

**UNIVERSIDAD VERACRUZANA**  
**CENTRO DE INVESTIGACIONES TROPICALES**



**Universidad Veracruzana**

**“Visitantes florales y morfología floral de dos especies de *Echeveria* DC  
(Crassulaceae) epífitas del centro de Veracruz”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN ECOLOGÍA TROPICAL**

**PRESENTA**

**HÉCTOR DAVID JIMENO SEVILLA**

**Comité Tutorial:**

**Dra. Angélica Hernández Ramírez**

**Dra. Silvana Marten Rodríguez**

**Dr. Juan Francisco Ornelas Rodríguez**

Xalapa, Veracruz, Marzo, 2018.



Apunte de campo ilustrando el hábitat de *Echeveria nebularum*, epífita sobre *Alnus jorullensis*, en el Cofre de Perote, región central de Veracruz. Arte D. Jimeno

*“Nothing in biology makes sense, except in the light of evolution”*

T. Dobshansky.

## DECLARACIÓN

El trabajo de investigación contenido en esta tesis, fue efectuado por Héctor David Jimeno Sevilla, como estudiante de Maestría Tropical bajo la dirección de la Dra. Angélica María Hernández Ramírez.

La investigación reportada en esta tesis no ha sido utilizada anteriormente para obtener otros grados académicos, ni será para tales fines en el futuro.



Biól. Héctor David Jimeno Sevilla

Estudiante



#### ACTA DE APROBACIÓN DE TESIS

El presente documento titulado “Visitantes florales y morfología floral de dos especies de Echeverias DC (Crassulaceae) epífitas del centro de Veracruz” realizado por el Biól. Héctor David Jimeno Sevilla, ha sido aprobado y aceptado como requisito parcial para obtener el grado de **Maestro en Ecología Tropical**.

Tutor-Director: Dra. Angélica María Hernández Ramírez

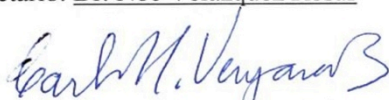
#### SINODALES



Presidente Dr. Thorsten Krömer



Secretario: Dr. Noé Velázquez Rosas



Vocal: Dr. Carlos Hernán Vergara Briceño

## Dedicatoria

A todos los biólogos apasionados que con su trabajo diario, contribuyen a dilucidar los secretos del mundo natural.

## Agradecimientos

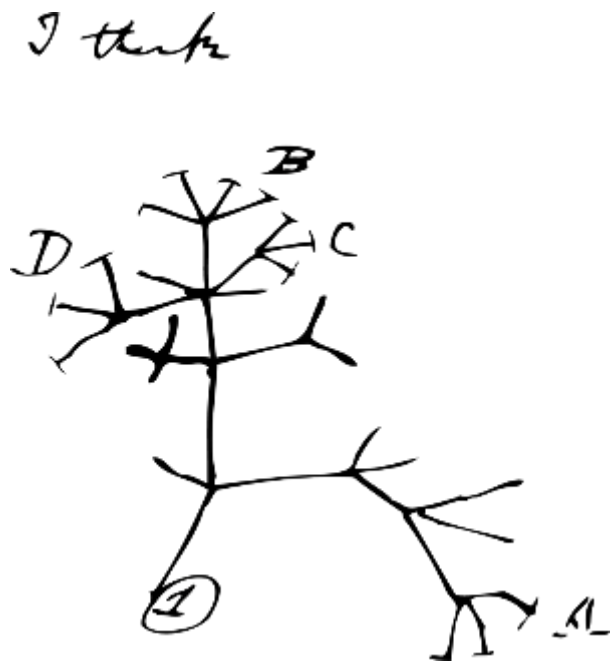
A Angélica Hernández por su paciencia, consejos y su asesoría.

A mi comité a Juan Francisco Ornelas y Silvana Marten por sus consejos y revisiones al manuscrito.

A los lectores de este trabajo Carlos H. Vergara Briceño, Thorsten Krömer y Noé Velázquez Rosas, por sus comentarios y disposición.

A Roberto Castro-Cortés, Amparo Albalat Botana, Sergio Ramos, Sarahí Días, Miguel Cházaro, Miguel Castañeda, y Thor Morales por su ayuda en el trabajo de campo, a Carolina Elizondo Salas y Erasmo Cázares Hernández por la revisión y comentarios al documento.

Este estudio fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT, número de beca 376753)



C. Darwin

## Resumen

Se describe la morfología floral, patrones de producción de néctar durante el día y visitantes florales de *Echeveria rosea* Lindley y *E. nebularium* Moran & Kimanch (Crassulaceae) en dos bosques templados del centro de Veracruz, México. Ambas especies fueron visitadas exclusivamente por colibríes. *Echeveria nebularium* fue visitada exclusivamente por el colibrí orejiblanco (*Basilinna leucotis*), mientras que *E. rosea* fue visitada por este mismo colibrí y el colibrí alicastaño (*Lamprolaima rhami*) existiendo diferencias en el comportamiento de visita entre las dos especies. Los resultados obtenidos en este estudio muestran que tanto *E. rosea* como *E. nebularium*, presentan una especialización a la polinización por colibríes (troquilofilia), caracterizada por la expresión de caracteres como corolas largas y profundas, en forma de tubo de color amarillo, y cáliz de color rojo y el estigma y las anteras insertadas por debajo del nivel de la apertura de la corola. Estos caracteres probablemente promueven el contacto entre la frente del colibrí y los estigmas y anteras de la flor durante la visita para efectuar el consumo de néctar. El volumen del néctar acumulado y la cantidad de azúcar variaron en el tiempo, aumentaron temprano en la mañana y permanecieron constante a lo largo del día en ambas especies. Debido a que ambas especie de *Echeveria* son endémicas a México y su hábito epífito, éstas son especies susceptibles de desaparecer por la pérdida del hábitat. La polinización de plantas con flores por parte de animales representa un servicio ecosistémico de gran importancia para la humanidad, el cual tiene que ser valorado para así generar estrategias para la conservación de estas frágiles y vitales interacciones.

## Índice

Capítulo 1 .....	1
1. Introducción general .....	1
Capítulo 2 .....	5
Rasgos morfológicos y del néctar de las flores de <i>Echeveria rosea</i> Lindley (Crassulaceae) ligados a la polinización por colibríes en el centro de Veracruz, México.	5
2. Introducción.....	6
2.1. Objetivo general .....	7
2.1.1 Objetivos particulares .....	7
2.2. Métodos .....	8
2.2.1. Área de estudio .....	8
2.2.2. Especie estudiada.....	9
2.2.3 Diseño de muestreo y análisis de datos .....	10
2.2.3.1. Morfología floral.....	10
2.2.3.2. Visitantes florales .....	11
2.2.3.3. Producción de néctar.....	12
2.2.3.4. Producción natural de frutos .....	13
2.2.3.5. Sistema reproductivo .....	13
2.3. Resultados.....	14
2.3.1. Morfología floral. ....	14
2.4. Discusión .....	22
Capítulo 3 .....	26
Visitantes florales de <i>Echeveria nebularium</i> Moran & Kimmach (Crassulaceae) y rasgos morfológicos y del néctar, en una población en el Cofre de Perote, Veracruz, México.	26
3. Introducción.....	27
3.1. Objetivo general .....	29
3.1.1. Objetivos particulares .....	29
3.2. Método.....	29
3.2.1. Área de estudio .....	29
3.2.2. Morfología floral .....	30



3.2.3. Visitantes florales .....	30
3.3. Resultados.....	32
3.3.1. Morfología floral .....	32
3.3.2. Visitantes florales .....	33
3.3.3. Patrón de producción de néctar.....	36
3.4. Discusión .....	37
3.4.1. Morfología floral.....	37
3.4.2. Producción de néctar.....	37
3.4.3. Visitantes florales .....	38
3.4.4. Conservación .....	38
Capítulo 4. ....	40
Discusión y conclusión general .....	40
4.1. Morfología floral .....	41
4.2. Visitantes florales .....	41
4.3. Producción de néctar .....	41
4.5. Conclusión general .....	43
Literatura citada.....	45

## Índice de figuras

<b>Fig. 1.</b> Bosque de pino-encino hábitat de <i>Echeveria rosea</i> en la región central de Veracruz, en el Cerro de la Magdalena, Mpio. de Tlacolulan. ....	8
<b>Fig. 2 y 3.</b> Hábito epífita de <i>Echeveria rosea</i> ; Detalle de la flor de <i>E. rosea</i> .....	9
<b>Fig. 4.</b> Medidas morfométricas en <i>Echeveria rosea</i> . ....	11
<b>Fig. 5.</b> Probabilidad de que <i>Lamprolaima rhami</i> e <i>Basilinna leucotis</i> visiten las plantas de <i>Echeveria rosea</i> . ....	16
<b>Fig. 6.</b> <i>Lamprolaima rhami</i> visitando <i>Echeveria rosea</i> en bosque de pino-encino en el centro de Veracruz, México. ....	18
<b>Fig. 7.</b> <i>Lamprolaima rhami</i> visitando <i>Echeveria rosea</i> .....	18
<b>Fig. 10.</b> Frutos de <i>Echeveria rosea in situ</i> . ....	21
<b>Fig. 11.</b> Distribución conocida de <i>Echeveria rosea</i> . ....	25
<b>Fig. 12.</b> A) Hábito epífita de <i>Echeveria nebularium</i> . B) Hábitat de <i>E. nebularium</i> , sobre <i>Alnus jorullensis</i> en la localidad de Tembladeras, Cofre de Perote, región central de Veracruz. C) Detalle de la flor de <i>E. nebularium</i> . ....	28
<b>Fig. 13.</b> Medidas morfométricas en <i>Echeveria nebularium</i> . ....	30
<b>Fig. 14.</b> Patrón de visitas florales de <i>Basilinna leucotis</i> en los intervalos de observación a lo largo del día, en <i>E. nebularium</i> .....	34
<b>Fig. 15.</b> Colibrí orejiblanco <i>Basilinna leucotis</i> , visitando las flores de <i>Echeveria nebularium</i> . ....	35
<b>Fig. 16.</b> Néctar acumulado producido por <i>Echeveria nebularium</i> . A) Volumen. B) Cantidad de azúcar, por intervalo de tiempo. ....	36

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Medidas morfométricas de los caracteres florales de <i>Echeveria rosea</i> Lindley (Crassulaceae) en el Centro de Veracruz.....	15
<b>Tabla 2.</b> Coeficientes de correlación entre los caracteres florales en <i>Echeveria rosea</i> Lindley (Crassulaceae) en el centro de Veracruz.....	15
<b>Tabla 3.</b> Comportamiento de los visitantes florales para <i>Echeveria rosea</i> Lindley (Crassulaceae) en el Centro de Veracruz. ** $P < 0.001$ .....	17
<b>Tabla 4.</b> Medidas morfométricas de los caracteres florales de <i>Echeveria nebularum</i> Moran & Kimmack (Crassulaceae) en la región central de Veracruz.....	32
<b>Tabla 5.</b> Coeficientes de correlación entre los caracteres florales en <i>Echeveria nebularum</i> Moran & Kimmack (Crassulaceae) en la región central de Veracruz.....	33
<b>Tabla 6.</b> Comportamiento de <i>Basilinna leucotis</i> al visitar las flores <i>Echeveria nebularum</i> Moran & Kimmack (Crassulaceae) en la región central de Veracruz.....	34
<b>Tabla 7.</b> Cuadro comparativo del volumen, cantidad de azúcar y porcentaje de azúcar, en <i>Echeveria rosea</i> , <i>E. nebularum</i> y <i>E. gibbiflora</i> .....	38

## Capítulo 1

### 1. Introducción general

La polinización es la transferencia del grano de polen al estigma del gineceo de una planta, este proceso resulta crucial para la reproducción sexual de las plantas con flores (Kearns y Inouye 1993).

La mayoría de las plantas con flores dependen de los animales para la transferencia del polen, sin embargo estos visitantes no obtienen un beneficio directo por el hecho de polinizarlas, sino son atraídos por una recompensa. Los atrayentes más comunes para estos animales polinizadores son el néctar, el polen y los aceites (Abrol, 2012). El 87.5% de las angiospermas son polinizadas exclusivamente por animales (Ollerton *et al.*, 2011).

El néctar es el recurso más común con el que las plantas polinizadas por animales recompensan a sus visitantes para transferir su polen (Proctor *et al.*, 1996; Nicolson *et al.*, 2007). Este es producido por el floema (Kearns y Inouye, 1993), y consistente en una solución de sacarosa, fructosa y glucosa en distintas proporciones (Baker y Baker, 1982) y cantidades según las diferentes especies de plantas (Percival, 1965). El polen también es uno de las recompensas florales más valiosas para muchos polinizadores, siendo importante en la dieta de los visitantes florales, y un componente esencial de la reproducción sexual y del flujo de genes entre individuos de las plantas visitadas (Kearns y Inouye, 1993). Los síndromes de polinización son conjuntos de características florales, asociadas con la atracción de grupos específicos de animales polinizadores (Fenster *et al.*, 2004). Estas mismas características pueden presentarse en diferentes especies no emparentadas entre sí por una evolución convergente, de tal manera que especies sin relación filogenética cercana pueden atraer un mismo grupo de polinizadores; los cuales a su vez deben contar con habilidades y preferencias por las características morfológicas y fisiológicas de la planta (Faegri y van derl Pijil, 1979; Willmer, 2011).

En la familia Crassulaceae se reportan cinco principales síndromes de polinización: i) Melitofilia (polinización por abejas), ii) Psicofilia (polinización por mariposas), iii)

Esfingofilia (polinización por polillas nocturnas de la familia Sphingidae), iv) Miofilia (polinización por moscas), y v) Ornitofilia (polinización por aves) (Vogel, 1954; Thiede y Eggli, 2006; Jimeno-Sevilla *et al.*, 2013).

