

**“Fenología reproductiva y efecto del robo de néctar en el éxito reproductivo de *Guettarda clarensis*, en Santa Clara, Villa Clara, Cuba”**

**Tesis de Diploma**

**Autora: Lillian Martínez Pérez**

**2013**



**Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas  
Facultad de Ciencias Agropecuarias**

**Tesis de Diploma**

**"Fenología reproductiva y efecto del robo de néctar en el éxito reproductivo de *Guettarda clarensis*, en Santa Clara, Villa Clara, Cuba"**

**Autora: Lillian Martínez Pérez  
Tutor: MSc. Michel Faife Cabrera**

**Santa Clara**

**2013**

A mis padres...

## Agradezco a...

... mi familia por su amor, su apoyo y su confianza.

... Pepe por quererme y ayudarme siempre.

... mi tutor por aconsejarme y enseñarme... incluso por halarme las orejas.

... María, por ser mi amiga y tolerarme todo el tiempo, dentro y fuera del cuabal.

... Edgardo y Alejandro por ser mis compañeros de campo y mis cotutores.

... mis amigos por apoyarme, algunos sin comprender siquiera que me gusten las "maticas".

... Claudia y Leticia que también cuabalearon conmigo.

... trabajadores del Jardín Botánico de Villa Clara que me acogieron como si fuera una más.

... trabajadores de la Facultad de Ciencias Agropecuarias que me formaron como profesional.

... Instituto Provincial de Meteorología de Villa Clara.

... y a todos los demás que de una forma u otra hicieron posible este trabajo...

GRACIAS

## Resumen

El robo de néctar ocurre cuando algunos visitantes florales, no pueden acceder al néctar legítimamente y perforan la corola para obtenerlo. Puede tener efectos positivos, negativos o neutros con implicaciones ecológicas y evolutivas para las especies que lo sufren. *Guettarda clarensis* Britt. (Rubiaceae) es una especie endémica de las serpentinitas de la antigua provincia de Las Villas, en la que se han detectado evidencias de robo de néctar. Si el robo de néctar afectara la evolución de determinados caracteres florales, la producción de néctar y la ecología de la polinización de dicha especie, podría influir en su éxito reproductivo y, por tanto, en su conservación. Como objetivo principal nos propusimos caracterizar la fenología reproductiva y el efecto del robo de néctar en el éxito reproductivo de la especie. Para ello se calcularon parámetros fenológicos como sincronía y duración de la floración, a partir de censos semanales a 74 plantas; se realizaron mediciones morfométricas a flores de dos poblaciones y se evaluó la producción de néctar en distintos horarios del día. También se caracterizó el sistema reproductivo mediante seis tratamientos de polinización, se realizaron observaciones de visitantes florales y se evaluó comparativamente la producción de frutos a partir de flores con y sin evidencias de robo. Se determinó un alto índice de sincronía floral, lo que pudiera aumentar la atracción de los robadores por las flores. Además, existen diferencias en cuanto a diámetro, apertura y longitud de corola, entre flores con y sin robo de néctar, lo que corrobora resultados anteriores de selección de corolas grandes por parte de los robadores. Las producciones de néctar fueron bajas, y frecuentes entre el momento de la anthesis floral y las 0730 h, lo que ratifica a los polinizadores nocturnos para esta especie. El sistema reproductivo de la misma resultó ser autoincompatible, como se manifiesta en otras especies heterostilas. Se concluyó que: durante la corta floración de *G. clarensis*, los robadores seleccionan corolas más largas, anchas y de mayor recompensa, e influyen negativamente en la fructificación, por lo que podrían afectar la evolución de los caracteres florales de la especie.

## **Abstract**

Nectar robbing occurs when some floral visitors, unable to access the nectar legitimately, perforate the corolla to obtain it. It can have positive, negative or neutral effects with ecological and evolutionary implications for the species that suffer it. *Guettarda clarensis* Britt. (Rubiaceae) is an endemic species of the serpentine of the ancient province of Las Villas, in which nectar robbing has been detected. If this phenomenon could affect the evolution of determined floral characters, the production of nectar and the ecology of the pollination of said species, it could influence its reproductive success and, therefore, its conservation. Like main objective we intended to characterize the reproductive phenology and the effect of nectar robbing in the reproductive success of the species. For it, phenological parameters such as synchrony and duration of flowering were calculated from weekly censuses to 74 plants; morphometric measurements to flowers from two populations were carried out and the production of nectar at different hours of the day was evaluated. Also, the reproductive system was characterized through six pollination treatments, observations of floral visitors were carried out and the production of fruits from flowers with and without evidences of robbing was evaluated. It was found a high index of floral synchrony, what could mean an increase of the attraction of the robbers for the flowers. There were differences in diameter, opening and length of corolla, between flowers with and without nectar robbing. That corroborates previous results, from other authors, of selection of big corollas by robbers. The nectar productions were low, and frequent between the moment of floral anthesis and 0730 h; that ratifies nighttime pollinators for this species. Its reproductive system turned out to be self-incompatible, as it is shown at other heterostylous species. It was concluded that: during the short flowering of *G clarensis*, nectar robbers select longer, broad and bigger-reward corollas, and influence negatively the fructification, which is why they could affect the evolution of the floral characters of the species.

## Contenido

<b>1 Introducción</b> .....	5
<b>2 Revisión bibliográfica</b> .....	7
2.1 Fenología reproductiva.....	7
2.1.2 Sincronía.....	7
2.1.3 Condiciones ambientales y desarrollo de fenofases .....	8
2.2 Biología floral.....	9
2.2.1 Características morfológicas y funcionales de flores .....	10
2.2.2 Características del néctar .....	14
2.3 Sistemas reproductivos .....	15
2.3.1 Tipos de cruzamientos.....	16
2.3.2 Autocompatibilidad vs. autoincompatibilidad: ventajas y desventajas .....	16
2.4 Ecología de la polinización .....	17
2.4.1 Visitantes legítimos e ilegítimos .....	17
2.4.3 Tasas de visitas y conducta de polinizadores.....	18
2.5 Robo de néctar.....	19
2.5.1 Características de las flores que son robadas.....	20
2.5.2 Adaptaciones de los robadores de néctar.....	20
2.5.3 Implicaciones del robo de néctar .....	21
<b>3 Materiales y métodos</b> .....	24
3.0 Generalidades .....	24
3.0.1 Especie estudiada.....	24
3.0.2 Áreas de estudio.....	24
3.1 Fenología reproductiva.....	24
3.2 Biología floral.....	25
3.2.1 Producción de néctar .....	26
3.3 Sistema reproductivo.....	27
3.4 Ecología de la polinización .....	28
3.5 Robo de néctar .....	28
<b>4 Resultados</b> .....	30
4.1 Fenología reproductiva.....	30

4.2 Biología floral.....	33
4.2.1 Producción de néctar .....	36
4.3 Sistema reproductivo.....	38
4.4 Ecología de la polinización .....	39
4.5 Robo de néctar .....	41
<b>5 Discusión .....</b>	<b>42</b>
<b>6 Conclusiones.....</b>	<b>48</b>
<b>7 Recomendaciones.....</b>	<b>49</b>
<b>8 Bibliografía.....</b>	<b>50</b>

## 1 Introducción

El robo de néctar ocurre cuando algunos visitantes florales, incapaces de acceder al néctar a través de la abertura de la corola, realizan una perforación en la base de la misma y toman esta recompensa floral (Inouye, 1983). Aunque es un fenómeno común en varias especies de plantas y en varios lugares del mundo, solo hace algunos años que ha comenzado a estudiarse con profundidad (Inouye, 1983; Maloof e Inouye, 2000; González-Gómez y Valdivia, 2005; Navarro y Medel, 2009). El robo de néctar puede tener efectos negativos, positivos o neutros (Maloof e Inouye, 2000), con posibles implicaciones evolutivas y ecológicas para las especies de plantas que lo sufren. Algunos autores han detectado que los robadores pueden afectar negativamente el éxito reproductivo de las plantas de forma directa, al dañar las estructuras florales (Navarro y Medel, 2009), o indirecta, al influenciar la disponibilidad de néctar, alterando los patrones de comportamiento de los polinizadores (González-Gómez y Valdivia, 2005). De igual forma se han encontrado evidencias de robadores que favorecen la polinización mientras efectúan el robo (Navarro, 2000), aumentando el éxito reproductivo de las especies en cuestión.

El robo de néctar puede afectar la floración de algunas especies (Irwin y Maloof, 2002). De la misma manera, el nivel en que se solapa la floración entre los individuos de una población puede atraer con mayor o menor intensidad a los robadores. De ahí que para estudiar este fenómeno sea necesario conocer la fenología reproductiva de la especie que se trabaja. Además, los robadores pueden actuar como agentes de selección de caracteres florales (Navarro y Medel, 2009), por lo que es precisa también, la vinculación del robo de néctar con la biología floral.

Aunque actualmente, en el mundo, se ha publicado un gran número de trabajos sobre el robo de néctar, en Cuba prácticamente no se ha estudiado el tema. Nuestra flora cuenta con varias especies afectadas por este fenómeno, algunas de ellas endémicas. Sin embargo, poco o nada se conoce sobre el efecto del robo en el éxito reproductivo de las mismas. *Guettarda clarensis* es una de esas especies. Si el robo de néctar afectara la evolución de determinados caracteres florales, la producción de néctar y la ecología de la polinización de dicha especie, podría influir en su éxito reproductivo y, por tanto, en su conservación.

Es por ello que este trabajo se propone, como objetivos caracterizar la fenología reproductiva de *Guettarda clarensis*, teniendo en cuenta las fenofases, la biología floral, el sistema reproductivo y los visitantes florales, y determinar el posible efecto de los robadores de néctar de *Guettarda clarensis* en la selección de caracteres florales y en la fructificación.

## **2 Revisión bibliográfica**

### **2.1 Fenología reproductiva**

Según Font Quer (1968) la fenología abarca el estudio de los fenómenos biológicos acomodados a cierto ritmo periódico. La fenología reproductiva es una de las definiciones que derivan de este concepto y se refiere a los eventos de floración y fructificación que suceden en las plantas, y a las variables que caracterizan e influyen en cada fase de dichos procesos: botón, flor, fruto inmaduro y fruto maduro.

La fenología de las plantas generalmente tiene un gran impacto en las poblaciones animales al causar cambios temporales en la disponibilidad de recursos. A su vez, los sucesos fenológicos pueden ser afectados por factores bióticos mediante la competencia, herbivoría, polinización, y dispersión de semillas, en adición a diferentes variables climáticas (Sakai *et al.*, 1999).

La fenología reproductiva es un importante rasgo de la historia de vida que influencia el éxito de las plantas en varias formas. Reproducirse en el momento incorrecto puede traer graves consecuencias para las plantas. Por ejemplo, puede llevar al fracaso en aparearse y en hacer coincidentes las demandas de crecimiento de los descendientes con los picos de recursos alimenticios, (Visser *et al.*, 1998). Además, puede ocasionar el fracaso por un polinizador de encontrar polen y néctar, o de una flor para ser polinizada (Inouye, 2008).

Los estudios de fenología reproductiva evalúan varios parámetros, dentro de los que se incluyen: apertura de la primera y la última flor; duración y pico de floración; y grado de sincronía (McIntosh, 2002). Estas variables se determinan a nivel de individuo, población o comunidad, y también se pueden aplicar a la fructificación. Entre estos parámetros, el grado de sincronía juega un papel fundamental en la caracterización de las fenofases.

#### **2.1.2 Sincronía**

El grado de sincronía, de floración o fructificación de una planta, es un valor que caracteriza la correspondencia entre el período de floración o fructificación de esta con el de todas las demás plantas de la población (McIntosh, 2002).

Un alto índice de sincronía puede tener diversos efectos, tanto positivos como negativos:

1. Con el objetivo final de producir semillas, las plantas polinizadas por animales deben florecer sincrónicamente en orden de causar una mayor atracción a sus polinizadores (Collin y Shykoff, 2010).
2. En el caso de las plantas dioicas, también existen mayores posibilidades de que ocurra la fecundación, cuando florecen sincrónicamente con otras de su misma especie y de sexo opuesto (Collin y Shykoff, 2010).
3. Puede realzar la visibilidad de las plantas por sus antagonistas, tales como herbívoros (Adler y Bronstein, 2004), robadores de néctar (Galen, 1999a; Irwin y Brody, 1999), predadores de semillas (Brody y Mitchell 1997; Fenner *et al.*, 2002); o puede incrementar el riesgo de recibir esporas de hongos patógenos transportados por visitantes florales (Shykoff *et al.*, 1997).
4. Puede conducir a la competencia intraespecífica entre las plantas, si los polinizadores por alguna razón se vuelven escasos.

Así, los individuos pueden evitar sus enemigos floreciendo antes o después que otras plantas. Sin embargo, esto no es posible si los polinizadores también son antagonistas, como el caso de *Hadena compta* que es el polinizador de *Dianthus sylvestris*, y a la vez sus larvas se alimentan de las semillas de dicha planta (Collin y Shykoff, 2010).

Dada la gran influencia del ambiente en la fenología reproductiva, no resulta sorprendente que en muchos casos esta haya evolucionado en referencia a cuestiones medioambientales (Inouye, 2008).

### **2.1.3 Condiciones ambientales y desarrollo de fenofases**

Algunos estudios reflejan la evolución de la fenología reproductiva respecto a las condiciones medioambientales. Por ejemplo, Hegland *et al.* (2009) argumentan que la apertura de la primera flor en las plantas y los datos de aparición de los primeros polinizadores, en varios casos parecen avanzar de forma lineal en respuesta a aumentos de temperatura. Kudo *et al.* (2004) reportaron que la llegada temprana de una primavera en Hokkaido, Japón, deprimió la producción de semillas en dos especies polinizadas por abejas pero no en dos especies polinizadas por moscas.

Thomson (2010) concluye un artículo sobre *Erythronium grandiflorum* diciendo que los patrones espacio-temporales del derretimiento de nieve y el tiempo de floración

afectan el éxito en la fructificación de esta especie en el oeste de Colorado, EE.UU. Explica que la fecha de apertura de la primera flor está determinada por el derretimiento de nieve, y la duración de este proceso varía, en los años del estudio, según la acumulación de nieve que ocurra en invierno, que cada vez es mayor debido a los cambios climáticos que afronta el planeta, y por tanto retrasa más la floración. Además, expresa que la producción de frutos disminuye o es completamente impedida por heladas.

Cascante-Marín *et al.* (2005), en Costa Rica, determinaron que la floración de *Werauhia gladioliflora* ocurre al final de la época de lluvias (entre octubre y diciembre) y coincide con el segundo mayor pico de lluvia durante el año, en el sitio de estudio.

En el 2003, en Belo Horizonte, Brasil, Espírito-Santo *et al.* observaron que las tasas de crecimiento de *Baccharis dracunculifolia* disminuyeron junto con la ocurrencia de precipitaciones. Dichas tasas empezaron a declinar a finales de marzo, coincidiendo con el final de la época de lluvias, y casi alcanzaron el valor 0 al principio de la época de seca (junio a julio).

