



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

**LICENCIATURA EN BIOLOGÍA**

**TESIS**

**ASIMETRÍA EN LIMITACIÓN POR POLEN Y EN FECUNDIDAD DE  
HEMBRAS Y HERMAFRODITAS DE LA PLANTA GINODIOICA Y  
CLONAL *FUCHSIA MICROPHYLLA* KUNTH (ONAGRACEAE).**

**Para obtener el título de  
Licenciada en Biología**

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

Patricia Pérez Ocampo

Director

Dr. Luis Fernando Rosas Pacheco

**Comité tutorial**

**Dra. Claudia Elizabeth Moreno Ortega**

**Dra. Maritza López Herrera**

**M. en C. Manuel González Ledesma**

Pachuca de Soto, Hgo., México., mayo 2023.



Mineral de la Reforma, Hgo., a 20 de abril de 2023

Número de control: ICBI-D/398/2023  
 Asunto: Autorización de impresión.

**MTRA. OJUKY DEL ROCÍO ISLAS MALDONADO**  
**DIRECTORA DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR DE LA UAEH**

Con fundamento en lo dispuesto en el Título Tercero, Capítulo I, Artículo 18 Fracción IV; Título Quinto, Capítulo II, Capítulo V Fracción IX del Estatuto General de nuestra Institución, por este medio le comunico que el Jurado asignado a la Pasante de la Licenciatura en Biología **Patricia Pérez Ocampo**, quien presenta el trabajo de titulación "**Asimetría en limitación por polen y en fecundidad de hembras y hermafroditas de la planta ginodioica y clonal *Fuchsia microphylla* Kunth (Onagraceae)**", después de revisar el trabajo en reunión de Sinodales ha decidido autorizar la impresión del mismo, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación, firman de conformidad los integrantes del Jurado:

**Presidente** Dra. Claudia Elizabeth Moreno Ortega

**Secretario:** M. en C. Manuel González Ledesma

**Vocal:** Dr. Luis Fernando Rosas Pacheco

**Suplente:** Dra. Maritza López Herrera

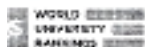
Sin otro particular por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente  
 "Amor, Orden y Progreso"

Dr. Otilio Arturo Acevedo Sandoval  
 Director del ICBI



Ciudad del Conocimiento  
 Carretera Pachuca-Tulancingo km 4.5 Colonia  
 Carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo,  
 México, C.P. 42184  
 Teléfono: 771 71 720 00 ext. 2231 Fax 2109  
 direccion\_icbi@uaeh.edu.mx



## **AGRADECIMIENTOS.**

A mi familia; a mis hermanos que son un buen ejemplo para mí, por su cariño y su apoyo siempre, a mis padres, principalmente a mi mamá por todo su apoyo, siempre incondicional, su cariño, enseñanzas y la confianza en mí para terminar la carrera.

A mi abuelita, mi mamá Lanchita, que, desde niña, me enseñó a cuidar y respetar la vida de otros seres vivos, por cuidarme cuando más lo necesitaba, por todo su amor, enseñanzas y que esté donde esté, me sigue cuidando.

A mis hermanas Gabi y Yois, gracias por estar al pendiente de mí, por alentarme a seguir adelante y desde luego todo por todo su cariño.

A mi maestro, el Doc Fernando, al que quiero mucho, por su dirección en todo momento para realizar el trabajo en campo, en laboratorio y desde luego en el escrito de la tesis, por toda la paciencia que me tuvo, sus enseñanzas y el apoyo que siempre he tenido de su parte.

A los miembros de mi comité, la Dra. Claudia Moreno, al M. en C. Manuel González Ledesma y la Dra. Maritza López Herrera por todos sus comentarios y sugerencias y correcciones para el desarrollo de la tesis, sin las cuales este trabajo estaría incompleto.

A mi amiga Lore, por estar al pendiente siempre de mí en el proceso para terminar este trabajo y por su gran amistad y todo su cariño de parte de ella y su familia.

A mi amigo Víctor, que me apoya siempre en todo momento, por sus consejos y animándome cuando estaba en una situación difícil, gracias por todo su cariño.

A mi amigo Alan, que me apoyó con el trabajo a campo y de laboratorio y todos sus consejos, su cariño y toda la convivencia y momentos inolvidables que he vivido junto a él.

A mi amiga Ely, que me apoyó con trabajo en laboratorio y campo, por su apoyo de forma personal, animándome a terminar y seguir adelante, por las aventuras que hemos vivido juntas y todo su cariño.

A mis amigos de laboratorio por sus sugerencias y consejos en laboratorio y las divertidas salidas al campo, Dan, Ely, Alan, Oly, Dieguito, Lupita y Luisito.

## ÍNDICE DE CONTENIDO.

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
Limitación por polen en angiospermas.....	2
Ginodioicismo y limitación por polen.....	4
Limitación por polen en plantas ginodioicas con crecimiento clonal.....	4
ANTECEDENTES.....	6
Limitación por polen en angiospermas.....	6
Crecimiento clonal.....	7
Ginodioicismo.....	9
Factores relacionados con la limitación por polen en plantas ginodioicas.....	10
Limitación por polen en plantas ginodioicas con crecimiento clonal.....	12
Fuchsia microphylla como modelo de estudio.....	14
El género <i>Fuchsia</i> .....	14
<i>Fuchsia microphylla</i> .....	15
Historia natural.....	15
Crecimiento clonal <i>Fuchsia microphylla</i> .....	16
Tipos de flores y estructuras reproductivas de la especie de estudio.....	17
HIPÓTESIS.....	18
JUSTIFICACIÓN.....	19
OBJETIVO GENERAL.....	20
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
MÉTODOS.....	21
Sitio de estudio.....	21
Mapa de sitio de estudio.....	22

Suplementación manual de polen de entrecruza.....	23
Polinización Natural (Control).....	23
Conteo de semillas por fruto.....	24
Análisis estadísticos.....	25
RESULTADOS.....	26
Gráfico de resultados.....	27
DISCUSIÓN.....	28
CONCLUSIÓN.....	33
REFERENCIAS.....	34

## RESUMEN.

El estudio integrado del crecimiento clonal y de la reproducción sexual en plantas ginodioicas es relevante para conocer la influencia de la acumulación de recursos florales en la dinámica de apareamientos y en la fecundidad de ambos morfos florales. Este trabajo aporta información fundamental para entender el papel de la limitación por polen en la fecundidad de la planta ginodioica con crecimiento clonal *Fuchsia microphylla*. Brinda, además, datos que contribuirán a comprender los mecanismos que dirigen las asimetrías reproductivas entre hembras y hermafroditas en relación con la cantidad de semillas que producen los morfos florales de especies ginodioicas. En una población natural de *F. microphylla* en el Parque Nacional El Chico, Hidalgo, se implementó un diseño de cruza manuales para la suplementación de polen de entrecruza. Los resultados muestran que el número de semillas por fruto es significativamente mayor en el tratamiento de suplementación (8) que en el control (5.7) ( $Q = 2.6, p < 0.05$ ). Además, encontramos que el número de semillas por fruto en las hembras, es significativamente mayor ( $F = 39, P < 0.001$ ) en el tratamiento de suplementación (9.4) que en el control (5.3), mientras que en las hermafroditas el número de semillas por fruto no difiere entre ambos tratamientos (6.7 vs 6.2). La información generada en este trabajo indica que el crecimiento clonal puede impactar de manera asimétrica la producción de semillas en hembras y hermafroditas. Específicamente limitando la fecundidad de las hembras, que es un aspecto fundamental para su mantenimiento en sistemas reproductivos ginodioicos.

## **INTRODUCCIÓN.**

### **Limitación por polen en angiospermas.**

La mayoría de las plantas con flores dependen de vectores de polen para la reproducción sexual. En consecuencia, la baja transferencia de polen entre congéneres puede limitar el éxito reproductivo de las plantas (Martén-Rodríguez y Fenster, 2010; Díaz-Suárez et al., 2020). Se ha documentado que la disponibilidad de polen es esencial para la permanencia de las poblaciones a largo plazo ya que afecta directamente la producción de frutos y semillas, la variabilidad genética y la viabilidad de la progenie (Ashman et al., 2004; Bell et al., 2005; Matsumoto et al., 2011). Por lo tanto, la disponibilidad y la transferencia efectiva de polen son elementos clave de las estrategias reproductivas y los atributos florales de las angiospermas (Ashman et al., 2004; Díaz-Suárez et al., 2020). En general la limitación por polen se entiende a una baja eficiencia en el desarrollo de flores en frutos (fruit set) y/o baja eficiencia en el desarrollo de óvulos en semillas que se debe a la poca cantidad y/o calidad de polen depositado en los estigmas y que resulta insuficiente para fecundar los óvulos disponibles en la flor receptora (Asikainen y Mutikainen, 2003; Ashman et al., 2004; Knight et al., 2005; Aizen y Harder, 2007). La estrategia más común y estandarizada para evaluar la limitación por polen consiste en la suplementación manual de polen a flores receptoras (Burd, 1994; Larson y Barrett, 2000; Knight et al., 2006). Como primer paso, se adiciona polen a flores expuestas a polinización abierta (polinizadores). Posteriormente, se compara la producción de semillas y/o frutos de estas flores suplementadas manualmente, contra lo observado en flores de polinización abierta o natural. Si las flores con suplementación manual de polen aumentan su producción de semillas y/o frutos en contraste con las flores de polinización abierta, se concluye que existe limitación por polen (Bierzychudek, 1981; Widén y Widén, 1990; Widén, 1992; Burd, 1994; Larson y Barrett, 2000; Chang, 2006).

Estudios recientes de limitación por polen muestran que la falta de polen restringe la producción de frutos y semillas, incluso cuando los recursos que se requieren para su llenado y maduración son abundantes (Chen y Zuo, 2018; Burns et al., 2019;



Chen y Zuo, 2019). Una revisión del tema, muestra que de 482 estudios donde se evaluó la producción de semillas, el 63% de las especies presentan limitación por polen (Knight et al., 2005). La limitación por polen se ha relacionado con diversos factores (Ashman et al., 2004), entre los que destacan: a) la disponibilidad de plantas donadoras de polen en la población y/o vecindario b) el servicio y grado de especialización de los polinizadores (Martén-Rodríguez y Fenster, 2010) c) la presencia de sistemas de autoincompatibilidad y la forma en que ocurren los apareamientos (Vallejo-Marín y Uyenoyama, 2004), y d) de la forma en que se distribuyen las funciones sexuales masculina y femenina en las flores, en las plantas y en las poblaciones (i.e., sistemas reproductivos) (Porcher y Lande, 2005).

La limitación por polen puede ser más frecuente en las poblaciones, cuando la disponibilidad de parejas o la frecuencia de plantas donadoras de polen es baja (Shykoff et al., 2003), y no es suficiente para polinizar las flores y fecundar los óvulos disponibles. Esto ocurre en diversas condiciones, cuando el hábitat ha sido degradado (González-Varo et al., 2009), en los límites de distribución de las especies o cuando las plantas colonizan nuevas áreas particularmente cuando las plantas dependen de vectores bióticos (Biesmeijer et al., 2006). En relación al servicio de polinización se ha mostrado que las plantas con interacciones altamente especializadas, como en el caso de flores polinizadas por colibríes, presentan con mayor frecuencia limitación por polen en contraste con las plantas con sistema de polinización generalizada, que son capaces de amortiguar las fluctuaciones en la disponibilidad de polinizadores (Martén-Rodríguez y Fenster, 2010). Diversos estudios han mostrado que la limitación por polen es más marcada en especies de plantas con sistemas de autoincompatibilidad (i.e., mecanismo genético que impide la fecundación de óvulos con polen propio) que forzosamente requieren polen de entrecruza para producir semillas y que dependen fuertemente de los polinizadores, en contraste con hermafroditas con capacidad de autofecundación (Larson y Barrett, 2000; Porcher y Lande, 2005; Burkle et al., 2007). En especies con sistemas reproductivos polimórficos en cuyas poblaciones ocurren diversos morfos sexuales y en ocasiones las funciones sexuales masculina y femenina están separadas en plantas individuales (ejem. ginodioicismo y dioicismo), la limitación por polen puede

ser más evidente cuando la frecuencia de flores o plantas que producen polen es baja (Maurice y Fleming, 1995).