La familia Crassulaceae está conformada por plantas generalmente suculentas; sus flores presentan simetría radial, son completas, por lo usual pentámeras y a veces tetrámeras; presentan uno o dos verticilos de estambres; el gineceo es súpero, con los carpelos libres y en el mismo número que sépalos y pétalos; presenta una escama nectarífera en la base de cada carpelo. La integran cerca de 1500 especies distribuidas en aproximadamente 33 géneros (Thorne, 2000). México es el principal centro de diversificación del grupo con aproximadamente 305 especies (Cronquist, 1981; Thiede, 1995). En el estado de Veracruz se encuentran cerca de 50 especies de crasúláceas, ocupando el tercer lugar de diversidad para México, se distribuyen principalmente en sitios montañosos con clima templado húmedo (H. D. Jimeno-Sevilla, datos no publicados).

La mayoría de las especies del grupo se localizan en sitios con afloramientos rocosos tales como riscos, laderas escarpadas, paredes más o menos verticales de cañadas y cañones, o en su defecto se presentan como epífitas (Pérez-Calix y Franco-Martínez, 2004). Lo rasgos morfológicos y fisiológicos que les permiten adaptarse a un medio ambiente xérico, incluyen la suculencia de sus hojas y tallos, la disposición arrosetada de sus hojas, cutícula gruesa, una cera o pubescencia protectora así como el metabolismo ácido de las crasúláceas (MAC) (Jimeno-Sevilla, 2008).

La mayoría de los trabajos realizados en la familia Crassulaceae son de tipo taxonómico y sistemático (Clausen, 1959; Walther, 1972; Meyrán y López, 2003; Pérez-Calix, 2008; Carrillo *et al.*, 2009). No obstante, el conocimiento de la biología reproductiva de la familia y sus polinizadores aún es escaso (Parra *et al.*, 1993; Thiede y Eggli, 2006; Jimeno-Sevilla *et al.*, 2013). Algunos ejemplos de estos estudios son los de Johnson *et al.* (1993) en Sudáfrica con *Crassula fascicularis* Lam. en donde reportan que es polinizada por una polilla nocturna, y el de Wyatt y Stoneburner (1981) con *Diamorpha smallii* Britton, la cual presenta una especialización hacia la polinización por hormigas. Además, Jimeno-Sevilla *et al.* (2013) mencionan la ocurrencia de abejas en *Sedum praealtum* A. DC. y *Villadia elongata* (Rose) R.T. Clausen, y Aigner (2003, 2005)

reporta a varias especies del género *Dudleya* con un síndrome generalista, cuyas flores son visitadas por diversos grupos como lepidópteros, dípteros, himenópteros y colibríes.

El estudio de la biología reproductiva de las especies mexicanas de la familia Crassulaceae es incipiente. Walther (1972) en su monografía para el género *Echeveria*, menciona que dada la forma tubular de las flores y la coloración rojiza de la mayoría de las especies, estas eran polinizadas por colibríes. Sin embargo, pocos estudios se han realizado al respecto. Los principales trabajos se han focalizado en *Echeveria gibbiflora* DC en el Pedregal de San Ángel, en la Ciudad de México (Parra, 1988; Parra *et al.*, 1993; Eguiarte *et al.*, 1994; Parra *et al.*, 1998; Mejía-Alva, 2014). Estos trabajos describen de manera detallada la biología reproductiva de la especie y los visitantes florales. *Echeveria gibbiflora* es una planta que presenta flores rojas, en tubo, con características de un síndrome de polinización por colibríes y es visitada principalmente por el colibrí pico ancho (*Cynanthus latirostris*) (Parra-Tabla, 1988; Eguiarte *et al.*, 1994; Vargas y Parra-Tabla, 2002). La flor permanece abierta entre 7 y 8 días, periodo en el que debe de ser polinizada (Parra-Tabla, 1988). Las flores no presentan ninguna separación temporal en la maduración de los órganos sexuales (Parra-Tabla, 1988). La planta posee un patrón ontogénico en la producción de néctar relacionado con el lugar que ocupa cada flor dentro de la inflorescencia, existiendo mayor producción de néctar en las flores basales y disminuyendo conforme aumenta la distancia apical (Mejía-Alva, 2014).

Dada la escasez de información en la polinización del género *Echeveria*, el presente trabajo busca contribuir a la generación de conocimiento sobre la biología floral y los visitantes florales de dos especies epífitas de *Echeveria* endémicas a México, de bosques templados en el centro del estado de Veracruz.

Las preguntas de investigación a responder son las siguientes:

- ¿Quiénes son los polinizadores de *Echeveria rosea* y *E. nebularium*?
- ¿Los visitantes florales de *Echeveria rosea* y *E. nebularium* son consistentes con el síndrome de polinización que presenta la planta?
- ¿Cuál es el patrón de producción de néctar de *Echeveria rosea* y *E. nebularium*?

- ¿Existen relaciones morfológicas entre los diferentes caracteres florales de *Echeveria rosea* y *E. nebularium* que influya en la capacidad de los polinizadores de transferir el polen?

Este documento se divide en cuatro capítulos: en el primero se presenta la introducción general. El segundo capítulo representa el estudio sobre la morfología floral, patrones de producción de néctar, visitantes florales y producción de frutos bajo condiciones naturales en una población de *Echeveria rosea* Lindley en el Municipio de Tlacolulan, Veracruz. En el tercer capítulo se describe la morfología floral, patrones de producción de néctar y visitantes florales bajo condiciones naturales en una población de *Echeveria nebularium* Moran & Kimnach (Crassulaceae) en el Cofre de Perote, Veracruz, México. En el cuarto y último capítulo se discute y concluye de manera general aspectos de la morfología floral, visitantes florales, producción de néctar y la conservación de las interacciones de *E. rosea* y *E. nebularium*.

## Capítulo 2

**Rasgos morfológicos y del néctar de las flores de *Echeveria rosea* Lindley (Crassulaceae) ligados a la polinización por colibríes en el centro de Veracruz, México.**

**Morphological and Nectar Traits in *Echeveria Rosea* Lindley (Crassulaceae) Linked to Hummingbird Pollination in Central Veracruz, Mexico.**

(publicado en *Haseltonia* 19:17-25. 2014)



## 2. Introducción

En las plantas polinizadas por animales, el éxito reproductivo depende de la frecuencia y la calidad de la interacción con sus polinizadores (Karron *et al.*, 2009; Mitchell *et al.*, 2009; Castellanos *et al.*, 2003, y sus referencias). Se ha propuesto que los polinizadores son agentes selectivos importantes en la evolución de los caracteres florales asociados con la atracción y recompensa (Conner y Via, 1993; Conner, 1997; Johnson y Steiner, 2000; Castellanos *et al.*, 2003; Aigner, 2004, 2005). Si varios visitantes florales son efectivos en el transporte de polen entre plantas de la misma especie, la selección debería de favorecer los caracteres florales que promueven la especialización de una especie particular de polinizador o un grupo funcional (Conner y Via, 1993, Conner, 1997, Castellanos *et al.*, 2003, Fenster *et al.*, 2004). Bajo este escenario, diferentes tipos de polinizadores podrían seleccionar diferentes caracteres florales o ejercer diferente presión selectiva sobre un mismo carácter, por ejemplo, el largo y la apertura estrecha de la corola en la polinización por colibríes contra una corola con apertura amplia por insectos (Nilsson, 1988; Murcia, 1990; Campbell *et al.*, 1991; Conner y Via, 1993; Conner, 1997; Castellanos *et al.*, 2003; Aigner, 2004, 2005; Mitchell *et al.*, 2009).

La familia Crassulaceae está conformada por cerca de 1500 spp. (Thiede y Eggli, 2006), y estas presentan una gran variedad de características florales con potencial para atraer a un diverso espectro de polinizadores (Jimeno-Sevilla *et al.*, 2013). Sin embargo, la biología floral de la familia esta pobremente estudiada y se restringe en gran medida a establecer los tipos florales y los síndromes de polinización (Thiede y Eggli, 2006). La familia está presente en prácticamente todo el mundo, con cinco principales centros de diversificación: México (ca. 330 spp.), el Mediterráneo (ca. 100 spp), Macaronesia (ca. 63 spp.), África del Sur (ca. 250 spp), y el este de Asia (ca. 300 spp.) (Webb, 1964; Ohba, 1978; Thiede y Eggli, 2006; Mort *et al.*, 2002). La mayoría de las especies tiene preferencias por sitios con afloramientos rocosos tales como riscos, laderas escarpadas, paredes más o menos verticales de cañones, o en su defecto, epífitas en ambientes más húmedos (Pérez-Calix y Franco-Martínez, 2004). El epifitismo se presenta tan sólo en siete especies en tres géneros (*Echeveria*, *Kalanchoe* y *Sedum*) (Kress, 1989; Thiede y Eggli, 2006).

*Echeveria* es un género neotropical compuesto por aproximadamente 145 especies. México es su principal centro de diversificación, encontrándose en el país el 81% de las

especies (Parra *et al.*, 1993; Jimeno-Sevilla, 2008). Las flores del género *Echeveria* por su corola en forma de tubo, elongada y profunda, nectarios bien desarrollados con cavidades nectariales profundas en los pétalos y en su mayoría de colores rojizos brillantes, corresponden a un típico síndrome de polinización por colibríes (Walther, 1972; Parra *et al.*, 1993, 1998; Thiede y Eggli, 2006; Jimeno-Sevilla, 2008; Jimeno-Sevilla *et al.*, 2013).

## **2.1. Objetivo general**

Describir la morfología floral, patrones de producción de néctar, visitantes florales y producción de frutos bajo condiciones naturales en una población de *Echeveria rosea* Lindley (Crassulaceae) en el centro de Veracruz, México.

### **2.1.1 Objetivos particulares**

- 1.- Describir la morfología floral y los patrones de asociación entre caracteres florales en *Echeveria rosea*.
- 2.- Cuantificar la cantidad de néctar producido a lo largo del día.
- 3.- Registrar los visitantes florales diurnos y su comportamiento de forrajeo en las flores.
- 4.- Conocer el sistema reproductivo de *Echeveria rosea*
- 5.- Estimar la producción de frutos bajo un régimen de polinización natural.

## 2.2. Métodos

### 2.2.1. Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en los periodos diciembre - enero 2010 - 2011 y 2011 - 2012, en el cerro de “La Magdalena”, municipio de Tlacolulan, en el centro de Veracruz, México. Las coordenadas geográficas son 19° 42' 47.46" N, 97° 0' 21.98" O a 2626 m.s.n.m. El clima es C(fm)b(e)g, en la clasificación de Köppen, templado húmedo con lluvias todo el año (Soto, 1986). La vegetación corresponde a un bosque de pino-encino, los principales componentes arbóreos son *Alnus acuminata*, *Berberis moranensis*, *Crataegus mexicana*, *Pinus patula*, *P. pseudoestrobis*, *Prunus brachybotrya*, *Quercus laurina*, *Q. polymorpha*, *Sambucus nigra* ssp. *canadensis*, *Viburnum microcarpum* y *V. tiliifolium*. La composición de las epífitas incluye a *Nelsonianthus tapianus*, *Sedum* cf. *guatemalense*, *Peperomia berlandieri*, *Pleopeltis mexiana*, *Polypodium arcanum* var. *arcanum*, *P. aff. californicum* y *Valeriana* sp. (Fig. 1)



**Fig. 1.** Bosque de pino-encino hábitat de *Echeveria rosea* en la región central de Veracruz, en el Cerro de la Magdalena, Mpio. de Tlacolulan. Foto D. Jimeno.

### 2.2.2. Especie estudiada

*Echeveria rosea* Lindley (Crassulaceae) es una planta suculenta principalmente epífita y endémica de México. Sus hojas están dispuestas en rosetas terminales en tallos de 30 a más de 60 cm de longitud, posee una inflorescencia en racimo equilateral, ascendente o colgante, sus flores son de color amarillo, con los sépalos usualmente rojizos. Crece en bosques templados de pino-encino y mesófilos de montaña en los estados de Chiapas, Guerrero, Hidalgo, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luís Potosí, Tamaulipas y Veracruz. En Veracruz, es la crasulácea más abundante y con una mayor distribución altitudinal (700-3400 m.s.n.m.) (Jimeno-Sevilla, 2008) (Fig. 2 y 3).



