

BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE *AMASONIA CAMPESTRIS* (AUBL.) MOLDENKE (VERBENACEAE) EN LOS LLANOS CENTRALES DE VENEZUELA

Reproductive biology of *Amasonia campestris* (Aubl.) Moldenke
(Verbenaceae) in the Venezuelan Central Llanos

Nelson RAMÍREZ

Centro de Botánica Tropical, Instituto de Biología Experimental,
Facultad Ciencias, Universidad Central de Venezuela.
Apto. 48312, Caracas 1041A, VENEZUELA.
nramirez@reacciu.nv

RESUMEN

Se estudió la biología reproductiva de *Amasonia campestris* en los Altos Llanos Centrales venezolanos. Las flores abren entre las 3:30 y las 7:00 h, con una longevidad de dos días. Las flores son protandras, y el número de flores abiertas por inflorescencias por día varía de 1 a 5 ($\bar{X} = 2,2$, $DS = 2,3$). El néctar es producido y acumulado en la cavidad basal de la corola. La secreción de néctar comienza a las 7:00 y se prolonga hasta las 13:00 h. El volumen total de néctar por flor durante los dos días de actividad floral varió entre 8,55 y 35,15 ml/flor, con una media de 21,75 ml ($DS = 9,19$). Las flores de *A. campestris* son visitadas por cuatro especies de mariposas de la familia Pieridae y tres especies de colibríes. La actividad de los colibríes fue mayor en horas de la mañana y de la tarde y las visitas de las mariposas fueron mucho más frecuentes en horas del medio día independientemente de la densidad de plantas, aunque la tasa de visitas de mariposas y colibríes fue estadísticamente mayor a alta densidad de plantas. El patrón de producción de néctar está positivamente correlacionado con la tasa de visitas de los colibríes *Amazilia fimbriata obscuricauda* ($n = 8$, $r = 0,95$, $P < 0,0001$) y *Chlorostilbon mellisuga caribaeus* ($n = 8$, $r = 0,73$, $P < 0,02$) a alta densidad de plantas. *Amasonia campestris* produce alto porcentaje de frutos y semillas por polinización cruzada comparado con las pruebas de polinización automática y autopolinización manual, lo cual indica autoincompatibilidad. Más del 50% de la biomasa floral es asignada a la corola. La relación de biomasa reproductiva/biomasa vegetativa fue de 0,37 indicando un desbalance entre esporofilas y perianto. La relación polen/óvulo fue de 1250. La producción promedio de frutos por flor fue 64,26% y la producción de semillas por óvulo fue 73,94%. La alta fecundidad relativa (46,72%) en *A. campestris* parece estar condicionada, principalmente, por la combinación de cuatro caracteres: eficiencia de polinización, bajo número de óvulos por flor, protandria y forma de vida herbácea perenne.

Palabras clave: *Amasonia campestris*, Autoincompatibilidad, Biomasa floral, Eficiencia reproductiva, Néctar, Ornitofilia, Polinización, Protandria, Venezuela

ABSTRACT

Reproductive biology of *Amasonia campestris* was studied in the Venezuelan Central Llanos. The flowers open between 3:30 and 7:00 h, and last for two days. The flowers are protandrous and the number of opened flowers per inflorescence varies between 1 and 5 (\bar{X}

= 2.2, SD = 2.3). The nectar is produced and accumulated in a basal cavity of the corolla. Nectar secretion begins at 7:00 and finishes at 13:00 h. The total nectar volume produced per flower during two days of longevity was between 8.55 and 35.15 $\mu\text{l}/\text{flower}$ (\bar{X} = 21.75 μl , SD = 9.19). The flowers were visited by four butterfly (Pieridae) and three hummingbird species. The highest activity of hummingbirds was during the morning and afternoon, and the highest activity of butterflies occurred during the midday at low and high plant density, however, the visits were higher for hummingbirds and butterflies at high plant density. The patterns of nectar secretion were positively correlated with the number of visits of two hummingbirds, *Amazilia fimbriata obscuricauda* (n = 8, r = 0.95, P < 0.0001) and *Chlorostilbon mellisuga caribaeus* (n = 8, r = 0.73, P < 0.02) at high plant density. Fruit and seed set in cross-pollinated flowers were higher than hand self-pollination and spontaneous self-pollination respectively, which suggest self-incompatibility. More than 50% of floral biomass is allocated to the corolla. Reproductive/vegetative biomass ratio was 0.37, which indicate an unbalanced between sporophyll and perianth. Pollen/ovule ratio was 1250. Natural fruit set was 64.26% and seed set (relative to ovules) was 73.94%. High value of relative fecundity in *A. campestris* seems to be mainly determined by the combination of four traits: pollination efficiency, low number of ovules per flower, protandry, and perennial herbaceous life form.

Key words: *Amasonia campestris*, Floral biomass, Nectar, Ornithophily, Pollination, Protandry, Reproductive efficiency, Self-incompatibility, Venezuela

INTRODUCCIÓN

Amasonia campestris (Aubl.) Moldenke (Verbenaceae) es una hierba perenne con flores tubulares amarillas acompañadas de brácteas florales rojas. Las especies de plantas con tales características florales son reconocidas como ornitófilas (Faegri & van der Pijl 1979). Aunque la polinización en la familia Verbenaceae parece ser predominantemente por himenópteros, dípteros y mariposas, sólo una especie, *Rhaphithamnus venustus* (Phil.) B.L. Rob., es reconocida como ornitófila (Atkins 2004). De acuerdo a un estudio comunitario en los Altos Llanos Centrales venezolanos, *A. campestris* es polinizada por aves y mariposas (Ramírez 2004a). Estos sistemas de polinización mixtos o polifílicos en los cuales intervienen aves y otros grupos de animales antófilos son frecuentes (Pansarin 2003; Nassar & Ramírez 2004) y parecen reflejar relaciones entre los vectores de polen y los caracteres florales (Ramírez 2004b). En general, existe una aparente similitud entre flores polinizadas por colibríes y mariposas diurnas (Faegri & van der Pijl 1979). Sin embargo, pueden existir diferencias entre grupos de polinizadores en cuanto a la capacidad de polinización y a la relación de los polinizadores con las características florales.