### **Ginodioicismo y limitación por polen.**

El ginodioicismo es un sistema reproductivo donde hembras (estériles para la función masculina) y hermafroditas coexisten en la misma población (Ainsworth, 2000; Barret, 2002; Charlesworth, 2002; Cuevas-García y Abarca-García, 2006; Bailey y Delph, 2007; Zhang y Claßen-Bockhoff, 2019). En contraste con hermafroditas que pueden producir semillas por autofecundación y entrecruzamiento, las hembras producen semillas exclusivamente por entrecruza. Debido a esta asimetría en la forma que ocurren los apareamientos en poblaciones ginodioicas, la limitación por polen es generalmente más frecuente y mayor en hembras que en hermafroditas (Spigler y Ashman, 2012). Tres factores principales se asocian con esta desigualdad. Primero la baja frecuencia de hermafroditas en la población puede restringir la disponibilidad de parejas y de polen en las hembras (Bell, 1985; Ashman y Stanton, 1991; Eckhart, 1991; Delph y Lively, 1992; Ashman, 2000; Ashman et al., 2000). El segundo está relacionado con el número de flores en las plantas. Si el número de flores es mayor en hembras que en hermafroditas, la competencia por el depósito de polen será mayor y, por lo tanto, la cantidad de polen no será suficiente para los óvulos disponibles (Darwin, 1877; Delph, 1996). Y, por último, una escasez general de polinizadores puede limitar el éxito reproductivo tanto de hembras como de hermafroditas, pero con mayor fuerza limitar la disponibilidad de polen y la producción de semillas en las primeras (Lewis, 1941; Alonso y Herrera, 2001; Shykoff et al., 2003; Berry et al., 2004; Alonzo, 2005; Dufay y Billard, 2012).

### **Limitación por polen en plantas ginodioicas con crecimiento clonal**

A pesar de que la limitación por polen se ha estudiado ampliamente en sistemas ginodioicos enfatizando la desventaja reproductiva de las hembras frente a las hermafroditas, la limitación por polen en plantas ginodioicas con crecimiento clonal ha sido muy poco estudiada (Widén y Widén, 1990). El crecimiento clonal es común en especies de angiospermas perennes y resulta en la formación de parches o

grupos de individuos genéticamente idénticos (Renner y Ricklefs, 1995; Sakai et al., 1995) Esta forma de reproducción asexual se ha estudiado fundamentalmente en plantas con flores hermafroditas, y se asocia con floración masiva, dispersión restringida de polen y polinización geitonogámica (polinización entre flores de la misma planta) (Vallejo-Marín et al., 2010). En el caso particular de las plantas ginodioicas, el incremento de flores en un parche que resulta del crecimiento clonal, puede afectar de diferente manera los apareamientos y la polinización de hermafroditas y hembras. En las plantas hermafroditas se prevé que la calidad, pero no la cantidad de semillas puede ser impactada por el incremento de apareamientos geitonogámicos, una forma de endogamia que resulta en la producción de progenie de baja calidad (Carlsson-Graner et al., 1998; Vallejo-Marín et al., 2010; Dorken y Drunen, 2010). En contraste, la producción masiva de flores pistiladas en un parche clonal de una planta femenina, puede reducir la cantidad disponible y depósito de polen de entrecruza (Taylor, 1997; Mc Cauley y Ashman et al., 2000; Trejo, 2019), y acotar la producción de frutos y semillas por fruto debido a la limitación por polen. Por medio de un experimento de suplementación de polen de entrecruza, en este trabajo se evalúa y se contrasta la influencia de la disponibilidad de polen en la producción de frutos y semillas de hembras y hermafroditas de la planta ginodioica con crecimiento clonal *Fuchsia microphylla*, en el Parque Nacional El Chico, Hidalgo.

## **ANTECEDENTES**

### **Limitación por polen en angiospermas**

La baja disponibilidad, transferencia y depósito de polen que resultan en una baja producción de frutos y semillas y que limitan el éxito reproductivo de las plantas, se ha estudiado ampliamente considerando la influencia de diversos factores ecológicos, así como sus consecuencias evolutivas (Aizen y Harder, 2007; Fernández et al., 2012). El tema ha sido sujeto de revisiones cuantitativas que incluyen amplios conjuntos de datos derivados de experimentos de suplementación manual de polen. La evidencia empírica muestra que la limitación por polen ocurre con alta frecuencia, varía en espacio, en tiempo y entre diferentes tipos de plantas, y se ha documentado que su efecto en la fecundidad de las plantas puede ser de considerable magnitud (Knight et. al., 2005; Wolowski et al., 2014).

Una revisión clásica de la literatura publicada sobre el tema, reporta que el 62% de un total de 258 especies experimentan una reducción significativa de la fertilidad (frutos y semillas) debido a limitación por polen (Burd, 1994). En dicho estudio se evidenció que la limitación por polen impacta, con mayor frecuencia y fuerza, la maduración de frutos más que la maduración de óvulos dentro de la flor. Asimismo, afecta más a las plantas perennes que se entrecruzan y con sistemas de autoincompatibilidad, que a plantas anuales que pueden autofecundarse (Burd, 1994). En relación con diferentes tipos de hábitat, un meta-análisis con 126 especies de los bosques del atlántico brasileño, mostró que el 39 % de las especies tienen limitación por polen y que en promedio la baja disponibilidad de polen puede reducir a la mitad el número de semillas que se pueden producir potencialmente, principalmente en especies de entrecruza y con polinización especializada (Wolowski et al., 2014). Por su parte, otro meta-análisis donde se incluyeron 60 especies de los bosques secos estacionales de la Caatinga brasileña, mostró que el 35% de las especies tienen limitación por polen y que esta puede causar una reducción de la producción de frutos y semillas de 41% en promedio (Amorim et al., 2021). En conjunto, los resultados de estos análisis muestran la magnitud del efecto de la limitación por polen en la fertilidad de las plantas, su variación y algunos de

los factores ecológicos con los que se relaciona. Un estudio de caso donde se incluyen diferentes taxa de la misma familia (Gesneriaceae), muestra que las especies con sistema de polinización especializada y de entrecruza, en contraste con especies con polinización generalista y con alto grado de autofecundación, experimentan limitación por polen que reduce su fecundidad significativamente (Martén-Rodríguez y Fenster, 2010). También se ha mostrado que las poblaciones (*Erysimum mediohispanicum*) con menor diversidad de visitantes florales y con polinizadores poco eficientes (i.e., escarabajos) tienen mayor limitación del polen (Gómez et al., 2010).

La evidencia empírica muestra que la limitación por polen afecta la producción de frutos y semillas y, por lo tanto, el éxito reproductivo de las plantas. Particularmente los estudios muestran que la abundancia, la diversidad, la tasa de visitas y la eficiencia en el depósito de polen por parte de los polinizadores, se relacionan con la magnitud de limitación por polen. Asimismo, el grado de especialización de la interacción con polinizadores, la presencia de sistemas de autoincompatibilidad y la producción de semillas por entrecruzamiento, que depende fuertemente de los polinizadores, se relacionan con mayor frecuencia con una reducción de la fecundidad derivada de una baja disponibilidad de polen.

### **Crecimiento clonal**

El crecimiento clonal o propagación vegetativa es el tipo más común de reproducción asexual en las plantas, se ha estimado que aproximadamente el 80% de las angiospermas se reproducen por este medio. Esta estrategia de reproducción asexual, da lugar a módulos vegetativos (ramets) que son producidos por el mismo genotipo parental (genet) (Vallejo-Marín et al., 2010). Muchos hábitats terrestres están dominados por especies con crecimiento clonal, como las marismas, tundras, praderas, dunas de arena y el sotobosque herbáceo (Caraco y Kelly, 1991).

El crecimiento clonal tiene ventajas que favorecen la capacidad de competencia intra e interespecífica, la colonización de hábitats, la búsqueda y explotación de recursos en entornos heterogéneos, la posibilidad de dividir el riesgo de mortalidad entre ramets, y la división de labores entre módulos clonales y reproductivos

(Silander, 1985; Caraco y Kelly, 1991). La propagación vegetativa suele estar asociada con plantas perennes y con hábitats en los que la reproducción sexual suele estar restringida (Klimes et al., 1997). Si las parejas o los polinizadores son limitados en la población, el crecimiento clonal constituye un seguro reproductivo que además evita los costos de la reproducción sexual (costo de producción de flores y el costo de la meiosis) (Eckert, 2001).

A pesar de las ventajas que proporciona el crecimiento clonal, esta forma de reproducción asexual puede generar conflictos con la reproducción sexual, alterando el movimiento de polen y la dinámica de apareamientos. El crecimiento clonal da lugar a la acumulación de grandes cantidades de flores en el mismo genet o individuo. Aunque un despliegue floral grande puede aumentar la atracción de los polinizadores, también puede incrementar la polinización entre las flores de distintos ramets, pero del mismo genet, y producir altas tasas de geitonogamia (polinización entre flores de la misma planta) particularmente en plantas hermafroditas que se autofecundan (Charpentier, 2002). Estudios de polinización de plantas con crecimiento clonal, indican que la mayoría de los movimientos de los polinizadores se producen entre flores del mismo ramet o entre conjuntos de flores dentro del mismo genet, independientemente del grupo de polinizadores (Peakall y Beattie, 1991; Charpentier, 2001).

El movimiento de polinizadores y de polen concentrado principalmente dentro de un parche clonal o genet, afecta la dinámica de apareamientos al menos de dos maneras. Primero, el movimiento restringido de polen puede incrementar la tasa de autofecundación por geitonogamia, y puede resultar en depresión por endogamia (Goulson, 2000). Segundo, cuando el polen en su mayoría es depositado en las flores de la misma planta y se utiliza en apareamientos endogámicos, se reduce la cantidad de polen disponible para el entrecruzamiento (Charpentier, 2002). Por lo tanto, las especies con reproducción sexual y crecimiento clonal, pueden presentar un conflicto entre ambas estrategias reproductivas que impacte de manera negativa su adecuación (Handel, 1985; Vallejo-Marín et al., 2010).

## **Ginodioicismo.**

La coexistencia de hembras y hermafroditas en la misma población se conoce como ginodioicismo (Charlesworth, 2002; Zhang y Claßen-Bockhoff, 2019). Este sistema reproductivo polimórfico es poco común en las angiospermas. Pero a pesar de su baja frecuencia, se encuentra en plantas monocotiledóneas y eudicotiledóneas (Dufay et al., 2014; Renner 2014; Chang y Claßen-Bockhoff, 2019; Baskin y Baskin, 2020), ocurre en al menos 81 familias, en 275 de los 14,559 géneros y aproximadamente en el 1% del total de especies (Godin y Demyanova, 2013; Dufay et al., 2014; Caruso et al., 2016; Rivkin et al., 2016).

En especies ginodioicas la esterilidad masculina es la principal desventaja reproductiva de las hembras frente a las hermafroditas (Lewis, 1941; Shykoff et al., 2003). Esto se debe a que las hermafroditas pueden tener descendencia y contribuir con genes a la siguiente generación por la vía paterna (polen) y por la vía materna (semillas), mientras que las hembras únicamente lo hacen por la vía materna. Esta desventaja reproductiva debe ser compensada por las hembras produciendo más semillas o bien, produciendo semillas de mayor calidad que las hermafroditas. El mantenimiento y/o estabilidad del ginodioicismo depende de la compensación femenina por parte de las hembras. Si dicho requisito no se cumple, las hembras son seleccionadas en contra y pueden ser eliminadas de la población (Lewis, 1941; Lloyd, 1975). La magnitud de la compensación femenina varía en relación con el modo de herencia de la esterilidad masculina. La forma más simple de visualizar este aspecto es considerar un modelo de herencia nuclear de la sexualidad, en el que las hembras deben producir el doble de semillas que las hermafroditas, dado que han perdido la mitad de su capacidad reproductiva a consecuencia de la esterilidad masculina (Widén y Widén, 1990).