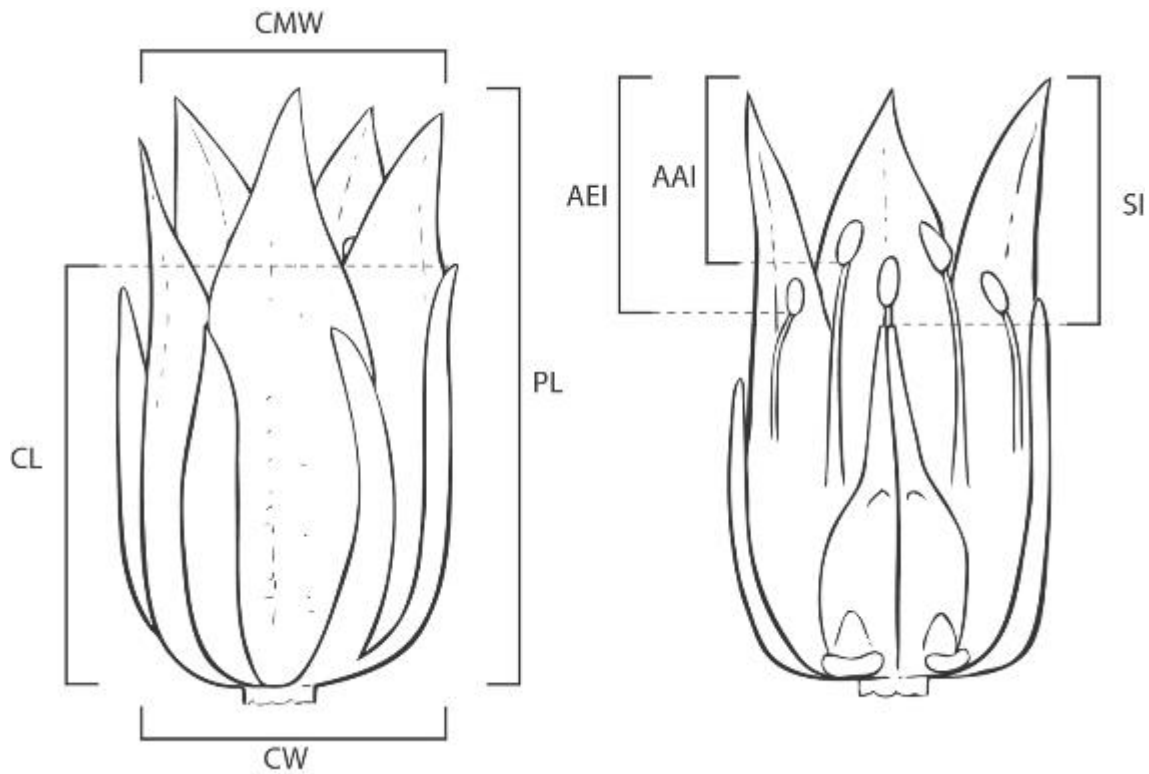
Fig. 2 y 3. Hábito epífita de *Echeveria rosea*; Detalle de la flor de *E. rosea*. Fotos D. Jimeno.

## 2.2.3 Diseño de muestreo y análisis de datos

### 2.2.3.1. Morfología floral

La morfología floral influye en el tipo de polinizadores que visitan una flor y lo eficiente que son para transferir el polen (Fukuda *et al.*, 2001; Fenster *et al.*, 2004). Por lo que cambios en la morfología floral de órganos sexuales primarios como el gineceo o el androceo, o en caracteres sexuales secundarios como el ancho de la corola, puede alterar las relaciones entre la planta y el polinizador e influir en las dinámicas de la remoción o deposición del polen (Cresswell, 2000; Fetscher, 2001; Fukuda *et al.*, 2001; Cesaro *et al.*, 2004). En este sentido el determinar si existen relaciones entre los diferentes caracteres florales, estos pudiesen presentar asociación entre la morfología floral y la capacidad de los colibríes de transferir el polen (Nilsson, 1988; Castellanos *et al.*, 2003), como el ancho de la corola (Murcia, 1990; Campbell, *et al.*, 1991; Castellanos *et al.*, 2003; Hernández y Ornelas, 2007), o la posición del estigma (Campbell *et al.*, 1994; Castellanos *et al.*, 2003).

Se colectó al azar una flor por planta de 30 individuos diferentes y se realizaron las siguientes mediciones con un Vernier (0,1 mm): (1) PL: longitud del perianto, (2) CMW: apertura de la corola, (3) CL: longitud del cáliz, (4) CW: ancho del cáliz, (5) SI: inserción del estigma, (6) AEI: inserción de la antera antepétala, (7) AAI: inserción de la antera antesépala, y (8) SA: separación estigma-antera (Fig. 4). Con la finalidad de determinar si existe una asociación entre los distintos caracteres florales, se calcularon los coeficientes de correlación entre estos, transformando los datos a  $\log_{10}$  para alcanzar los supuestos paramétricos (Zar, 1999).



**Fig. 4.** Medidas morfométricas en *Echeveria rosea*. 1) PL: Longitud del perianto , 2) CMW: Apertura de la corola, 3) CL: Longitud del cáliz, 4) CW: Ancho del cáliz, 5) SI: Inserción del estigma, 6) AEI: Inserción de la antera antepétala y 7) AAI: Inserción de la antera antesépala. Ilustración por: D. Jimeno.

### 2.2.3.2. Visitantes florales

Las observaciones se realizaron por medio de binoculares en un área con una alta densidad de individuos (>93 rosetas). Se realizaron observaciones continuas de 07:00 a 18:00 horas por 3 días consecutivos en enero de 2011 (Aigner, 2005; Jones *et al.*, 2010). Se registró para cada planta de manera individual, la especie de visitante floral, hora del día, tiempo de forrajeo, número de flores visitadas, y el número de flores abiertas (disponibles). La proporción de flores visitadas por evento de forrajeo por planta, se calculó mediante el número de flores visitadas con relación al número total de flores abiertas en la planta.

Para estimar la probabilidad del tiempo en el que una flor de *E. rosea* puede ser visitada, se realizó un análisis no paramétrico de supervivencia (Muenchow, 1986). Se consideró como tiempo cero el inicio de la observación y se registraron en minutos los eventos de forrajeo a partir del tiempo inicial (tiempo de llegada del visitante floral a la planta). Sólo se consideró el registro si el visitante tuvo contacto con la flor. Para

calcular la probabilidad de que los visitantes florales visitaran una flor, desde el inicio de la observación, se utilizó el método no paramétrico de Kaplan-Meier de producto-límite, y el estadístico de long-rank (Mantel Cox) para analizar las diferencias en la probabilidad de visita de los visitantes florales. Para cada especie visitante, se calculó la frecuencia de visita a la planta, así como el número de visitas realizadas por hora. Para determinar si existen diferencias en el tiempo de forrajeo y en la proporción de flores visitadas entre visitantes florales se realizó una prueba de Mann Whitney (Zar, 1999).

### **2.2.3.3. Producción de néctar**

Para determinar la cantidad de néctar producido en las flores, se cubrieron 104 flores con bolsas de tela de mosquitero (tricot), 24 horas antes de su medición. Se midió el néctar acumulado en 87 flores mediante micropipetas de 10, 5 y 1  $\mu$ l, en grupos de 10 flores cada 2 horas, en un periodo de 6:00 a 18:00 horas, y desechándolas después de cada medición. En las 17 flores restantes se midió el néctar acumulado cada 2 horas de 6:00 a 18:00 horas y mediante la remoción de néctar, se estimuló el reaprovisionamiento de azúcar y de fluido. Así, se sumó el néctar acumulado después de removerlo de manera repetida en la flor y este se usó como tratamiento control para determinar si la remoción del néctar influye y estimula en la reposición y cantidad del fluido.

La concentración fue medida mediante un refractómetro de bolsillo (Bellingham & Stanley, UK; low volumen <1  $\mu$ l, 0°-50° BRIX) en aquellas flores que tuvieron suficiente cantidad de néctar para ser registrado con el refractómetro. La cantidad de azúcar (en miligramos) por flor fue estimada siguiendo a Bolten *et al.* (1979).

Para determinar si existieron diferencias en el volumen acumulado de néctar ( $\mu$ l) y en la cantidad de azúcar ( $\mu$ g) entre los intervalos de tiempo, se empleó la prueba no paramétrica Kruskal Wallis (Zar, 1999). El tratamiento control para la variable cantidad de azúcar, fue excluido de los análisis debido al bajo tamaño de muestra.

#### **2.2.3.4. Producción natural de frutos**

Al final de la temporada de floración (febrero), se contaron el número total de flores producidas por planta (incluyendo las flores que no desarrollaron frutos o las cicatrices dejadas en el tallo por la inserción del pedicelo), así como el número total de frutos producidos por planta, incluyendo los frutos no dehiscentes, frutos dehiscentes y frutos abortados en 75 individuos.

Se calculó la producción de frutos por planta en *Echeveria rosea*, conforme a la proporción de flores que produjeron fruto. La proporción de frutos no dehiscentes, dehiscentes y frutos abortados, fue calculada en relación al número total de frutos producidos por planta.

Todos los análisis estadísticos se realizaron usando modelos lineares generalizados con el programa estadístico StatView (Abacus Conceptus, 1996).

#### **2.2.3.5. Sistema reproductivo**

Se realizaron polinizaciones manuales *in situ* para conocer el sistema reproductivo de *E. rosea*. Las polinizaciones manuales se efectuaron en 30 plantas diferentes previamente embolsadas e incluyeron cinco tratamientos por planta y un control abierto a la polinización natural. Los tratamientos fueron: a) Autogamia: polinización manual con polen de la misma flor, b) Apomixis: flores emasculadas sin polinización manual; c) Autopolinización “automática”: flores embolsadas sin una polinización manual; d) Geitonogamia: polinización manual con polen proveniente de otra flor de la misma planta; e) Xenogamia: polinización cruzada, con una mezcla de polen proveniente de 3 individuos diferentes que se encuentren a más de 10 m de distancia, (Oliveira y Sazima, 1990; Kearns y Inouye, 1993) y f) Control de polinización natural: flores no embolsadas que fueron polinizadas de manera natural por los visitantes. (Pyke, 1991; Parra *et al.*, 1993). Se seleccionaron plantas con dos inflorescencias, lo anterior con la finalidad de tener en una inflorescencia el control abierto y en otra inflorescencia las polinizaciones manuales.



## **2.3. Resultados**

### **2.3.1. Morfología floral.**

Las flores de *Echeveria rosea* muestran una especialización a la polinización por colibríes, estas presentan corolas largas y profundas, en forma de tubo y el estigma y las anteras están insertadas por debajo del nivel de la apertura de la corola. Estos caracteres probablemente promueven el contacto entre la frente del colibrí y los estigmas y anteras de la flor durante la visita para efectuar el consumo del néctar.

Las flores poseen la inserción de las anteras antepétalas más altas que las antesépalas, ambas con la inserción por debajo del nivel de la apertura de la corola (Tabla 1). El valor de la inserción del estigma fue intermedio entre el valor de la inserción de la antera antesépala y antepétala (Tabla 1); mientras que el valor de la separación entre el estigma y la antera, indicaron que ambos órganos sexuales no están en contacto uno con el otro en esta especie (Tabla 1); de igual manera se observó que la longitud del perianto (PL) estuvo asociada con el ancho de la boca de la corola (CMW), longitud del cáliz (CL), inserción de la antera antepétala (AEI) y la inserción de la antera antesépala (AAI). Del mismo modo, el ancho del cáliz (CW) estuvo asociado con la longitud del cáliz (CL), y la inserción de la antera antepétala (AEI) se asoció con la inserción de la antera antesépala (AAI). El coeficiente de correlación con datos apareados para todos estos caracteres fue positivo, lo que sugiere una relación alométrica entre el tamaño de la flor y los demás caracteres florales (Tabla 2). Además, el ancho del cáliz (CW) se asoció positivamente con la inserción antepétala de la antera (AEI) y la longitud del perianto (PL) se asoció positivamente con la inserción del estigma (SI) (Tabla 2).

**Tabla 1.** Medidas morfométricas de los caracteres florales de *Echeveria rosea* Lindley (Crassulaceae) en el Centro de Veracruz.

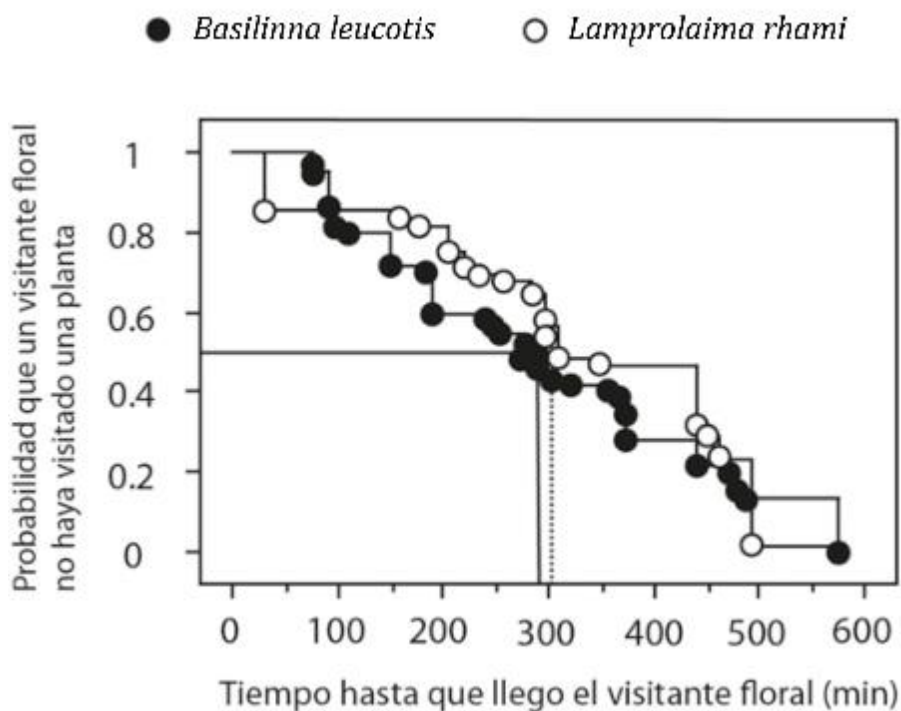
<b>Carácter floral</b>	<b>N</b>	<b>Media ± EE</b>
Longitud del perianto (PL)	30	15.35 ± 0.35
Ancho del cáliz (CW)	30	7.99 ± 0.15
Longitud del cáliz (CL)	30	11.73 ± 0.33
Apertura de la boca de la corola (CMW)	30	6.00 ± 0.17
Inserción del estigma (SI)	30	4.81 ± 0.24
Inserción de la antera antepétala (AEI)	30	5.41 ± 0.13
Inserción de la antera antesépala (AAI)	30	4.22 ± 0.18
Separación estigma-antera (SA)	30	1.67 ± 0.12

**Tabla 2.** Coeficientes de correlación entre los caracteres florales en *Echeveria rosea* Lindley (Crassulaceae) en el centro de Veracruz. PL: longitud del perianto, CW: ancho del cáliz, CL: longitud del cáliz, CMW: apertura de la corola, SI: inserción del estigma, AEI: inserción de la antera antepétala, AAI: inserción de la antera antesépala y SA: separación entre el estigma y la antera. \* Valor de *P* estadísticamente significativo después de una corrección de Bonferroni.