Según Wright *et al.* (1999) un cierto nivel umbral de sequía puede disparar la floración en algunas especies de plantas. Este hecho fue corroborado por Herrerías-Diego *et al.* (2006), con la especie *Ceiba aesculifolia*. Las poblaciones fragmentadas de esta especie, en Chamela, México, experimentan condiciones muy secas del suelo y altas temperaturas y esto hace que florezcan antes que las poblaciones no fragmentadas.

En cualquier caso se observa que los factores ambientales afectan, directa o indirectamente, el desarrollo de las fenofases reproductivas, y dentro de ellas, la floración.

## **2.2 Biología floral**

La flor constituye una pieza importante en las estrategias reproductivas de muchas plantas. En las angiospermas ha evolucionado como un elaborado mecanismo útil en la polinización (Howe y Westley, 1988).

La polinización está definida como el traspaso de polen desde una antera de una flor, hasta el estigma de la misma u otra flor (Faegri y van der Pijl, 1966; Howe y Westley, 1988), y es mediada por agentes bióticos como animales, o abióticos como el agua y

el viento. Dicho proceso constituye un paso crítico en la reproducción sexual de las angiospermas, al posibilitar el intercambio de información genética entre diferentes individuos de la especie, confiriendo a las plantas una mayor capacidad de adaptación y diversificación (Rojas-Nossa, 2007).

No es de extrañar entonces que, con el fin de que ocurra la polinización, se hayan desarrollado en las flores diferentes mecanismos que faciliten este proceso. Por ejemplo, las corolas pueden tener diversas formas, colores y olores que funcionan como atractivos de determinados visitantes florales, los cuales, además buscan recompensas como el néctar y el polen, y al entrar en contacto con las estructuras reproductivas de la flor, realizan la polinización.

### **2.2.1 Características morfológicas y funcionales de flores**

Entre las principales características morfológicas de las flores, se encuentran: a) presentación floral, b) tamaño y color de las flores, y c) simetría floral: corola actinomorfa/zigomorfa.

La presentación floral se define como el número diario de flores abiertas en una planta, y su tamaño varía ampliamente entre las especies. Por ejemplo, algunas especies producen una gran cantidad de flores durante un breve período de tiempo, mientras que en otras el período de floración es más largo, pero el número de flores es menor (Ohashi y Yahara, 2001).

Numerosos estudios reportan que la variación en el tamaño de la presentación floral produce alteraciones en el comportamiento de los polinizadores (Ohashi y Yahara, 2001; Ohashi y Yahara, 2002; Brunet y Eckert, 1998; Biernaskie y Cartar, 2004). En primer lugar, las presentaciones florales grandes atraen más polinizadores por unidad de tiempo (Ohashi y Yahara, 1998; Galloway *et al.*, 2002), lo que promueve la polinización cruzada en términos de recepción y remoción de polen incrementados (Harder y Barrett, 1996). En segundo lugar, a medida que se incrementa el tamaño de la presentación floral, aumenta el número de flores por planta que visitan los polinizadores (Ohashi y Yahara, 1998), lo cual incrementa la autopolinización entre flores de la misma planta (geitonogamia) (de Jong *et al.*, 1993), y por tanto, la posible depresión por endogamia en especies autocompatibles (Darwin, 1900; Charlesworth y Charlesworth, 1987) o la pérdida de polen y la obstrucción del estigma en las

autoincompatibles (Robertson y Macnair, 1995). Así, la variación en el tamaño de la presentación floral puede guiar a una diferencia sustancial en la dispersión de polen, y en el éxito reproductivo de la planta.

Otro rasgo morfológico importante es el tamaño de la flor. Los polinizadores generalmente prefieren flores más grandes, pero esto representa un mayor costo para la planta en algunos ambientes (Galen, 2000). El desarrollo de la flor requiere considerable cantidad de agua porque la mayoría de los cambios en el tamaño de los pétalos, desde el botón hasta la flor abierta, involucran expansión celular hidráulica (Galen, 1999b; 2000). En *Polemoniun viscosum*, la cantidad de agua que toman los botones es responsable del 66% de la variación en el tamaño del pétalo; en ese caso, la atracción al polinizador y la tolerancia a la sequía son extremos opuestos, ya que el uso del agua en el desarrollo de flores compromete los niveles de fotosíntesis en condiciones de sequía (Galen, 2000). *Rosmarinus officinalis* tiene similar patrón a través de un rango elevacional; flores pequeñas en los ambientes estresantes de costa seca de las regiones mediterráneas y flores grandes en el suelo húmedo de las regiones montañosas. En este caso, los polinizadores prefieren las flores grandes pero se favorecen las pequeñas por el compromiso recurso-costo en el ambiente árido de la costa (Herrera, 2005). Se han publicado algunos artículos que demuestran la relación existente entre la variación de tamaño de las flores y las características de los polinizadores de las mismas. Por ejemplo, Boyd (2004), realizó un estudio sobre la variación latitudinal del tamaño de las flores de *Macromeria viridiflora*, entre el sur de Chihuahua y el norte de las montañas de Sangre de Cristo de Nuevo México, llegando a la conclusión de que la variación geográfica en el tamaño de las corolas (más cortas al norte y más largas al sur) se corresponde con la variación geográfica en el tamaño del pico de los colibríes que polinizan dichas flores. En las distintas especies de plantas, se relacionan con las características del polinizador: el tamaño de la flor y el color de las mismas.

De manera general, los colores de las flores en el rango rosado-rojo-violeta-azul se deben a antocianinas, y amarillo-rojo-púrpura a carotenoides o flavonoides (Faegri y van der Pijl, 1966). El color blanco a veces se produce por la ausencia de pigmentos, siendo el resultado de la reflexión y refracción en numerosas superficies de células, y

en particular las superficies entre las células y los espacios de aire dentro del tejido (Proctor *et al.*, 1996). Cada color atrae a un grupo determinado de polinizadores, así por ejemplo: el carmelita atrae avispas y moscas; el gris, murciélagos, moscas y polillas; el blanco o blancuzco, murciélagos, escarabajos, abejas, polillas y mariposas; el amarillo, abejas y aves; el azul y el violeta, abejas, mariposas y aves; el rojo, mariposas y aves; y el verde solo aves (Faegri y van der Pijl, 1966). En cuanto a los contrastes, Faegri y van der Pijl (1966), plantean que los insectos nocturnos reaccionan más fuertemente ante el contraste entre la flor y el fondo, mientras que los diurnos reaccionan al contraste dentro de la flor. Un tipo importante de contraste dentro de la flor son las guías de néctar, las cuales no son más que manchas o líneas de tintes brillantes distribuidos en ciertos lugares de la flor, que invariablemente llevan a los nectarios (Henslow, 1888).

También se han documentado cambios en el color de las corolas y la significación ecológica de dichos cambios. Kevan (1983) y Weiss (1991) notaron que muchos animales visitantes modifican su comportamiento en respuesta a colores florales alterados, lo cual reporta potenciales beneficios para la planta y el visitante. El cambio de color generalmente coincide con un cambio en la recompensa floral, y por tanto actúa como una señal visual para que los visitantes potenciales forrajeen preferencialmente en la fase coloreada y de recompensa (Gori, 1983). Por ejemplo, en un estudio de *Alkanna orientalis*, en Sinai, Egipto, se determinó que sus flores amarillo brillante contienen el doble del néctar que tienen las flores intermedias y cuatro veces la cantidad del que tienen las amarillo pálido, y los resultados del trabajo sugieren que las abejas que visitan la especie aprenden a asociar el color con el nivel de recompensa (Nuttman *et al.*, 2006). Si el cambio de color además se corresponde con el estatus reproductivo, puede influenciar el éxito reproductivo de la planta (Weiss, 1995). El hecho de que el color de la flor se altere en algún estado de la vía de germinación/fertilización del polen (por ejemplo interacción polen/estigma, crecimiento del tubo polínico, penetración del óvulo por el tubo polínico) puede beneficiar la planta al hacer que los visitantes se alejen de las flores que ya recibieron suficientes granos de polen para la fertilización. De esta forma, solo las flores que no han cambiado de color reciben visitas, y en las que ya han cambiado no

se pierden los granos de polen que están en el estigma y no sufren daños los tubos polínicos que están creciendo (Gori, 1983).

La simetría floral también posee un papel determinante en las relaciones entre los polinizadores y las flores que polinizan. Las flores que han logrado adoptar la forma más similar a sus polinizadores, son las que han adquirido la simetría bilateral. En estas flores (zigomórficas) generalmente se encuentra un prominente labio más bajo con la función de sostener a los insectos polinizadores en el momento en que se posan. En una flor con simetría radial un insecto puede adoptar cualquier posición en relación con el eje de la flor. En una flor zigomórfica, los insectos tienden a adoptar una única posición, y es esta la que permite una adaptación más precisa de la flor a polinizadores particulares, determinando que en la flor, los estambres y el estilo estén en posición estenotribica, cuando hacen contacto con la porción ventral del visitante, o nototribica cuando el polen es transferido en la parte dorsal del visitante. En contraste con las flores actinomórficas, las zigomórficas usualmente están en posición más o menos horizontal y su orientación en la planta varía poco, (Proctor *et al.*, 1996).

En la biología floral también influyen determinadas características funcionales como: a) duración floral, b) dicogamia/hercogamia y c) producción de néctar.

En el caso de la duración floral, puede haber un incremento de la misma para asegurar la fecundación en situaciones de limitación de polinizadores. Las longevidades altas, además, suponen un costo directo e indirecto de mantenimiento de las flores. El costo directo por mantener flores funcionalmente reproductivamente incluye recursos invertidos en la producción de néctar y polen, y el mantenimiento de la respiración y la transpiración por las estructuras florales. El costo indirecto resulta del desvío de los recursos de otras funciones reproductivas o vegetativas, lo cual puede reducir la producción de flores y semillas (Schoen y Ashman, 1995). Ashman y Schoen (1997) encontraron que flores de *Clarkia tembloriensis*, mantenidas experimentalmente, invirtieron más en la producción de azúcares en el néctar (30%) y mostraron reducción de 12% en la producción de semillas, lo que puede interpretarse como el costo del mantenimiento de las flores. Un patrón similar entre la

longevidad floral y la producción de semillas se encontró en *Calochortus leichtlinii* (Holtsford, 1985).

Las plantas con flores son predominantemente hermafroditas, con la mayoría de las especies produciendo flores que contienen órganos sexuales masculinos (estambres) y femeninos (pistilo). Estas estructuras pueden estar separadas espacialmente (hercogamia) (Barrett, 2002); o funcionar en tiempos diferentes (dicogamia) (Faegri y van der Pijl, 1966), reduciendo la probabilidad de autopolinización. La dicogamia, unida a la duración floral y su influencia en situaciones de limitación de polinizadores, funciona como un mecanismo de seguro reproductivo.

La heterostilia es uno de los tipos de hercogamia, y se refiere a las diferencias de longitud de estambres y estilos, en una misma especie (Darwin, 1897). En las poblaciones de especies con heterostilia se observan dos (distilia) o tres (tristilia) morfos florales; por lo que se pueden encontrar flores con el estilo largo y los estambres cortos (flores longistilas), y flores con el estilo corto y los estambres largos (flores brevistilas), en el caso de las especies distilas (Barrett, 2002). Este polimorfismo facilita la fertilización cruzada, ya que el polinizador que visita alternativamente flores de distintos morfos, recibe polen de un tipo, en la misma posición que se pondrá en contacto con el estigma del otro tipo floral (Berovides y Alfonso, 1995).

Otra de las características funcionales de las flores es la producción de néctar. Una buena producción puede favorecer la atracción de visitantes y, en consecuencia, el éxito reproductivo de la planta.

### **2.2.2 Características del néctar**

El néctar es una solución acuosa más o menos concentrada de azúcares, aminoácidos, iones minerales y sustancias aromáticas. Es utilizado por las flores, como atrayente y recompensa, para los animales que realizan la polinización (Petanidou, 2007). El néctar es producido por glándulas diferenciadas en la base de los estambres o de los pétalos, llamadas nectarios, depositándose en muchos casos en bolsas o espolones de la base de la corola (Bernardello, 2007). Esa localización obliga a los agentes polinizadores a rozarse primero con los estambres, donde se cargan de polen, y luego con los estigmas de segundas flores, donde algunos granos

pueden quedar depositados. El néctar floral es el alimento energético de varios grupos de animales, como los colibríes, las mariposas diurnas y nocturnas, las abejas, moscas, y es la materia prima más importante para la producción de la miel por la abeja melífera y por otras especies de himenópteros sociales (Nicolson, 2007).

### **2.3 Sistemas reproductivos**

Según Bacchetta *et al.* (2008) el sistema reproductivo de las plantas comprende las estructuras reproductivas y los procesos que afectan a la fecundidad y a la composición genética de la descendencia. De forma general, las plantas pueden reproducirse sexual o asexualmente, pero solo en el primer caso se incorpora variabilidad genética en la descendencia (Grant, 1989). En dicho tipo de reproducción se pueden producir semillas por *autogamia*, a partir de la fertilización de los óvulos con polen de la propia flor; *alogamia*, a partir de la fertilización de los óvulos con polen de otra flor de la misma (*geitonogamia*) o de diferente planta (*xenogamia*); o por una mezcla de autogamia y alogamia (Bacchetta *et al.*, 2008).

La alogamia, frecuentemente, acontece asociada a fenómenos como la dioecia (sexos separados en distintos pies), la hercogamia, la dicogamia, o el sistema de auto-incompatibilidad (Lloyd y Webb, 1986; Webb y Lloyd, 1986). La ausencia de dichos fenómenos facilita la autogamia en las plantas de flores hermafroditas (Runions y Geber, 2000).

Según Bacchetta *et al.* (2008) las diferencias entre las plantas, en el sistema reproductivo, se relacionan con otras características reproductivas y ecológicas. Las plantas autógamias tienen flores más pequeñas y producen menor cantidad de polen que las flores de plantas alógamas con las que están emparentadas (Runions y Geber, 2000; Elle y Carney, 2003). Además, las plantas autógamias suelen ser colonizadoras de hábitats degradados o propias de los primeros estados sucesionales de la vegetación, mientras que las alógamas son características de estados sucesionales más tardíos (Cruden, 1977).

Existen diferentes técnicas que permiten evaluar la estrategia reproductiva de una planta, entre ellas están los marcadores moleculares (Oja, 2005; Pastorino y Gallo, 2006), el cálculo del cociente polen-óvulo (Cruden, 1977) y los cruzamientos experimentales (Bacchetta *et al.*, 2008).

### **2.3.1 Tipos de cruzamientos**

Bacchetta *et al.* (2008), describen seis tipos de cruzamientos experimentales:

(1) agamospermia, para evaluar la capacidad de reproducción asexual; (2) auto-polinización autónoma, para evaluar la capacidad de producción de frutos y semillas sin que medien agentes externos; (3) auto-polinización, para la determinación de auto-incompatibilidad; (4) geitono-polinización, para la determinación de auto-incompatibilidad; (5) polinización manual, para evaluar la capacidad de producción de frutos y semillas cuando median agentes externos; (6) control, para evaluar la capacidad de producción de frutos y semillas bajo condiciones naturales.