En especies ginodioicas la fertilidad de las hembras y la compensación de la esterilidad masculina se asocian principalmente con dos mecanismos. Primero, dado que no producen anteras ni polen, las hembras pueden reasignar los recursos de la función masculina para incrementar la producción de semillas (Shykoff et al., 2003). Segundo, debido a que producen semillas exclusivamente por entrecruza, las hembras evaden la endogamia y sus potenciales efectos negativos (depresión

por endogamia) produciendo con frecuencia progenie de mayor calidad que las hermafroditas (Williams et al., 2000; Charlesworth, 2002). Debido a que el mantenimiento de hembras en poblaciones ginodioicas depende de su fertilidad frente a las hermafroditas, los factores que restringen la producción de semillas son ecológica y funcionalmente relevantes, como es el caso de la limitación por polen en las hembras de especies ginodioicas.

### **Factores relacionados con la limitación por polen en plantas ginodioicas.**

En especies ginodioicas, la limitación por polen se asocia principalmente con la frecuencia de los morfos sexuales en las poblaciones, con el número de flores en plantas, con la disponibilidad de polinizadores y su funcionamiento como vectores de polen. El planteamiento fundamental señala que los morfos sexuales de poblaciones ginodioicas son sujetos de selección dependiente de la frecuencia. Es decir, que su éxito reproductivo se correlaciona negativamente con su frecuencia en la población (Lewis, 1941). Cuando hembras o hermafroditas son localmente raras, su éxito reproductivo es relativamente alto y viceversa. En el caso de las hembras, la producción de semillas está restringida básicamente por la baja frecuencia de plantas productoras y donadoras de polen. En contraste, el incremento en la frecuencia de hermafroditas en la población no necesariamente resulta en mayor limitación por polen para estas plantas, debido a que producen polen y pueden producir semillas por autofecundación. Diversos estudios de especies ginodioicas han documentado que la fecundidad de las hembras está limitada por una pobre disponibilidad de polen en poblaciones con alta frecuencia de hembras (Alonso, 2005; Zhang et al., 2008). Es el caso de la especie ginodioica *Beta vulgaris* donde se encontró que, cuando la frecuencia de hermafroditas es menor a 13% únicamente el 20% de las plantas producen frutos, en contraste cuando la frecuencia de plantas productoras de polen es superior a 70%, hasta el 57% de las plantas en la población producen frutos (De Cauwer et al., 2010). En *Plantago coronopus* se ha mostrado que la producción de semillas en hembras varía de 2000 a menos de 500, cuando su frecuencia en la población va de 2% a 62% respectivamente (Van der Meer et al., 2017). Un resultado similar se reporta en



*Lobelia siphilitica*, donde la frecuencia de hembras en las poblaciones (0.2 a 0.8) se correlaciona de manera negativa con el número de frutos por planta (de 5 a 15). (Rivkin et al., 2015). En contraste con lo que sucede con las hembras, el incremento en la frecuencia de hermafroditas en la población no parece restringir su capacidad de producir semillas debido a una baja disponibilidad de polen. En *Silene vulgaris* se ha documentado que la producción de semillas en hermafroditas no se ve afectada por la disponibilidad de polen de entrecruza cuando su frecuencia en la población es alta, y esto se debe a que se incrementa la tasa de autofecundación (Miyake y Olson, 2009).

Además de la frecuencia relativa de los morfos sexuales en las poblaciones, dos factores que pueden impactar la fecundidad de hembras y hermafroditas, son los atributos de las flores y el número de flores por planta, así como el servicio de polinización (Dornier y Dufay, 2013). En *Fragaria virginiana* se ha documentado que las hembras producen hasta 10% más flores que las hermafroditas, pero a pesar de esta diferencia, las hermafroditas recibieron casi el doble ( $1.1 \pm 0.22$ ) de visitas florales que las hembras ( $0.6 \pm 0.23$ ), y en consecuencia la producción de semillas en hembras se afectó negativamente (Case y Ashman, 2009). En esta misma especie, también se ha mostrado que las abejas pequeñas visitan preferentemente flores con pétalos anchos, más néctar, estambres y anteras intactas. Esta preferencia de los polinizadores ocurre en parches dominados por hermafroditas, lo cual intensifica la discriminación contra las flores femeninas que se encuentran predominantemente en parches dominados por hembras, limitando su fecundidad (Ashman et al., 2003). En *Eremurus anisopterus* (Xanthorrhoeaceae) se ha documentado que las abejas prefieren visitar flores perfectas o hermafroditas que flores pistiladas o hembras. Derivado de esta asimetría en la tasa de visitas y depósito de polen, las flores pistiladas experimentan una mayor limitación por polen, mientras que las flores perfectas reciben mayor proporción de polen propio (geitonogamia) (Mamut et al., 2013). También se ha documentado limitación por polen diferencial entre sexos en la planta ginodioica *Potentilla tanacetifolia*, donde se probó que el número de granos de polen depositados en los estigmas de las flores hermafroditas fue significativamente mayor que el depositado en las flores

femeninas, aun cuando estas últimas están expuestas a los polinizadores y son receptivas hasta 4 horas o más (Yao y Luo, 2011). En *Sidalcea oregana* se ha documentado que las hermafroditas experimentan tasas de visitas más altas por flor que las hembras, que estas reciben polen a una tasa más baja que las hermafroditas, y que la variación dentro y entre sexos en la tasa de recepción de polen está fuertemente influenciada por la disponibilidad de polinizadores (Ashman y Stanton, 1991). Asimismo, se ha reportado que la composición y la actividad de los polinizadores son afectadas por las condiciones ambientales y la calidad del hábitat, lo cual resulta en diferencias significativas en la disponibilidad de polen entre hermafroditas y hembras de *Geranium sylvaticum* (Asikainen y Mutikainen, 2005). La evidencia empírica muestra en general que las hembras de especies ginodioicas experimentan con mayor frecuencia y con más fuerza, una baja disponibilidad de polen para la fecundación de óvulos y producción de semillas, incluso en especies con sistemas de polinización abiótica (Cauwer et al., 2011).

### **Limitación por polen en plantas ginodioicas con crecimiento clonal.**

Aun cuando el crecimiento clonal es frecuente en las plantas con flores, su impacto en la fecundidad de especies ginodioicas ha sido poco estudiado, a pesar de que su efecto en la reproducción sexual de hembras y hermafroditas puede ser muy diferente. En *Glechoma longituba* una planta ginodioica con crecimiento clonal, se ha mostrado que la producción de frutos (59 vs 43) y el número de semillas/fruto (10 vs 6) son significativamente menores en las hembras que en hermafroditas. La menor fecundidad de las hembras se explica por una mayor frecuencia local de parches de flores femeninas y por una mayor distancia a parches de hermafroditas (Widén y Widén, 1990).

Entre los principales efectos del crecimiento clonal en la fecundidad de plantas ginodioicas se espera que la acumulación de flores resultante, aumente la polinización entre flores del mismo genet (geitonogamia) en plantas hermafroditas. Si una fracción significativa del polen producido en plantas hermafroditas se utiliza para autofecundación, una menor cantidad de polen queda disponible para exportarse y utilizarse en el entrecruzamiento con otras plantas en la población. Por

lo tanto, en hembras, la acumulación de flores femeninas en un parche clonal, puede provocar una oferta pobre o una dilución del polen de entrecruza que es importado por los polinizadores. Esta baja disponibilidad de polen sería la principal limitante de las hembras para transformar flores en frutos, y para fecundar los óvulos disponibles en las flores, restringiendo el número de semillas que se maduran por fruto. En este trabajo se implementaron polinizaciones manuales para adicionar polen de entrecruza a flores de hembras y hermafroditas para explorar la ocurrencia y la magnitud de la limitación por polen en una especie ginodioica con crecimiento clonal.

En *Fuchsia microphylla* se ha documentado crecimiento clonal con parches que en promedio miden 14 m<sup>2</sup> con densidad de ramets de 61 y 47 /m<sup>2</sup> en hembras y hermafroditas respectivamente. Lo cual resulta en la acumulación de un considerable número de flores por parche. Además, el número de semillas por fruto es significativamente menor en las hembras (5.1) que en hermafroditas (8.2) (Trejo, 2019). Esta información en conjunto, sugiere que la producción de semillas *F. microphylla* puede estar acotada por una baja disponibilidad de polen, principalmente en las hembras que, en contraste con las plantas hermafroditas, producen semillas exclusivamente por entrecruzamiento.

### ***Fuchsia microphylla* como modelo de estudio.**

*F. microphylla* es una especie ginodioica que resulta un buen modelo de estudio para conocer la magnitud de limitación por polen, pues acorde a un estudio previo esta planta tiene dos tipos de reproducción, sexual y por crecimiento clonal, y hay una asimetría entre hembras y hermafroditas en el número de semillas por fruto (Trejo, 2019). Particularmente los individuos con crecimiento clonal de esta especie permiten, por un lado, explorar el impacto que tiene la acumulación de flores en la disponibilidad de polen para la fecundación de óvulos y la producción de semillas, y por otro lado contrastar dicho efecto en hembras y hermafroditas.

### **El género *Fuchsia*.**

*Fuchsia* es un género de la familia Onagraceae, de arbustos, lianas, epífitas y a veces árboles. Se distingue de otros géneros por la presencia de un fruto carnoso, único dentro de la familia (Wagner et al., 2007). Incluye 107 especies, ubicadas en 12 secciones, la mayoría de las cuales se encuentran en los Andes de Sudamérica, el resto en México, Centroamérica, el Caribe, Nueva Zelanda e Islas de la Sociedad en el Pacífico. La sección Encliandra, que incluye a *Fuchsia microphylla*, se presenta en bosques templados y templado-húmedos, desde el centro de México a Panamá (Wagner et al., 2007).

### ***Fuchsia microphylla*.**

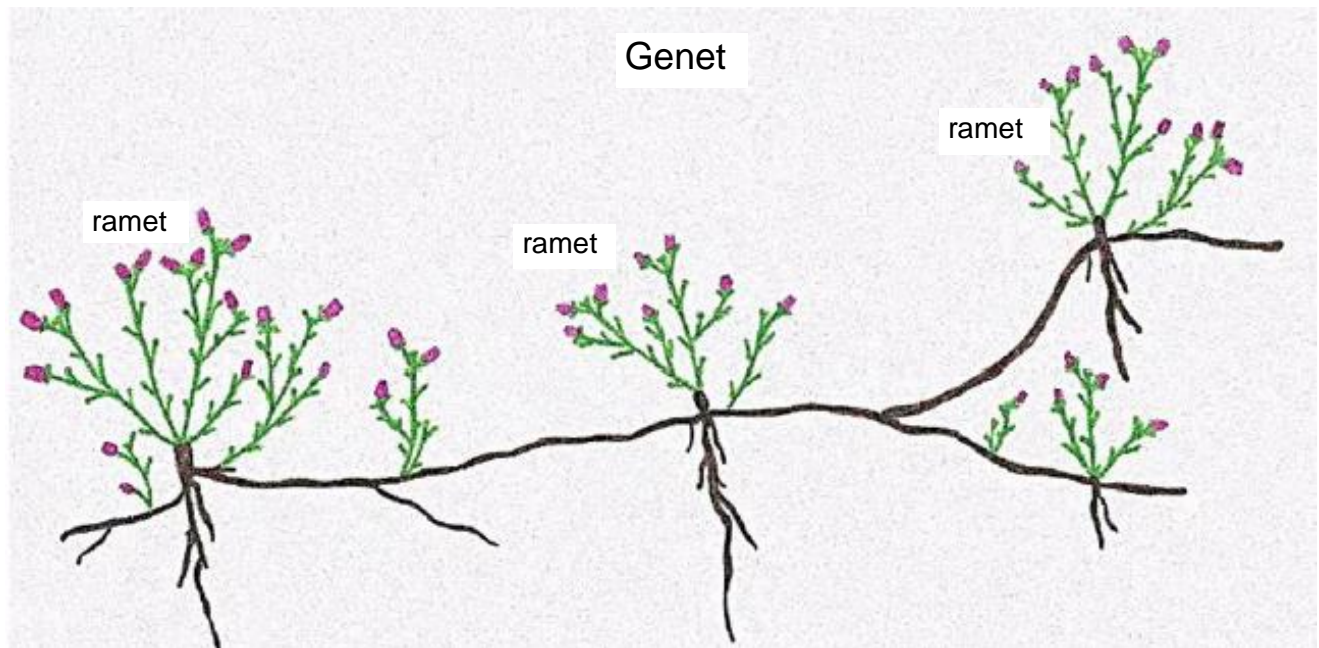
*Fuchsia microphylla* Kunth, tiene la misma distribución de la sección Encliandra. Su morfología es muy variable, de tal manera que se reconocen seis subespecies (Breedlove et al., 1982; Berry y Breedlove, 1996; Morales-Garduño y Solano-Camacho, 2022). La subespecie del presente estudio corresponde a *F. microphylla* subsp. *microphylla*. Son arbustos ginodioicos de hasta 5 m de alto, hojas con láminas lanceoladas, elípticas a ovadas, de 6 a 40 mm de largo, y margen aserrado. Flores solitarias, axilares, con el hipantio y los sépalos rojo-morados, las hermafroditas con estilos de 11 a 17 mm de largo, las femeninas con el hipantio de 3 a 6.5 mm de largo y el estilo de 5 a 8.5 mm de largo. Se distribuye del centro de México a Oaxaca (Morales-Garduño y Solano-Camacho, 2022; Rzedowski y Rzedowski, 2001).