	<b>PL</b>	<b>CW</b>	<b>CL</b>	<b>CMW</b>	<b>SI</b>	<b>AEI</b>	<b>AAI</b>
<b>PL</b>	-						
<b>CW</b>	0.79*	-					
<b>CL</b>	0.78*	0.71*	-				
<b>CMW</b>	0.49	0.45	0.19	-			
<b>SI</b>	0.66*	0.35	0.53	0.37	-		
<b>AEI</b>	0.63*	0.50	0.37	0.44	0.27	-	
<b>AAI</b>	0.73*	0.65*	0.47	0.29	0.31	0.74*	-
<b>SA</b>	-0.003	0.02	0.05	0.05	0.38	-0.38	-0.06

### 2.3.2. Visitantes florales:

Se registraron 135 eventos de forrajeo durante 33 horas de observación. Dos especies de colibríes fueron los únicos visitantes en las flores de *E. rosea*, el colibrí alicastaño (*Lamprolaima rhami*) (Fig. 6 y 7) y el colibrí orejiblanco (*Basilinna leucotis*) (Fig. 8). El análisis de supervivencia mostró que no hubo diferencias en la probabilidad de que *E. rosea* sea visitada por las dos especies de colibríes en el área de estudio ( $X^2=0.73$   $P=0.39$ ,  $N=135$ ; Fig 5, Tabla 3). *Basilinna leucotis* siempre que visitó las flores tuvo contacto directo con ellas, sin embargo *L. rhami* se aproximó a las flores sin visitarlas en un 21% de los registros. La frecuencia de visitas observadas, fue similar para ambas especies de colibríes (Tabla 3); ambas especies de colibríes emplearon una cantidad similar de tiempo en el forrajeo ( $U=1815.50$ ,  $P=0.80$ ; Tabla 3), sin embargo, *B. leucotis* visitó en una mayor proporción las flores que *L. rhami* ( $U=1233.00$ ,  $P=0.004$ ; Tabla 3). *Lamprolaima rhami* visitó en promedio  $2.65 (\pm 0.81 \text{ D.E.}, N=59)$  flores por evento de forrajeo, mientras *B. leucotis* visitó  $1.88 (\pm 0.72 \text{ D.E.}, N=60)$  flores por evento de forrajeo.



**Fig. 5.** Probabilidad de que *Lamprolaima rhami* e *Basilinna leucotis* visiten las plantas de *Echeveria rosea*.

**Tabla 3.** Comportamiento de los visitantes florales para *Echeveria rosea* Lindley (Crassulaceae) en el Centro de Veracruz. \*\* $P < 0.001$ .

Comportamiento del visitante floral.	<i>Lamprolaima rhami</i>		<i>Basilinna leucotis</i>	
	N	Media $\pm$ D.E.	N	Media $\pm$ D.E.
Tiempo hasta que el visitante floral llego a la planta (min).	75	325.85 $\pm$ 19.60	60	298.85 $\pm$ 21.37
Frecuencia de visita a la planta por hora.	10	7.5 $\pm$ 2.05	10	6.00 $\pm$ 1.00
Tiempo de forrajeo (seg).	59	2.80 $\pm$ 0.10	60	2.76 $\pm$ 0.10
Proporción de flores visitadas por evento de forrajeo.	59	0.76 $\pm$ 0.03**	60	0.91 $\pm$ 0.01



**Fig. 6.** *Lamprolaima rhami* visitando *Echeveria rosea* en bosque de pino-encino en el centro de Veracruz, México. Arte D. Jimeno.



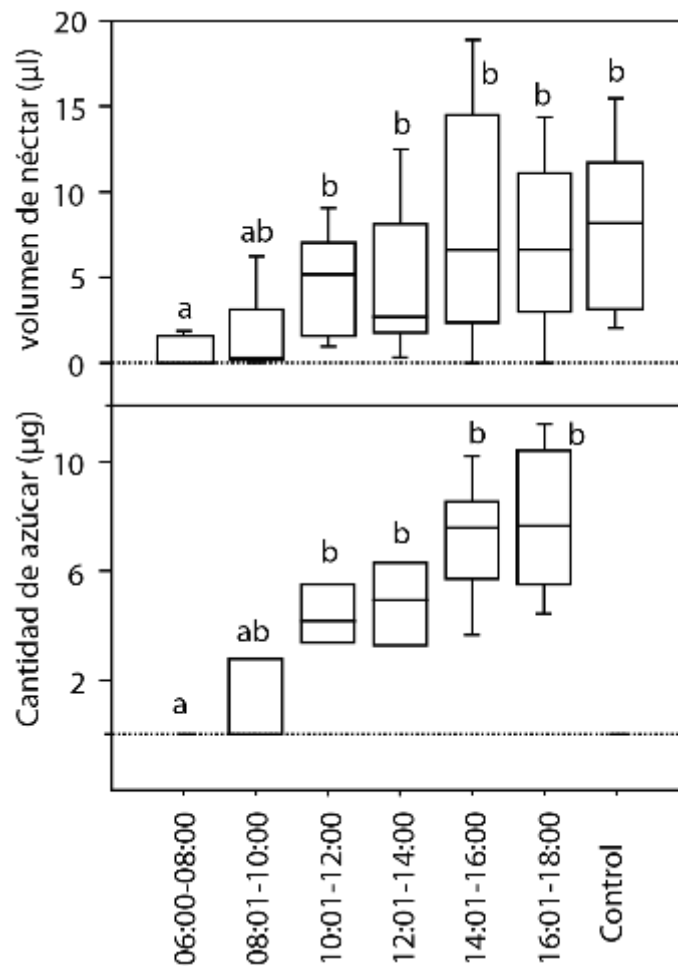
**Fig. 7.** *Lamprolaima rhami* ♀ visitando *Echeveria rosea*. Foto D. Jimeno.



**Fig. 8.** *Basilinna leucotis* visitando *Echeveria rosea*. Foto D. Jimeno.

### 2.3.3. Cantidad de néctar

El total de néctar acumulado contenido en las flores de *E. rosea* fue en promedio 5.53  $\mu\text{l}$  ( $\pm$  5.52 D.E., N=87). El total de la concentración de néctar observado en las flores fue en promedio de 19.12% ( $\pm$  12.26 D.E., N=35), mientras que la cantidad de azúcar en promedio fue de 4.87  $\mu\text{g}$  ( $\pm$  3.65 D.E., N=35). El volumen del néctar acumulado y la cantidad de azúcar varió en el tiempo, aumento temprano en la mañana hasta las 10:00 y luego permaneció constante hasta las 18:00 horas (volumen de néctar: H=27.53, P<0.0001; cantidad de azúcar: H=12.90, P<0.0001); (Fig. 9A). No hubo diferencias en la cantidad de néctar acumulado después de removerlo de manera repetida, ya que al compararlo con el néctar acumulado en los últimos dos intervalos, sugiere que el reaprovisionamiento del fluido, no afectó los resultados obtenidos en el estudio (Fig. 9B).



**Fig. 9.** A) Néctar acumulado producido por *Echeveria rosea* y B) cantidad de néctar acumulado por intervalo de tiempo. Las cajas muestran los percentiles 25 y 75.

#### 2.3.4. Producción natural de frutos

El promedio de flores por planta fue de  $26.80 \pm 1.1$  E.E. (N=75 individuos). *Echeveria rosea* tuvo una alta producción de frutos por planta bajo condiciones naturales (Fig. 10) (media  $\pm$  E.E.,  $0.91 \pm 0.01$  frutos por planta, N=75;  $0.77 \pm 0.001$  frutos dehiscentes por planta, N=75; y  $0.10 \pm 0.001$  frutos no dehiscentes, N=75). La proporción observada de frutos abortados por planta fue baja ( $0.10 \pm 0.01$ , N=75).



Fig. 10. Frutos de *Echeveria rosea* in situ. Foto D. Jimeno.

#### 2.3.5. Producción natural de frutos

No se pudo terminar el experimento, se realizaron los diversos tratamientos, sin embargo factores externos no permitieron concluirlo. El experimento fue sabotado por personas de la región.



## 2.4. Discusión

En la familia Crassulaceae, el tamaño de la flor ha sido asociado con el sistema de polinización; de tal forma las flores pequeñas de *Diamorpha smalli* se asocian con la dispersión del polen por medio de hormigas (<0.5 mm de ancho; Wyatt, 1981), las flores de tamaño intermedio de *Dudleya greenei*, con colibríes, abejorros y otros insectos como agentes polinizadores (8-16 mm de largo; Aigner, 2004), mientras que las flores más largas de *Echeveria gibbiflora* (25 mm de longitud; Parra *et al.*, 1993), *Dudleya anthonyi* y *D. pulverulenta* han sido asociadas con la polinización por colibríes (15-20 mm de largo; Aigner, 2004). En *E. rosea*, se observó que el promedio del tamaño de las flores se encuentra dentro del rango reportado para la polinización por colibríes. Aigner (2005) examinó la co-varianza de los caracteres florales dentro de un complejo de especies del género *Dudleya*, el cuál es visitado por colibríes e insectos (principalmente abejas), determinó que la longitud del perianto, del sépalo y la longitud y ancho del cáliz están fuertemente correlacionados con el tamaño de la flor, independientemente de la forma (apertura de la corola). Sin embargo, Aigner (2005) reconoció que los colibríes preferían flores largas y angostas en *Dudleya greenei*. Las flores de *E. rosea* son más largas y angostas que las flores de *Dudleya*, consistente con la idea de que la polinización por colibríes con frecuencia tiene flores más largas y angostas que las especies polinizadas principalmente por insectos. En este estudio se detectó otra relación entre caracteres florales, los cuales probablemente se asocian con la adecuación entre la morfología floral y la capacidad de los colibríes de transferir el polen. Tal es el caso de la asociación entre el ancho del cáliz (base de la flor) y la inserción de las anteras antepétalas, y entre la longitud del perianto (longitud de flor) y la inserción del estigma, éstas han sido documentadas en otras especies polinizadas por colibríes. Varios autores reconocen que los colibríes imponen una presión en la selección de los caracteres florales a través del transporte de polen, incluyendo la longitud de la corola (Nilsson, 1988; Castellanos *et al.*, 2003), el ancho de la corola (Murcia, 1990; Campbell *et al.*, 1991; Castellanos *et al.*, 2003; Hernández y Ornelas, 2007), la posición del estigma (Campbell *et al.*, 1994; Castellanos *et al.*, 2003) y la posición de la antera (Castellanos *et al.*, 2003). Este estudio sugiere una mejor adecuación morfológica entre el pico del colibrí y las anteras y los estigmas más exsertos, respecto a la longitud y apertura de la corola, resultando una transferencia de polen más eficiente.

En el campo se observaron a dos especies de colibríes forrajeando las flores en *E. rosea* en busca de néctar, estas mantenían contacto con las anteras y el estigma de las flores al visitarlas. Las flores de *E. rosea* tienen una mayor acumulación de volumen de néctar que *Dudleya multicaulis* la cual es polinizada por insectos ( $0.12 \mu\text{l}$ ; Jones *et al.*, 2010). Sin embargo, las flores de *E. rosea* acumularon una menor cantidad de volumen de néctar y una cantidad similar de azúcar que flores polinizadas por colibríes como en *Echeveria gibbiflora* (media  $\pm$  DS, volumen de néctar acumulado:  $8.4 \pm 5.7 \mu\text{l}$ ; cantidad de azúcar:  $5.09 \pm 1.41 \mu\text{g}$ ; Parra *et al.*, 1993). Parra *et al.* (1993) identificaron que *E. gibbiflora* mostró un pico en la acumulación de néctar de 08:00 a 10:00 horas, pero permaneció relativamente constante a través del día, sugiriendo un patrón en la producción diurna de néctar. La observación de la disponibilidad diurna del néctar en *E. rosea* puede explicar porque los colibríes visitan las flores con una frecuencia similar a lo largo del día.

Las dos especies de colibríes no tuvieron diferencias en el tiempo de arribo a la planta y permanecieron un tiempo similar forrajeando las flores. No obstante, *B. leucotis* visitó en una proporción mayor las flores por evento de forrajeo que *L. rhami*. Por otra parte, *L. rhami* se aproximó a las flores sin visitarlas en el 21% de los eventos registrados. Varios autores han reconocido que la alta frecuencia del movimiento de los polinizadores intra-planta (visitando varias flores consecutivamente en una planta) causa una alta probabilidad de autopolinización, como la geitonogamia (Karon *et al.*, 2009; Mitchell *et al.*, 2009, y sus referencias). Por otra parte, los polinizadores que visitan menos flores por planta tienden a elegir recorrer más distancia y visitar menos plantas en la población, promoviendo el entrecruzamiento (Darron *et al.*, 2009; Mitchell *et al.*, 2009). Las diferencias observadas en el comportamiento del forrajeo entre las especies de colibríes (ej. proporción de flores visitadas por planta) sugieren que *L. rhami* podría ser un polinizador más efectivo en el entrecruzamiento de *E. rosea* que *B. leucotis*.