El sistema reproductivo de la planta se evalúa en relación con el éxito reproductivo obtenido en cada ensayo de polinización, en función de la cantidad y calidad de los frutos y semillas producidos (Bacchetta *et al.*, 2008).

El tipo de sistema reproductivo puede describirse a través del cálculo del índice de autopolinización automática (IAS) y del índice de auto-incompatibilidad (ISI), cuyos valores por encima de 0,2 indican capacidad de auto-polinización autónoma y auto-compatibilidad, respectivamente (Ruiz-Zapata y Arroyo, 1978; Jaimes y Ramírez, 1999).

### **2.3.2 Autocompatibilidad vs. autoincompatibilidad: ventajas y desventajas**

El sistema de auto-incompatibilidad representa la incapacidad de una planta fértil de producir cigotos después de ser polinizada con polen propio (Bacchetta *et al.*, 2008), de lo cual se deduce que autocompatibilidad es todo lo contrario.

La ocurrencia de un sistema de autoincompatibilidad promueve el entrecruzamiento y previene la depresión por endogamia (Silva y Goring, 2001) mientras que la autocompatibilidad favorece la autofertilización.

La inmensa mayoría de las plantas con flores son hermafroditas simultáneas (Igic y Kohn, 2006) y, a pesar de las ventajas de la autofertilización (Darwin, 1900; Schoen y Busch, 2008), la mayoría de las angiospermas posee algún mecanismo que la reduce o previene grandemente, debido quizás a un mayor por ciento de desventajas de este mecanismo respecto a la fertilización cruzada (Darwin, 1900). Estimados actuales indican que el entrecruzamiento es forzado por la autoincompatibilidad o

dioecia en aproximadamente la mitad de todas las especies de angiospermas (Ilgic y Kohn, 2006).

Aun así, en algunas ocasiones, la autocompatibilidad juega un papel fundamental: plantas que florecen en fajas climáticas o períodos del año en que las condiciones del tiempo no favorecen a sus polinizadores, porque restringen su actividad, y de esta forma afectan la transferencia de polen, pueden optar por la autocompatibilidad para sobrevivir (Aizen, 2005).

La distilia, y más específicamente la hercogamia recíproca, está muy correlacionada con sistemas de incompatibilidad entre morfos y en una misma planta, lo que influencia el flujo de polen en poblaciones naturales (Ganders, 1979; Lloyd y Webb, 1992).

## **2.4 Ecología de la polinización**

Como se ha mencionado anteriormente, la polinización puede ocurrir por la acción directa o indirecta de animales que son atraídos por recompensas que producen las flores. Estos animales forman grupos morfológica y/o etológicamente similares, por lo que tienden a buscar sus alimentos en la misma forma, y cuando se trata de flores, estas tienen características semejantes. Debido a esto se habla de patrones de correspondencia morfológica, más o menos específicos, entre las flores y sus polinizadores, que son los llamados síndromes de polinización (Faegri y van der Pijl, 1966). Las recompensas que producen las flores atraen un amplio rango de visitantes florales, y no solo a los polinizadores.

### **2.4.1 Visitantes legítimos e ilegítimos**

Existen dos tipos principales de visitantes florales: legítimos e ilegítimos. Los organismos que visitan las flores “legítimamente” son aquellos que toman el néctar introduciendo su cuerpo (o parte de él) a través de la apertura distal de la flor, en la forma para la cual tanto flores como polinizadores parecen adaptados (Rojas-Nossa, 2007); mientras que los visitantes ilegítimos toman el néctar sin tocar las estructuras reproductivas de la flor, ya sea por robo o hurto del mismo. Uno u otro mecanismo puede tener distintas implicaciones que se analizarán más adelante.

La mayoría de los visitantes florales son insectos, pero también actúan como tal algunas aves, reptiles y mamíferos (Kearns *et al.*, 1998). Todos estos animales realizan las visitas en dependencia de sus hábitos de vida nocturnos o diurnos.

#### **2.4.3 Tasas de visitas y conducta de polinizadores**

Uno de los criterios que se utiliza para distinguir a los polinizadores de otros visitantes florales, según Ramírez (2004), es la abundancia relativa de cada especie visitante, lo cual se puede determinar por el número de visitas por unidad de tiempo. Esto es lo que se denomina tasas de visita (Kearns e Inouye, 1993). Dichas tasas pueden medirse desde la perspectiva de las flores o del visitante floral. Desde el punto de vista del visitante floral, estas tasas se determinan mediante tres variables: (1) el tiempo que demoran en visitar una sola flor; (2) el patrón espacial de las flores; y (3) el tiempo de viaje del visitante, entre las flores y dentro de las inflorescencias. Aunque las tasas de visitas pueden determinarse a través de métodos directos e indirectos, en la mayoría de los casos predomina la observación directa como única posibilidad (Kearns e Inouye, 1993).

Usando el criterio antes mencionado de Ramírez (2004), cada especie de planta puede asociarse con una o más clases de agentes polinizadores. El sistema de polinización se considera generalista cuando la polinización es realizada por diferentes grupos taxonómicos (moscas, abejas, avispas, mariposas), y especialista cuando la realiza un solo género o varios géneros de una misma familia (Ramírez y Navarro, 2010).

Para caracterizar el comportamiento de los polinizadores en una determinada población de plantas, se utilizan los parámetros: número de visitantes que llegan a las flores, número y secuencia de visitas a cada flor (en distinto estado de longevidad), y tiempo medio de visita (Petanidou *et al.*, 1995). Existen distintas estrategias de forrajeo en los diferentes grupos de polinizadores. Estos generalmente buscan en las flores: néctar, polen o aceites, y acceden a ellos de distintas formas. Así por ejemplo, la mayoría de las especies entran el cuerpo completo o parte de este a la flor para coleccionar el néctar, mientras que otras toman polen de las anteras más sobresalientes, o de una flor en determinada posición en una inflorescencia (Wolfe y Barrett, 1987).

La abundancia o distribución espacial de plantas y flores puede influir la conducta de los polinizadores. El grado de aislamiento de los individuos en una población puede afectar el éxito reproductivo de las plantas al incidir sobre la tasa de visitas de polinizadores a una flor, debido a que las flores de plantas vecinas (vecindario floral) pueden entorpecer el trayecto de un polinizador. Comparada con una flor aislada, una vecindad de plantas de la misma especie podría aumentar la tasa de visitas por flor por estar inmersa en un parche floral más llamativo, pero también disminuirla debido a un efecto de dilución. En cambio, en vecindarios florales con distintas especies se espera que el factor de competencia interespecífica por polinizadores disminuya las tasas de visita por flor (Feinsinger *et al.*, 1986).

## **2.5 Robo de néctar**

En flores que poseen el tubo de la corola largo, el néctar está inaccesible para algunos animales. Estos obtienen dicha recompensa realizando una perforación en la base del tubo de la corola; este comportamiento es conocido como robo de néctar (Inouye, 1983). Se evidencia al encontrar los orificios o ranuras en la base de la corola.

Existen muchas razones por las que los animales roban el néctar. Las abejas algunas veces roban flores de las que no pueden extraer el néctar porque presentan características como corolas profundas y estrechas. También roban flores que sí pueden polinizar legítimamente, tal vez porque abrir los agujeros requiere menos esfuerzo o provee de una mayor recompensa de néctar que realizar las visitas legítimas (Dedey y Delaplane, 2004). Todavía se desconocen los factores que llevan a las abejas a robar pero la evidencia disponible sugiere que los buscadores aprenden la técnica a través de pruebas y errores: inicialmente perforan flores al azar, y después aprenden a crear los agujeros en localizaciones desde donde puedan acceder al néctar (Olesen, 1996).

Entre los robadores de néctar se encuentran insectos, como algunos coleópteros, abejas y abejorros, que poseen cuerpos anchos y fuertes piezas bucales para realizar la incisión a la flor; y aves con lenguas pelosas, picos ganchudos y capaces de cernirse en el aire o suficientemente ligeras como para poder posarse sobre las estructuras de las flores (Faegri y van der Pijl, 1966).

Los robadores de néctar no se consideran visitantes legítimos, y como pueden afectar la interacción entre una planta y su polinizador legítimo, entonces no se deben separar cuando se estudia el éxito de plantas florecidas (Castro *et al.*, 2008a). Considerando que en todos los ecosistemas neotropicales se presentan robadores y que en algunas poblaciones de plantas se han documentado altos niveles de robo de néctar, es necesario pensar en ellos como actores importantes en las interacciones de polinización (Rojas-Nossa, 2007).

Otro fenómeno que se manifiesta cuando no ocurren visitas legítimas a las flores es el hurto del néctar. Se diferencia del robo de néctar en que transcurre de forma no destructiva, mediante el forrajeo entre los pétalos de la flor (González-Gómez y Valdivia, 2005). En Suramérica, una especie de colibrí se comporta como polinizador legítimo y, además, hurta néctar de la misma especie de planta.

### **2.5.1 Características de las flores que son robadas.**

Se ha observado que las flores que aparecen robadas poseen las características del néctar y de la morfología de la corola, típicas de las flores polinizadas por animales que pueden acceder fácilmente a nectarios profundos. Por esta razón los robadores de néctar deben sortear características florales tales como: corolas tubulares largas (0,7–1,5 cm) y cerradas (de diámetro menor de 5 mm), corolas de arquitectura compleja (fabáceas), néctar ubicado en la base del tubo de la corola, néctar abundante y con elevadas concentraciones de azúcares, capacidad de resintetizar néctar, y mayormente diurnas.

### **2.5.2 Adaptaciones de los robadores de néctar**

A menudo los robadores de néctar solo se alimentan de este recurso, así que han desarrollado estrategias y adaptaciones morfológicas para el robo de néctar. Han sido reconocidos como robadores abejas, colibríes, hemípteros, coleópteros, etc. Los dos primeros grupos son los más frecuentes, por lo que se hará referencia a las características de estos animales.

Algunas especies de colibríes poseen una morfología especial del pico que les permite perforar flores de corolas tubulares para extraer el néctar: el alargamiento del gancho maxilar, que ha favorecido la eficiencia en la extracción del néctar a través de perforaciones, pero que a su vez ha disminuido su capacidad de manipular y

consumir frutos, constituyendo un fenómeno de compensación (o *trade-off*) evolutivo (Rojas-Nossa, 2007). Algunas especies de abejas como *Bombus terrestris* tienen mandíbulas dentadas que les permiten hacer incisiones en la base del tubo de la corola (Navarro, 2000), así como hormigas, escarabajos, dípteros y otras abejas también poseen un aparato bucal masticador que de igual manera les permite realizar las incisiones para la obtención de néctar. Los pinchaflores, aves colombianas, poseen picos puntiagudos que también les permite poner en práctica el robo de néctar (Rojas Nossa, 2007).

La abeja carpintera *Xylocopa virginica* (L.), actúa como robador primario de néctar de *Vaccinium ashei* Reade ya que perfora lateralmente la corola para coleccionar el néctar, pero *Apis mellifera* L., ha aprendido a coleccionar el néctar desde este agujero, deviniendo como robador secundario (Dedaj y Delaplane, 2004). Esto constituye una adaptación conductual de la abeja melífera, que induce a pensar que otras especies pudieran comportarse de la misma manera facilista.

### **2.5.3 Implicaciones del robo de néctar**

Se han descrito posibles efectos negativos, positivos y neutros del robo de néctar.

Como ejemplo de los efectos negativos:

Algunos estudios han demostrado que el daño floral efectuado por los robadores puede reducir el atractivo de las flores perforadas para polinizadores legítimos, o que las perforaciones pueden motivar animales que usualmente visitan la flor, legítimamente, a comportarse como robadores secundarios (Rojas-Nossa, 2007).

Según Dedaj y Delaplane (2004) el robo de néctar en *Vaccinium ashei* produce un decrecimiento en la fructificación, (ya que induce a la abeja melífera a utilizar estas incisiones para coleccionar el néctar y reduce la probabilidad de polinización) unido a cambios en la concentración de azúcar y disponibilidad del néctar.

Castro *et al.* (2008a), encontraron que en flores robadas de *Polygala vayredae*, se afectó la capacidad de resintetizar el néctar, perdiendo así la planta un potente atrayente floral; además, la fructificación y el flujo del polen fueron negativamente afectados.

Navarro (1999) halló que para la especie *Macleania bullata* el robo representa un aumento del gasto energético, porque obliga a la planta a resintetizar el néctar una vez que este es robado.

Navarro y Medel (2009) encontraron, en Cuba, que la fructificación de *Duranta erecta* puede estar afectada por daños que realizan los robadores en las estructuras reproductoras.

Aunque a menudo se considera que el robador de néctar es perjudicial para la planta porque no realiza directamente la polinización se ha comprobado que en muchos casos durante el robo entran en contacto las partes reproductivas de la flor ocurriendo así la polinización. Además, como consecuencia de la tasa de robo, los visitantes legítimos tienen que incrementar las distancias de vuelo en los parches de flores que han sido robadas lo cual incrementa la variabilidad genética (Dedej y Delaplane, 2004; Navarro y Guitián, 2000). Ejemplos de estos efectos positivos son: Navarro (2000) encontró que el robo de néctar en *Anthyllis vulneraria* subsp. *vulgaris* incrementó la fructificación, ya que el robador, al hacer la incisión en la corola, estremecía las anteras y el estigma, favoreciendo así la polinización.

En *Petrocoptis grandiflora*, se ha constatado que el nivel de fructificación mejora debido al robo de néctar (Navarro y Guitián, 2000).

Se considera efecto neutro cuando el robo de néctar no influye en el éxito reproductivo de la especie en cuestión. Algunos autores discrepan de que haya un efecto neutro y consideran más bien que no se ha podido detectar, por el método usado, un efecto negativo o positivo (Maloof e Inouye, 2000).

Los efectos que tienen los robadores sobre el éxito reproductivo de las plantas pueden generar selección influenciando la morfología floral, los patrones de producción de néctar e incluso la fenología de la floración, entre otros aspectos de su biología. Para especies de plantas de los altos Andes el robo fue la estrategia más empleada para extraer el néctar. Las especies con picos más ganchudos (*Diglossa albilatera* y *D. humeralis*) presentaron una tendencia más marcada hacia el robo de néctar, mientras que los pinchaflores de mayor tamaño y pico más largo, ancho y alto (*Diglossopsis caerulescens* y *D. cyanea*) tendieron más al uso de las visitas legítimas como estrategia de extracción de néctar. A medida que las flores presentaron corolas

más largas y produjeron mayores recompensas energéticas, experimentaron más robo de néctar. Por el contrario, las flores péndulas fueron visitadas legítimamente con mayor frecuencia y fueron menos robadas que las flores erectas (Rojas-Nossa, 2007).

Si los robadores provocan efectos negativos en el éxito biológico de las plantas es de esperarse que estas desarrollen mecanismos para protegerse del robo de néctar, tales como cálices engrosados, inflorescencias densas, producción de látex, nectarios extraflorales o presencia de algunas sustancias en el néctar que lo hacen repelente para los robadores (Rojas-Nossa, 2007).