### **Historia natural.**

*Fuchsia microphylla* es una especie ginodioica reconocida como un pequeño arbusto nativo de bosques templados, bosques de pino-encino y robles dentro de México y Centroamérica. Presentan flores que son polinizadas por animales, principalmente colibríes y abejorros. En el Parque Nacional El Chico se observaron abejorros como principales visitantes florales (Obs. personal) y se ha registrado de manera sistemática que tiene un crecimiento clonal. Este crecimiento clonal se caracteriza por el desarrollo de rizomas que dan origen a ramets que en conjunto forman un solo genotipo al que se denomina genet (Figura 1). La temporada de floración empieza a partir de agosto y se extiende hasta febrero, las flores producen néctar, y presentan un claro dimorfismo sexual (Figura 2) (Raven, 1975). Las flores de plantas hermafroditas son más grandes (3.65mm) que las flores de las hembras (1.85mm). Tienen ocho estambres, cuatro son epipétalos reflejados en el tubo floral y cuatro son episépalos exertados sobre el borde del tubo floral y tienen el estigma exerto. En contraste, las flores de las hembras carecen de estambres, tienen el tubo floral más corto, más estrecho y su estilo también es exerto, pero más corto que en hermafroditas (Trejo, 2019). En ambos morfos las flores son de color rojo purpura y las anteras y el estigma son de color blanco. En la base del tubo floral se ubica un nectario rodeando la base del estilo. El ovario es ínfero y cuando los óvulos son

fecundados madura en una baya que tiene un número variado de semillas (Trejo, 2019).

### Crecimiento clonal en *Fuchsia microphylla*.



**Figura 1.** Esquema de la propagación clonal de *Fuchsia microphylla* (tomado de Trejo, 2019).

**Tipos de flores y estructuras reproductivas de la especie de estudio.**



**Figura 2.** *Fuchsia microphylla*. a) Flores de hermafroditas y b) de hembras c) Parche hermafrodita d) tamaño de flores perfectas vs pistiladas e) Frutos f) Semillas.

## **HIPÓTESIS.**

El crecimiento vegetativo en las angiospermas puede restringir el movimiento de polen y la polinización efectiva por la gran cantidad de flores disponibles en parches clonales. Cuando se trata de especies ginodioicas como es el caso de *Fuchsia microphylla*, las hembras van a experimentar mayor limitación por polen que las hermafroditas, porque no producen polen y dependen de polen de entrecruza para producir semillas.



## **JUSTIFICACIÓN.**

El estudio integrado del crecimiento clonal y de la reproducción sexual en plantas ginodioicas es relevante para conocer la influencia de la acumulación de recursos florales en la dinámica de apareamientos y en la fecundidad de ambos morfos florales. Este trabajo aportará información fundamental para entender el papel de la limitación por polen en la producción de semillas, principalmente en hembras. Brindará, además, datos que contribuirán a comprender los mecanismos que dirigen las asimetrías reproductivas entre hembras y hermafroditas en relación con la cantidad y la calidad de semillas que producen. En conjunto, la información generada contribuirá a esclarecer las consecuencias ecológicas y evolutivas de la propagación clonal en el mantenimiento del dimorfismo sexual y reproductivo que caracteriza al ginodioicismo.

## **OBJETIVO GENERAL.**

Evaluar, por medio de suplementaciones manuales de polen de entrecruza, la existencia de limitación por polen, y contrastar su magnitud en hembras y hermafroditas en la planta ginodioica con crecimiento clonal *Fuchsia microphylla*, en el Parque Nacional El Chico, en el estado de Hidalgo.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS.**

Evaluar con base en suplementaciones manuales de polen de entrecruza la existencia de limitación por polen en parches clonales de hembras y hermafroditas de *Fuchsia microphylla*.

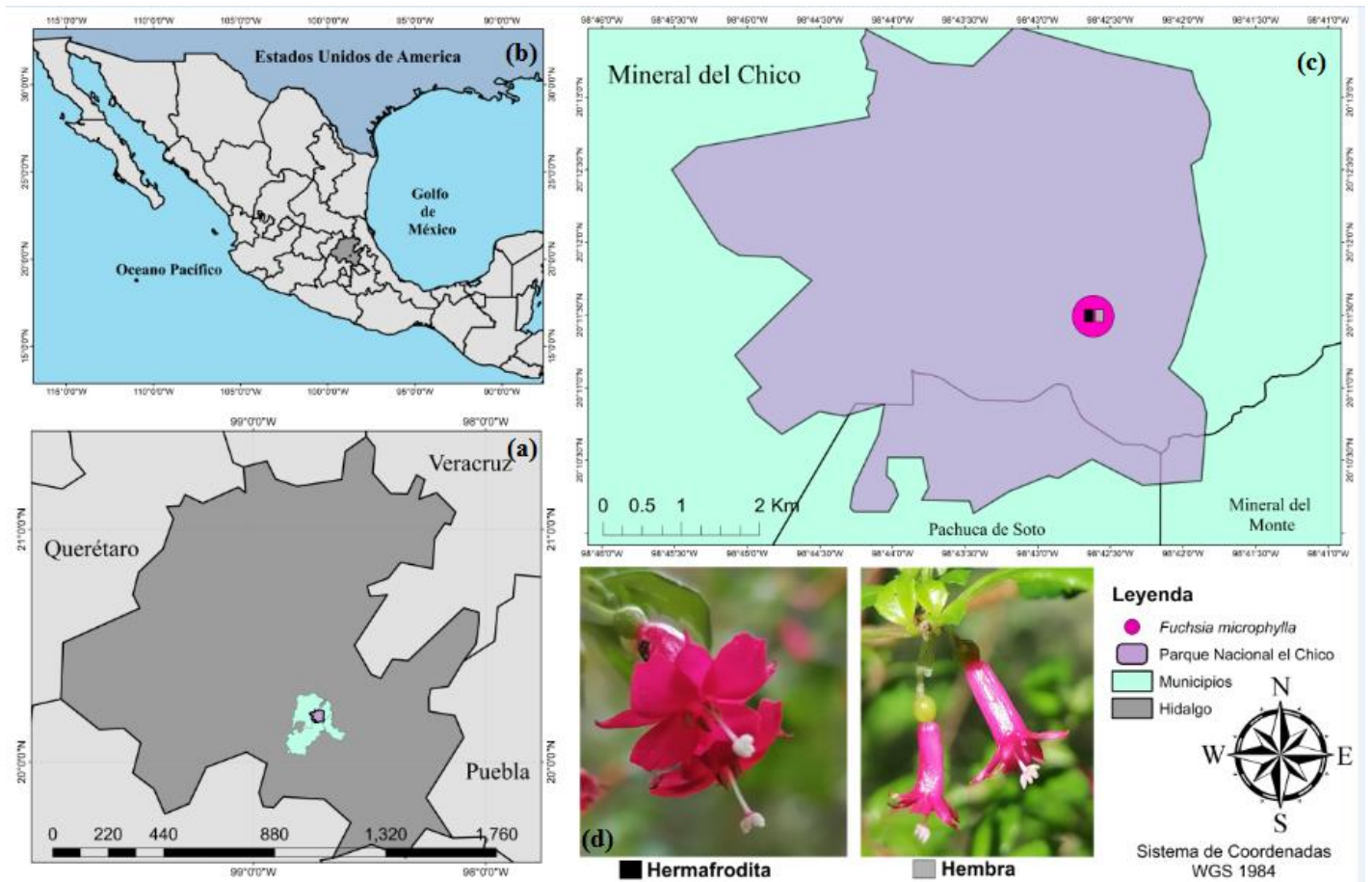
Contrastar el número de semillas por fruto entre morfos florales (hembras vs hermafroditas) y entre tratamientos de polinización (polinización natural vs polinización manual), para estimar la magnitud de la limitación por polen y su influencia en la asimetría en fecundidad femenina observada entre hembras y hermafroditas de *F. microphylla*.

## **MÉTODOS.**

### **Sitio de estudio.**

Este trabajo se llevó a cabo dentro del Parque Nacional El Chico en el estado de Hidalgo. Geográficamente se ubica entre las coordenadas 20°10'10" a 20°13'25" latitud Norte y los 98°41'50" a 98°46'02" de longitud Oeste. Su extensión territorial es de 2 739 ha. El Parque Nacional El Chico es un área con bosques relictos de oyamel, bosques de pino-encino y pastizales. Además, en el parque se distribuyen aproximadamente 97 especies de animales silvestres, y se presentan seis de los nueve géneros de coníferas existentes en México (CONANP, 2006). La flora es relativamente diversa y está constituida aproximadamente por 545 especies de plantas, de las cuales 12 son gimnospermas y 533 son angiospermas. El grupo de las angiospermas se conforma de 423 especies de plantas dicotiledóneas y 110 de monocotiledóneas donde se incluyen árboles, epífitas, hierbas y arbustos (Hernández, 1995). Entre las especies arbustivas de angiospermas más frecuentes se encuentran los géneros *Fuchsia*, *Senecio*, *Salvia* y *Litsea* y entre ellas la especie de estudio *Fuchsia microphylla*. El clima es templado-subhúmedo, con temperatura media de 12 a 18°C y una precipitación de 1479.5 mm anuales (CONANP, 2006).

## Mapa de sitio de estudio.



**Figura 4.** Ubicación del Parque Nacional el Chico en el estado de Hidalgo (a), México (b), área de estudio dentro del parque (c) y flores perfectas y pistiladas de *Fuchsia microphylla* (d). Créditos: Elizabeth Lezama.

### **Suplementación manual de polen de entrecruza.**

Se seleccionaron 12 parches de hembras y 12 parches de hermafroditas y en cada parche se implementaron suplementaciones manuales de polen (tratamiento de suplementación) (Figura. 3). Para realizar el tratamiento de suplementación, se colectaron flores de plantas hermafroditas que se utilizaron como donantes de polen en flores de hembras y de hermafroditas expuestas a polinización abierta. En cada uno de los 24 parches focales y a lo largo de la temporada reproductiva se realizaron al menos 31 polinizaciones manuales para un total de 794 flores con suplementación de polen de entrecruza. Con la finalidad de identificar y darle seguimiento, cada flor incluida en el tratamiento se marcó utilizando etiquetas con claves alfa numéricas.

### **Polinización natural (control).**

De manera paralela y siguiendo un procedimiento semejante al del apartado anterior. En cada uno de los 24 parches focales se etiquetaron en promedio 21 flores de polinización natural para un total de 501 flores a las que no les suplementó manualmente polen de entrecruza (tratamiento control). Todas estas flores se etiquetaron de manera individual, y se monitorearon hasta la producción de frutos maduros que se colectaron en bolsas individuales con su respectiva etiqueta (Figura 3).