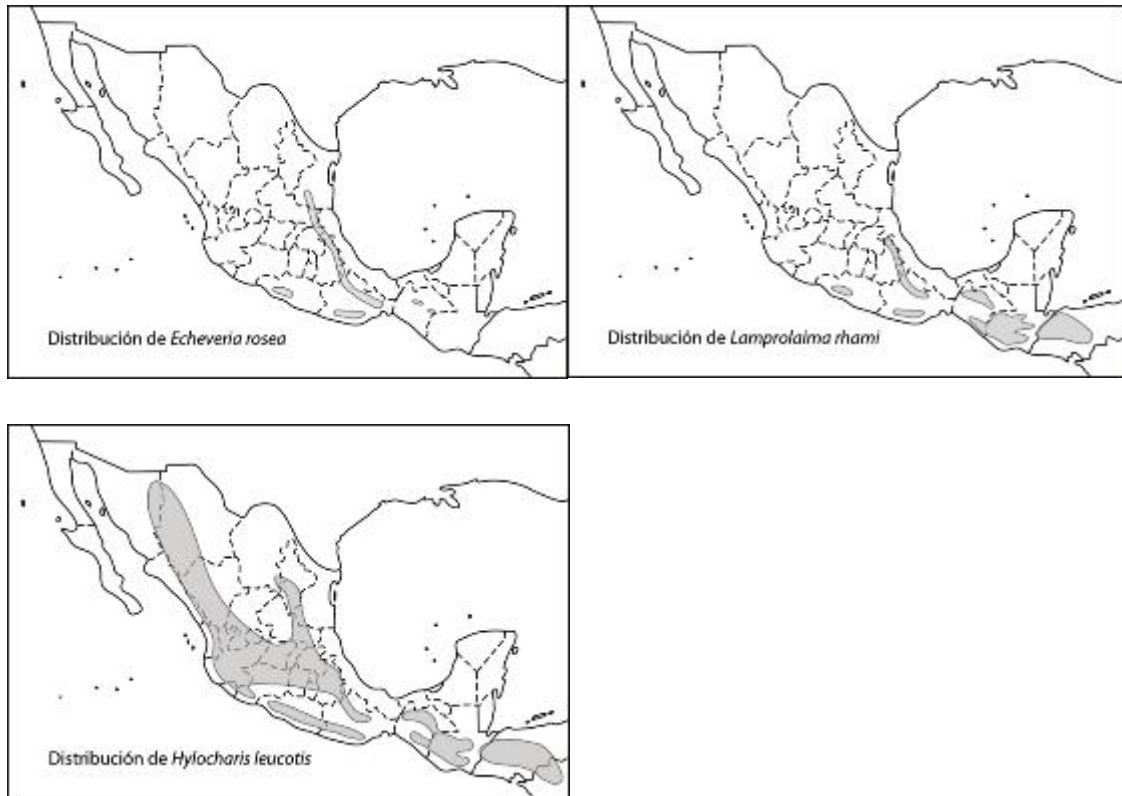
Con respecto al éxito reproductivo, *E. rosea* mostró una alta producción de frutos por planta bajo condiciones naturales, lo que sugiere que la especie no posee limitación en la polinización y podría ser al menos parcialmente autocompatible como en el caso de *E. gibbiflora* (Parra *et al.*, 1993). Parra *et al.* (1993) documentaron en *E. gibbiflora* una producción natural de frutos de 56.6% en una polinización autocompatible. Por otra parte la adición de polen incrementó la producción de frutos 1.38 veces más que las

flores polinizadas de manera natural (polinización manual: 75.2% y polinización natural 54.4%; Parra-Tabla *et al.*, 1998). Las diferencias observadas entre estas especies de *Echeveria* podrían ser resultado de las diferencias en el comportamiento de forrajeo de los polinizadores. En este sentido, los colibríes polinizadores de *E. rosea* visitaron un número bajo de flores por evento de forrajeo y emplearon menos tiempo forrajeando que el colibrí *Cynanthus latirostris* en flores de *E. gibbiflora* (Vargas y Parra-Tabla, 2002). Es necesario mayor información sobre el sistema reproductivo de *E. rosea* para corroborar si es capaz de autopolinizarse en ausencia de vectores de polen.

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que *Echeveria rosea* es una especie polinizada por colibríes, consistente con la morfología de sus flores y características del néctar. En la población muestreada, la especie mostró una alta asociación entre los caracteres florales, algunos de ellos interpretados como un mecanismo floral que promueve una eficiente capacidad de transferencia de polen por los colibríes. La observación de una gran producción de frutos de manera natural, aunado con el comportamiento de visita de los colibríes sugiere que *E. rosea* no presenta una polinización limitada.

Es necesario estudiar el sistema reproductivo, la variación de los caracteres florales y los visitantes florales entre poblaciones, para probar la importancia de la selección de los polinizadores sobre los caracteres florales en esta especie.

Se observó en la zona de estudio que *E. rosea* es uno de los principales recursos para *L. rhami*, además que la fecha de floración coincide con el periodo de reproducción del colibrí. La distribución de *E. rosea* y *Lamprolaima rhami* son coincidentes (Fig. 11), lo que sugiere una estrecha relación entre estos, ya que ambos ocurren en el bosque mesófilo de montaña, uno de los ecosistemas más amenazados de México (CONABIO, 2010). La tala clandestina y la pérdida de la vegetación para usos agropecuarios es una de sus principales amenazas, aunado a que *E. rosea* es una planta epífita, íntimamente relacionada con árboles maduros, por lo que la subsistencia de esta interacción esta amenazada.



**Fig. 11.** Distribución conocida de *Echeveria rosea*, *Basilinna leucotis*\* y *Lamprolaima rhami*\* (\* modificado de Howell, 1995).

### **Capítulo 3**

**Visitantes florales de *Echeveria nebularum* Moran & Kimnach (Crassulaceae) y rasgos morfológicos y del néctar, en una población en el Cofre de Perote, Veracruz, México.**

### 3. Introducción

*Echeveria* DC. es un género americano dentro de la familia Crassulaceae de ca. de 150 especies, cuyo principal centro de distribución es México. Sus especies se caracterizan principalmente por tener una inflorescencia terminal y flores con los pétalos formando un tubo. La mayoría de estas, poseen colores anaranjados, rojizos o amarillos, mostrando una morfología típica de un síndrome de polinización por colibríes (Troquilofilia) (Walther, 1972; Parra *et al.*, 1993; Thiede y Eggli, 2006; Jimeno-Sevilla *et al.*, 2013). Sin embargo, en la mayoría de las especies no se ha estudiado su biología floral ni sus visitantes florales.

Entre los estudios ecológicos más representativos dentro del género están los realizados en *E. gibbiflora* en el Pedregal de San Ángel, en el Estado de México (Parra, 1988; De la Cruz, 1990; Parra *et al.*, 1993; Eguiarte *et al.*, 1994; Parra *et al.*, 1998; Mejía-Alva, 2014) y en *E. rosea*, especie epífita de los bosques templados húmedos en Veracruz (Jimeno-Sevilla *et al.*, 2014).

Las especies del género *Echeveria* prosperan en microambientes con suelos bien drenados e insolación parcial, tales como afloramientos rocosos, suelos pobres (Jimeno-Sevilla, 2008). En muchos casos también pueden crecer de manera oportunista como epífita, sin embargo son pocas las especies que presentan una preferencia predominante por este hábito, asociado a ecosistemas montañosos húmedos. Tal es el caso de *E. nebularum* Moran & Kinnach, una planta suculenta principalmente epífita y endémica de los bosques templados de *Abies*, *Pinus*, *Pinus-Quercus* y del bosque mesófilo de montaña, de los estados de Oaxaca y Veracruz (Fig. 12). Se distribuye en altitudes de 1700 a 3100 m.s.n.m. (Moran y Kinnach, 2004; Jimeno-Sevilla, 2008).



**Fig. 12.** A) Hábito epifito de *Echeveria nebularium*. B) Hábitat de *E. nebularium*, sobre *Alnus jorullensis* en la localidad de Tembladeras, Cofre de Perote, región central de Veracruz. C) Detalle de la flor de *E. nebularium*. Fotos D. Jimeno.

Al ser una especie endémica con una distribución reducida y por ocurrir como epífita en ecosistemas boscosos amenazados por la pérdida de cobertura por el cambio de uso de suelo, *E. nebularium* es una especie susceptible a desaparecer (Jimeno-Sevilla, 2008). Además, se desconoce su biología reproductiva y ecología, por lo que es importante realizar estudios que sienten una base sólida para su conservación, mediante estrategias que promuevan su permanencia (Kearns *et al.*, 1998).

Por lo tanto, el propósito de este trabajo es conocer los visitantes florales de *E. nebularium*, así como los patrones de producción de néctar y su morfología floral.

### **3.1. Objetivo general**

Describir la morfología floral, patrones de producción de néctar y visitantes florales bajo condiciones naturales en una población de *Echeveria nebularium* Moran & Kimmach (Crassulaceae) en un bosque de *Pinus* en el Cofre de Perote, Veracruz, México.

#### **3.1.1. Objetivos particulares**

- 1.- Describir la morfología floral y los patrones de asociación entre caracteres florales en *E. nebularium*.
- 2.- Cuantificar la cantidad de néctar (concentración y volumen) producida a lo largo del día.
- 3.- Registrar los visitantes florales diurnos y su comportamiento de forrajeo en las flores.

### **3.2. Método**

#### **3.2.1. Área de estudio**

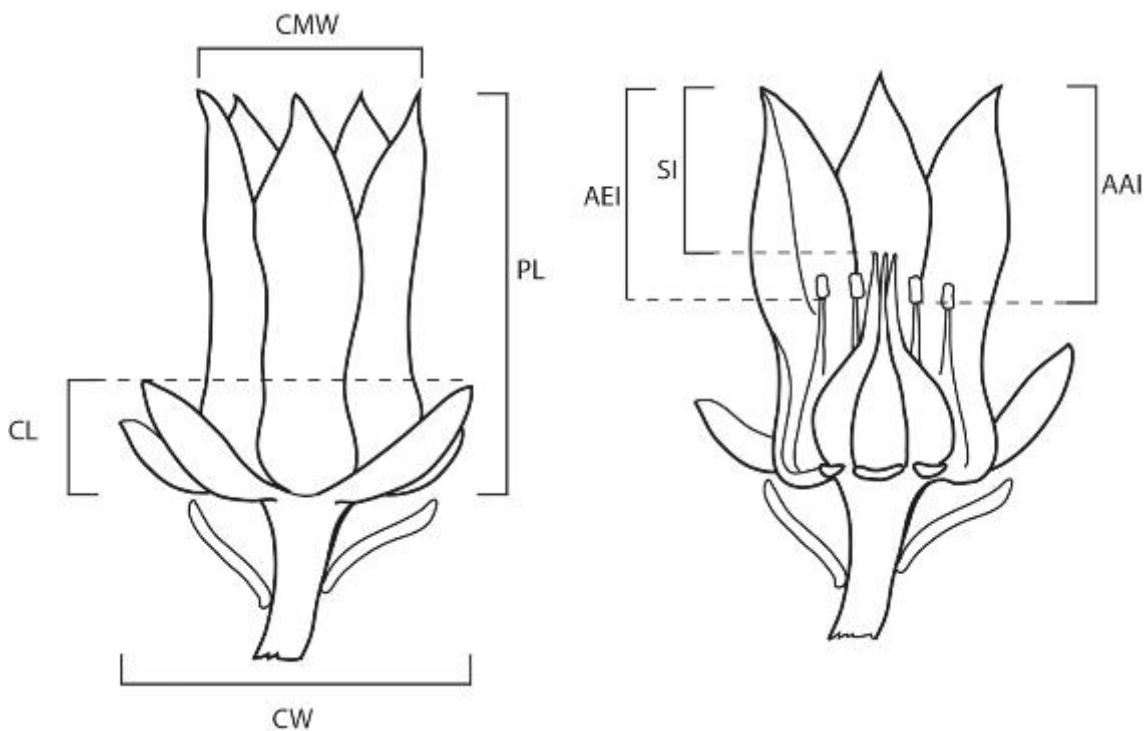
El estudio se llevó a cabo en el periodo de mayo a junio de 2012, en la localidad de Tembladeras, municipio de Xico, dentro del Parque Nacional Cofre de Perote, en el centro de Veracruz, México. Las coordenadas geográficas del sitio de estudio son 19° 30' 41" N, 97° 07' 01." O y esta ubicada a una altitud de 3030 m.s.n.m. El clima es C(fm)b(e)g, templado húmedo con lluvias todo el año (Soto, 1986) con temperatura media anual entre 12 y 18 grados centígrados; temperatura del mes más frío entre -3 y 18 grandos centígrados; y temperatura del mes más caliente menor de 22 grados centígrados. El rango de precipitación total es de 1500 a 1800 mm (SEMARNAT, 2015). La vegetación natural corresponde a un bosque de pino (*sensu* Rzedowski, 2006), los principales componentes arbóreos son *Pinus patula*, *Pinus* sp., *Alnus jorullensis* y *Abies religiosa*; en el estrato arbustivo ocurre *Senecio cinerarioides*,



*Baccharis conferta*, *Fuchsia microphylla* y *Ribes* sp., la composición de las epífitas incluye a *Sedum praealtum*, *Tillandsia macrochlamys* y *Pleopeltis* sp.