Las especies de plantas polinizadas por colibríes pueden presentar diversos sistemas reproductivos, autocompatibles o autoincompatibles (Raven 1979; Snow 1982; Grases & Ramírez 1998; Lange *et al.* 2000; Cardoso de Castro & Macedo de Oliveira 2001). Algunos géneros tienen diferentes niveles de autopolinización (Raven 1979; Kress 1983; Neill 1987), aunque las especies frecuente-

mente no son autógamas (Grases & Ramírez 1998; Cardoso de Castro & Macedo de Oliveira 2001). La incidencia de autocompatibilidad en especies herbáceas polinizadas por colibríes de sotobosque ha sido relacionada con la disponibilidad de polinizadores (Kress 1983). La protandria y la hercogamia han sido reportadas en especies ornitófilas (Grases & Ramírez 1998; Cardoso de Castro & Macedo de Oliveira 2001), estrategias espaciales y temporales asociadas con la capacidad de promover la polinización cruzada y evitar la interferencia polen-estigma (Lloyd & Yates 1982; Lloyd & Webb 1986; Webb & Lloyd 1986). Una de las implicaciones directas del tipo de sistema reproductivo es su relación con la eficiencia reproductiva. Plantas autoincompatibles hermafroditas presentan menor producción de frutos por flor comparados con otros sistemas de entrecruzamiento (Sutherland & Delph 1984; Sutherland 1986). En el caso de especies ornitófilas, aproximadamente un tercio de las flores producen frutos (Ramírez 1995), lo cual ha sido relacionado con la actividad de los colibríes y con la limitación de recursos disponibles para la producción de frutos y semillas (Stephenson & Bertin 1983; Willson & Burley 1983). Un carácter adicional involucrado con el éxito reproductivo de las especies, es la asignación de biomasa a cada verticilo floral. Las flores polinizadas por colibríes frecuentemente exhiben estructuras conspicuas de atracción, lo que representa un componente importante relacionado con la capacidad de producir semillas (Charnov & Bull 1986) y con la condición xenógama de las plantas (Charlesworth & Charlesworth 1987; Lloyd 1987; Brunet 1992).

Otro factor que afecta la eficiencia reproductiva es el arreglo horizontal de las especies de plantas (Stiles 1975; Kunin 1993; Agren 1996), el cual puede variar desde individuos aislados a agregaciones de alta densidad de individuos (Harper 1977). Las plantas en densas agregaciones son visitadas más frecuentemente, lo que puede aumentar la polinización efectiva y en consecuencia incrementar la producción de frutos (Burd 1994; Corbet 1998; Feinsinger *et al.* 1991). Sin embargo, en otros casos, la agregación de plantas o abundancia de flores no afecta la fecundidad (Bruna *et al.* 2004). La alta densidad de plantas junto con la defensa de territorios por parte de colibríes, ha sido reconocida como un mecanismo que afecta los niveles de entrecruzamiento (Feinsinger 1978; Feinsinger *et al.* 1991) y en algunos casos, puede aumentar la polinización y producción de semillas (Feinsinger *et al.* 1991).

El presente trabajo evalúa la biología reproductiva de *Amasonia campestris* en los Altos Llanos Centrales de Venezuela. Específicamente se estudió la biología floral, el mecanismo de polinización y el sistema de entrecruzamiento, así como el posible efecto de estos atributos en la eficiencia reproductiva. De acuerdo a lo anterior se planteó responder las siguientes preguntas: ¿Cuáles son los polinizadores efectivos de *A. campestris*?, ¿Es la abundancia de visitas de los polinizadores positivamente influenciada por la densidad de plantas? y ¿Cuáles son los caracteres reproductivos que limitan y promueven la producción de frutos y semillas en *A. campestris*?

MATERIALES Y METODOS

Área de Estudio

El estudio se realizó en la Estación Biológica de los Llanos de la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales, situada aproximadamente a 12 km al sudeste de la ciudad de Calabozo (8°56' Lat. N, 67°25' Long. O), estado Guárico, Venezuela. El clima presenta marcada estacionalidad con un período seco de diciembre a abril y un período lluvioso de mayo a noviembre (Walter & Medina 1971). El área de estudio está a 75 m de altitud, tiene una precipitación anual que varía desde 779 hasta 1839 mm y el promedio anual de temperatura es 27,6°C. El suelo está caracterizado por la presencia de una coraza laterítica cercana a la superficie que modula la distribución de la vegetación (San José & Fariñas 1983). El área ha sido protegida del fuego y del pastoreo durante varias décadas. La estructura de la vegetación está representada por al menos cuatro tipos de vegetación: bosque, ecotono, sabana y áreas alteradas (Ramírez 2003b). La vegetación descrita por Blydenstein (1962) consiste de un pastizal interrumpido por agrupaciones de árboles denominadas localmente "matas" (Aristeguieta 1966). Son los bordes de las "matas", en la transición bosque-sabana o ecotono, donde se encuentran más frecuentemente los individuos de *Amasonia campestris* (Ramírez 2003b), aunque también pueden estar dispersos en la sabana. Es importante agregar que la presencia de *A. campestris* en los bordes de las "matas" es independiente del área y número de árboles de las matas, aunque parece ser más frecuente en los bordes de "matas" de menor altura y densidad de árboles.

Amasonia campestris es una planta fruticosa y perenne (Aristeguieta 1966), de hasta un metro de altura. El follaje de la planta desaparece durante el período desfavorable y sólo tallos subterráneos y raíces permanecen vivos durante la sequía. Las plantas comienzan su crecimiento conjuntamente con las lluvias y la floración abarca desde julio hasta septiembre, con un máximo en agosto. La planta produce una panícula racemiforme terminal, rara vez más de una inflorescencia. Cada ramificación primaria del eje de la inflorescencia está acompañada por varias brácteas pediceladas de color rojo oscuro.