Por otra parte, si una planta es robada, requiere un cierto volumen de néctar para mantener a los polinizadores efectivos como visitantes constantes, por tanto las plantas o las poblaciones que producen suficiente néctar para satisfacer las necesidades energéticas de sus polinizadores y de los robadores, pueden ser más exitosas biológicamente y tendrán más progenie (Maloof e Inouye, 2000).

### 3 Materiales y métodos

#### 3.0 Generalidades

##### 3.0.1 Especie estudiada

*Guettarda clarensis* es un arbusto de hasta dos metros, ramitas leonado-pelosas; estípulas aovadas, de 5mm, agudas pelosas; hojas oblongas, de 2 a 5 cm por 8 a 14 mm, obtusas en el ápice, subacorazonadas en la base, coriáceas, algo pelositas en la haz cuando jóvenes, densamente albo-pelosas y reticuladas en el envés; flores fragantes, axilares, solitarias, sésiles; cáliz espatáceo, de 5 mm, pelosito, lóbulos aguditos; corola blanca de 1 a 1,5 cm, el tubo albo-peloso, lóbulos oblongos u obovados; fruto de hasta 1,5 cm, tomentuloso. Endémica de los cuabales de la antigua provincia de Las Villas (Alain, 1964).

##### 3.0.2 Áreas de estudio

Localidad I: “Área al suroeste de la ciudad de Santa Clara”

El área de estudio se localiza en las serpentinitas del suroeste de la ciudad de Santa Clara, en la provincia Villa Clara, entre los 22° 24' N y los 79° 59' O. Forma parte de las Alturas de Cubanacán y es atravesada por uno de los afluentes del río Yabú. Está insertada prácticamente dentro del área urbana, limitando al norte con el Reparto “José Martí”, al sur con la carretera que conduce al motel “Los Caneyes” y el motel propiamente, y al este con la “Escuela de Instructores de Arte”. El área de trabajo tiene una extensión de unas 27 ha, donde se conservan los parches de vegetación de matorral xeromorfo espinoso sobre serpentina (Méndez *et al.*, 2013).

Localidad II: “El Playazo”.

Esta área se localiza al este-sureste del centro de la ciudad de Santa Clara. Se encuentra dentro del Área Protegida de Recursos Manejados “Sábanas de Santa Clara”, en la unidad administrativa Cubanacán de la Empresa Nacional para la Protección de la Flora y la Fauna en Villa Clara. Dentro de esta área se conservan parches de vegetación de matorral xeromorfo espinoso sobre serpentina.

#### 3.1 Fenología reproductiva

A partir del mes de marzo del 2011, y hasta marzo del 2013, se evaluó la fenología reproductiva en 74 individuos de *Guettarda clarensis*, en la localidad del suroeste de Santa Clara. Estos individuos fueron censados una vez por semana durante los

períodos de floración y fructificación. Entre los meses de junio a febrero, en los cuales la especie no produce flores ni frutos, se expandió el intervalo entre los censos a una vez cada dos semanas.

En cada visita se registró el número de flores/frutos por planta por morfo (McIntosh, 2002). Se determinó la fecha de apertura de la primera y la última flor, la duración de la floración y la fecha del pico de floración. Además, se calculó el grado de sincronía de cada individuo respecto a los demás, utilizando el software Bloom Synchrony *ad hoc*, por el método de Augspurger (1983). El grado de sincronía ( $X$ ) varía entre 0 y 1, lo cual significa, respectivamente, que no hay solapamiento con otros individuos o que la floración de una planta se solapa con la de todas las otras plantas.

A partir de los datos obtenidos se representaron en gráficos las fenofases por las que transcurrió la especie en el tiempo de estudio. Se compararon las medias de flores/frutos entre los años de estudio a través de una prueba  $\chi^2$ , con  $\alpha=0,05$ . Se analizó la posible relación entre la producción de flores y frutos respecto a las precipitaciones registradas, a partir del cálculo de una regresión simple entre dichas variables (Zar, 1999). El registro de las precipitaciones se tomó de la estación meteorológica 78343 Yabú, perteneciente al Centro Meteorológico Provincial de Villa Clara, ubicada aproximadamente a 11km de la ciudad de Santa Clara.

### **3.2 Biología floral**

En la localidad I, en el 2010, se midió la longevidad floral en 10 representantes escogidos al azar, en un área de 20m<sup>2</sup> aproximadamente. Para ello se anotaron los cambios observados en las flores, cada dos horas hasta la senescencia de las mismas.

Para el estudio de morfología floral se colectaron 100 flores (una por planta) en la población de la localidad I, y 55 flores en la localidad II, y se conservaron en etanol al 70%. El tamaño de muestra diferente se debió a que existía una mayor disponibilidad de flores en la primera localidad. A las flores colectadas se les realizaron las siguientes mediciones: diámetro, longitud y apertura de la corola, longitud del pistilo, altura y longitud de las anteras, así como altura, tipo y magnitud del daño, en caso de ser encontrado (Figura 1). Se calculó el índice de reciprocidad utilizando el programa RECIPRO versión 2, siguiendo a Sánchez *et al.* (2013), para determinar la

correspondencia entre la altura de estilos y estambres entre ambos morfos, en cada población. Con el fin de determinar si existen diferencias significativas en las variables morfométricas descritas, entre flores con y sin evidencias de robo, se compararon los intervalos de confianza de cada variable.



Figura 1. Variables morfométricas evaluadas en flores de *Guettarda clarensis*: 1) diámetro de la corola, 2) longitud de la corola, 3) apertura de la corola, 4) longitud del pistilo, 5) altura de las anteras, 6) longitud de las anteras, 7) altura del daño, 8) magnitud del daño

### 3.2.1 Producción de néctar

Para evaluar la variación en la producción de néctar se midió volumen y concentración del mismo en distintos horarios del día.

En el 2013, se embolsaron 15 botones de cada morfo, que estuvieran a punto de abrir, y doce horas después se les realizaron las mediciones de volumen y concentración de néctar. Además se les midió la longitud y el ancho de la corola. Con los datos de volumen y concentración de néctar se realizó una comparación de medias entre los morfos, utilizando la t de Student, con  $\alpha=0,05$ . Para comprobar si el volumen de néctar que se produce depende de la longitud y/o el ancho de la corola, se estableció una regresión simple entre dichas variables (Zar, 1999). Con el fin de determinar si la flor resintetiza néctar una vez que este es extraído, se embolsaron

seis botones de cada morfo, en dos plantas pertenecientes a la colección del Jardín Botánico de Villa Clara. A dichos botones se les midió volumen y concentración de néctar cada 6 horas después de la antesis floral y hasta su senescencia.

En todos los casos se utilizaron capilares de cristal de 1-5  $\mu$ l de volumen, y un refractómetro marca “BS eclipse”. Este último mide el índice refractivo del néctar, lo que se emplea como medida de sustancias equivalentes a la sacarosa (Kearns e Inouye, 1993).

### **3.3 Sistema reproductivo**

Para caracterizar el sistema reproductivo de la especie, en el 2012, en el área al suroeste de Santa Clara, se utilizaron 10 plantas del morfo S y 10 del morfo L, a las que se le realizaron los tratamientos siguientes: (1) polinización de flores de diferente morfo (embolsado y polinización con polen de una planta de diferente morfo floral); (2) polinización con polen de plantas de igual morfo floral; (3) autopolinización para la determinación de auto-incompatibilidad; (4) autopolinización autónoma (embolsado, sin polinización) para evaluar la capacidad de producción de frutos y semillas sin que medien agentes externos; (5) suplementación (las flores se polinizan con mezcla de polen de varios individuos); (6) control, para evaluar la capacidad de producción de frutos y semillas bajo condiciones naturales.

Para los tratamientos 1 y 2 se emascularon los botones antes de la apertura de las anteras, para evitar la contaminación de polen en el estigma (Dafni, 1992). Las polinizaciones se realizaron con polen viable y en el momento en que el estigma era receptivo. Todos los tratamientos se hicieron sobre la misma planta para minimizar los efectos de la variabilidad intraespecífica (Dafni, 1992).

El sistema reproductivo de la planta se evaluó en relación con el éxito reproductivo obtenido en cada ensayo de polinización, en función de la cantidad de frutos producidos. Para ello, para cada tratamiento se calculó un porcentaje de fructificación, resultado de dividir el número de frutos producidos entre el número total de flores tratadas, ya que se trata de frutos monospermos.

El tipo de sistema reproductivo se determinó a través del cálculo del índice de autopolinización automática (IAS) y el índice de autoincompatibilidad (ISI). El IAS y el ISI son dos cocientes, cuyo numerador es el porcentaje de fructificación de la

autopolinización autónoma y el de la autopolinización manual, respectivamente; y su denominador es el porcentaje de fructificación xenógama. Los valores del IAS y del ISI por encima de 0,2 indican capacidad de autopolinización autónoma y autocompatibilidad, respectivamente (Ruiz-Zapata y Arroyo, 1978; Jaimes y Ramírez, 1999).

Para determinar si existe limitación polínica, se compararon los porcentajes de fructificación, del ensayo de suplementación y el control (Larson y Barrett, 2000), con una prueba t de Student con  $\alpha=0,05$ .

### **3.4 Ecología de la polinización**

En la localidad I, en el 2013, durante el pico de floración de la especie, se realizó el estudio de ecología de la polinización. El registro de los visitantes florales se realizó mediante observaciones directas.

Se realizaron observaciones por 35 horas, abarcando todas las horas del día y de la noche. Se tomaron los datos siguientes: especie de insecto visitante, número de flores visitadas, si el visitante hacía contacto o no con las estructuras reproductoras y morfo de la flor que visitó. Con estos, se calculó el índice de tasa de visita de Talavera *et al.* (1999), que tiene en cuenta el número de flores que visita un individuo por minuto.

Con el fin de identificar los visitantes florales de la especie, se realizaron fotografías y colectas, siempre que fueran posibles, de visitantes diurnos, entre las 0800 y 1800 horas, y de visitantes nocturnos, entre las 2000 y 0530 horas. Todos los insectos colectados se conservaron para su posterior identificación. Los insectos fueron identificados por el DrC. Horacio Grillo, entomólogo de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas.

### **3.5 Robo de néctar**

En el 2013, en el área al suroeste de Santa Clara, se utilizaron ocho plantas de cada morfo, en cada una de las cuales se marcaron cinco flores con evidencias de robo y cinco flores sin evidencias de robo, para evaluar la fructificación. Con los datos recogidos se estableció una comparación de medias, utilizando una t de Student con  $\alpha=0,05$ .

Todas las pruebas estadísticas se realizaron con los programas PAST y STATGRAPHICS Centurion XV versión 15.2.14.

## 4 Resultados

### 4.1 Fenología reproductiva

En ambos años de estudio, la fenofase de floración en las plantas censadas, se desarrolló entre los meses de marzo y mayo. En el 2012, comenzó unos días después respecto a la fecha en que se observó en el 2011 y la duración a nivel de población se acortó, mientras a nivel de individuo fue mayor (Tabla I).

Tabla I. Parámetros fenológicos de floración a nivel de planta y población.

Parámetro	Año	
	2011 (n=74)	2012 (n=31)
Apertura de la primera flor (planta)	93±7 3 de abril 78-114	107±14 16 de abril 90-133
Apertura de la primera flor (población)	78 19 de marzo	90 30 de marzo
Duración (planta)	15±9 días 7-41	20±13 días 7-41
Duración (población)	56 días (8 semanas)	49 días (7 semanas)
Sincronía	0,56±0,22 -0,35-0,75	0,22±0,04 0,06-0,29
Amplitud (planta)	1,22±1,18 0,09-5,17	1,05±0,88 0,14-4,05
Amplitud (población)	24,66	15,08

Día 1: 1<sup>o</sup> de enero.

En el 2012, también se redujeron el índice de sincronía floral y la amplitud de floración, a nivel de población e individuo, respecto a los valores obtenidos para el 2011 (Tabla I).

Si bien, en el 2011, la apertura de la primera flor de la población ocurrió a mediados del mes de marzo, la fecha media de apertura de las flores fue el 3 de abril (Tabla I), y esta coincide con el único pico de floración que presentó esta fenofase, en ese año (Figura 2). Dicho pico se extendió desde el 26 de marzo hasta el 30 de abril.

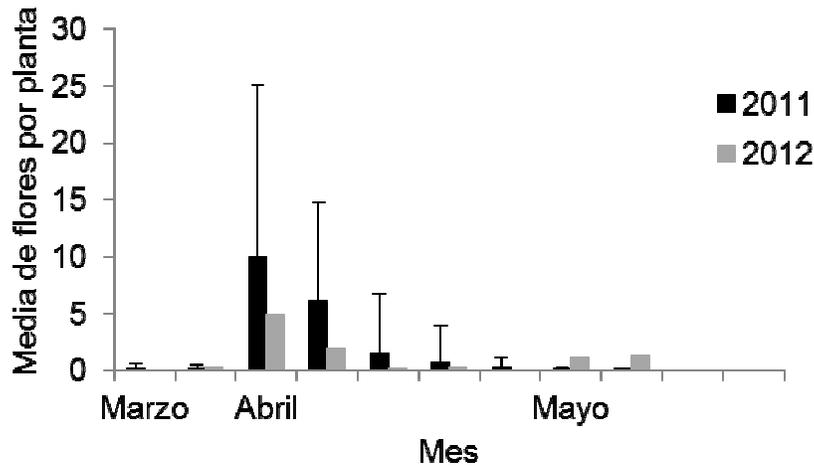


Figura 2. Fenofases de floración de *Guettarda clarensis* durante los años 2011 y 2012.

En el 2012 se observaron dos picos de floración, uno entre el 30 de marzo y el 21 de abril y el otro entre el 28 de abril y el 20 de mayo. Este último menor que el primero (Figura 2). Nótese, además, que en el 2011 florecieron las 74 plantas marcadas mientras que en el 2012 solo florecieron 31 plantas. La prueba de comparación resultó  $\chi^2=572,363$  con  $P<0,0001$ , por lo que hay diferencias en la floración entre los dos años.

La fructificación en ambos años de estudio comenzó en el mes de junio y se extendió hasta el mes de agosto, aunque en ambos casos fue muy escasa (Tabla II). Pocos individuos fructificaron y el número de frutos por individuo fue muy reducido (Figura 3). Aunque en el 2012 se apreció un ligero aumento en la cantidad de frutos por planta, estadísticamente no fue significativo ( $\chi^2=12,750$   $P=0,0784$ ).

Tabla II. Parámetros fenológicos de fructificación a nivel de planta y población.

Parámetro	Año	
	2011 (n=8)	2012 (n=13)
Aparición del primer fruto (planta)	164±2 13 de junio 163-167	177±5 25 de junio 175-189
Aparición del primer fruto (población)	163 12 de junio	175 23 de junio
Duración (planta)	60±7 días 53-68	41±13 días 20-50
Duración (población)	68 días (10 semanas)	50 días (8 semanas)
Sincronía	0,17±0,11 0,09-0,31	0,21±0,05 0,15-0,26
Amplitud (planta)	0,05±0,04 0,02-0,12	0,13±0,14 0,02-0,48
Amplitud (población)	0,34	1,44

Día 1: 1<sup>o</sup> de enero.