### 3.2.2. Morfología floral

Se midieron 105 flores de de más de 30 rosetas de *Echeveria nebularum* tomadas al azar, la medición se realizó por medio de un Vernier (0,1 mm): y se tomaron las siguientes medidas: (1) PL: longitud del perianto, (2) CMW: apertura de la corola, (3) CL: longitud del cáliz, (4) CW: ancho del cáliz, (5) SI: inserción del estigma, (6) AEI: inserción de la antera antepétala, (7) AAI: inserción de la antera antesépala, y (8) SA: separación estigma-antera (Fig. 13).



**Fig. 13.** Medidas morfométricas en *Echeveria nebularum*. 1) PL: Longitud del perianto , 2) CMW: Apertura de la corola, 3) CL: Longitud del cáliz, 4) CW: Ancho del cáliz, 5) SI: Inserción del estigma, 6) AEI: Inserción de la antera antepétala y 7) AAI: Inserción de la antera antesépala. Ilustración por: D. Jimeno.

### 3.2.3. Visitantes florales

Se observó mediante binoculares un grupo focal de siete plantas en cinco árboles de *Alnus jorullensis*, cercanos entre sí. En un total de 35 rosetas con 36 flores, se registró la

especie visitante, la hora de visita, el tiempo de forrajeo y el número de flores visitadas, en un periodo de 8:00 a 18:00 horas. La determinación de las especies se realizó mediante Howell y Webb (1995), se consideraba un visitante floral sí este tocaba los organos sexuales de la flor.

#### **3.2.4. Patrón de producción de néctar**

Se midió el volumen de néctar ( $\mu\text{l}$ ) y la concentración de azúcar (%BRIX) en 120 flores preferentemente de uno o dos días de longevidad, previamente marcadas y excluidas con malla (tricot) 24 horas antes, en seis intervalos de tiempo de dos horas durante un periodo de 6:00 a 20:00 horas en cuando menos 15 plantas (Canela y Sazima, 2003). El néctar se extrajo con jeringas y se midió por medio de tubos capilares; la concentración de azúcar se midió con un refractómetro portátil (Bellingham & Stanley, UK; low volumen  $<1 \mu\text{l}$ ,  $0^{\circ}$ - $50^{\circ}$  BRIX) en aquellas flores que tuvieran suficiente néctar para ser registrado con el refractómetro. La cantidad de azúcar (en miligramos) por flor fue estimada siguiendo a Bolten *et al.* (1979).

### 3.3. Resultados

#### 3.3.1. Morfología floral

Las flores de *Echeveria nebularum* presentan una especialización a la polinización por colibríes, por su corola formando un tubo de color rojizo en su parte externa y amarillo por dentro, así como la inserción de las anteras y localización de los estigmas por debajo del nivel de la boca de la corola (tabla 4). El valor de la inserción del estigma fue cercano a los valores de la inserción de las anteras, mientras que el valor de la separación estigma-antera (SA) indicó que ambos órganos sexuales no están en contacto uno con el otro en esta especie (tabla 4). El análisis de correlación arrojó que la inserción de la antera antesépala (AAI) está asociada con la inserción de la antera antepépala (AEI) (tabla 5).

**Tabla 4.** Medidas morfométricas de los caracteres florales de *Echeveria nebularum* Moran & Kimmack (Crassulaceae) en la región central de Veracruz.

<b>Carácter floral</b>	<b>N</b>	<b>Media ± EE</b>
Longitud del perianto (PL)	105	13.67 ± 0.11
Ancho del cáliz (CW)	105	8.24 ± 0.09
Longitud del cáliz (CL)	105	6.30±0.14
Apertura de la boca de la corola (CMW)	105	7.21±0.14
Inserción del estigma (SI)	105	6.30±0.09
Inserción de la antera antepétala (AEI)	105	6.28±0.07
Inserción de la antera antesépala (AAI)	105	6.11±0.07
Separación estigma-antera (SA)	105	0.96 ± 0.03

**Tabla 5.** Coeficientes de correlación entre los caracteres florales en *Echeveria nebularum* Moran & Kimnach (Crassulaceae) en la región central de Veracruz. PL: longitud del perianto, CW: ancho del cáliz, CL: longitud del cáliz, CMW: ancho de la boca de la corola, SI: inserción del estigma, AEI: inserción de la antera antepétala, AAI: inserción de la antera antesépala y SA: separación entre el estigma y la antera.  
\* Significancia estadística *P* después de una corrección de Pearson.

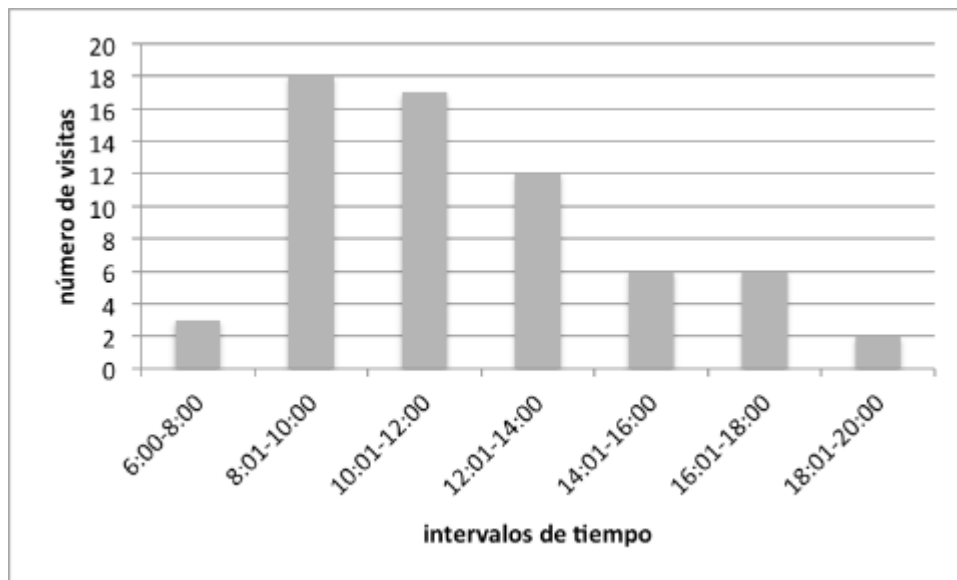
	PL	CW	CL	CMW	SI	AEI	AAI
PL	-						
CW	0.52*	-					
CL	0.36*	0.63*	-				
CMW	0.32*	0.21*	0.03	-			
SI	0.57*	0.14	-0.03	0.41*	-		
AEI	0.61*	0.40*	0.33*	0.40*	0.57*	-	
AAI	0.53*	0.32*	0.23*	0.33*	0.57*	0.76*	-
SA	-0.01	-0.14	-0.04	0.22*	0.09	0.01	0.04

### 3.3.2. Visitantes florales

Se registraron 64 eventos de forrajeo durante las 40 horas de observación. Las flores de *E. nebularum* fueron visitadas exclusivamente por dos especies de colibríes; la especie más frecuente fue el colibrí orejiblanco (*Basilinna leucotis*) (Fig. 15) y tan sólo tres visitas del colibrí gorjazul (*Lampornis clemenciae*) por lo que se excluyó de los análisis. El tiempo de visita de *B. leucotis* en promedio fue de 1.15 seg. ( $\pm 0.36$  D.E., N=33) por flor. Ambos colibríes visitaron una flor por roseta en cada evento de forrajeo (*B. leucotis* ( $1 \pm 0.00$  D.E., N=33)). El tiempo promedio para que *B. leucotis* llegue a la planta y visite la flor es de  $216.03 \pm 177.96$  min (tabla 6). El colibrí se aproximaba de frente, acercándose e introduciendo su pico para después retroceder. El mayor número de visitas se efectuó en la mañana (Fig. 14).

**Tabla 6.** Comportamiento de *Basilinna leucotis* al visitar las flores *Echeveria nebularum* Moran & Kimmach (Crassulaceae) en la región central de Veracruz.

Comportamiento del visitante floral.	<i>Basilinna leucotis</i>	
	N	Media $\pm$ D.E.
Tiempo hasta que el visitante floral llego a la planta (min).	61	216.03 $\pm$ 177.96
Frecuencia de visita a la planta por hora.	61	6.10 $\pm$ 6.45
Tiempo de forrajeo (seg).	33	1.15 $\pm$ 0.36



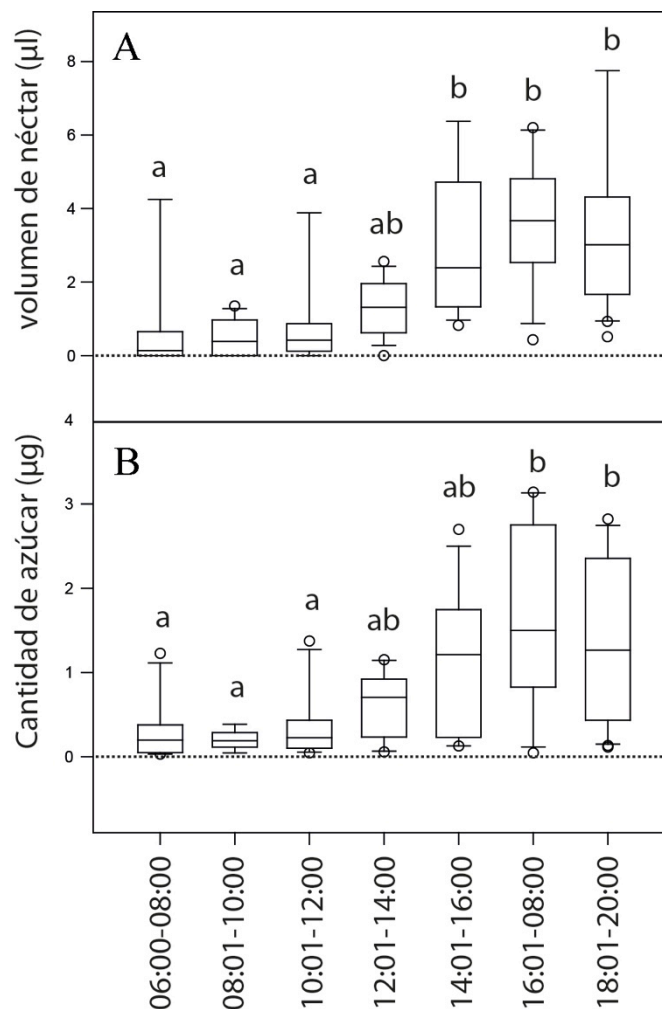
**Fig. 14.** Patrón de visitas florales de *Basilinna leucotis* en los intervalos de observación a lo largo del día, en *E. nebularum*.



**Fig. 15.** Colibrí orejiblanco *Basilinna leucotis* ♀, visitando las flores de *Echeveria nebularum*. Foto D. Jimeno.

### 3.3.3. Patrón de producción de néctar

Se midió el volumen y concentración de azúcar de 120 flores de *Echeveria nebularium*. En promedio el volumen de néctar acumulado fue de 2.12  $\mu\text{l}$  ( $\pm 2.28$  D.E., N=120), mientras que la cantidad de azúcar promedio fue de 0.95  $\mu\text{g}$  ( $\pm 0.95$  D.E., N=120). El volumen de néctar acumulado y la cantidad de azúcar, variaron a través del día, aumentaron en la mañana y permanecieron sin diferencias a lo largo del día (H = 59.050 P = <0.001); cantidad de azúcar H = 34.688 P = <0.001) (Fig. 16). El porcentaje de azúcar fue  $x = 32.936$  ( $\pm 16.861$  D.E., N=102).



**Fig. 16.** Néctar acumulado producido por *Echeveria nebularium*. A) Volumen. B) Cantidad de azúcar, por intervalo de tiempo. Las cajas muestran los percentiles 25 y 75.

### **3.4. Discusión**

#### **3.4.1. Morfología floral**

*Echeveria nebularium* posee características florales propias de un síndrome de polinización por colibríes, es decir flores en tubo, de color rojizo y amarillo, así como el tamaño de la corola y la abertura se encuentran dentro del rango para las especies del género (Parra *et al.*, 1993; Aigner, 2004; Jimeno-Sevilla *et al.*, 2014). *Echeveria nebularium* presentó una correlación positiva entre las inserciones de las anteras antepétala y antesépala, del mismo modo la longitud del perianto con la inserción de las anteras antepétalas, asociaciones que probablemente se relacionan con la adecuación entre la morfología floral y la capacidad de *E. nebularium* de transferir el polen como ocurre en *E. rosea* (véase capítulo 1). Además, *E. nebularium* presentó en promedio corolas más cortas y bocas más anchas que *E. rosea*. A pesar que no se evaluó la producción de frutos en campo, se pudo observar una alta producción de frutos bajo condiciones naturales.

#### **3.4.2. Producción de néctar**

*Echeveria nebularium* tiene una menor acumulación del volumen de néctar que otras especies de *Echeverias* visitadas por colibríes (tabla 7). Por otra parte el porcentaje de azúcar contenido en el néctar de *E. nebularium*, es más alto a la media reportada para especies polinizadas por colibríes (22-26%) (Ornelas *et al.*, 2007; McDade y Weeks, 2004), por lo que se esperaría que fuera visitada también por insectos, que frecuentan especies con mayor porcentaje de azúcar en su néctar (Parra *et al.*, 1993), como ocurre en otros géneros de la familia como en *Dudleya* (Levin y Mulroy, 1985), sin embargo en el presente estudio sólo se observaron dos especies de colibríes. El volumen del néctar presenta un valor bajo pero dentro del rango reportado para especies de varias familias que poseen un síndrome por troquilofilia (Arizmendi y Ornelas, 1990). Al contrario, la cantidad de azúcar presenta un valor excepcionalmente bajo con relación a otras especies del género y para este síndrome (tabla 7); sin embargo, características como el color y la forma tubular de la corola, son consistentes a un síndrome de polinización por colibríes (Ackermann y Weigend, 2006).