Densidad poblacional y distribución espacial

La abundancia de *A. campestris* se determinó en 300 parcelas de un metro cuadrado ubicadas en los bordes de las "matas" o transición bosque-sabana. El número de individuos reproductivos fue cuantificado en cada una de las parcelas y posteriormente se calculó la frecuencia, densidad y la distribución espacial de los individuos, esta última medida fue determinada por la relación varianza/densidad promedio (Blackman 1942). Las plantas que forman grupos densos pueden tener conexiones subterráneas, por lo que la densidad se refiere a combinación de densidad de tallos de un mismo genotipo y de diferentes individuos.

Biología floral

La morfología, color, forma y tamaño de las flores se estableció en condiciones naturales de campo. El proceso de antesis fue evaluado en 128 flores durante cinco días de acuerdo al siguiente método: inflorescencias con yemas florales próximas a abrir fueron seleccionadas y enumeradas 2 h antes a la antesis. Posteriormente, se cuantificó el número de flores que abren en intervalos de 1/2 h hasta completar el proceso. La longevidad floral fue determinada por observaciones directas desde la apertura floral hasta la marchitez y/o caída de la flor. De manera similar, la dehiscencia de las anteras, disponibilidad de polen en el tiempo y la receptividad estigmática, se establecieron por observación directa con una lupa de campo a intervalos de 1/2 h. Los estigmas fueron considerados receptivos por la separación de los lóbulos estigmáticos, asociados a cambios de turgencia y la humedad de la superficie estigmática. Todas estas observaciones permitieron estimar la disponibilidad de polen y receptividad estigmática en función del tiempo.

Secreción de néctar

La secreción de néctar se estimó en 20 flores durante tres días. El néctar fue extraído de flores aisladas la noche anterior a la antesis en estado de botones de diferentes individuos próximos a abrir. Las flores se aislaron con bolsas de material sintético y el néctar extraído usando microcapilares insertados en la base de las flores por medio de un pequeño orificio. La inserción en el tubo de la corola fue imposible por la estrechez de la constricción previa a la cámara donde se acumula el néctar. La producción de néctar fue medida a intervalos de 1 h a partir del momento de la antesis, lo cual se estableció en una evaluación previa. El volumen de néctar fue medido durante 12 h, para cada día de vida útil de la flor, realizando así un total de 24 mediciones por flor, principalmente, durante las horas del día. El volumen de néctar producido por flor en cada fase sexual fue comparado estadísticamente usando la prueba t de Student (Sokal & Rohlf 1998). Para este análisis, los volúmenes de néctar fueron normalizados previos a los análisis.

Sistema reproductivo

Los niveles de polinización espontánea, autopolinización y polinización cruzada se establecieron de acuerdo a un programa de polinización manual controlado, siguiendo la metodología descrita por Ruiz-Zapata & Arroyo (1978) y Sobrevila & Arroyo (1982). Para evaluar la agamospermia las flores fueron emasculadas en estado de yemas y aisladas para establecer la posible producción de frutos y semillas sin fertilización. Para la polinización automática las flores fueron aisladas en estado de yemas hasta la formación de frutos y semillas sin la intervención de agentes externos. En la prueba de autocompatibilidad las flores fueron aisladas en estado de yemas y posteriormente, durante la antesis, fueron autopolinizadas manualmente, colocando polen de la misma flor sobre el estigma receptivo; esta prueba permite determinar la capacidad de producir frutos y semi-

llas por autopolinización bajo condiciones de aislamiento. Para la polinización cruzada las flores fueron emasculadas previamente a la antesis, polinizadas con polen de plantas diferentes y posteriormente aisladas hasta la producción de frutos y semillas. Este procedimiento permite cuantificar la eficiencia de la polinización cruzada bajo condiciones experimentales.

La condición de autoincompatibilidad, autocompatibilidad y autogamia fue establecida utilizando tres índices, cada uno de éstos calculado a nivel de fruto y a nivel de semilla. 1- Índice de autogamia de acuerdo a Ruiz-Zapata & Arroyo (1978), el cual mide los niveles de autogamia por la relación fruto/flor por polinización automática dividida por la relación fruto/flor por autopolinización manual. 2- La condición de autogamia medida por la relación fruto/flor por polinización automática dividida por la relación fruto/flor por polinización cruzada (Lloyd & Schoen 1992). 3- Índice de incompatibilidad (Ruiz-Zapata & Arroyo 1978), el cual mide los niveles de incompatibilidad genética por la relación fruto/flor por autopolinización manual por la relación fruto/flor por polinización cruzada. Índices con valores mayores de 0,2 indican autogamia y autocompatibilidad genética respectivamente, y valores menores indican autoincompatibilidad (Ruiz-Zapata & Arroyo 1978; Sobrevila & Arroyo 1982). Además, la prueba estadística G (Sokal & Rohlf 1998), permitió confirmar estadísticamente el sistema reproductivo de *A. campestris*. En esta prueba se comparó la distribución de frecuencia de frutos producidos en relación con el número de flores por prueba entre polinización automática y autopolinización manual y entre polinización manual y polinización cruzada. De manera similar, la producción de semillas relativa al número de óvulos bajo experimentación fue establecida entre estas pruebas reproductivas.