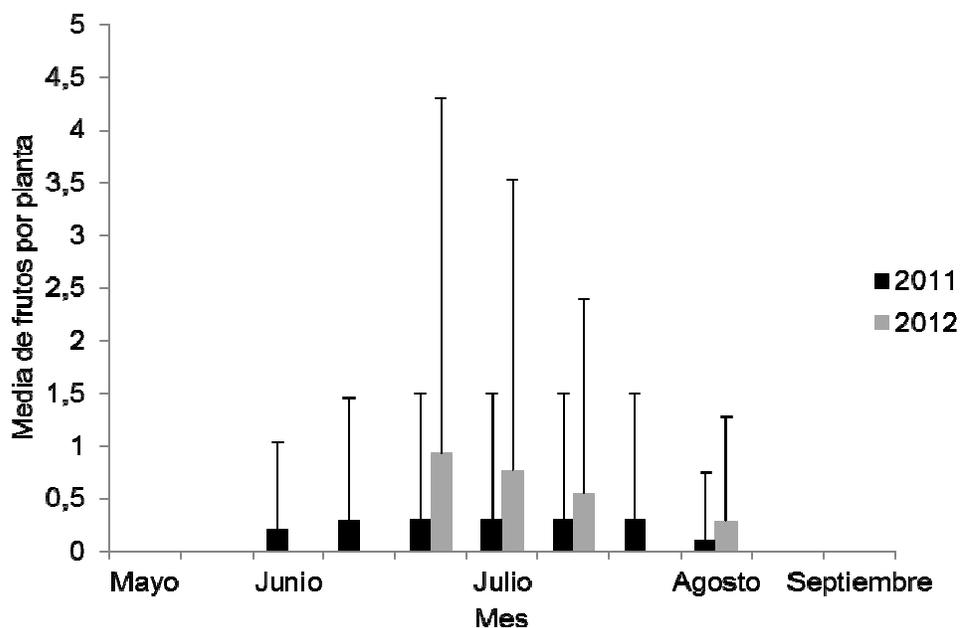


Figura 3. Fenofases de fructificación de *Guettarda clarensis*, durante los años 2011 y 2012.

Se determinó que no existe una relación lineal, estadísticamente significativa, entre las variables precipitaciones y media de flores o frutos por planta (Figura 4).

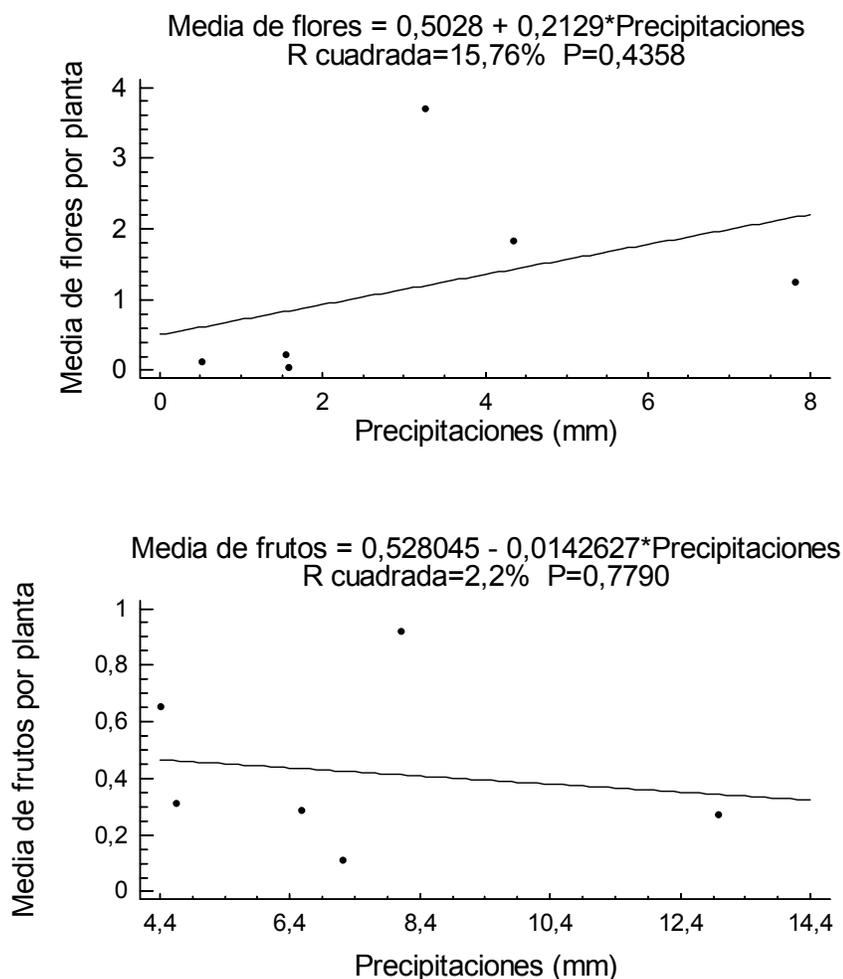


Figura 4. Relación entre la media de flores/frutos de *Guettarda clarensis* y las precipitaciones.

## 4.2 Biología floral

La antesis floral ocurre alrededor del crepúsculo, y todas o la mayoría de las flores abren a la misma vez. A medida que las observaciones avanzaron, las flores presentaron manchas de color pardo, que fueron aumentando en número, sobre los pétalos y el tubo de la corola. Esto muestra los signos de la senescencia floral, que se completó 24 horas después de la antesis floral.

En solo una de las flores seleccionadas para el estudio de longevidad floral se observaron evidencias de robo de néctar, este fenómeno ocurre durante el día.

*Guettarda clarensis* es una especie heterostila. Este fenómeno se evidencia en la figura 5, en la que se muestra la relación existente entre las alturas de los estilos y estambres en *G. clarensis*. Aunque se diferencian bien los dos morfos florales, se encontraron algunos individuos homostilos (1 ó 2 por población) (Figura 6). Los índices de reciprocidad, para las localidades del suroeste de Santa Clara y El Playazo, fueron respectivamente 0,303 y 0,376.

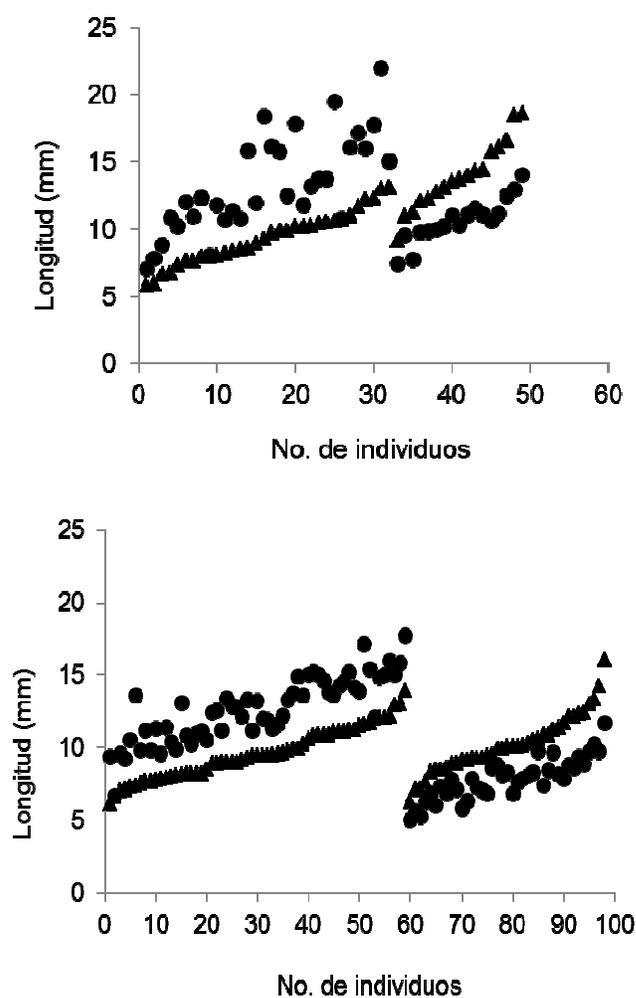


Figura 5. Relación entre las longitudes de estilos y estambres de *G. clarensis* en la localidad "El Playazo" (arriba), y al suroeste de la ciudad de Santa Clara (abajo) (● estambres, ▲ estilos).

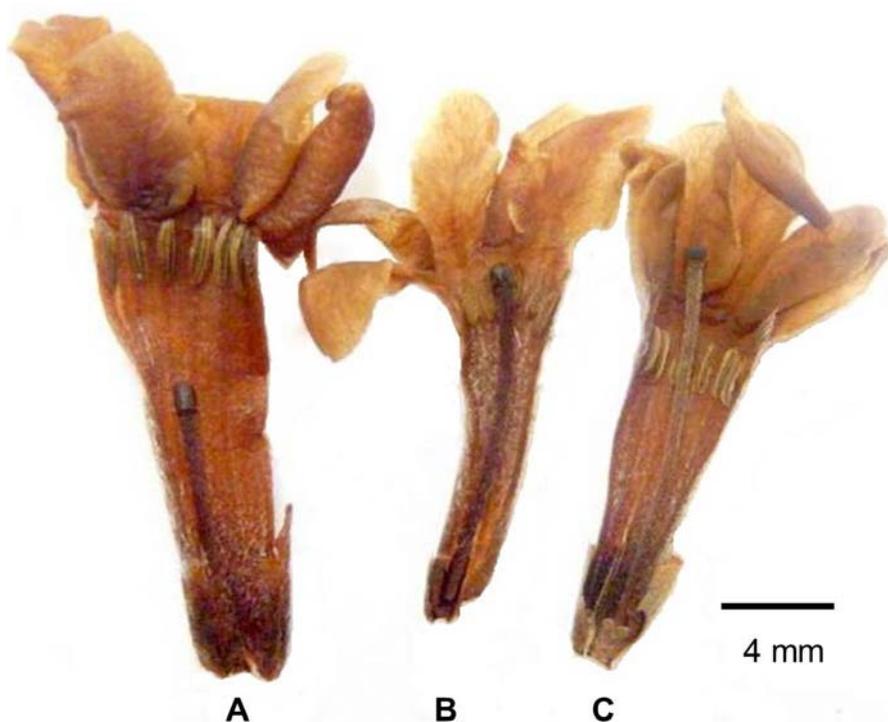


Figura 6. Corte longitudinal de tres flores de *Guettarda clarensis*. A) flor brevistila (morfo S), B) flor homostila y C) flor longistila (morfo L).

En la tabla III se resumen los resultados de las mediciones morfométricas de flores con y sin evidencias de robo de néctar. Del total de flores muestreadas (155) se encontraron 138 sin robo y 17 robadas. De estas últimas, el 65% eran del morfo S. Al comparar los intervalos de confianza de las variables medidas, solamente en diámetro, apertura y longitud de la corola se obtuvieron intervalos que no se superponen.

Tabla III. Mediciones morfométricas (en mm) de flores robadas y no robadas de *G. clarensis*.

	Diámetro corola	Longitud corola	Apertura corola	Longitud pistilo	Altura anteras	Longitud anteras	Altura daño	Magnitud daño
Robadas	16,12 (0,12)	14,29 (0,13)	2,03 (0,18)	10,94 (0,2)	12,12 (0,15)	1,99 (0,21)	4,62 (0,47)	2,02 (0,43)
No robadas	14,19 (0,18)	13,21 (0,25)	1,91 (0,16)	10,25 (0,23)	11,30 (0,29)	1,95 (0,20)		

Mediciones dadas en media (CV).

Las medias de la longitud de la corola para flores de morfo S y L, independientemente de que fueran o no robadas, resultaron ser, respectivamente, 14,92 mm y 11,75 mm.

#### 4.2.1 Producción de néctar

Las cantidades de néctar producidas por las flores son muy bajas, además se obtuvo que la mayor producción de néctar tiene lugar entre el momento de la antesis floral (1930 h) y las 0730 h.

Al comparar las medias de volumen y concentración de néctar disponible en ambos morfos se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas (Tabla IV). Como se observa en la tabla IV, en las flores de morfo S se encontró mayor volumen y concentración de néctar, que en las de morfo L.

Tabla IV. Néctar disponible en flores de morfo L y S de *Guettarda clarensis*, en la localidad al suroeste de Santa Clara, en el año 2013. Valores de volumen y concentración de néctar dados como media y desviación estándar;  $P^* < 0,0001$ .

Morfo	n	Volumen ( $\mu$ l)	Concentración de néctar (%)
L	15	0,64 $\pm$ 0,04	16,27 $\pm$ 1,72
S	15	0,80 $\pm$ 0,08	21,33 $\pm$ 2,43
Prueba de comparación		t = 7,076*	t = 6,586*

Se determinó que existe una relación moderadamente fuerte y estadísticamente significativa entre el volumen de néctar y el largo de la corola, mientras que la relación entre el volumen de néctar y el ancho de la corola, resultó ser muy débil, y estadísticamente no significativa (Figura 7).

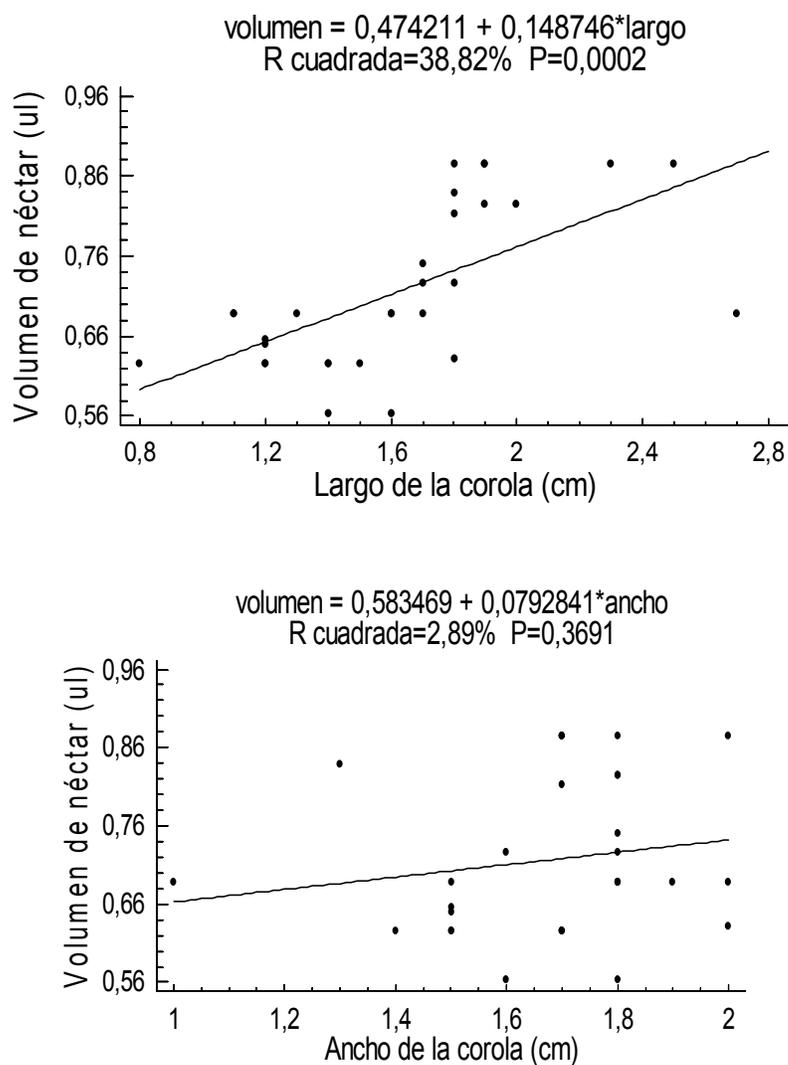


Figura 7. Relación entre el volumen de néctar y el largo/ancho de la corola en *Guettarda clarensis*.