**Tabla 7.** Cuadro comparativo del volumen, cantidad de azúcar y porcentaje de azúcar, en *Echeveria rosea*, *E. nebularium* y *E. gibbiflora* (\*Jimeno-Sevilla *et al.*, 2014; \*\*Parra *et al.*, 1993).

Especie	Volumen de néctar $\mu\text{l}$ ( $\pm$ D.E.)	Cantidad de azúcar $\mu\text{g}$ ( $\pm$ D.E.)	% de azúcar ( $\pm$ D.E.)
<i>E. rosea</i> *	5.53 ( $\pm$ 5.5)	4.87 ( $\pm$ 3.65)	19.12 ( $\pm$ 12.26, N = 35)
<i>E. nebularium</i>	2.12 ( $\pm$ 2.28, N=120)	0.95 ( $\pm$ 0.95, N=120)	32.94 ( $\pm$ 16.861, N=102)
<i>E. gibbiflora</i> **	8.4 ( $\pm$ 5.7)	5.09 ( $\pm$ 1.41, N=54)	43 ( $\pm$ 6.77%, N=70)

### 3.4.3. Visitantes florales

*Echeveria nebularium* fue visitada principalmente por una especie de colibrí (*Basilinna leucotis*), este visitaba todas las flores disponibles de manera consecutiva, por lo que es probable que promueva la geitonogamia al transferir el polen de una flor a otra en la misma planta. Esto coincide en lo reportado por Parra-Tabla *et al.* (1993) en donde *E. gibbiflora* demuestra ser autocompatible y no presentar diferencias en la producción de frutos con una polinización cruzada. Era frecuente la presencia del colibrí gorjiazul (*Lampornis clamenciae*) en la zona de estudio, sin embargo este tenía predilección por *Fuchsia microphylla* (Onagraceae) que estaba en floración y se encontraba de manera abundante en el mismo sitio, tan sólo se observó una visita en *E. nebularium*. Por lo que no se observaron encuentros agonísticos entre las dos especies de colibríes. No hubo relación entre la mayor producción de néctar y concentración de azúcar en el néctar con relación a la mayor actividad de los colibríes, estos tuvieron mayor actividad por la mañana a pesar de que por la tarde había una mayor cantidad de néctar y más dulce (Fig. 17).

### 3.4.4. Conservación

A pesar de que el sitio de estudio está dentro de un área natural protegida, como lo es el Parque Nacional Cofre de Perote, el ecosistema está bajo una presión antropogénica constante y severa. La vegetación original ha sido fuertemente fragmentada por actividades de pastoreo y agrarias, como el cultivo de papas (*Solanum tuberosa*). *Echeveria nebularium* al tratarse de una especie endémica de México, y encontrarse como epífita mayormente en forofitos viejos, es susceptible a la tala, por lo que es prioritario crear e implementar medidas de conservación para su permanencia. Las estrategias deben ir dirigidas a la concientización y revalorización de estos recursos naturales por parte de los habitantes de las comunidades en la región, mediante la

implementación de talleres de educación ambiental, considerando todos los niveles de edad. Aunado a programas de conservación como el Pago por Servicios Ambientales, y actividades de restauración con especies que promuevan la permanencia de *E. nebulaum*, como el Ilite (*Alnus jorullensis*).

## **Capítulo 4.**

### **Discusión y conclusión general**

#### **4.1. Morfología floral**

El presente estudio muestra que *Echeveria rosea* y *E. nebularum* son visitadas por colibríes, consistentes con su morfología floral. Existen caracteres florales que presentaron asociaciones altas en ambas especies, que pueden interpretarse como mecanismos florales que promueven una eficiente capacidad de transferencia de polen por los colibríes, dada la alta producción de semillas en *E. rosea* (véase capítulo 1) y en *E. nebularum* (H. D. Jimeno-Sevilla, observaciones personales). Sin embargo en el género *Echeveria* se ha documentado la autocompatibilidad (Parra-Tabla *et al.*, 1993) por lo que puede ser que tanto *E. rosea* como *E. nebularum*, tengan la capacidad de autopolinizarse sin la ayuda de polinizadores, como se ha reportado también en otros géneros como en *Dudleya* (Jones *et al.*, 2010). El coeficiente de correlación con datos apareados para todos los caracteres de ambas especies, fue positivo, lo que sugiere una relación alométrica entre el tamaño de la flor y los demás caracteres florales.

#### **4.2. Visitantes florales**

Ambas especies fueron visitadas exclusivamente por colibríes, consistentes con su síndrome floral, así como lo reportado para *E. gibbiflora* (Parra-Tabla *et al.* 1993) *Echeveria rosea* fue visitada por dos especies de colibríes, *Basilinna leucotis* y *Lamprolaima rhami*, este último es endémico de los bosques templados húmedos de mesoamérica y puede considerarse una especie rara, siendo este el primer estudio ecológico para la especie. *Echeveria nebularum* fue visitada casi exclusivamente por *B. leucotis*.

Con respecto al tiempo promedio de visita de los polinizadores entre las especies de estudio, *E. nebularum* presentó el menor tiempo promedio. Mientras que en *E. rosea* el comportamiento de visita entre las dos especies fue diferente, por lo que sugiere que existen diferencias en la efectividad de promover el entrecruzamiento.

#### **4.3. Producción de néctar**

El volumen de néctar acumulado de ambas especies de *Echeveria* varió en el tiempo, incrementándose en la mañana y manteniéndose a lo largo del día. En promedio *E. rosea* produjo más néctar con mayor cantidad de azúcar que *E. nebularum*. Por otra

parte el porcentaje de azúcar contenido en el néctar de *E. nebularium* (32.9%), es más alto a la media reportada para otras especies polinizadas por colibríes (22-26%) (Ornelas *et al.*, 2007; McDade y Weeks, 2004), valor recurrente en especies de Crassulaceae visitadas por insectos (Levin y Mulroy, 1985). Sin embargo, en ambas especies los visitantes florales sólo fueron colibríes. Con relación a otra familia, con especies apífitas polinizadas por colibríes, las *Echeverias* estudiadas presentaron valores del porcentaje de azúcar dentro del rango de Bromeliaceae con un promedio entre 23%-35% (Bernardello *et al.* 1991; Krömer *et al.* 2008).

#### **4.4. Conservación**

Las interacciones planta-polinizador pueden presentar diferentes grados de dependencia (Waser, 2006). Se ha observado que pueden presentar una estructura asimétrica, (Cocucci *et al.*, 2009), de esta manera una especie de planta puede depender casi exclusivamente de una determinada especie de polinizador, pero el polinizador puede depender débilmente de la especie de planta y visitar otras presentes en la comunidad. (Jordano *et al.*, 2009). Tal es el caso en *Echeveria rosea* y *E. nebularium* que son visitadas exclusivamente por colibríes, por lo que su polinización muy probablemente es dependiente a estos, mientras que los colibríes visitaron otros recursos alimenticios en los sitios de estudio. Esta asimetría en el mutualismo hace susceptible de desaparecer a *E. rosea* y a *E. nebularium* si los colibríes faltasen.

Otro factor de amenaza es el endemismo estrecho de *Echeveria rosea* y *E. nebularium*, así como el hábito epífita predominante en forofitos viejos, por lo cual son especies susceptibles a desaparecer por la pérdida del hábitat. Ambos sitios de estudio del presente trabajo se encuentran fuertemente fragmentados por actividades antrópicas, lo que también afecta al hábitat de sus colibríes visitantes. La polinización de plantas con flores por parte de animales representa un servicio ecosistémico de gran importancia, el cual tiene que ser valorado para así crear estrategias para la conservación de estas frágiles y vitales interacciones (Kearns *et al.*, 1998)

#### **4.5. Conclusión general**

El conocimiento de las interacciones florales en el género *Echeveria* es muy escaso. Los resultados obtenidos en este estudio muestran que tanto *E. rosea* como *E. nebularium*, presentan una especialización a la polinización por colibríes (troquilofilia), incluyendo caracteres florales como: corolas largas y profundas, en forma de tubo y el estigma y las anteras insertadas por debajo del nivel de la apertura de la corola. Estos caracteres probablemente promueven el contacto entre la frente del colibrí y los estigmas y anteras de la flor durante la visita para efectuar el consumo de néctar. El volumen del néctar acumulado y la cantidad de azúcar variaron en el tiempo, aumentaron temprano en la mañana y permanecieron constante a lo largo del día.

Con respecto al éxito reproductivo, *E. rosea* mostró una alta producción de frutos por planta bajo condiciones naturales, lo que sugiere que la especie no posee limitación en la polinización y podría ser al menos parcialmente autocompatible.

Es necesario estudiar el sistema reproductivo, la variación de los caracteres y visitantes florales entre diferentes poblaciones, para probar la importancia de la selección de los polinizadores sobre los caracteres florales en estas y otras especies de la familia Crassulaceae.

Ambas especies son epífitas de bosques templados húmedos y endémicas del SE de México, por lo que la interacción con sus polinizadores se encuentra susceptible a desaparecer principalmente por la pérdida de hábitat.

## Literatura citada

- Abacus Concepts. 1989. SUPERANOVA: Accessible general modeling. Berkeley, CA: Abacus Concepts.
- Ackermann, M., y M. Weigend. 2006. Nectar, floral morphology and pollination syndrome in Loasaceae subfam. Loasoideae (Cornales). *Annals of Botany* 98(3):503–514.
- Abrol, DP. 2012. *Pollination Biology. Biodiversity Conservation and Agricultural Production*. Springer. India.
- Aigner, PA. 2003. *The Evolution of Specialized Floral Phenotypes in a Heterogeneous Pollination Environment: Fitness Trade-offs in a *Dudleya* (Crassulaceae) Species Complex*. California, University of California Riverside. Doctor of Philosophy.
- Aigner, PA. 2004. Floral specialization without trade-offs: optimal corolla flare in contrasting pollination environments. *Ecology* 85:2560–2569.
- Aigner, PA. 2005. Variation in pollination performance gradients in a *Dudleya* species complex: can generalization promote floral divergence? *Functional Ecology* 19:681–689.
- Arizmendi, MC., y JF. Ornelas. 1990. Hummingbirds and their floral resources in a tropical dry forest in Mexico. *Biotropica* 22(2):172–180.
- Baker, HG., e I. Baker I. 1982. Chemical constituents of nectar in relation to pollination mechanisms and phylogeny. 131–171. En: Nitecki MH. (Ed.). *Biochemical aspects of evolutionary biology. Proceedings of the 4th anual spring systematics symposium*. University of Chicago Press, Chicago, IL, EUA.
- Baker, HG., e I. Baker. 1983. Floral nectar sugar constituents in relation to pollinator type. En: C. E. Jones y R. J. Little (Eds.). *Handbook of experimental pollination biology*, 117–141. Van Nostrand Reinhold, New York, New York, USA.
- Bernardello, L., L. Galetto, y HR. Juliani. 1991. Floral nectar, nectary structure and pollinators in some Argentinian Bromeliaceae. *Annals of Botany* 67:401–411.



- Bolten, AB., P. Feinsinger, HG. Baker e I. Baker. 1979. On the calculation of sugar concentration in flower nectar. *Oecologia* 41:301–304.
- Campbell, DR. 1989. Measurements of selection in a hermaphroditic plant: variation in male and female pollination success. *Evolution* 43(2):318–334.
- Campbell, DR., NM. Waser, MV. Prince, EA. Lynch y RJ. Mitchell. 1991. Components of phenotypic selection: pollen export and flower corolla width in *Ipomopsis aggregata*. *Evolution* 45:1458–1467.
- Campbell, DR., NM. Waser, y MV. Prince. 1994. Indirect selection of stigma position in *Ipomopsis aggregata* via a genetically correlated trait. *Evolution* 48:55–68.
- Canela, MBF., y M. Sazima. 2003. *Aechmea pectinata*: a hummingbird-dependent bromeliad with inconspicuous flowers from the rainforest in South-eastern Brazil. *Annals of Botany* 92:731–737.
- Carrillo-Reyes, P., V. Sosa, y M. Mort. 2009. Molecular phylogeny of the Acre clade (Crassulaceae): Dealing with the lack of definitions for *Echeveria* and *Sedum*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 53(1):267–276.
- Castellanos, MC., P. Wilson, y JD. Thomson. 2003. Pollen transfer by hummingbirds and bumblebees, and the divergence of pollination modes in *Penstemon*. *Evolution* 57(12):2742–2752.
- Cesaro, AC., SCH. Barrett, S. Maurice, BE. Vaissiere, y JD. Thompson. 2004. An experimental evaluation of self-interference in *Narcissus assoanus*: Functional and evolutionary implications. *Journal of Evolutionary Biology* 17:1367–1376.
- Clausen, RT. 1959. *Sedum* of the trans-Mexican volcanic belt: an exposition of taxonomic method. Comstock Publishing Associates.
- Cocucci, A., M. Moré, y AN. Sérsic. 2009. Restricciones mecánicas en las interacciones planta-polinizador: estudio de casos en plantas polinizadas por esfingidos. En: Medel, R., MA. Aizen, y R. Zamora (Eds). *Ecología y evolución de interacciones planta-animal*. Editorial Universitaria, Santiago de Chile, Chile.
- CONABIO, 2010. El bosque mesófilo de Montaña en Méxicio: Amenazas y oportunidades para su conservación y manejo sostenible. Comisión Nacional para

- el Conocimiento de la Biodiversidad. México. 196 pp.
- Conner, JK. 1997. Floral evolution in wild radish: the roles of pollinators, natural selection, and genetic correlations among traits. *International Journal of Plant Science* 158:S108–S120.
- Conner, J., y S. Via. 1993. Life-history traits in wild radish, *Raphanus raphanistrum*. *Evolution* 47:704–711.
- Cresswell, JE. 2000. Manipulation of female architecture in flowers reveals a narrow optimum for pollen deposition. *Ecology* 81:3244–3249.
- Cronquist, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press. New York.
- Dafni, A., y M. Manués. 1998. A rapid and simple procedure to determine stigma receptivity. *Sexual Plant Reproduction* 11(3):177–180.
- Dafni, A. 1992. *Pollination ecology: a practical approach*. Oxford: IRL Press.
- De la Cruz, M. 1990. Estudio sobre herbivoría y demografía en *Echeveria gibbiflora* (Crassulaceae), una planta perenne en el pedregal de San Ángel. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
- Eguiarte, LE, V. Parra-Tabla, y F. Vargas. 1994. Biología reproductiva y tamaño efectivo de *Echeveria gibbiflora*: Un homenaje a Sewall Wright. Reserva ecológica “El Pedregal de San Ángel: ecología, historia natural y manejo” (comp. Rojo, A.), pp. 187–203. UNAM. México, DF.
- Faegri, K., y L. van der Pijl. 1979. *The principles of pollination ecology*, 3ra. Ed. Pergamon Press, Oxford, Reino Unido.
- Fenster, CB., WS. Armbruster, P. Wilson, MR. Dudash, y JD. Thomson. 2004. Pollination syndromes and floral specialization. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 35:375–403.
- Fenster, CB., G. Cheely, MR. Dudash, y RT. Reynolds. 2006. Nectar reward and advertisement in hummingbird-pollinated *Silene virginica* (Caryophyllaceae). *American Journal of Botany* 93(12):1800–1807.