Tres parámetros adicionales permitieron complementar la información suministrada por los resultados de los cruces experimentales. 1- Hercogamia, la separación espacial antera-estigma fue determinada en flores abiertas en diferentes etapas de desarrollo. 2- Dicogamia, la separación temporal en la maduración sexual, se estableció en condiciones de campo: la duración de cada etapa reproductiva o expresión sexual fue determinada en función del tiempo de vida de la flor, desde la antesis hasta la senescencia de la flor. 3- La relación polen/óvulo fue estimada de acuerdo a la metodología descrita por Lloyd (1965). El número de granos de polen por flor se determinó usando cámaras de Neubauer con volúmenes conocidos de dilución. El número de granos de polen por antera se cuantificó en tres preparaciones con cinco anteras de diferentes flores (individuos). En cada preparación, el número de granos de polen fue contado en cinco alcúotas, y se determinó el promedio de granos de polen por preparación. Posteriormente, se estimó el número de granos de polen por antera como el promedio de las tres preparaciones y el número de granos de polen por flor se estableció multiplicando el número de granos de polen por antera por el número promedio de anteras por flor, el cual se cuantificó en 100 yemas florales. La relación polen/óvulo se estimó dividiendo el número de granos de polen por flor entre el número promedio de óvulos por flor.

Biomasa floral

El peso seco del cáliz, corola, androceo, gineceo y de la flor fue determinado para diez flores en una estufa a 40°C hasta peso constante. Para estimar la inversión en biomasa masculina (androceo) se utilizaron dos índices a partir de la biomasa de los verticilos florales: 1- la relación biomasa androceo/biomasa gineceo, y 2- la biomasa masculina relativa fue estimada de acuerdo a la fórmula $M = a/(a+g)$, donde a y g son los pesos secos promedios del androceo y gineceo respectivamente (Schoen 1982).

Polinización

Las visitas de los animales antófilos así como la abundancia de cada especie de visitante por unidad de tiempo se registraron durante 16 h diarias durante tres días de observación. Además, se realizaron observaciones nocturnas durante dos noches. Para determinar si la abundancia de plantas afectaba la de visitantes florales, las observaciones fueron realizadas simultáneamente en dos sitios independientes entre sí y elegidos al azar, los cuales diferían de acuerdo a la densidad de plantas: baja densidad con tres plantas/m² y alta densidad con 14 plantas/m². El efecto de la densidad de plantas sobre el número de visitas se determinó estadísticamente para cada especie de visitante floral, usando la prueba binomial en sus dos modalidades: 1- comparaciones con un número de observaciones menores de 25, y 2- comparaciones con un número de observaciones mayores de 25 (Siegel 1985). Este tipo de prueba no requiere de los supuestos de las pruebas paramétricas y consiste en comparaciones de dos clases de observaciones tomadas al azar de una población. En el presente estudio, los valores comparados fueron el número total de visitas registradas durante los tres días de observación para alta y baja densidad de plantas. El número promedio de visitas de tres días de observación para intervalos de 2 h (ocho observaciones promedio para cada especie de visitante floral) fueron analizadas por medio de correlaciones simples en y entre alta y baja densidad de plantas, respectivamente.

Todos los agentes visitantes fueron capturados: los insectos con mallas de barrido y los colibríes con mallas de neblina. Los especímenes fueron preparados adecuadamente para su identificación por especialistas. La distinción entre agentes visitantes y agentes polinizadores se estableció usando los criterios descritos por Ramírez (2004a): 1- presencia y abundancia de polen transportado, 2- parte del cuerpo donde el polen es transportado y su orientación con los órganos sexuales de las flores durante el proceso de polinización, 3- posibilidad de transferencia de polen al estigma, 4- relación tamaño flor-tamaño visitante, y 5- abundancia relativa de cada agente visitante.

Eficiencia reproductiva

La eficiencia reproductiva natural o aborto de unidades reproductivas se consideró a cuatro niveles de acuerdo a la metodología descrita por Ramírez (1992). El número de flores por inflorescencia y el número de frutos por infrutes-

encia se estableció en 100 inflorescencias e infrutescencias respectivamente. La producción de frutos se obtuvo dividiendo los valores promedios de frutos por infrutescencia y flores por inflorescencia (relación fruto/flor). El número de óvulos por flor se contó en 100 flores procedentes de diferentes individuos. El número de semillas totales por fruto y el número de semillas abortadas por fruto se establecieron en 100 frutos maduros. Las semillas abortadas fueron reconocidas del total de semillas por fruto por su tamaño notablemente más pequeño, mal formadas o aplastadas. La producción de semillas por óvulo se determinó como la relación entre el número promedio de semillas totales dividido entre el número promedio de óvulos por flor. La fracción de semillas abortadas por fruto se estableció dividiendo el número promedio de semillas abortadas por fruto entre el número promedio de semillas totales por fruto. La fecundidad relativa, fracción de semillas producidas por óvulos por inflorescencia, fue determinada de acuerdo a Ramírez (1992):

$$\text{Fecundidad relativa} = \frac{(\text{semillas totales/fruto} - \text{semillas abortadas/fruto}) \times \text{frutos/infrutescencia}}{\text{óvulos/flor} \times \text{flores/inflorescencia}}$$

RESULTADOS

Densidad poblacional y distribución espacial

La densidad poblacional promedio de *A. campestris* fue de 1,23 (DS = 2,67) plantas/m². Las parcelas con individuos de *A. campestris* (n = 93, 31,0%) mostraron una densidad que varía entre 1-12 (-22) plantas/m², con un promedio de 3,96 (DS = 3,99). Los cálculos sobre la disposición espacial indican claramente que *A. campestris* tiene disposición horizontal agregada (DS)²/X̄ = 5,80).

Biología floral

Las flores de *Amasonia campestris* son amarillas, tubulares, con estambres didínamos, exertos y el estigma bifido más largo que los estambres (Fig. 1). Las dimensiones florales fueron: diámetro externo (X̄ = 0,86 cm; DS = 0,52), diámetro del tubo de la corola (X̄ = 0,48 cm; DS = 0,37), largo flor (X̄ = 3,35 cm; DS = 0,33) y largo tubo de la corola (X̄ = 2,45 cm; DS = 0,32). La separación promedio entre el estigma y los estambres medida en 15 flores abiertas en diferentes etapas de desarrollo durante la antesis, mostró una separación mínima de 0,22 cm (DS = 0,13), lo cual indica una condición hercógama.