En la tabla V se resumen las mediciones de volumen y concentración de néctar para determinar la posible resíntesis, luego de una extracción inicial. Se encontró que la especie no resintetiza el néctar una vez que este es extraído.

Tabla V. Mediciones de volumen ( $\mu$ l) y concentración (%) de néctar en *Guettarda clarensis*. volumen; C: concentración.

Morfo	Hora							
	1900 h		0100 h		0700 h		1300 h	
	V	C	V	C	V	C	V	C
S	0,31 $\pm$ 0,13	22,75 $\pm$ 4,95	0	0	0	0	0	0
L	0,52 $\pm$ 0,18	17,67 $\pm$ 5,61	0	0	0	0	0	0

### 4.3 Sistema reproductivo

De las 113 flores tratadas solo 12 produjeron frutos: nueve como resultado del cruzamiento intermorfo, dos a partir del tratamiento de suplementación, y uno como consecuencia de la polinización natural (Figura 8). Los índices de autopolinización automática (IAS) y autoincompatibilidad (ISI) resultaron ser 0, lo cual indica incapacidad de autopolinización autónoma y autoincompatibilidad.

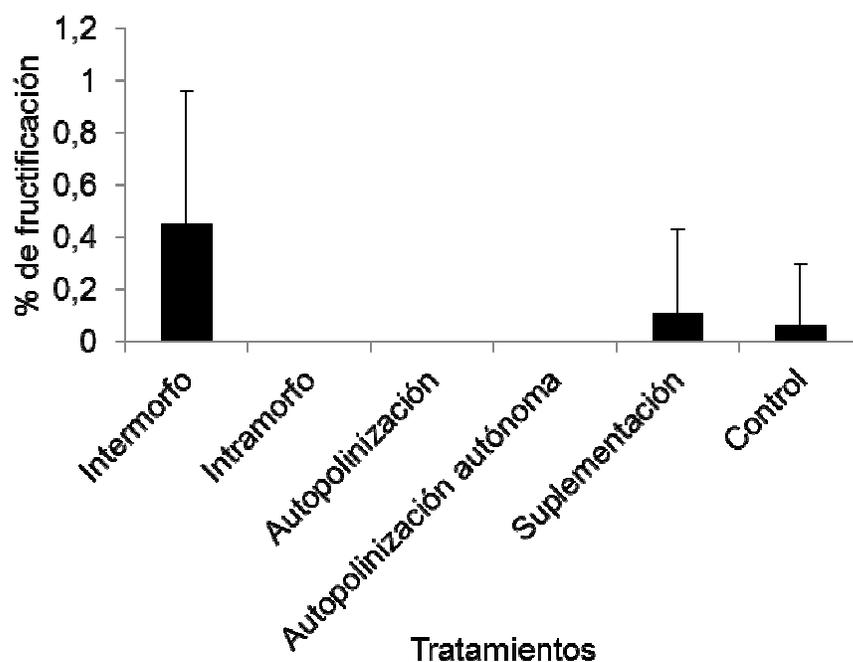


Figura 8. Porcentaje de fructificación de los ensayos de polinización aplicados en *Guettarda clarensis*.

Al comparar los porcentajes de fructificación del ensayo de suplementación y el control, se obtuvo un valor de  $t=0,589$  y  $P=0,5597$ , por lo que se determinó que no

existen diferencias significativas entre dichos tratamientos, lo que indica que no hay limitación polínica.

#### 4.4 Ecología de la polinización

Como se observa en la figura 9, se determinaron varios picos de visitas para *Guettarda clarensis*. Los horarios de mayor cantidad de visitas florales fueron: de las 0700 h a 0900 h, y de las 1800 h a las 2000 h; aunque también se observaron visitas en otros horarios.

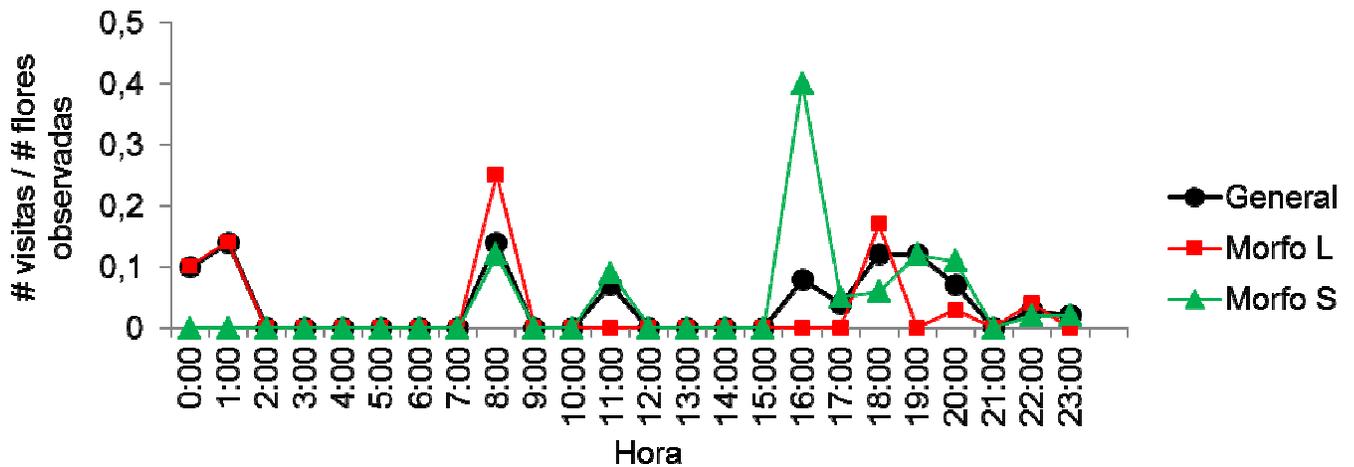


Figura 9. Tasas de visitas realizadas a *Guettarda clarensis*, durante 24 horas.

Las flores del morfo S resultaron ser las más visitadas en horarios de la tarde mientras que las de morfo L recibieron más visitantes en la madrugada (Figura 9).

De los nueve insectos visitantes observados, se identificaron dos hasta la categoría de especie, tres hasta familia y cuatro hasta orden (Figura 10).

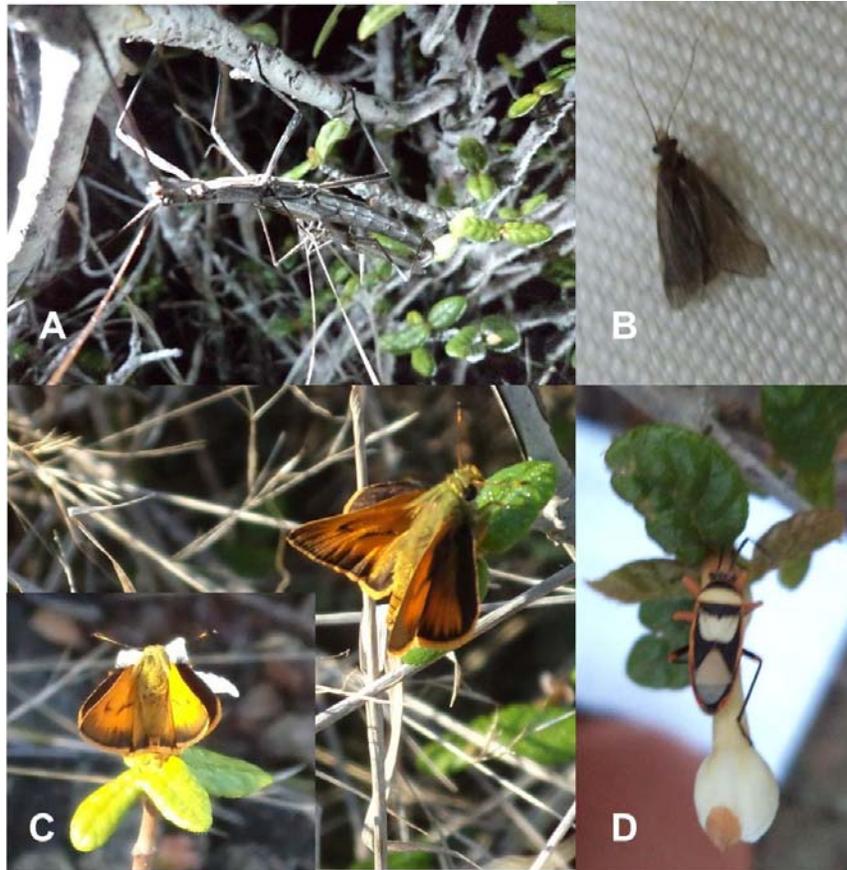


Figura 10. Algunas especies observadas en individuos de *Guettarda clarensis*: A) Phasmidae sp. 1.; B) Lepidoptera sp. 1.; C) *Calpodus ethlius* (Hesperiidae, Lepidoptera); y D) *Largus sellatus* (Largidae, Heteroptera).

Durante las observaciones se detectaron especies de insectos que utilizan las flores como superficie de apoyo durante la locomoción (Orthoptera), o para la caza (Thomisidae). Algunas especies se alimentan de flores (Phasmidae). Otras son posibles polinizadores (especies de Lepidoptera, *Calpodus ethlius*, Spingidae) o robadores de néctar (*Largus sellatus*). Este último presentó la mayor tasa de visita entre las especies de insectos censadas (Tabla VI).

Para calcular las tasas de visita no se tuvieron en cuenta los individuos de Phasmidae, Thomisidae y Orthoptera.

Tabla VI. Tasas de visita por especie, en *Guettarda clarensis*.

Especie	Tasa de visita
<i>Largus sellatus</i> (Largidae, Heteroptera)	1,09
Lepidoptera sp. 1	0,9
<i>Calpodus ethleius</i> (Hesperiidae, Lepidoptera)	0,5
Sphingidae sp. 1	0,55
Lepidoptera sp. 2	0,05
Lepidoptera sp. 3	0,91

En observaciones realizadas a las plantas de la colección del Jardín Botánico de Villa Clara se detectaron individuos de *Chlorostilbon ricordii* polinizando esta especie.

#### 4.5 Robo de néctar

Las flores de morfo S fueron las presentaron más evidencias de robo.

De las 160 flores marcadas, formaron frutos solo cuatro flores con evidencias de robo y 28 sin estas. Se determinó que existen diferencias significativas en la producción de frutos entre flores robadas y no robadas (Tabla VII).

Tabla VII. Comparación del éxito reproductivo entre flores robadas y no robadas, y entre morfos florales, en *Guettarda clarensis*.

	n	Producción de frutos (%)
Robadas	80	6,25
No robadas	80	35
Prueba de comparación	t = -6,315	P<0,0001
Morfo L	40	5
Morfo S	40	7,5
Prueba de comparación	t = -0,509	P=0,6186

También se determinó que, entre plantas con distintos morfos florales, no existen diferencias significativas en la fructificación a partir de flores robadas (Tabla VII).

## 5 Discusión

### Fenología reproductiva

La floración de *Guettarda clarensis* presenta una alta sincronía, quizás como una estrategia de la especie para aumentar la presentación floral y atraer una mayor cantidad de polinizadores, al igual que lo referido por Collin y Shykoff (2010). Esto también puede realzar la visibilidad de la especie por sus antagonistas, como predadores de flores (fásmidos y hormigas) y robadores de néctar, correspondiéndose esto con lo planteado por Galen (1999) e Irwin y Brody (1999). Estos últimos, al influir negativamente en la formación de frutos, podrían explicar el hecho de que fuera tan baja la fructificación de esta especie en ese año. De igual forma pueden explicarse las consecuencias del bajo índice de sincronía floral en el 2012, sobre la relativamente alta producción de frutos de ese año. Al existir una menor presentación floral, fueron atraídos menos antagonistas lo que permitió un mayor éxito reproductivo de la especie. Es necesario aclarar que, durante la floración de la especie en el 2012, que comenzó atrasada respecto a la del 2011, el pico de actividad del insecto robador podía haber pasado, lo que puede explicar también el mayor éxito reproductivo obtenido en el 2012.

El hecho de que la especie presentara más flores y menos frutos en el 2011 que en el 2012, también puede deberse a que, una mayor cantidad de polinizadores presentes, provocara la competencia entre las plantas por los mismos, ya que sus tasas de visitas fueron bajas. Además, en el 2011 hubo un incendio en la localidad I, lo que pudo haber limitado de alguna forma la actividad de los polinizadores, o dañar las poblaciones de los mismos o los frutos en formación.

Aunque no se encontró una relación estadísticamente significativa entre las precipitaciones y la producción de flores o frutos de esta especie, sí se observó que las primeras flores aparecen unos días después de las primeras lluvias en el mes de marzo. Además, cuando llueve, aumenta la producción de flores y la duración de la floración. Durante la etapa de floración de *Guettarda clarensis* en el 2012 existió un mayor promedio de precipitaciones, lo que puede respaldar la mayor duración de esta fenofase en ese año. Resultados similares a estos fueron encontrados en la especie *Werauhia gladioliflora* en Costa Rica por Cascante-Marín *et al.* (2005).

Que no existiera una relación entre las variables antes mencionadas puede deberse también a la distancia relativamente lejana del lugar de estudio, a la que se encuentra la estación meteorológica de donde provinieron los datos.

Por otra parte, una menor floración en el segundo año de estudio puede ser una estrategia reproductiva de la especie para adaptarse al tipo de ambiente en que vive. *Guettarda clarensis* se encuentra sometida al estrés por las altas temperaturas, la baja disponibilidad de agua y la baja humedad relativa características de los cuabales, por lo que el costo reproductivo puede ser muy alto para dicha especie. Esto se corresponde con lo planteado por Reekie y Bazzaz (2005), de que el estrés ambiental puede exagerar los costos de la reproducción en las plantas.

### **Biología floral**

Se encontró que la especie presenta una longevidad floral corta, lo cual puede explicarse por las características de la formación vegetal en que vive, ya que las flores de plantas de ambientes mayormente secos, generalmente exhiben muerte celular y senescencia prematura, según lo expresado por Arathi *et al.* (2002). Además, correspondiéndose con lo planteado por Reekie y Bazzaz (2005), resulta costoso, desde el punto de vista energético y del gasto de agua, mantener flores por más de un día.