### Conteo de semillas por fruto.

En el laboratorio se registró el número de semillas por fruto utilizando un microscopio estereoscópico que facilitó la identificación y conteo de las semillas (Figura 3). El registro incluyó información del morfo de la planta madre, del tratamiento de polinización y de la identidad del parche individual (réplica). Posteriormente se implementó un contraste del número de semillas por morfo y por tratamiento de polinización.



**Figura 3.** Suplementación manual de polen de entrecruza a una flor pistilada (a), fruto etiquetado para seguimiento de tratamiento de polinización (b), fruto maduro (c), peso individual de cada fruto (d), frutos maduros colectados y embolsados individualmente (e) y semillas de un fruto vistas en microscopio estereoscópico (f).

### **Análisis estadísticos.**

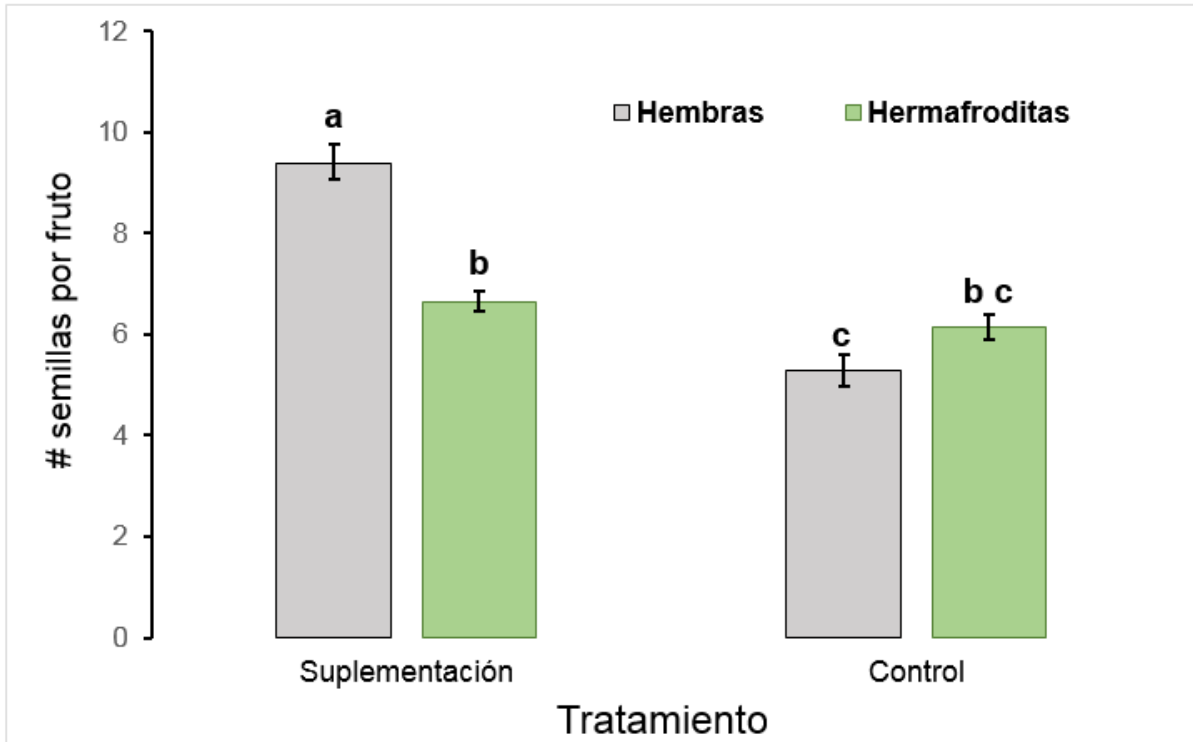
Se analizó el efecto del tratamiento (suplementación manual vs control) y del morfo floral (hembra vs hermafrodita) sobre el número de semillas por fruto implementando un análisis de varianza (ANOVA). El modelo ajustado incluyó el tratamiento de polinización anidado en el morfo, cada parche individual (planta) se utilizó como réplica, y previo al análisis se verificó que la variable de respuesta cumpliera con el criterio de normalidad (Prueba de Shapiro-Wilk,  $W = 0.9$ ,  $p > 0.05$ ). A lo largo del texto se describen los resultados reportando la media y el error estándar de la variable de respuesta. El análisis estadístico se implementó utilizando el programa JMP®, versión 16 (2021). SAS Intitute Inc., Cary, NC, 1989-2021.

## RESULTADOS.

En la implementación del trabajo de campo de este estudio se marcaron 1354 flores, 815 fueron utilizadas para hacer suplementación manual de polen, y 539 fueron etiquetadas para documentar el tratamiento de polinización abierta (control). En el tratamiento de suplementación manual se incluyeron 374 y 441 flores, mientras que de polinización abierta se marcaron 305 y 234 flores de hembras y hermafroditas respectivamente. En el transcurso de la temporada reproductiva se colectaron un total de 766 frutos maduros, 139 frutos producto de suplementación de polen en cada uno de los dos morfos sexuales, y 274 y 214 frutos de polinización abierta en hembras y hermafroditas respectivamente. Con base en el seguimiento de las flores de polinización abierta, se registró que la proporción de flores que forman fruto (fruit-set) no difiere entre hembras (0.89) y hermafroditas (0.91). Lo cual revela que la producción de frutos en ambos morfos sexuales no está limitada por la disponibilidad de polen.

En el análisis se incluyeron, en promedio, 191 frutos por morfo en cada tratamiento. El modelo de análisis de varianza ( $F_{3,766} = 39$ ,  $P < 0.001$ ) mostró que ambos factores, el tratamiento ( $F_1 = 66$ ,  $P < 0.001$ ) y el morfo anidado en el tratamiento ( $F_2 = 21$ ,  $P < 0.001$ ), afectan de manera significativa el número de semillas por fruto, pero no afectó la producción de frutos. El número de semillas en frutos derivados de suplementación manual de polen (8.0), fue significativamente mayor ( $t = 1.9$ ,  $p < 0.05$ ) al observado en polinizaciones abiertas (5.7). Además, el análisis revela que el efecto del tratamiento sobre la variable de respuesta, se asocia únicamente con las hembras. En estas plantas el número de semillas por fruto es significativamente mayor en el tratamiento de suplementación (9.4) que en el control (5.3) ( $Q = 2.6$ ,  $p < 0.05$ ), mientras que en las hermafroditas el número de semillas por fruto no difiere entre suplementación (6.7) y control (6.2) (Figura 4).





**Figura 4.** Promedio del número de semillas por fruto en hembras y hermafroditas en tratamiento de polinización control y suplementación manual de polen en *Fuchsia microphylla*. Diferentes letras sobre las barras (a, b y c) indican diferencias significativas entre los niveles y tratamientos. ( $t = 1.9$ ,  $p < 0.05$ ), y los bigotes sobre las barras muestran el error estándar de la media ( $\pm$  EE).

## DISCUSIÓN.

La disponibilidad de polen con frecuencia está restringida en las poblaciones naturales de plantas, y la polinización deficiente es una limitante potencial para la reproducción sexual especialmente en especies que se entrecruzan. Se puede predecir que la formación de frutos y semillas será afectada de manera asimétrica entre hembras y hermafroditas de sistemas ginodioicos, si la disponibilidad de polen para la fecundación de los óvulos es menor en flores pistiladas que en flores perfectas que se concentran en parches clonales. Esta predicción se probó contrastando el número de semillas por fruto que se producen por medio de cruza manuales de suplementación de polen, con las que se producen por polinización abierta en hembras y hermafroditas de *Fuchsia microphylla*. Los resultados muestran que el número de semillas en frutos de suplementación manual de polen es mayor al observado en frutos de polinización abierta. Este efecto es explicado únicamente por las hembras, pues en los frutos de estas plantas el número de semillas se incrementa de 5.3 a 9.4 cuando se suplementa polen a flores que se han sido expuestas a polinización abierta. En contraste, el número de semillas por fruto en hermafroditas no difiere entre tratamientos de polinización. Estos resultados indican que la disponibilidad de polen limita la producción de semillas en las hembras, pero no en las hermafroditas. En relación con la polinización abierta (control), se observó que la fracción de flores que producen frutos no difiere entre hembras y hermafroditas (0.89 y 0.91 respectivamente). Por lo tanto, se puede señalar que en la población de *F. microphylla* estudiada, la disponibilidad de polen restringe la fecundidad de las hembras, limitando la producción de semillas (en promedio 56% menos semillas/fruto) pero no la producción de frutos (fruit-set). La restricción a la fecundidad de las hembras que causa la limitación por polen, es relevante debido a que su mantenimiento en poblaciones ginodioicas requiere una ventaja sobre las hermafroditas en la producción de semillas que permita compensar la pérdida de la función masculina (Baskin y Baskin, 2020; Cuevas et al., 2020; Varga, 2021).

En poblaciones de especies ginodioicas se ha documentado que la fecundidad femenina puede estar limitada por la disponibilidad de polen, principalmente en las hembras (Williams et al., 2000; Charlesworth, 2002). Esto se debe a que las hembras producen semillas exclusivamente por entrecruzamiento, mientras que las hermafroditas tienen flores que producen polen y en algunos casos tienen la capacidad de autofecundarse. Por lo tanto, las hembras requieren de la presencia de plantas donadoras de polen en el vecindario, y dependen en mayor medida del servicio de los polinizadores (Vallejo-Marín et al., 2010; Varga, 2021). Este efecto asimétrico de la limitación por polen en la fecundidad de los morfos sexuales en poblaciones ginodioicas se relaciona principalmente con tres factores. En primer lugar, una baja frecuencia de hermafroditas en la población resulta en una pobre disponibilidad de polen de entrecruza, que es insuficiente para polinizar las flores y/o fecundar todos los óvulos disponibles en las flores hembras (Eckhart, 1991; Delph y Lively, 1992; Ashman, 2000; Ashman et al., 2000). El segundo factor se relaciona con el número de flores que producen hembras y hermafroditas, específicamente, si las hembras producen mayor cantidad de flores que las hermafroditas (mayor despliegue floral), la competencia por el acceso al polen disponible se incrementa, la cantidad de polen no es suficiente y la probabilidad de polinización disminuye (Delph, 1996). El tercer factor está relacionado con la baja disponibilidad de polinizadores, que en general limitará la fecundidad de hembras y hermafroditas, pero impactará con mayor fuerza a las hembras debido a la pobre disponibilidad de polen de entrecruza (Shykoff et al., 2003; Berry et al., 2004; Alonzo, 2005; Dufay y Billard, 2012).

Es poco probable que la limitación por polen en *F. microphylla* se relacione con la baja frecuencia de hermafroditas en la población, ya que ambos morfos sexuales ocurren en una proporción aproximada de 1:1 en el área de estudio (Trejo, 2019). En contraste, el número de flores por planta puede contribuir a explicar la limitación por polen observada en las hembras. El número de flores por ramet en estas plantas (27) puede ser hasta 1.6 veces mayor que en las hermafroditas (18). La mayor acumulación de flores puede incrementar la competencia por el depósito de polen entre las flores pistiladas de las hembras, reduciendo la probabilidad de que sean

polinizadas, y/o la cantidad de óvulos que son fecundados en cada flor. Debido a que la limitación por polen en las hembras de *F. microphylla* afecta la producción de semillas, pero no la producción de frutos, lo anterior sugiere que las flores pistiladas de las hembras son polinizadas, pero que la cantidad de polen depositado en los estigmas es insuficiente para fecundar todos los óvulos disponibles. La evidencia empírica de una revisión del tema muestra que la formación de semillas puede estar limitada por la disponibilidad del polen (Rathcke, 1983). Si se considera además que los parches clonales de *F. microphylla* tienen una extensión promedio de 14 m<sup>2</sup> con alta densidad de ramets (54/m<sup>2</sup>), se puede esperar que la concentración de flores que produce la propagación clonal en estas plantas, resulte en una menor eficiencia de polinización por parte de los visitantes florales. Resultados preliminares de un estudio en curso, indican que la tasa y el tiempo de visita de las abejas, son menores en las hembras (artículo en proceso). Por lo tanto, es probable que aun cuando la disponibilidad de polinizadores no sea una limitante para la reproducción, la acumulación de flores en parches clonales de hembras, restrinja la eficiencia de polinización por parte de los polinizadores, y que el polen depositado no sea suficiente para fecundar todos los óvulos disponibles en las flores pistiladas.