La antesis ocurre por el lento desplazamiento de los lóbulos de la corola, desde tempranas horas de la mañana previa a la antesis hasta la noche y madrugada del día de apertura. Las flores individuales abren a diferentes tiempos a partir de las 3:30 hasta las 7:00, y presentan dos máximos de apertura: el primero a las 5:00 y el segundo a las 6:30 (Fig. 2). El proceso global culmina a las 7:00, pero aproximadamente 50% de las flores abren dos horas antes. Inmediatamente

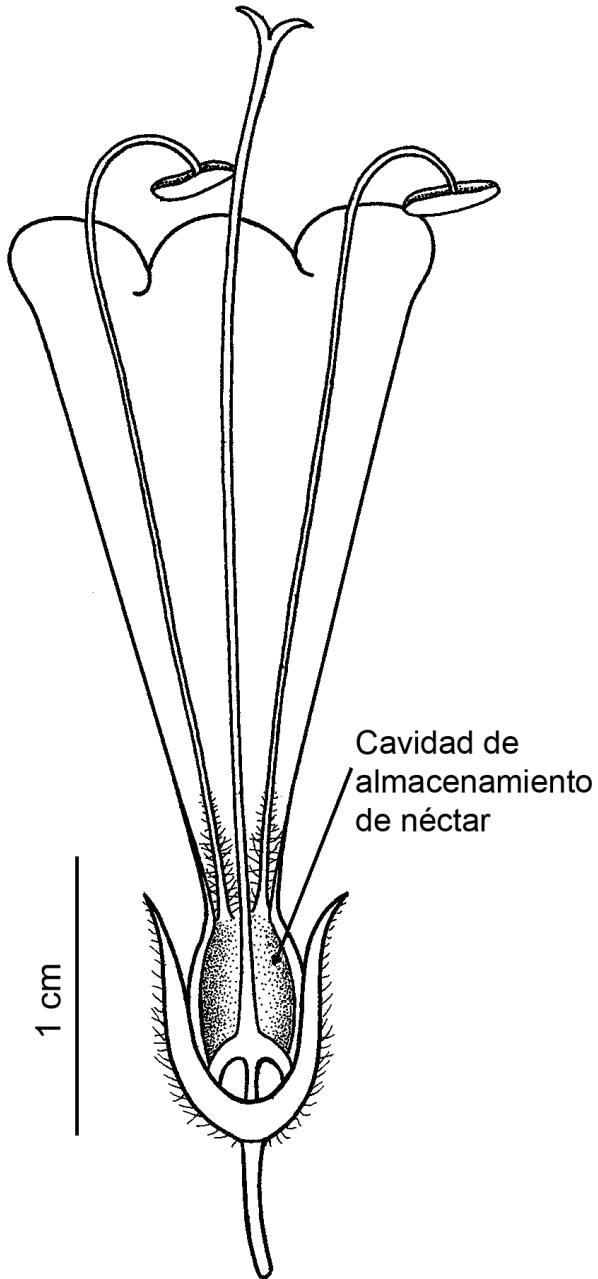


Fig. 1. Sección longitudinal de una flor de *A. campestris* mostrando la cavidad de almacenamiento de néctar.

después que abren las flores, los estambres adoptan una posición paralela respecto al tubo de la corola, la cual persiste por el resto del día (Fig. 3a). Simultáneamente el estilo se torna reflejo, quedando el estigma oculto debajo del tubo de la flor (Fig. 3a). La apertura de las anteras en cada flor no ocurre sincrónicamente: las anteras de los estambres más largos abren primero y posteriormente abre el par de anteras de los estambres más cortos. El proceso global se inicia a las 6:00 y culmina a las 9:00. Al día siguiente, en las flores abiertas del primer día, el estilo se extiende hasta alcanzar una posición paralela al tubo de la corola y se separan los lóbulos estigmáticos; simultáneamente los estambres se tornan reflejos, quedando por debajo del tubo floral (Fig. 3b). Al final del segundo día la corola comienza a marchitarse y termina por desprenderse de la flor. Estas características muestran una longevidad floral de dos días, y la separación temporal en la expresión sexual del androceo y gineceo permite establecer la condición protandra de las flores.

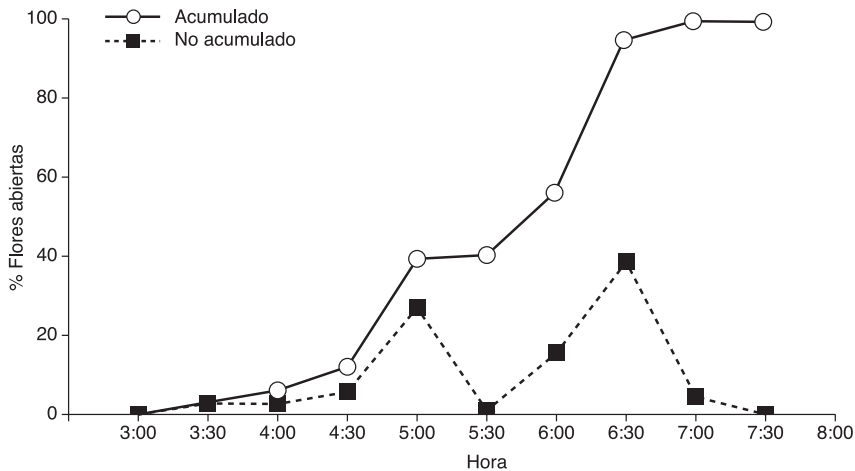


Fig. 2. Patrón de apertura floral de *A. campestris*.