La condición heterostílica, encontrada en *Guettarda clarensis* ha sido descrita para este género y para la familia Rubiaceae con anterioridad por Barrett *et al.* (2000). No obstante, en este estudio, se observaron individuos con igual altura de anteras y estigma, los que según Darwin (1987) se denominan homostilos. Ganders (1979) ha demostrado en *Primula* y otros géneros, que dichos homostilos derivan por recombinación genética de plantas típicamente distilas, por lo que es común encontrarlos en baja frecuencia en sus poblaciones.

De acuerdo con lo referido por Ganders (1979), en algunas especies heterostilas como *G. clarensis*, la variación interplanta en las longitudes de estambres y estilos es considerable, por lo que la correspondencia recíproca entre ellas no es buena. Esto se demostró con el bajo índice de reciprocidad encontrado. Opler *et al.* (1975) también han observado este resultado en algunas especies de *Cordia*.

La baja reciprocidad entre las alturas de estambres y estilos de morfos diferentes, encontrada en *Guettarda clarensis*, puede afectar el grado de precisión en la transferencia de polen. Esto puede contribuir a una menor efectividad o eficiencia del polinizador y una mayor pérdida de polen. Todo esto tributa a la disminución del éxito reproductivo masculino y por tanto el éxito reproductivo en general de la especie.

A partir de las diferencias significativas encontradas entre las variables diámetro, longitud y apertura de la corola, se puede inferir que en este caso particular los robadores están seleccionando las flores con corola más larga, de mayor diámetro y mayor apertura. Esta selección de corolas más largas por los robadores ha sido un resultado encontrado por otros autores como Castro *et al.* (2009) y Navarro y Medel (2009). Se comprobó, además, que las flores del morfo S, que son las más robadas, son también las de mayor diámetro y longitud de la corola y las que más volumen y concentración de néctar producen. Esto podría explicarse si existiera flujo asimétrico de polen entre los individuos de la población, y se estuviera favoreciendo el morfo L, lo cual es común en las poblaciones de especies distilas, así como lo plantea Ganders (1979). Los individuos del morfo S podrían estar formando flores con las características anteriormente mencionadas para contrarrestar dichas condiciones atrayendo a más polinizadores. Esto se podría determinar a través de un estudio de eficiencia de los polinizadores en esta especie.

### **Producción de néctar**

La producción de néctar en *Guettarda clarensis* responde a las características que presentan las plantas polinizadas por insectos nocturnos.

Los cuabales son formaciones vegetales en las que el suelo serpentínico posibilita un rápido escurrimiento del agua y por tanto el costo de la producción de néctar para la planta puede ser mucho mayor en horas en que las temperaturas son altas, es decir entre las 10 de la mañana y las 6 de la tarde. A esto puede deberse el hecho de que las flores de *Guettarda clarensis* produzcan una mayor cantidad de néctar en horarios en que las temperaturas son más bajas. Las altas temperaturas, unido a la escasez de agua presentes en los cuabales posiblemente influyan en las bajísimas producciones de néctar de esta especie.

Se encontró que las flores no resintetizan néctar, lo que reduce la probabilidad de encontrar robadores secundarios. El horario de mayor producción de néctar, unido a otras características que se discutirán más adelante, corroboran el hecho de que los polinizadores legítimos de esta planta son polillas, compartiendo el criterio dado por Faife *et al.* (2012).

### **Sistema reproductivo**

*Guettarda clarensis* presenta el sistema de incompatibilidad heteromórfico, que a menudo acompaña a las especies distilas, en el que solo es compatible la polinización entre flores de distinto morfo, resultados similares a los planteados por Ganders (1979).

Las condiciones de estrés en que vive *G. clarensis* y el efecto de los robadores de néctar en su éxito reproductivo, sumado a las bajas tasas de visita de los posibles polinizadores, hacen que el sistema autoincompatible represente un factor más que atenta contra la conservación de la especie. Esto resulta contradictorio a lo planteado por Silva y Goring (2001) de que la ocurrencia de un sistema de autoincompatibilidad es favorable para las especies porque promueve el entrecruzamiento y previene la depresión por endogamia.

La no existencia de limitación polínica puede explicarse porque *G. clarensis* tiene una presentación floral grande y polinización generalista, lo que hace que atraiga una mayor cantidad y tipos de polinizadores, incrementándose las cantidades de polen recibidas. Sin embargo, que no exista limitación es un resultado contradictorio. Las bajas tasas de visita de los polinizadores, el sistema de incompatibilidad, el tamaño pequeño de las flores, la corta longevidad floral y la antropización en el área de estudio, son factores que se manifiestan en esta especie y que usualmente están asociados a un alto grado de limitación polínica, tal y como expresan Larson y Barrett, (2000), Ashman *et al.* (2004) y Knight *et al.* (2005). Por ello resulta necesario realizar más estudios sobre el tema con esta especie, dada la gran importancia de la limitación polínica para los procesos ecológicos y evolutivos.

### **Ecología de la polinización**

*Guettarda clarensis* presenta polinización de tipo generalista, ya que sus posibles polinizadores pertenecen a más de un grupo taxonómico (lepidópteros y aves), tal y como refieren Ramírez y Navarro (2010).

Aunque las flores de *G. clarensis* abren al atardecer, y se mantienen abiertas durante 24 horas, su color blanco y olor fuerte, añadidos al pico nocturno de producción de néctar antes discutido, hacen que atraigan con mayor fuerza a polinizadores nocturnos, de acuerdo con lo planteado por Faife *et al.* (2012). El hecho de que la corola cambie su coloración a la misma vez que disminuye la producción de néctar, mientras avanza el día, puede representar una señal visual para los polinizadores del estado de recompensa de la flor.

Entre los visitantes florales se encuentran insectos que depredan las flores (hormigas y fásquidos), los que también pueden influir en el bajo éxito reproductivo de la especie. Este proceso ha sido referido por otros autores como Stephenson (1981).

### **Robo de néctar**

El robo de néctar tiene efectos negativos en el éxito reproductivo de *Guettarda clarensis*. Los robadores, en esta especie, no dañan las estructuras reproductivas de las flores, pero toman la única recompensa que posee y que además no resintetiza. Es por esto que los polinizadores, al visitar las flores robadas encuentran flores sin recompensa o con muy poco néctar. Como plantean Irwin y Brody (1998), si los polinizadores encuentran un volumen de néctar por debajo de determinado umbral, pueden evitar las visitas a todas las flores de la planta, o alejarse de la población. Esto reduce el flujo de polen y las distancias de dispersión y por tanto, el éxito reproductivo masculino de la especie, en correspondencia con lo encontrado por Castro *et al.* (2008a) en la especie *Polygala vayredae*.

En cuanto al éxito reproductivo femenino, en *Guettarda clarensis*, el robo de néctar redujo significativamente el número de frutos producidos. Esto puede deberse a que la estructura alargada y estrecha de la corola, y la posición del estilo y las anteras dentro de ella no permiten que los robadores actúen como polinizadores mientras efectúan el robo. Este resultado se ha observado con anterioridad en las especies

*Polygala vayredae* por Castro *et al.* (2008b), e *Ipomopsis aggregata* por Irwin y Brody (1998).

Considerando que, en *G. clarensis*, están muy relacionados el tamaño grande de las corolas y la probabilidad de ser robadas, y que a partir de flores robadas se forma menor cantidad de frutos, respecto a las no robadas; los robadores de néctar podrían estar ejerciendo una presión selectiva para reducir el largo de la corola en la especie.

## 6 Conclusiones

1. *Guettarda clarensis* florece y fructifica solo una vez en el año. Su floración es muy corta, y presenta un alto grado de sincronía entre los individuos de la población, lo que unido a otros factores, influye en su bajo éxito reproductivo.
2. Existen diferencias en las variables morfométricas y la producción de néctar entre los morfos florales de *Guettarda clarensis*, los cuales son, además, autoincompatibles e incapaces de autopolinización autónoma. La especie presenta polinización generalista, predominando como visitantes: heterópteros robadores y posibles polinizadores lepidópteros.
3. Los robadores de néctar pueden afectar la evolución de los caracteres florales de *Guettarda clarensis* al seleccionar corolas más largas, anchas y de mayor recompensa, que la especie no resintetiza, e influir negativamente en la fructificación.

## 7 Recomendaciones

- Extender el estudio de la fenología reproductiva de *Guettarda clarensis* en un mayor período de tiempo, que permita profundizar en eventos importantes de la fructificación como la dispersión de los frutos.
- Realizar un estudio de eficiencia de los polinizadores de *Guettarda clarensis*.

## 8 Bibliografía

1. Adler, L. S. y J. L. Bronstein (2004): Attracting antagonists: does floral nectar increase leaf herbivory? **Ecology** 85: 1519-1526.
2. Aizen, M. A. (2005): Breeding system of *Tristerix corymbosus* (Loranthaceae), a winter-flowering mistletoe from the southern Andes. **Australian Journal of Botany** 53: 357-361.
3. Alain, H. (1964): **Flora de Cuba. Tomo V: Rubiales, Valerianales, Cucurbitales, Campanulales, Asterales**. Publicaciones Asociación de Estudiantes de Ciencias Biológicas, Ciudad de la Habana, Cuba, 362pp.
4. Arathi, H. S., A. Rasch, C. Cox y J. K. Kelly (2002): Autogamy and floral longevity in *Mimulus guttatus*. **Int J Plant Sci** 163: 567-573.
5. Ashman, T-L. y D. J. Schoen (1997): The cost of floral longevity in *Clarkia tembloriensis*: An experimental investigation. **Evolutionary Ecology** 11: 289–300.
6. Ashman, T. L., T. M. Knight, J. A. Steets, P. Amarasekare, M. Burd, D. R. Campbell, M. R. Dudash, M. O. Johnston, S. J. Mazer, R. J. Mitchell, M. T. Morgan y W. G. Wilson (2004): Pollen Limitation of Plant Reproduction: Ecological and Evolucionary Causes and Consequences. **Ecology** 85(9): 2408–2421.
7. Augspurger C. K. (1983): Phenology, flowering synchrony, and fruit set of six neotropical shrubs. **Biotropica** 15: 257–267.
8. Bacchetta, G., A. Bueno Sánchez, G. Fenu, B. Jiménez-Alfaro, E. Mattana, B. Piotto y M. Virevaire (Eds.) (2008): **Conservación ex situ de plantas silvestres**. Principado de Asturias / La Caixa, España, 378 pp.
9. Barrett, S. C. H. (2002): The Evolution of Plant Sexual Diversity. **Reviews** 3: 274-283.
10. Barrett, S. C. H., L. K. Jesson y A. M. Baker (2000): The evolution and function of stylar polymorphism in flowering plants. **Ann. Bot.** 85 (Suppl. A): 253-265.
11. Bernardello, G. (2007): A systematic survey of floral nectaries. En: S. W. Nicolson, M. Nepi y E. Pacini (eds.), **Nectaries and Nectar**. pp. 19-122. Berlin: Springer.

12. Berovides, D. y M. Alfonso (1995): **Biología Evolutiva**. Editorial Pueblo y Educación, La Habana, Cuba, 283 pp.
13. Biernaskie, J. M. y R. V. Cartar (2004): Variation in rate of nectar production depends on floral display size: a pollinator manipulation hypothesis. **Functional Ecology** 18, 125–129.
14. Boyd, A. E. (2004): Breeding system of *Macromeria viridiflora* (Boraginaceae) and geographic variation in pollinator assemblages. **American Journal of Botany** 91(11): 1809-1813.
15. Brody, A. K. y R. J. Mitchell (1997): Effects of experimental manipulation of inflorescence size on pollination and predispersal seed predation in the hummingbird-pollinated plant *Ipomopsis aggregata*. **Oecología** 110: 86–93.
16. Brunet, J. y C. G. Eckert (1998): Effects of floral morphology and display on outcrossing in Blue Columbine, *Aquilegia caerulea* (Ranunculaceae). **Functional Ecology** 12: 596–606.
17. Cascante-Marín, A., J. G. B. Oostermeijer, J. H. D. Wolf y J. C. M. den Nijs (2005): Reproductive biology of the epiphytic bromeliad *Werauhia gladioliflora* in a premontane tropical forest. **Plant Biology** 7: 203-209.
18. Castro, S., P. Silveira y L. Navarro (2008a): Consequences of nectar robbing for the fitness of a threatened plant species. **Plant Ecology** 199: 201–208.
19. Castro, S., P. Silveira y L. Navarro (2008b): How flower biology and breeding system affect the reproductive success of the narrow endemic *Polygala vayredae* Costa (Polygalaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society** 157: 67–81.
20. Castro, S., P. Silveira y L. Navarro (2009): Floral traits variation, legitimate pollination, and nectar robbing in *Polygala vayredae* (Polygalaceae). **Ecol Res** 24: 47-55
21. Charlesworth, D. y B. Charlesworth (1987): Inbreeding depression and its evolutionary consequences. **Annual Review of Ecology and Systematics** 18, 237–268.

22. Collin, C. L. y J. A. Shykoff (2010): Flowering phenology and female fitness: impact of a pre-dispersal seed predator on a sexually polymorphic species. **Plant Ecology** 206: 1–13.
23. Cruden, R. W. (1977): Pollen-ovule ratios: conservative indicator of breeding systems in flowering plants. **Evolution** 31: 32-46.
24. Dafni, A. (1992): **Pollination Ecology: A Practical Approach**. Oxford University Press, Oxford, Gran Bretaña, 250 pp.
25. Darwin, C. (1897): **The different forms of flowers on plants of the same species**. D. Appleton and Company, New York, EE.UU., 368 pp.
26. Darwin, C. (1900): **The effects of cross and self-fertilisation in the vegetable kingdom**. J Murray, Londres, Gran Bretaña, 487 pp.
27. de Jong, T. J.; N. M. Waser y P. G. L. Klinkhamer (1993): Geitonogamy: the neglected side of selfing. **Trends in Ecology and Evolution** 8, 321–325.
28. Dedej S., y K. S. Delaplane (2004): Nectar-Robbing Carpenter Bees Reduce Seed-Setting Capability of Honey Bees (Hymenoptera: Apidae) in Rabbiteye Blueberry, *Vaccinium ashei*, 'Climax'. **Environmental Entomology** 33(1): 100-106.
29. Elle, E. y R. Carney (2003): Reproductive assurance varies with flower size in *Collinsia parviflora* (Scrophulariaceae). **American Journal of Botany** 90: 888-896.
30. Espirito-Santo, M. M., B. G. Madeira, F. S. Neves, M. L. Faria, M. Fagundes y G. Wilson Fernández (2003): Sexual differences in reproductive phenology and their consequences for the demography of *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae), a dioecious tropical shrub. **Annals of Botany** 91: 13-19.
31. Faegri, K. y L. van der Pijl (1966): **The principles of pollination ecology**. Pergamon Press Ltd., Headington Hill Hall, Oxford, Gran Bretaña, 248 pp.
32. Faife, M., E. Álvarez, M. Cañizares y E. M. Torres (2012): Síndromes de Polinización y Dispersión de Endemismos en las Serpentinatas al Suroeste de Santa Clara, Cuba. **Centro Agrícola** 39(2): 61-66.