Resultados de estudios previos con una especie ginodioica clonal (*Glechoma hederacea*), muestran que la producción de frutos y semillas disminuye con el incremento de la distancia a la fuente de polen más cercana, restringiendo la fecundidad de las hembras por la baja disponibilidad de polen (Widén y Widén, 1990; Widén, 1992). El efecto de la limitación por polen en la fecundidad de las hembras en *Glechoma* es similar al reportado para *Fuchsia microphylla* en este trabajo. Además, ambas especies son polinizadas principalmente por abejorros. Los resultados de ambos estudios proveen evidencia empírica de las consecuencias de la acumulación de recursos florales en plantas clonales sobre el comportamiento de forrajeo y la eficiencia de los polinizadores (Vallejo-Marín et al., 2010). Pero, además, como lo muestran los resultados ambos estudios, en el caso de especies ginodioicas el crecimiento vegetativo puede impactar de manera asimétrica la polinización y la fecundidad de hembras y hermafroditas.

Un estudio previo del efecto del morfo específico de la polinización en *F. microphylla* en localidades de Michoacán, reporta que la tasa de visita de polinizadores no difiere entre morfos, y que las hembras producen más frutos, pero no más semillas por fruto que las hermafroditas (Cuevas et al., 2014). Estos resultados contrastan con los registrados en El Chico. En Michoacán no se ha observado crecimiento vegetativo que resulte en la acumulación de grandes cantidades de flores en el mismo parche clonal y es clara la ventaja en la producción de frutos que las hembras tienen sobre las hermafroditas. Este contraste indica que el crecimiento clonal de hembras y hermafroditas de *F. microphylla* impacta no solo la dinámica de polinización y la fecundidad de las plantas de ambos morfos, sino que además puede tener consecuencias en la ventaja femenina que se requiere para el mantenimiento de hembras en sistemas ginodioicos.

En especies ginodioicas las plantas hermafroditas transmiten genes a través de ambas funciones sexuales, mientras que las hembras lo hacen exclusivamente a través de semillas. Trabajos teóricos sobre el mantenimiento de hembras en poblaciones ginodioicas, predicen que las hembras deben superar a las hermafroditas produciendo más y/o mejores semillas (en general el doble de semillas) (Charlesworth y Charlesworth, 1978; Varga, 2021). Estas predicciones se han confirmado en numerosos estudios donde se incluye evidencia empírica de diversas especies ginodioicas (Spigler y Ashman, 2012). Sin embargo, en *F. microphylla* la restricción en la producción de semillas relacionada con la baja disponibilidad de polen, puede acotar la fecundidad femenina de las hembras que se requiere para su mantenimiento. Por lo tanto, la compensación de la fecundidad de las hembras de *F. microphylla* en El Chico, debe estar asociada con otros factores. En esta sección se discute brevemente la contribución que puede relacionarse con la producción de progenie de entrecruza, o alguna ventaja derivada de la reproducción vegetativa.

En un estudio previo con la misma población, se ha mostrado que la tasa de germinación es 1.6 veces mayor para las semillas de hembras. Además, la supervivencia y el número de hojas de las plántulas a una edad de once semanas

son 1.2 y 1.3 veces superiores en progenies de las hembras (Trejo, 2019). Estos resultados indican que las hembras superan a las hermafroditas en relación con la calidad de las semillas que producen por entrecruzamiento. Un estimador de la fecundidad femenina de ambos morfos donde se incluye la producción de frutos, semillas y la germinación, muestra que la adecuación femenina de las hembras puede ser hasta 1.4 veces superior que la de hermafroditas. Esto indicaría que la evasión de la endogamia y la producción de progeñe de mayor calidad, puede compensar la baja producción de semillas en los frutos de las hembras y contribuir a su mantenimiento.

La reproducción sexual y asexual suele ocurrir simultáneamente en las angiospermas, y cuando esto sucede en plantas con crecimiento clonal pueden presentarse disyuntivas en asignación de recursos entre ambas formas de reproducción (Vallejo-Marín et al., 2014). En el caso de *F. microphylla*, la restricción a la fecundidad femenina relacionada con el bajo nivel de polinización, podría compensarse con el crecimiento clonal de las hembras. Si estas plantas invierten recursos en el crecimiento clonal en lugar de producir semillas, podrían obtener alguna ventaja sobre las plantas hermafroditas. Sin embargo, en *F. microphylla* el tamaño (área) de los parches clonales no difiere entre hembras y hermafroditas. Por lo tanto, es poco probable que este atributo brinde una ventaja reproductiva para las hembras. Otros dos atributos relacionados con el crecimiento clonal en estas plantas apuntan en dirección opuesta. Mientras la densidad de ramets es ligeramente mayor (no significativamente) en las hembras (61 vs 47/m<sup>2</sup>), la altura de los ramets es significativamente mayor en hermafroditas (1.2 vs 1m). La información disponible no es suficiente para poder señalar que el crecimiento clonal contribuye a compensar la restricción en la producción de semillas en las hembras.

Es necesario implementar estudios donde se evalúe de manera directa como se relaciona la fecundidad femenina con el crecimiento clonal. Sin embargo, los resultados de este trabajo señalan la necesidad de revisar las predicciones de los modelos sobre el mantenimiento de hembras en poblaciones ginodioicas.

Particularmente cuando la limitación por polen restringe la producción de semillas en las hembras con crecimiento clonal.

## **CONCLUSIÓN.**

La producción de semillas, está limitada por disponibilidad de polen de entrecruza en hembras en la planta ginodioica con crecimiento clonal de *Fuchsia microphylla*. El crecimiento clonal en esta planta impacta de forma asimétrica la fecundidad de hembras y hermafroditas, probablemente debido a la acumulación de grandes cantidades de flores en parches clonales del mismo morfo sexual. Mientras en las hembras el polen depositado es insuficiente para fecundar todos los óvulos disponibles en las flores pistiladas de las hembras, en las hermafroditas no sucede esto. Acorde a estudios previos, el efecto de la clonalidad en la fecundidad de las hermafroditas está relacionado con una baja calidad de su progenie, probablemente debido a un incremento en la endogamia producto de geitonogamia. La limitación por polen en la fecundidad de las hembras de *Fuchsia microphylla*, es relevante debido a que esto podría restringir la ventaja en producción de semillas que teóricamente requiere el mantenimiento de plantas con esterilidad masculina en poblaciones ginodioicas. Es posible que la limitación por polen detectada en este trabajo se deba a una deficiencia en el servicio de polinización derivado de la acumulación de recursos florales. Estudios en curso muestran que la tasa y el tiempo de visita de polinizadores a las flores de las hembras son menores en contraste con las visitas a las hermafroditas. Los resultados de este trabajo sugieren la relevancia de considerar el potencial conflicto que el crecimiento vegetativo puede tener con la reproducción sexual, particularmente este es un tema poco estudiado en sistemas ginodioicos, donde claramente las consecuencias en la reproducción sexual son asimétricas para hembras y hermafroditas.

## REFERENCIAS.

Ågren, J. (1996). Population size, pollinator limitation, and seed set in the self-incompatible herb *Lythrum salicaria*. *Ecology*, 77(6): 1779-1790.

Ågren, J., y Willson, M. F. (1991). Gender variation and sexual differences in reproductive characters and seed production in gynodioecious *Geranium maculatum*. *American Journal of Botany*, 78(4): 470-480.

Ainsworth, C. (2000). Boys and girls Come outplay: The molecular biology of dioecious plants. *Annals of Botany*, 86: 211-221.

Aizen, M A., y Harder. L. D. (2007). Expanding the limits of the pollen-limitation concept: effects of pollen quantity and quality. *Ecology*, 88: 271-281.

Aizen, M. A., y Feinsinger. P. (1994). Habitat fragmentation, native insect pollinators, and feral honey bees in Argentine "Chaco Serrano." *Ecological Applications*, 4: 378-392.

Albert, T., Raspé, O., y Jacquemart, A. L. (2008). Influence of clonal growth on selfing rate in *Vaccinium myrtillus* L. *Plant Biology*, 10(5), 643-649.

Alonso, C., Vamosi, J. C., Knight, T. M., Steets, J. A., y Ashman, T. L. (2010). Is reproduction of endemic plant species particularly pollen limited in biodiversity hotspots? *Oikos*, 119(7): 1192-1200.

Alonso, C. (2005). Pollination success across an elevation and sex ratio gradient in gynodioecious *Daphne laureola*. *American Journal of Botany*, 92(8): 1264-1269.

Alonso, C., y Herrera, C. M. (2001). Neither vegetative nor reproductive advantages account for high frequency of males-steriles in southern Spanish gynodioecious *Daphne laureola* (Thymelaeaceae). *American Journal of Botany* 88 (6): 1016-1024.

Alonso, C., Mutikainen, P., y Herrera, C. M. (2007). Ecological context of breeding system variation: sex, size and pollination in a (predominantly) gynodioecious shrub. *Annals of Botany*, 100(7): 1547-1556.



Alonso, C., Herrera, C. M y Ashman, T.-L. (2012). A piece of the puzzle: a method for comparing pollination quality and quantity across multiple species and reproductive events. *New Phytologist*, 193: 532-542.

Amarasekare, P. (2004). Spatial dynamics of mutualistic interactions. *Journal of Animal Ecology*, 73: 128-143.

Amorim, T., Santos, A. M., Almeida, N. M., Novo, R. R., De Lima Leite, A. V., y Castro, C. C. (2021). Plant traits interplay to balance pollen limitation in the Brazilian seasonal dry forest: A meta-analysis. *Journal of Arid Environments*, 186: 104-408.

Arroyo, M. T. K., y Raven, P. H. (1975). The evolution of subdioecy in morphologically gynodioecious species of *Fuchsia* sect. *Encliandra* (Onagraceae). *Evolution*, 500-511.

Arnaud-Haond, S., Duarte, C. M., Alberto, F., y Serrao, E. A. (2007). Standardizing methods to address clonality in population studies. *Molecular ecology*, 16(24): 5115-5139.

Ashman, T. L., y Schoen, D. J. (1997). The cost of floral longevity in *Clarkia tembloriensis*: an experimental investigation. *Evolutionary Ecology*, 11: 289-300.

Ashman, T. L., y Stanton. M. L. (1991). Seasonal variation in pollination dynamics of sexually dimorphic *Sidalcea oregana* ssp. *spicata* (Malvaceae). *Ecology*, 72: 993-1003.

Ashman, T. L. (1992). The relative importance of inbreeding and maternal sex in determining progeny fitness in *Sidalcea oregana* ssp. *Spicata*, a ginodioecious plant. *Evolution*, 46 (6): 1862-1874.

Ashman, T. L. (2006). The evolution of separate sexes: A focus on the ecological context. *Ecology and evolution of flowers*. Oxford, University Press, 419-465.

Ashman, T. L., Knight, T. M., Steets, J. A., Amarasekare, P., Burd, M., Campbell, D. R., Dudash, M. R., Johnston, M. O., Mazer, S. J., Mitchell, R. J., Morgan M. T., y

Ashman, T. L., Swetz, J., y Shivitz, S. (2000). Understanding the basis of pollinator selectivity in sexually dimorphic *Fragaria virginiana*. *Oikos*, 90(2): 347-356.

Asikainen, E. y P. Mutikainen. (2003). Female frequency and relative fitness of females and hermaphrodites in gynodioecious *Geranium sylvaticum* (Geraniaceae). *American Journal of Botany*, 90(2): 226-234.

Asikainen, E., y Mutikainen, P. (2005). Pollen and resource limitation in a gynodioecious species. *American Journal of Botany*, 92(3): 487-494.