El número de flores abiertas por inflorescencia por día varía de 1 a 5 ($\bar{X} = 2,19$; $DS = 2,32$), lo que representa sólo 4,87% del número promedio de flores por inflorescencia. El número de flores abiertas por inflorescencia está correlacionado con el número total de flores por inflorescencia ($n = 89$; $r = 0,59$; $P < 0,0001$) y con la longitud total de la inflorescencia ($n = 108$; $r = 0,44$; $P < 0,0001$). La correlación significativa entre la longitud de la inflorescencia y el número total de flores por inflorescencia ($n = 128$; $r = 0,73$; $P < 0,0001$) muestra que el número de flores abiertas por inflorescencia es afectado por ambas variables, las cuales parecen tener un efecto similar sobre el número de flores abiertas por inflorescencia: los coeficientes parciales de correlación no difieren estadísticamente ($gl = 88$; $t = 1,25$; n.s.). La proporción de flores en condición masculina y

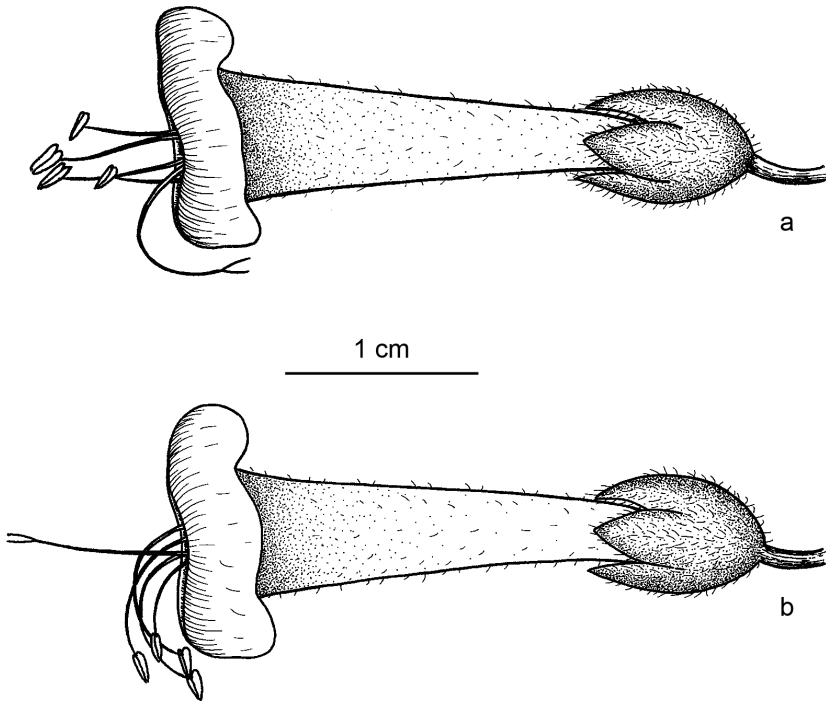


Fig. 3. Disposición de anteras y estigma en flores de *A. campestris*. **a.** Durante el primer día de vida floral. **b.** Durante el segundo día de vida floral.

femenina depende del número total de flores por inflorescencia y largo de la inflorescencia, pero también depende del número de flores que abre cada día. La proporción de flores en fase masculina es ligeramente mayor que la proporción de flores en fase femenina: 13,89% de las flores en fase masculina no alcanza la condición femenina. Las principales causas de esta diferencia son la caída ocasional o el consumo de las flores por insectos.

Secreción de néctar

El néctar es producido y acumulado en la cavidad basal de la corola (Fig. 1) y es retenido allí por la constricción de ésta, la cual es más acentuada por la presencia de los filamentos de los estambres y de tricomas que dificultan el escurrimiento del néctar (Fig. 1). La secreción de néctar comienza a las 7:00 y se prolonga hasta las 13:00 (Fig. 4). El volumen total de néctar por flor durante los dos días de actividad floral varió entre 8,55 y 35,15 $\mu\text{l}/\text{flor}$, con una media de 21,75 μl (DS = 9,19). Las flores en fase masculina (primer día) producen en promedio 7,94 μl (DS = 5,51) de néctar por flor y varía entre 2,85 y 20,9 μl . En contraste, las flores en fase femenina (segundo día) comienzan la producción de néctar a las 8:00 y se prolon-

ga hasta las 13:00. El volumen promedio de néctar por flor en fase femenina es de 14,57 μl (DS = 9,98) y varía entre 4,75 y 24,7 μl . La producción de néctar promedio por flor no difiere estadísticamente entre la fase masculina y la fase femenina ($gl = 17$; $t = 1,26$; n.s.). El período de secreción de néctar es una hora más largo para la fase masculina que para la fase femenina (Fig. 4); sin embargo, el número promedio de horas en que una flor produce néctar en condición masculina ($n = 13$; $\bar{X} = 2,92$; DS= 1,71) y femenina ($n = 6$; $\bar{X} = 3,33$; DS = 1,37) no difiere estadísticamente ($gl = 17$, $t = 1,32$, n.s.). La producción de néctar por hora por flor a lo largo del día varió entre 0,95 y 4,58 μl para flores en fase masculina y entre 2,85 y 5,38 μl para flores en fase femenina.

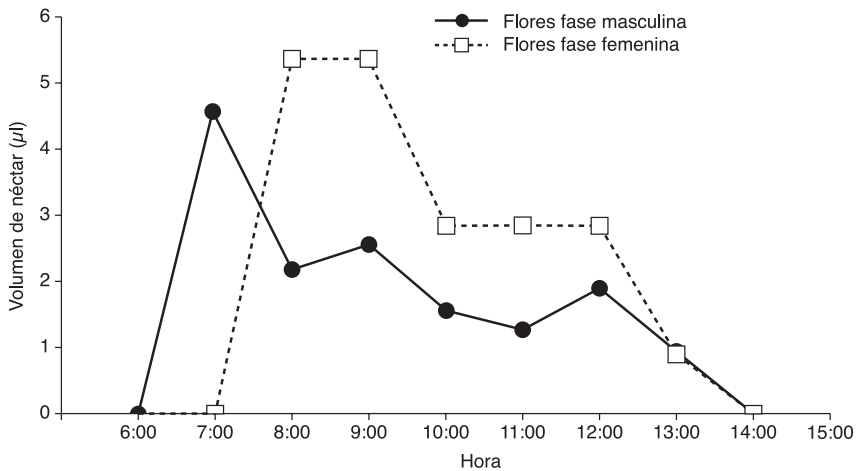


Fig. 4. Volumen de néctar producido por intervalos de una hora en flores en fase masculina y fase femenina a lo largo del día.