33. Feinsinger, P., K. G. Murray, S. Kinsman y W. Busby (1986): Floral neighborhood and pollination success in four hummingbird-pollinated cloud forest plant species. **Ecology** 67(2): 449-464.
34. Fenner, M., J. E. Cresswell, R. A. Hurley y T. Baldwin (2002): Relationship between capitulum size and pre-dispersal seed predation by insect larvae in common Asteraceae. **Oecología** 130: 72–77.
35. Font Quer, P. (1968): **Diccionario de Botánica**. Edición Revolucionaria, La Habana, Cuba, 1244 pp.
36. Galen, C. (1999a): Flowers and enemies: predation by nectar thieving ants in relation to variation in floral form of an alpine wildflower, *Polemonium viscosum*. **Oikos** 85: 426–434.
37. Galen, C. (1999b): Why do flowers vary? The functional ecology of variation in flower size and form within natural plant populations. **Bioscience** 49: 631-640.
38. Galen, C. (2000): High and dry: drought stress, sex-allocation trade-offs, and selection on flower size in the alpine wildflower *Polemonium viscosum*. **American Naturalist** 156: 72-83.
39. Galloway, L. F., T. Crigliano, y K. Gremski (2002): The contribution of display size and dichogamy to potential geitonogamy in *Campanula americana*. **International Journal of Plant Science** 163, 133–139.
40. Ganders, F. R. (1979): The biology of heterostyly. **New Zealand Journal of Botany** 17: 607–635.
41. González-Gómez, P. L. y C. E. Valdivia (2005): Direct and indirect effects of nectar robbing on the pollinating behavior of *Patagona gigas* (Trochilidae). **Biotropica** 37: 693–696.
42. Gori, D. F. (1983): Post-pollination phenomena and adaptive floral changes. En: Jones, C. E., y R. J. Little (eds.), **Handbook of experimental pollination biology**. pp. 31-49. New York: Van Nostrand Reinhold.
43. Grant, V. (1989): **Especiación vegetal**. Limusa ed., México DF, México, 587pp.
44. Harder, L. D. y S. C. H. Barrett (1996): Ecology of geitonogamous pollination. En: D. G. Lloyd y S. C. H. Barrett (eds.), **Floral Biology**. pp. 140–190. New York: Chapman & Hall.

45. Hegland, S. J., A. Nielsen, A. Lazaro, A.-L. Bjerknes, y O. Totland (2009): How does climate warming affect plant–pollinator interactions? **Ecology Letters** 12: 184–195.
46. Henslow, M. A. (1888): **The origin of floral structures through insect and other agencies**. D. Appleton and Company, New York, USA, pp. 174-183.
47. Herrera, C. M. (2005): Flower size variation in *Rosmarinus officinalis*: individuals, populations and habitats. **Annals of Botany** 95: 431-437.
48. Herrerías-Diego, Y., M. Quesada, K. E. Stoner y J. A. Lobo (2006): Effects of Forest Fragmentation on Phenological Patterns and Reproductive Success of the Tropical Dry Forest Tree *Ceiba aesculifolia*. **Conservation Biology** 2(1): 1523-1739.
49. Holtsford, T. P. (1985): Nonfruiting hermaphroditic flowers of *Calochortus leichtlinii* (Liliaceae): Potential reproductive functions. **American Journal of Botany** 72: 1687–1694.
50. Howe, H. F. y L. C. Westley (1988): **Ecological relationships of plants and animals**. Oxford University Press, New York, USA, 273 pp.
51. Igic, B. y J. R. Kohn (2006): The distribution of plant mating systems: study bias against obligately outcrossing species. **Evolution** 60: 1098-1103.
52. Inouye, D. W. (1983): The ecology of nectar robbing. En: B. Bentley y T. S. Elias (eds.), **The biology of nectaries**. pp. 153-174. New York: Columbia University Press.
53. Inouye, D. W. (2008): Effects of climate change on phenology, frost damage, and floral abundance of montane wildflowers. **Ecology**, 89 (2): 353-362.
54. Irwin, R. E. y A. K. Brody (1998): Nectar-robbing in *Ipomopsis aggregata*: Effects on pollinator behavior and plant fitness. **Oecologia** 116: 519-527.
55. Irwin, R. E. y A. K. Brody (1999): Nectar-robbing bumble bees reduce the fitness of *Ipomopsis aggregata* (Polemoniaceae). **Ecology** 80: 1703-1712.
56. Irwin, R. E. y J. E. Maloof (2002): Variation in nectar robbing over time, space, and species. **Oecologia** 133: 525-533.

57. Jaimes, I. y N. Ramírez (1999): Breeding systems in a secondary deciduous forest in Venezuela: The importance of life form, habitat, and pollination specificity. **Plant Systematics and Evolution** 215: 23-36.
58. Kearns, C. A. y D. W. Inouye (1993): **Techniques for pollination biologists**. University Press of Colorado, Colorado, EE.UU., 583 pp.
59. Kearns, C. A., D. W. Inouye y N. M. Waser (1998): Endangered mutualisms: The Conservation of Plant-Pollinator Interactions. **Annu. Rev. Ecol. Syst.** 29: 83-112.
60. Kevan, P. G. (1983): Floral colors through the insect eye: what they are and what they mean. En: C. E. Jones y R. J. Little (eds.), **Handbook of experimental pollination biology**. pp. 3-25. New York: Van Nostrand Reinhold.
61. Knight, T. M., J. A. Steets, J. C. Vamosi, S. J. Mazer, M. Burd, D. R. Campbell, M. R. Dudash, M. O. Johnston, R. J. Mitchell y T. L. Ashman (2005): Pollen Limitation of Plant Reproduction: Pattern and Process. **Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.** 36: 467-497.
62. Kudo, G., Y. Nishikawa, I. Kasagi, y S. Kosuge (2004): Does seed production of spring ephemerals decrease when spring comes early? **Ecol. Res.** 19: 255-259.
63. Larson, B. M. H. y S. C. H. Barrett (2000): A comparative analysis of pollen limitation in flowering plants. **Biological Journal of the Linnean Society** 69: 503-520.
64. Lloyd, D. G. y C. K. Webb (1986): The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms. **New Zealand Journal of Botany** 24: 135-162.
65. Lloyd D. G. y C. K. Webb (1992): The selection of heterostyly. En: S. C. H. Barrett (ed.), **Evolution and function of heterostyly**. pp. 179-208. Berlin: Springer.
66. Maloof, J. E. y D. W. Inouye (2000): Are nectar robbers cheaters or mutualists? **Ecology** 81(10): 2651-2661.
67. McIntosh, M. E. (2002): Flowering phenology and reproductive output in two sister species of *Ferocactus* (Cactaceae). **Plant Ecology** 159: 1-13.

68. Méndez, O., M. Faife e I. Castañeda (2013): Flora y vegetación de las serpentinitas al suroeste de Santa Clara, Villa Clara, Cuba. **Revista Jard. Bot. Nac. Univ. Habana** (aceptado).
69. Navarro, L. (1999): Pollination Ecology and Effect of Nectar Removal in *Macleania bullata* (Ericaceae). *Biotropica* 31 (4): 618-625.
70. Navarro, L. (2000): Pollination ecology of *Anthyllis vulneraria* subsp. *vulgaris* (Fabaceae): Nectar robbers as pollinators. **American Journal of Botany** 87(7): 980–985.
71. Navarro, L. y J. Guitián (2000): Variación en el robo de néctar y efecto en la fructificación en *Petrocoptis grandiflora* Rothm. (Caryophyllaceae). En: J. E. Péfaur (ed.), **Ecología Latinoamericana. Actas III Congreso Latinoamericano de Ecología**. pp. 117-122. Mérida: Publicaciones Universidad de Los Andes-Consejo de Publicaciones.
72. Navarro, L. y R. Medel (2009): Relationship between floral tube length and nectar robbing in *Duranta erecta* L. (Verbenaceae). **Biological Journal of the Linnean Society** 96: 92–398.
73. Nicolson, S. W. (2007): Nectar consumers. En: S. W. Nicolson, M. Nepi y E. Pacini (eds.), **Nectaries and Nectar**. pp. 289-340. Berlin: Springer.
74. Nuttman, C. V., F. M. Semida, S. Zalut y P. G. Willmer (2006): Visual cues and foraging choices: bee visits to floral colour phases in *Alkanna orientalis* (Boraginaceae). **Biological Journal of the Linnean Society**, 87: 427–435.
75. Ohashi, K. y T. Yahara (1998): Effects of variation in flower number on pollinator visits in *Cirsium purpuratum* (Asteraceae). **American Journal of Botany** 85: 219–224.
76. Ohashi, K. y T. Yahara (2001): Behavioral responses of pollinators to variation in floral display size and their influences on the evolution of floral traits. En: L. Chittka y J. D. Thomson (eds.), **Cognitive Ecology of Pollination, Animal Behavior and Floral Evolution**. pp. 274-296. Londres: Cambridge University Press.

77. Ohashi, K. y T. Yahara (2002): Visit larger displays but probe proportionally fewer flowers: counterintuitive behaviour of nectar-collecting bumble bees achieves an ideal free distribution. **Functional Ecology** 16: 492–503.
78. Oja, T. (2005): Isozyme evidence on the genetic diversity, mating system and evolution of *Bromus intermedius* Poaceae. **Plant Systematics and Evolution** 254: 199-208.
79. Olesen, J. M. (1996): From Naivete to experience: Bumblebee queens (*Bombus terrestris*) foraging on *Corydalis cava* (Fumariaceae). **Journal of the Kansas Entomological Society** 69(4): 274-286.
80. Opler, P. A., H. G. Baker y G. W. Frankie (1975): Reproductive biology of some Costa Rican *Cordia* species (Boraginaceae). **Biotropica** 7: 234-47.
81. Pastorino, M. J. y L. A. Gallo (2006): Mating system in a low-density natural population of the dioecious wind-pollinated Patagonian Cypress. **Genetica** 126: 315-321.
82. Petanidou, T. (2007): Ecological and evolutionary aspects of floral nectars in Mediterranean habitats. En: S. W. Nicolson, M. Nepi y E. Pacini (eds.), **Nectaries and Nectar**. pp. 343–375. Berlin: Springer.
83. Petanidou, T., J. C. M. den Nijs y J. G. B. Oostermeijer (1995): Pollination ecology and constraints on seed set of the rare perennial *Gentiana cruciata* L. in The Netherlands. **Acta Botánica Neerl** 44 (1): 55-74.
84. Proctor, M., P. Yeo y A. Lack (1996): **The Natural History of Pollination**. British Wildlife Publishing, Rotherwick, Hampshire, Gran Bretaña, 479 pp.
85. Ramírez, N. (2004): Ecology of pollination in a tropical Venezuelan savanna. **Plant Ecology** 173: 171–189.
86. Ramírez, N. y L. Navarro (2010): Trends in the reproductive biology of Venezuelan *Melochia* (Malvaceae) species. **Plant Systematics and Evolution** 289: 147–163.
87. Reekie, E. G. y F. A. Bazzaz (Eds.) (2005): Reproductive allocation in plants. Elsevier Academic Press, California, EE.UU, 247 pp.

88. Robertson, A. W. y M. R. Macnair (1995): The effects of floral display size on pollinator service to individual flowers of *Myosotis* and *Mimulus*. **Oikos** 72, 106–114.
89. Rojas-Nossa, S. V. (2007): Estrategias de extracción de néctar por pinchaflores (Aves: Diglossa y Diglossopsis) y sus efectos sobre la polinización de plantas de los altos Andes. **Ornitología Colombiana** 5: 21-39.
90. Ruiz-Zapata, T. R. y M. T. K. Arroyo (1978): Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. **Biotropica** 10: 221-230.
91. Runions, C. J. y M. A. Geber (2000): Evolution of the self-pollinating flower in *Clarkia xantiana* Onagraceae, I. Size and development of floral organs. **American Journal of Botany** 87: 1439-1451.
92. Sakai, S., K. Momose, T. Yumoto, T. Nagamitsu, H. Nagamasu, A. A. Hamid y T. Nakashizuka (1999): Plant reproductive phenology over four years including an episode of general flowering in a lowland dipterocarp forest, Sarawak, Malaysia. **American Journal of Botany** 86(10): 1414–1436.
93. Sánchez, J. M., V. Ferrero y L. Navarro (2013): Quantifying reciprocity in distylous and tristylous plant populations. **Plant Biology** 15: 616-620.
94. Schoen, D. J. y T-L. Ashman (1995): The evolution of floral longevity: resource allocation to maintenance versus construction of repeated parts in modular organisms. **Evolution** 49: 131–139.
95. Schoen, D. J. y J. W. Busch (2008): On the evolution of self-fertilization in a metapopulation. **Int J Plant Sci** 169: 119–127.
96. Shykoff, J. A., E. Bucheli y O. Kaltz (1997): Anther smut disease in *Dianthus silvester* (Caryophyllaceae): natural selection on floral traits. **Evolution** 51: 383–392.
97. Silva, N. F. y D. R. Goring (2001): Mechanisms of self-incompatibility in flowering plants. **Cellular and Molecular Life Sciences** 58: 1988–2007.
98. Stephenson, A. (1981): Flower and fruit abortion: Proximate causes and ultimate functions. **Annual Review of Ecology and Systematics** 12: 253–279.

99. Talavera, S., F. Bastida, P. L. Ortiz, M. Arista (1999). Pollinator attendance and reproductive success in *Cistus libanotis* L. (Cistaceae). **Int. J. Plant Sci.** 162: 343-352.
100. Thompson, J. D. (2010): Flowering phenology, fruiting success and progressive deterioration of pollination in an early-flowering geophyte. **Philosophical transactions of the Royal Society B** 365: 3187-3199.
101. Visser, M. E., A. J. Van Noordwijk, J. M. Tinbergen, y C. M. Lessells (1998): Warmer springs lead to mistimed reproduction in Great Tits (*Parus major*). **Proceedings of the Royal Society London, Series B** 265: 1867–1870.
102. Webb, C. J. y D. G. Lloyd (1986): The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms. 2. Hecogamy. **New Zealand Journal of Botany** 24: 163-178.
103. Weiss, M. R. (1991): Floral colour changes as cues for pollinators. **Nature** 354: 227–229.
104. Weiss, M. R. (1995): Floral color change: a widespread functional convergence. **American Journal of Botany** 82: 167–185.
105. Wright, S. J., C. Carrasco, O. Calderón, y S. Paton (1999): The El Niño Southern Oscillation, variable fruit production, and famine in a tropical forest. **Ecology** 80: 1632–1647.
106. Wolfe, L. M. y S. C. H. Barrett (1987): Pollinator foraging behavior and pollen collection on the floral morphs of tristylous *Pontederia cordata* L. **Oecología** 74: 347-351.
107. Zar, J. H. (1999): **Biostatistical Analysis**. Interactive Composition Corporation, New Jersey, EE. UU, 663 pp.