- Fetscher, AE. 2001. Resolution of male-female conflict in a hermaphrodite flower. *Proceedings of the Royal Society of London, Biological Science* 266:525–529.
- Fukuda, Y., K. Suzuki, y J. Murata. 2001. The function of each sepal in pollinator behavior and effective pollination in *Aconitum japonicum* var. *montanum*. *Plant Species Biology* 16:151–157.
- Galen, C., y RC. Plowright. 1985. The effects of nectar level and flower development on pollen carry-over in inflorescences of fireweed (*Epilobium angustifolium*) (Onagraceae). *Canadian Journal of Botany* 63:488–491.
- Hernández, A., y JF. Ornelas. 2007. Dissasortative pollen transfer in distylous *Palicourea padifolia* (Rubiaceae), a hummingbird-pollinated shrub. *Ecoscience* 14:8–16.
- Howell, SN., y S. Webb. 1995. A guide to the birds of Mexico and northern Central America. Oxford University Press.
- Jimeno-Sevilla, HD. 2008. El género *Echeveria* (Crassulaceae) en Veracruz, México. Tesis de Licenciatura. Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz.
- Jimeno-Sevilla, HD. AM. Hernández-Ramírez, y T. Krömer. 2013. *Echeveria rosea* Lindley (Crassulaceae): a hummingbird-depend succulent epiphyte. *Cactus and Succulent Journal* 85:128–131.
- Jimeno-Sevilla, HD., AM. Hernández-Ramírez, JF. Ornelas, y S. Marten-Rodríguez. 2014. Morphological and Nectar Traits in *Echeveria Rosea* Lindley (Crassulaceae) Linked to Hummingbird Pollination in Central Veracruz, Mexico. *Haseltonia* 19:17–25.
- Johnson, SD., A. Ellis, P. Carrick, A. Swift, N. Horner, SJ. Vanrensburg, y WJ. Bond. 1993. Moth pollination and rhythms of advertisement and reward in *Crassula fascicularis* (Crassulaceae). *South African Journal of Botany* 59(5):511–513.
- Johnson, SD., y KE. Steiner, 2000. Generalization versus specialization in plant pollination systems. *Trends in Ecology and Evolution* 15(4):140–143.
- Jolls, CL., y JH. Bock. 1983. Seedling density and mortality patterns among elevations in *Sedum lanceolatum*. *Arctic Alpine Research* 15:119–126.

- Jones, CE., FM. Shropshire, RL. Allen, y YC. Atallah. 2010. Pollination and reproduction in natural and mitigation populations of the many-stemmed *Dudleya*, *Dudleya multicaulis* (Crassulaceae). *Madroño* 57:42–53.
- Jordano, P., D. Vázquez, y J. Bascompte. 2009. Redes complejas de interacciones mutualistas planta-animal. En: Medel, R., MA. Aizen, y R. Zamora (Eds). *Ecología y evolución de interacciones planta-animal*. Editorial Universitaria, Santiago de Chile, Chile.
- Karron, JD., KD. Holmquist, RJ. Flanagan, y RJ. Mitchell. 2009. Pollinator visitation patterns strongly influence among-flower variation in selfing rate. *Annals of Botany* 103:1379–1383.
- Kearns, CA., y DW. Inouye. 1993. *Techniques for pollination biologists*. Niwot, University of Colorado Press.
- Kearns, CA., DW. Inouye, y NM. Waser. 1998. Endangered mutualisms: The conservation of plant-pollinator interactions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29: 83–112.
- Krömer, T., M. Kessler, G. Lohaus y AN. Schmidt-Lebuhn. 2008. Nectar sugar composition and concentration in relation to pollination syndromes in Bromeliaceae. *Plant Biology* 10(4):502–511.
- Larson, J. 1992. Estudio demográfico de *Echeveria gibbiflora* DC. (Crassulaceae) en el pedregal de San Ángel. Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México DF.
- Levin, GA., y TW. Mulroy. 1985. Floral morphology, nectar production, and breeding systems in *Dudleya* subgenus *Dudleya* (Crassulaceae). *Transactions of the San Diego Society of Natural History* 21(3):57–70.
- McDade, LA., y JA. Weeks. 2004. Nectar in hummingbird-pollinated neotropical plants I: Patterns of production and variability in 12 species. *Biotropica* 36(2):196–215.
- Mejía-Alva, B. 2014. Patrones de variación intraindividual en la producción de néctar en *Echeveria gibbiflora*. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.

- Meyrán, J., y L. López. 2003. Crasuláceas de México. Sociedad Mexicana de Cactología, AC.
- Mitchell, RJ. 1993. Adaptive significance of *Ipomopsis aggregata* néctar production: observation and experiment in the field. *Evolution* 47:25–35.
- Mitchell, RJ., RE. Irwin, RJ. Flanagan, y JD. Karron. 2009. Ecology and evolution of plant-pollinator interactions. *Annals of Botany* 103:1355–1363.
- Moran, R., y M. Kimmach. 2004. *Echeveria nebularum* (Crassulaceae), a new cloud forest species from México. *Haseltonia* 10:67–70.
- Mort, ME., DE. Soltis, PS Soltis, J. Francisco-Ortega y A. Santos-Guerra. 2002. Phylogenetics and evolution of the Macaronsian clade of Crassulaceae inferred from nuclear and chloroplast sequence data. *Systematic Botany* 27:271–288.
- Muenchow, G. 1986. Ecological use of failure time analysis. *Ecology* 67:246-250.
- Murcia, C. 1990. Effect of floral morphology and temperatura on pollen receipt and removal in *Ipomoea trichocarpa*. *Ecology* 71:1098-1109.
- Nicolson, SW., M. Nepi, y E. Pacini. 2007. Nectaries and nectar. Springer. Países Bajos.
- Nicolson, SW., y RW. Thorburg. 2007. Nectar chemistry. En Nicolson, SW., M. Nepi, y E. Pacini. 2007. Nectaries and nectar. Springer. Países Bajos.
- Nilsson, LA. 1988. The evolution of flowers with deep corolla tubes. *Nature* 334:147–149.
- Ohba, H. 1978. Generic and infrageneric classification of the old world Sedoideae (Crassulaceae). *Journal of the Faculty of Science: University of Tokyo, Section III, Botany* 12:139–198.
- Ollerton, J., R. Winfree y S. Tarrant. 2011. How many flowering plants are pollinated by animals?. *Oikos* 120:321–326.
- Oliveira, AEA., y M. Sazima. 1990. Pollination biology of two species of *Kielmeyera* (Guttiferae) from Brazilian cerrado vegetation. *Plant Systematics and Evolution* 172:35–49.

- Ornelas, JF., M. Ordano, JA. De-Nova, ME. Quintero, y T. Garland Jr. 2007. Phylogenetic analysis of interspecific variation in nectar of hummingbird-visited plants. *Journal of Evolutionary Biology* 20:1904–1917.
- Parra, VP. 1988. Ecología de la polinización en una población de *Echeveria gibbiflora* DC en el Pedregal de San Ángel. C. U. México. Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. D.F. México.
- Parra, VP., F. Vargas, y LE. Eguiarte 1993. Reproductive biology, pollen and seed dispersal, and neighborhood size in the hummingbird-pollinated *Echeveria gibbiflora* (Crassulaceae). *American Journal of Botany* 80(2):153–159.
- Parra, VP., F. Vargas, y LE. Eguiarte 1998. Is *Echeveria gibbiflora* (Crassulaceae) fecundity limited by pollen availability? An experimental study. *Functional Ecology* 12:591–595.
- Percival, MS. 1965. Types of nectar in angiosperms. Oxford: Pergamon Press.
- Pérez-Calix, E. 2008. Familia Crassulaceae. Flora del Bajío y de regiones adyacentes. Instituto de Ecología AC. Centro Regional del Bajío. Pátzcuaro, Michoacán, México.
- Pérez-Calix, E., y IS. Franco–Martínez 2004. Crasuláceas. En: García, AJ., MJ. Ordóñez y M. Briones–Salas (Eds), Biodiversidad de Oaxaca. Instituto de Biología, UNAM-Fondo Oaxaqueño para la Conservación de la Naturaleza-World Wild life Fund, México, pp. 209–217.
- Proctor, M., P. Yeo, y A. Lack. 1996. *The Natural History of Pollination*. Timber Press, Portland.
- Pyke, GH., y NM. Waser. 1981. The production of dilute nectars by hummingbird and Honeyeater flowers. *Biotropica* 13(4):260–270.
- Pyke, GH. 1991. What does it cost a plant to produce floral nectar? *Nature*, 350(6313):58–59.
- Rzedowski, J. 2006. *Vegetación de México*. 1ra. Edición digital, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México.

- Quesada-Aguilar, A., S. Kalisz, y TL. Ashman. 2008. Flower morphology and pollinator dynamics in *Solanum carolinense* (Solanaceae): Implications for the evolution of andromonoecy. *American Journal of Botany* 95(8):974–984.
- SEMARNAT, 2015. Programa de manejo Parque Nacional Cofre de Perote o Nauhacampatépetl. Secretaría de Medio ambiente y Recursos Naturales. Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. Primer edición. México.
- Soto, EM. 1986. Localidades y climas del estado de Veracruz. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos de Xalapa, Veracruz, México.
- Stanton, ML., AA. Snow, y SN. Handel. 1986. Floral evolution: attractiveness to pollinators increases male fitness. *Science* 232:1625–1627.
- Thiede, J., 1995. Quantitative phytogeography, species richness, and evolution of American Crassulaceae. En: Hart, H. y U. Eggli (Eds.), *Evolution and systematics of the Crassulaceae*. Backhuys Publishers, Leiden 89–123.
- Thiede, J. y U. Eggli. 2006. Crassulaceae. En: Kubitzki, K. (Ed). *The Families and Genera of Vascular Plants* 9:83–118.
- Thorne, RF. 2000. The classification and geography of the flowering plants: Dicotyledons of the class Angiospermae (subclases Magnoliidae, Ranunculidae, Caryophyllidae, Dilleniidae, Rosidae, Asteridae, andLamiidae). *Botanical Review (Lancaster)* 66:441–647.
- Vargas, CF. y V. Parra-Tabla. 2002. Floral abundance, territoriality, and the importance of *Echeveria gibbiflora* to *Cynanthus latirostris* (Apodiformes: Trochilidae) during winter. *The Southwestern Naturalist* 47:623–626.
- Vogel, S. 1954. Blütenbiologische Typen als Elemente der Sipplgliederung, dargestellt anhand der Flora Südafrikas. *Botanische Studien* 1:1–338.
- Walther, E. 1972. *Echeveria*. California Academy of Sciences, San Francisco, California.
- Waser, NM. 2006. Specialization and generalization in plant pollinator interactions: a historical perspective. En: Waser, NM. y J. Ollerton (Eds.), *Plant-Pollinator*

- Interactions: from Specialization to Generalization. Chicago: University of Chicago Press, pp. 3–17.
- Waser, NM., y MV. Price. 1981. Pollinator choice and stabilizing selection for flower color in *Delphinium nelsonii*. *Evolution* 35:376–390.
- Webb, DA. 1964. Crassulaceae. En: Tutin, TG., VH. Heywood, NA. Burges, DH. Valentine, SM Walters, DA Webb (Eds.), *Flora Europaea*, vol. 1. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 209–249.
- Willmer, P. 2011. *Pollination and floral ecology*. Princeton University Press, Princeton and Oxford.
- Wyatt, R., y A. Stoneburner. 1981. Patterns of ant-mediated pollen dispersal in *Diamorpha smallii* (Crassulaceae). *Systematic Botany* 6:1–7.
- Wyatt, R. 1981. Ant-pollination of the granite outcrop endemic *Diamorpha smallii* (Crassulaceae). *American Journal of Botany* 68:1212–1217.
- Wyatt, R. 1983. Reproductive Biology of the Granite Outcrop Endemic *Sedum pusillum* (Crassulaceae). *Systematic Botany* 8:24–28.
- Zar, JH. 1999. *Biostatistical Analysis* (Fourth Edition), Prentice Hall.