Sistema reproductivo

Los resultados de los cruces controlados indican que *Amasonia campestris* produce alto porcentaje de frutos y semillas por polinización cruzada comparado con los respectivos valores obtenidos en las pruebas de polinización automática y autopollinización manual (Tabla 1). Los valores de los índices de autogamia difieren de acuerdo al criterio utilizado. De acuerdo a Ruiz-Zapata & Arroyo (1978) y Sobrevila & Arroyo (1982), los índices de autogamia a nivel de fruto (0,34) y a nivel de semilla (0,27) corresponden a la condición autógena; en contraste, de acuerdo a Lloyd & Schoen (1992) los valores de los índices a nivel de fruto (0,10) y a nivel de semilla (0,05) corresponden a la condición no autógena. Con relación a los índices de incompatibilidad genética, el valor a nivel de fruto (0,34) duplica el valor obtenido a nivel de semilla (0,17); el primero indica autocompatibilidad y el segundo autoincompatibilidad genética. Los resultados de las pruebas estadísticas

muestran que los valores de autopolinización manual resultaron estadísticamente mayores que los valores de polinización automática a nivel de frutos ($gl = 1; \chi^2 = 7,53; P = 0,0061$) y semillas ($gl = 1; \chi^2 = 10,75; P = 0,0010$), lo cual indica la condición no autogama. De manera similar, los valores de polinización cruzada resultaron estadísticamente mayores que los valores de autopolinización manual a nivel de frutos ($gl = 1; \chi^2 = 22,07; P = 0,0000$) y semillas ($gl = 1; \chi^2 = 39,46; P = 0,0000$), lo cual muestra la condición de autoincompatibilidad.

El número de granos de polen por estambre fue 1250 y el número de granos de polen por flor fue 5000 al multiplicarlo por el número de estambres por flor ($\bar{X} = 4,0; DS = 0,0$). La relación polen/óvulo fue de 1250 ya que el número promedio de óvulos por flor ($\bar{X} = 4,0; DS = 0,0$) es igual al número de estambres por flor.

Tabla 1. Resultados de cruces controlados realizados en *Amasonia campestris*.

Tipo de prueba	Nº de plantas	Nº de flores	Frutos		Semillas	
			Nº	%	Nº	%
Polinización automática	9	190	14	7,37	21	2,74
Autopolinización manual	13	65	14	21,54	27	10,31
Polinización cruzada	12	50	35	70,00	123	61,04
Agamospermia	5	131	0	0,00	0	0,00

Valores porcentuales relativos al número total de óvulos en la muestra de flores

Biomasa floral

La asignación de biomasa a cada verticilo floral indica que más del 50% corresponde a la corola (Tabla 2). La relación de biomasa reproductiva/biomasa perianto (vegetativa) fue de 0,37 indicando desbalance entre estos verticilos. La relación androceo/gineceo fue de 0,65 y la biomasa androceo/biomasa reproductiva fue de 0,39. Ambos índices muestran mayor inversión femenina relativa a la inversión masculina.

Tabla 2. Valores promedio de biomasa seca de los verticilos florales de *Amasonia campestris*.

Verticilos florales	Peso (mg)		Porcentaje (%)
	X	DS	
Cáliz	1,67	0,25	19,65
Corola	4,51	1,30	53,05
Androceo	0,92	0,24	10,81
Gineceo	1,40	0,12	16,47
Flor	8,50	1,56	

DS = Desviación estándar

X = Promedio

Polinización

Amasonia campestris presenta polinización diurna. Las flores son visitadas por cuatro especies de mariposas de la familia Pieridae (Tabla 3). Todas las mariposas visitan las flores posándose y sujetándose sobre la corola de la flor e insertando su proboscis para extraer néctar. Durante la visita, las anteras contactan con la parte externa de las alas posteriores, donde es depositado el polen, pero esta superficie solamente retiene y transporta escaso polen. Además, las mariposas pierden fácilmente las escamas durante el proceso de captura, lo cual podría influir en la cantidad de polen observado. Tres especies de colibríes visitan las flores y transportan abundante polen en la base de la mandíbula inferior del pico y en la garganta (Tabla 3). El proceso de alimentación y polinización consiste en la inserción del pico del colibrí en el tubo de la corola (Fig. 5b), cambiando la flor de una posición parcialmente péndula (Fig. 5a) a una posición aproximadamente horizontal al suelo (Fig. 5c). Por medio de este movimiento, los estambres o el estigma hacen contacto con la garganta y/o mandíbula inferior del colibrí (Fig. 5c) y así lleva o deposita polen. El cambio de posición de la flor durante la visita del ave puede facilitar la extracción del néctar.

Tabla 3. Especies visitantes, sitio de transporte de polen y frecuencia de visitas a *A. campestris* registradas en tres días de observación (45 h).

Familia Especie	Tasa de visitas (individuos/hora)		Estadístico (P)	Sitio transporte de polen	Abundancia de polen
	Densidad				
	Alta	Baja			
Trochilidae (colibríes)					
<i>Amazilia fimbriata</i>	0,88	0,00	5,92 (0,000)	Base pico y garganta	Abundante
<i>Amazilia tobaci feliciae</i>	0,21	0,05	* (0,09)	''	''
<i>Chlorostilbon mallisiga caribaeus</i>	0,14	0,24	* (0,829)	''	''
Total colibríes	1,23	0,29	4,87 (0,000)		
Pieridae (mariposas)					
<i>Ophrisa statira</i> (Cramer)	0,17	0,00	* (0,008)	Alas posteriores	Escaso
<i>Phoebis argante</i> L.	0,00	0,02	** N.D.	''	''
<i>Phoebis philea</i> L.	0,54	0,10	3,46 (0,000)	''	''
<i>Phoebis sennae</i> L.	6,21	1,88	9,81 (0,000)	''	''
Total mariposas	6,93	1,97	10,80 (0,000)		

* = Valores determinados de la tabla de probabilidades de la prueba binomial (ver métodos para detalles). ** = No se determinó por su baja frecuencia, N.D. = No disponible.