Baker, A. M., Barrett, S. C., y Thompson, J. D. (2000). Variation of pollen limitation in the early flowering Mediterranean geophyte *Narcissus assoanus* (Amaryllidaceae). *Oecologia*, 124(4): 529-535.

Bailey, M. F., y Delph, L. F. (2007). A field guide to models of sex-ratio evolution in gynodioecious species. *Oikos*, 116(10): 1609-1617.

Baskin, J. M., y Baskin, C. C. (2020). Seed germination of gynodioecious species: theoretical considerations and a comparison of females and hermaphrodites. *Planta*, 252(5): 1-14.

Barrett, S. C. (2002). The evolution of plant sexual diversity. *Nature Reviews*, 3: 274-284.

Bawa, K. S., Perry, D. R., y Beach, J. H. (1985). Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees. Sexual systems and incompatibility mechanisms. *American journal of botany*, 72(3): 331-345.

Bell, G. (1985). On the function of flowers. *Proceedings of the Royal Society of London*, 224: 223-265.

Bell, J. M., Karron, J. D., y Mitchell, R. J. (2005). Interspecific competition for pollination lowers seed production and outcrossing rate in *Mimulus ringens*. *Ecology*, 86: 762-771.

Benavidez, A., Ordano, M. A., y Valoy, M. (2013). Autocompatibilidad y selección mediada por polinizadores sobre el despliegue floral en una población de *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). *Lilloa*, 50(1): 10-19, 2013.

Bennett, J. M., Steets, J. A., Burns, J. H., Burkle, L. A., Vamosi, J. C., Wolowski, M., Arceo-Gómez, G., Burd, M., Durka, W., Ellis, A. G., Freitas, L., Li, J., Rodger, J. G., Ştefan, V., Xia, J., Knight, T. M., y Ashman, T. L. (2020). Land use and pollinator dependency drives global patterns of pollen limitation in the Anthropocene. *Nature Communications*, 11(1): 1-6.

Bennett, J. M., Steets, J. A., Burns, J. H., Durka, W., Vamosi, J. C., ArceoGómez, G., Burd, M., Burkle, L. A., Ellis, A. G., Freitas, L., Li, J., Rodger, J. G., Wolowski, M., Xia, J., Ashman, T. L., y Knight, T. M. (2018). Data Descriptor: GloPL, a global data base on pollen limitation of plant reproduction. *Scientific Data*, 5: 180-249.

Berry, P. E., Hahn, W. J., Sytsma, K. J., Hall, J. C., y Mast, A. (2004). Phylogenetic relationships and biogeography of *Fuchsia* (Onagraceae) based on noncoding nuclear and chloroplast DNA data. *American Journal of Botany*, 91(4): 601-614.

Bierzychudek, P. (1981). Pollinator limitation of plant reproductive effort. *The American Naturalist*, 117(5): 838-840.

Biesmeijer, J. C., Roberts, S. P., Reemer, M., Ohlemuller, R., Edwards, M., Peeters, T., y Kunin, W. E. (2006). Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science*, 313(5785): 351-354.

Bond, W. J. (1994). Do mutualisms matter? Assessing the impact of pollinator and disperser disruption on plant extinction. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 344, 83-90.

Breedlove, D. E., Berry, P. E., y Raven, P. H. (1982). The Mexican and Central American species of *Fuchsia* (Onagraceae) except for Sect. *Encliandra*. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 69: 209-234.

Burd, M. (1994). Bateman's principle and plant reproduction: the role of pollen limitation in fruit and seed set. *The Botanical Review*, 60(1): 83-139.

Burd, M., Ashman, T.L., Campbell, D.R., Dudash, M.R., Johnston, M.O., Knight, T.M., Mazer, S.J., Mitchell, R.J., Steets, J.A., y Vamosi, J.C. (2009). Ovule number per flower in a world of unpredictable pollination. *American Journal of Botany*, 96: 1159-1167.

Burkle, L. A., Irwin, R. E., y Newman, D. A. (2007). Predicting the effects of nectar robbing on plant reproduction: implications of pollen limitation and plant mating system. *American Journal of Botany*, 94(12): 1935-1943.

Burns, J. H., Bennett, J. M., Li, J., Xia, J., Arceo-Gómez, G., Burd, M., y Steets, J. A. (2019). Plant traits moderate pollen limitation of introduced and native plants: a phylogenetic meta-analysis of global scale. *New Phytologist*, 223(4): 2063-2075.

Case, A. L., y Ashman, T. L. (2007). An experimental test of the effects of resources and sex ratio on maternal fitness and phenotypic selection in gynodioecious *Fragaria virginiana*. *Evolution*, 61(8): 1900-1911.

Chamorro, F. J., y Nates-Parra, G. (2015). Floral and reproductive biology of *Vaccinium meridionale* (Ericaceae) in the Eastern Andes of Colombia. *Revista de Biología Tropical*, 63(4): 1197-1212.

Caraco, T., y Kelly C. K. (1991). On the adaptive value of physiological integration in clonal plants. *Ecology*, 72: 81-93.

Caruso, C. M., Eisen, K., y Case, A. L. (2016). An angiosperm-wide analysis of the correlates of gynodioecy. *International Journal of Plant Sciences*, 177: 115-121.

Chang, S. M. (2006). Female compensation through the quantity and quality of progeny in a gynodioecious plant, *Geranium maculatum* (Geraniaceae). *American Journal of Botany*, 93(2): 263-270.

Charlesworth, D. (1999). Theories on the evolution of dioecy. In M.A. Geber, T.E. Dawson y L.F. Delph (eds.), *Gender and Sexual Dimorphism in Flowering Plants*. Springer, Berlin, 28: 33-60.

Charlesworth, D. (2002). Plant sex determination and sex chromosomes. *Heredity*, 88(2): 94-101.

Charlesworth, B., y Charlesworth, D. (1978). A model for the evolution of dioecy and gynodioecy. *The American Naturalist*, 112(988): 975-997.

Charpentier, A. (2001). Consequences of clonal growth for plant mating. *Evolutionary Ecology*, 15(4-6): 521-530.

Cheptou, P.O., y Avendaño, L.G. (2006). Pollination processes and the Allee effect in highly fragmented populations: Consequences for the mating system in urban environments. *New Phytologist*, 172: 774-783.

Chen, M., Zhao, X. Y., Zuo, X. A., Mao, W., Qu, H., y Zhu, Y. C. (2016). Effects of habitat disturbance on the pollination system of *Ammopiptanthus mongolicus* (Maxim) Cheng f. at the landscape-level in an arid region of Northwest China. *Journal of Plant Research*, 129(3): 435-447.

Chen, M., y Zuo, X. A. (2018). Pollen limitation and resource limitation affect the reproductive success of *Medicago sativa* L. *BMC Ecology*, 18(1): 1-10.

Chen, M., y Zuo, X. A. (2019). Effect of pollen limitation and pollinator visitation on pollination success of *Haloxylon ammodendron* (CA Mey.) bunge in fragmented habitats. *Frontiers in Plant Science*, 10, 327.

CONANP. (2006). Programa de Conservación y manejo Parque Nacional El Chico. Dirección General de manejo para la conservación, México DF.

Cuevas, E., Andrés, M. C., y Arroyo, J. (2020). Reproductive biology and female frequencies of two co-occurring gynodioecious *Thymus* species. *Plant Ecology*, 221: 1243-1251.

Cuevas, E., Jiménez, R., y Lopezaraiza-Mikel, M. (2014). Sex-specific reproductive components and pollination ecology in the subdioecious shrub *Fuchsia microphylla*. *Plant Biology*, 16(6): 1096-1103.

Cuevas, E., y Abarca-García, C. A. (2006). Origen, Mantenimiento y Evolución del Ginodioicismo, *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 78: 33-42.

Darwin, C. (1877). The different forms of flowers on plants of the same species. *The American Naturalists*, 12(2): 115-116.

De Cauwer, I., Arnaud, J. F., Schmitt, E., y Dufay, M. (2010). Pollen limitation of female reproductive success at fine spatial scale in a gynodioecious and wind-pollinated species, *Beta vulgaris* ssp. *maritima*. *Journal of evolutionary biology*, 23(12): 2636-2647.

Delph, L. F., y Lively, C. M. (1992). Pollinator visitation, floral display, and nectar production of the sexual morphs of a gynodioecious shrub. *Oikos*, 63: 161-170.

Díaz-Suárez, L., Faife-Cabrera, M., Díaz-Álvarez, E., Torres-Roche, E. M., y Toledo-Sotolongo, A. (2020). Limitación de polen y polinización especialista de *Rhytidophyllum lomense* (Gesneriaceae) en Topes de Collantes, Cuba. *Revista del Jardín Botánico Nacional*, 41: 131-140.

Dorken, M. E., y Van Drunen, W. E. (2010). Sex allocation in clonal plants: might clonal expansion enhance fitness gains through male function?. *Evolutionary Ecology*, 24(6): 1463-1474.

Dornier, A., y Dufay, M. (2013). How selfing, inbreeding depression, and pollen limitation impact nuclear-cytoplasmic gynodioecy: a model. *Evolution*, 67(9): 2674-2687.

Dufay, M. y E. Billard. (2012). How much better are females? The occurrence of female advantage, its proximal causes and its variation within and among gynodioecious species. *Annals of Botany*, 109: 505-519.

Dufay, M., Champelovier, P., Käfer, J., Henry, J. P., Mousset, S., y Marais, G. A. B. (2014). An angiosperm-wide analysis of the gynodioecy-dioecy pathway. *Annals of botany*, 114(3): 539-548.

Eckhart, V. M. (1991). The effects of floral display on pollinator visitation vary among populations of *Phacelia linearis* (Hydrophyllaceae). *Evolutionary Ecology*, 5: 370-384.

Eckhart, V. M. (1992). Resource compensation and the evolution of gynodioecy in *Phacelia linearis* (Hydrophyllaceae). *Evolution*, 46(5): 1313-1328.

Eckert, C. G., Samis, K. E., y Dart, S. (2006). Reproductive assurance and the evolution of uniparental reproduction in flowering plants. *Ecology and evolution of flowers*, 183, 203.

Eckert, C. G. (2002). The loss of sex in clonal plants. *Evolution Ecology*, 15: 501-20.

Forsyth, S. A. (2003). Density-dependent seed set in the Haleakala silversword: evidence for an Allee effect. *Oecologia*, 136: 551-557.

Fuchs, E. J. (2003). Effects of forest fragmentation and flowering phenology on the reproductive success and mating patterns of the tropical dry forest tree *Pachira quinata*. *Conservation Biological*, 17: 149-157.

Godin, V. N., Demyanova, E. I. (2013). On the distribution of gynodioecy in flowering plants. *Botanicheskii Zhurnal*, 98: 1465-1487.

Gómez, J. M., Abdelaziz, M., Lorite, J., Muñoz-Pajares J, A., y Perfectti, F. (2010). Changes in pollinator fauna cause spatial variation in pollen limitation. *Journal of Ecology*, 98(5): 1243-1252.

Goulson, D. (2000). Why do pollinators visit proportionally fewer flowers in large patches?. *Oikos*, 91: 485-492.

Goodwillie, C. (2005). The evolutionary enigma of mixed mating systems in plants: occurrence, theoretical explanations, and empirical evidence. *Annual Review of Ecology. Evolution and Systematics*, 36: 47-79.

González-Varo, J. P., Arroyo, J., y Aparicio, A. (2009). Effects of fragmentation on pollinator assemblage, pollen limitation and seed production of Mediterranean myrtle (*Myrtus communis*). *Biological Conservation*, 142(5): 1058-1065.

González, A. V. y Pérez, F. (2010). Pollen limitation and reproductive assurance in the flora of the coastal Atacama Desert. *International Journal of Plant Sciences*, 171: 607-614.

Handel, S. N. (1985). The intrusion of clonal growth patterns on plant breeding systems. *The American Naturalist*, 125(3): 367-384.

Harder, L. D., y Barrett, S. C. (1995). Mating cost of large floral displays in hermaphrodite plants. *Nature*, 373(9): 512-515.

