F) removiendo el polen, cada una en diferente momento y planta. Sin embargo, por el comportamiento de forrajeo de las abejas, es posible que se trate de los polinizadores legítimos. Se observó que después de haber sobrevolado a la planta, estas abejas se posaron en una flor desplazándose hacia el interior de ésta. Primero rasparon el interior de la flor con las patas anteriores y presentaron un movimiento rítmico del metasoma. La columna tuvo contacto con la parte dorsal del tórax del insecto y al salir de la flor, se percibió que el polen se pegó a su tórax.

Cada visita en cada flor duró aproximadamente 20 segundos. Al salir de la flor, las abejas se mantuvieron frente a la inflorescencia mientras se observó que depositaron la sustancia colectada en las tibias posteriores. En cuestión de segundos las abejas retomaron el forrajeo, ya sea en la misma flor o en otra flor de la misma planta. Por lo general transcurrieron varias visitas en distintas flores de una misma planta y se repitió el mismo patrón de forrajeo en cada flor. Se observó que la mayoría de las flores visitadas perdieron con rapidez los polinios con tan sólo una visita del polinizador al interior de la flor. Las visitas del polinizador se llevaron a cabo entre las 8:00 y 11:00 hrs. El resto de los visitantes florales únicamente se posaron por segundos, ya sea usando a las flores como sitio de reposo o como parte de la búsqueda de alimento. Sin embargo, el tamaño corporal de una gran mayoría de visitantes florales fue muy pequeño, por lo que en algunos casos no fue posible el contacto con los polinarios.



**Figura 10.** Visita de los posibles polinizadores en *Clowesia dodsoniana*: *Eufriesea* sp. (A-E) y *Euglossa* sp. (F).

### *Cyrtopodium macrobulbon*

El polinizador se desconoce para esta especie. La mayoría de los visitantes florales identificados estuvieron representados por las abejas *Trigona fulviventris*, *Trigona nigra* y *Trigonisca mixteca*. Fue muy evidente que en todas las visitas realizadas por las abejas antes mencionadas, hubo el mismo patrón de búsqueda de recursos. En ocasiones, estas abejas llegaron al pedicelo de las flores y comenzaron por rodear a la flor hasta adentrarse en ella, pasando en su recorrido por los pétalos, sépalos y finalmente labelo y columna de la flor. En otros casos las abejas llegaron directamente al labelo de la flor y caminaron por el interior de éste. Sin embargo, el tamaño corporal de las abejas que visitaron a *C. macrobulbon* es muy pequeño, por lo que en ninguna ocasión lograron llevarse el polen, a pesar de que hubo contacto directo con la columna y los polinarios. También se observó la afinidad de algunas abejas por posarse primero en los botones florales de las plantas de esta especie.