Hernández-Rosales, M. (1995). Estudio florístico-fanerogámico del Parque Nacional El Chico, Estado de Hidalgo, Tesis de licenciatura. Escuela Nacional de estudios profesionales Iztacala. UNAM. México, 73.

Ishii, R., y M. Higashi. (2001). Coexistence induced by pollen limitation in flowering-plant species. *Proceedings of the Royal Society of London Series*, 268: 579-585.

Jagric, M., Jarni, K., y Brus, R. (2013). Sexual dimorphism and distribution of *Daphne laureola* L. in the Bohor area. *Acta Silvae et Ligni*, (101): 23-32.

JMP, Pro versión 16 (2021). SAS Intitute Inc., Cary, NC, 1989-2021.

Kalla, S. E., y Ashman, T. L. (2002). The effects of pollen competition on progeny vigor in *Fragaria virginiana* (Rosaceae) depend on progeny growth environment. *International Journal of Plant Sciences*, 163(2): 335-340.



Klimes, L., Klimesova, J., Hendriks, R. y Van Groenendael, J. (1997). Clonal plant architecture: a comparative analysis of form and function. In *The Ecology and Evolution of Clonal Plants*, ed. H de Kroon, J van Groenendael, 1-29.

Klinkhamer, P. G. L., De Jong, T. J., De Bruyn, G. J. (1989). Plant size and pollinator visitation in *Cynoglossum officinale*. *Oikos*, 54: 201-204.

Knight, T.M. (2003). Floral density, pollen limitation, and reproductive success in *Trillium grandiflorum*. *Oecologia*, 137: 557-563.

Knight, T. M., Steets, J. A., Vamosi, J. C., Mazer, S.J., Burd, M., Campbell, D. R., Dudash M. R., Johnston M.O., Mitchell R.J y Ashman T.L, (2005). Pollen Limitation of plant reproduction: Pattern and process. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 3: 467-97.

Knight, T. M., Steets, J. A., y Ashman, T. L. (2006). A quantitative synthesis of pollen supplementation experiments highlights the contribution of resource reallocation to estimates of pollen limitation. *American Journal of Botany*, 93(2): 271-277.

Koski, M. H., Ison, J. L., Padilla, A., Pham, A. Q., y Galloway, L. F. (2018). Linking pollinator efficiency to patterns of pollen limitation: small bees exploit the plant–pollinator mutualism. *Proceedings of the Royal Society*, 285: 1-9.

Larson, B. M., y Barrett, S. C. (2000). A comparative analysis of pollen limitation in flowering plants. *Biological journal of the Linnean Society*, 69(4): 503-520.

Lewis, D. (1941). Male sterility in natural populations of hermaphrodite plants. *The New Phytologist*, 40: 56-63.

Lloyd, D. G. (1975). The maintenance of gynodioecy and androdioecy in angiosperms. *Genetica*, 45(3): 325-339.

López-Villavicencio, M., Genton, B. J., Porcher, E., y Shykoff, J. A. (2005). The role of pollination level on the reproduction of females and hermaphrodites in the gynodioecious plant *Gypsophila repens* (Caryophyllaceae). *American Journal of Botany*, 92(12): 1995-2002.

Martén-Rodríguez, S., y Fenster, C. B. (2010). Pollen limitation and reproductive assurance in *Antillean gesnerieae*: a specialists vs. generalist comparison. *Ecology*, 91(1): 155-165.

Maurice, S., y Fleming, T. H. (1995). The effect of pollen limitation on plant reproductive systems and the maintenance of sexual polymorphisms. *Oikos*, 55-60.

Matsumoto, T., K. Takakura., y T. Nishida. (2011). Alien Dandelion displace a native related species through interspecific pollen transfer. *Ecological Research Monographs*. Springer, Tokyo, 83-93.

Mamut, J., Xiong, Y. Z., Tan, D. Y., y Huang, S. Q. (2014). Pistillate flowers experience more pollen limitation and less geitonogamy than perfect flowers in a gynomonoeious herb. *New Phytologist*, 201(2): 670-677.

McCauley, D. E., y Brock, M. T. (1998). Frequency-dependent fitness in *Silene vulgaris*, a gynodioecious plant. *Evolution*, 52(1): 30-36.

McCauley, D. E., y Taylor, D. R. (1997). Local population structure and sex ratio: evolution in gynodioecious plants. *The American Naturalist*, 150(3): 406-419.

Merrett, M.F., Robertson, A.W. y Peterson, P.G. (2007). Pollination performance and vulnerability to pollination breakdown of sixteen native shrub species. *New Zealand Journal of Botany*, 45: 579-59.

Miyake, K., y Olson, M. S. (2009). Experimental evidence for frequency dependent self-fertilization in the gynodioecious plant, *Silene vulgaris*. *Evolution*, 63(6): 1644-1652.

Montaldo, N. H., Mantese, A. I., y Roitman, G. (2017). Sistema reproductivo y polinización de especies leñosas en una selva subtropical invadida por plantas exóticas. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 52(4): 675-687.

Mori, Y., Nagamitsu, T., y Kubo, T. (2009). Clonal growth and its effects on male and female reproductive success in *Prunus ssiori* (Rosaceae). *Population Ecology*, 51(1): 175-186.

Myers, N., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., Da Fonseca, G. A., y Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403(6772): 853-858.

Obayashi, K. (2002). Genetic diversity and outcrossing rate between undisturbed and selectively logged forests of *Shorea curtisii* (Dipterocarpaceae) using microsatellite DNA analysis. *International Journal of Plant Sciences*, 163: 151-158.

Peakall R., Beattie A. J. (1991). The genetic consequences of worker ant pollination in a self-compatible, clonal orchid. *Evolution*, 45:1837-48.

Porcher, E., y Lande, R. (2005). The evolution of self-fertilization and inbreeding depression under pollen discounting and pollen limitation. *Journal of evolutionary biology*, 18(3): 497-508.

Ramsey, M. (1995). Ovule pre-emption and pollen limitation in a self-fertile perennial herb (*Blandfordia grandiflora*, Liliaceae). *Oecologia*, 103(1): 101-108.

Ramsey, M., y Vaughton, G. (2000). Pollen quality limits seed set in *Burchardia umbellata* (Colchicaceae). *American Journal of Botany*, 87(6): 845-852.

Rathcke, B. (1983). Competition and facilitation among plants for pollination. *Pollination Biology*, 305, 329.

Renner, S. S. (2014). The relative and absolute frequencies of angiosperm sexual systems: dioecy, monoecy, gynodioecy, and an updated online database. *American Journal of botany*, 101(10): 1588-1596.

Renner, S. S., y Ricklefs, R. E. (1995). Dioecy and its correlates in the flowering plants. *American journal of botany*, 82(5): 596-606.

Rivkin, L. R., Case, A. L., Caruso, C. M. (2016). Why is gynodioecy a rare but widely distributed sexual system? Lessons from the Lamiaceae. *New Phytologist*, 211(2): 688-96.

Rocha, O. J. y Aguilar, G. (2001). Reproductive biology of the dry forest tree *Enterolobium cyclocarpum* (Guanacaste) in Costa Rica: a comparison between

trees left in pastures and trees in continuous forest. *American Journal of Botany*, 88: 1607-1614.

Sakai, A., Wagner, W. L., Ferguson, D. M., Herbst, D. R. (1995). Origins of dioecy in the Hawaiian flora. *Ecology*, 76: 2517-2529.

Saumitou-Laprade, P., Cuguen, J., Vernet, P. (1994). Cytoplasmic male sterility in plants: molecular evidence and the nucleocytoplasmic conflict. *Trends in Ecology and Evolution*, 9: 431-435.

Shykoff, J. A., Kolokotronis, S. O., Collin, C. L., y López-Villavicencio, M. (2003). Effects of male sterility on reproductive traits in gynodioecious plants: a meta-analysis. *Oecologia*, 135(1): 1-9.

Silander, J. A. J. (1985). Microevolution in clonal plants. *Population biology and evolution of clonal organisms*, 107-152.

Spigler, R. B., y Ashman, T. L. (2012). Gynodioecy to dioecy: are we there yet? *Annals of Botany*, 109(3): 531-543.

Steffan-Dewenter, I., y T. Tschardt. (1999). Effects of habitat isolation on pollinator communities and seed set. *Oecologia*, 121: 432-440.

Trejo, A. O. (2019). Consecuencias de la propagación clonal y del género en el número de semillas por fruto y su viabilidad en la planta ginodioica *Fuchsia microphylla* Kunth (Onagraceae). Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo Área académica de Biología, México, Hidalgo, 1-28.

Vallejo-Marin, M. y Uyenoyama, M. K. (2004). On the evolutionary self-incompatibility: incomplete reproductive compensation due to pollen limitation. *Evolution*, 58 (9): 1924-1935.

Vallejo-Marín, M., Dorken, M. E., y Barrett, S. C. (2010). The ecological and evolutionary consequences of clonality for plant mating. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 41: 193-213.

Van der Meer, S., Sebrechts, T., Vanderstraeten, S., y Jacquemyn, H. (2017). The female advantage in natural populations of gynodioecious *Plantago coronopus*: seed quantity vs. offspring quality. *Oecologia*, 185: 653-662.

Varga, S. (2021). Female advantage in gynodioecious plants: A meta-analysis focused on seed quality. *Plant Biology*, 23(5): 695-701.

Wang, H., Barrett, S. C., Li, X. Y., Niu, Y., Duan, Y. W., Zhang, Z. Q., y Li, Q. J. (2021). Sexual conflict in protandrous flowers and the evolution of gynodioecy. *Evolution*, 75(2): 278-293.

Webb, C. J. (1999). Empirical studies: evolution and maintenance of dimorphic breeding systems. In M.A. Geber, T.E. Dawson y L.F. Delph (eds.), *Gender and Sexual Dimorphism in Flowering Plants*. Springer, Berlin, 61-95.

Weiblen, G. D., Oyama, R. K., Donoghue, M. J. (2000). Phylogenetic analysis of dioecy in monocotyledons. *American Naturalist*, 155: 46-58.

Widén, M. (1992). Sexual reproduction in a clonal, gynodioecious herb *Glechoma hederacea*. *Oikos*, 430-438.

Widén, B. y M. Widén. (1990). Pollen limitation and distance-dependent fecundity in females of clonal gynodioecious herb *Glechoma hederacea* (Lamiaceae). *Oecologia*, 83: 191-196.

Willi, Y. (2007). Inter-specific competitive stress does not affect the magnitude of inbreeding depression. *Evolutionary Ecology Research*, 9: 959-974.

Williams, C. F., Kuchenreuther, M. A., y Drew, A. (2000). Floral dimorphism, pollination, and self-fertilization in gynodioecious *Geranium richardsonii* (Geraniaceae). *American Journal of Botany*, 87(5): 661-669.

Wilson, W. G. (2004). Pollen limitation of plant reproduction: ecological and evolutionary causes and consequences. *Ecology*, 85 (9): 2408-2421.

Wise, M. J., Vu, J. V., y Carr, D. E. (2011). Potential ecological constraints on the evolution of gynodioecy in *Mimulus guttatus*: relative fecundity and pollinator behavior in a mixed-sex population. *International Journal of Plant Sciences*, 172(2): 199-210.

Wolowski, M., Ashman, T. L., y Freitas, L. (2014). Meta-analysis of pollen limitation reveals the relevance of pollination generalization in the Atlantic forest of Brazil. *PLOS ONE*, 9(2): e89498.

Yao, H., y Luo, Y. B. (2011). Pollen limitation and variation in floral longevity in gynodioecious *Potentilla tanacetifolia*. *Journal of Systematics and Evolution*, 49(6): 539-545.

Zhang, B., y Claßen-Bockhoff, R. (2019). Sex-differential reproduction success and selection on floral traits in gynodioecious *Salvia pratensis*. *BMC Plant Biology*, 19(1): 1-10.

Zhang, Y. W., Wang, Y., Yu, Q., y Zhao, J. M. (2008). Sex expression, female frequency, and reproductive output in a gynodioecious clonal herb, *Glechoma longituba* (Lamiaceae). *Plant ecology*, 199(2): 255-264.