La tasa de visita de los colibríes y mariposas varía de acuerdo a la especie polinizadora y a la densidad poblacional de *A. campestris* (Tabla 3). La especie de

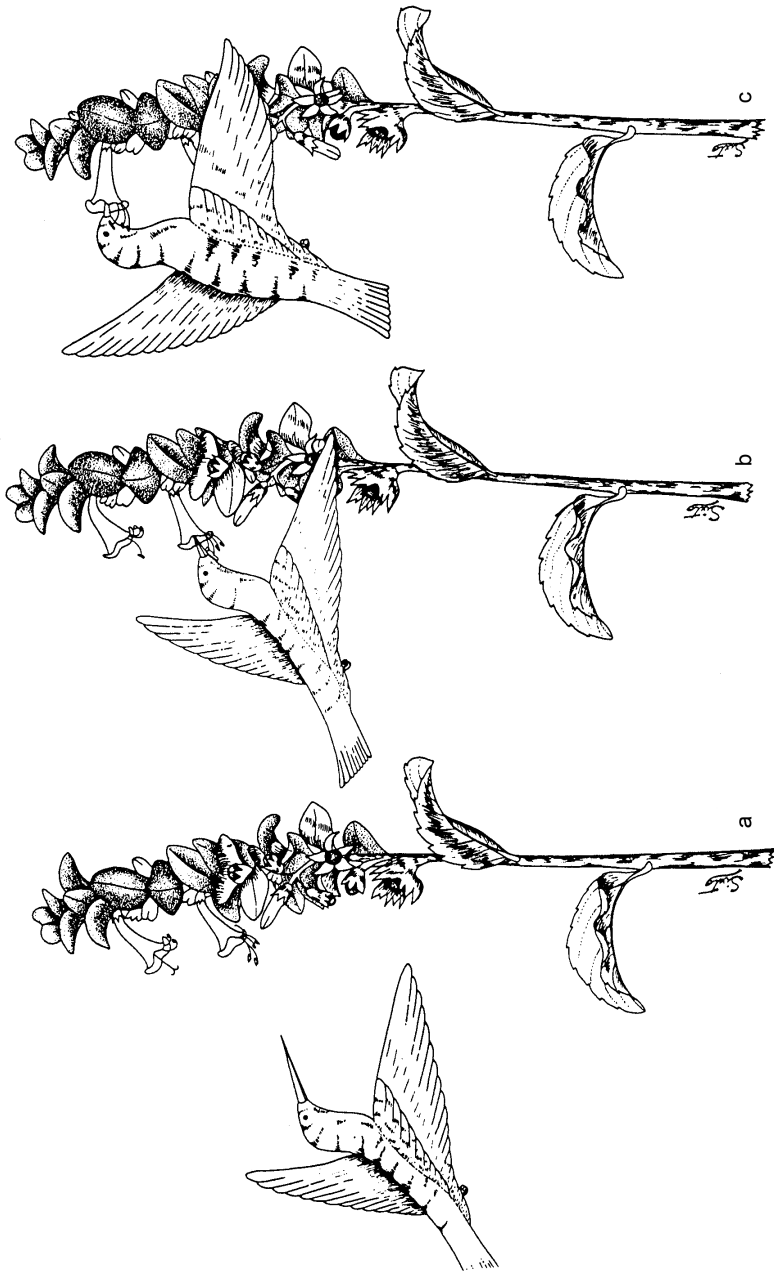


Fig. 5. Proceso de polimización por colibríes de flores de *A. campestris*. **a.** Aproximación a las flores. **b.** Inserción del pico del colibrí en la flor. **c.** Posición horizontal de la flor, contacto de los estambres con la garganta y alimentación del colibrí.

colibrí más abundante fue *Amazilia fimbriata obscuricauda*, aunque esta especie no visita flores de plantas a baja densidad poblacional; sin embargo, *Chlorostilbon mellisuga caribaeus* fue más abundante a baja densidad de *A. campestris* (Tabla 3). La comparación estadística mostró que *Amazilia fimbriata obscuricauda* y *Amazilia tobaci feliciae* visitan más frecuentemente plantas a alta densidad (Tabla 3), mientras que *Chlorostilbon mellisuga caribaeus* visita más a las plantas a menor densidad, pero no hay diferencias estadísticamente significativas (Tabla 3). El número promedio de visitas de colibríes a alta densidad de plantas de *A. campestris* resultó estadísticamente mayor a baja densidad de plantas (Tabla 3). La correlación entre el volumen de néctar por hora y la abundancia de polinizadores por unidad de tiempo mostró que la producción de néctar está positivamente correlacionada con la abundancia de *Amazilia fimbriata obscuricauda* a alta densidad de plantas ($n = 8$; $r = 0,95$; $P < 0,0001$) y con la abundancia de *Chlorostilbon mellisuga caribaeus* a baja densidad de plantas ($n = 8$; $r = 0,73$; $P < 0,02$).

La actividad de los colibríes en las dos condiciones ecológicas fue mayor en horas de la mañana y de la tarde, y menor durante horas de mayores temperaturas, mediodía y primeras horas de la tarde. Sin embargo, *Amazilia fimbriata obscuricauda* realiza visitas durante todo el día a alta densidad de individuos (Fig. 6a), aunque disminuye durante las horas con mayores temperaturas. Es notable que la disminución de *Amazilia fimbriata obscuricauda* durante dichas horas está asociada a la presencia de las otras dos especies de colibríes (Fig. 6a). A baja densidad de plantas sólo fueron observados *Amazilia tobaci feliciae* y *Chlorostilbon mellisuga caribaeus*, cuyos períodos de actividad coinciden con los máximos de actividad de *Amazilia fimbriata obscuricauda* en la condición de alta densidad de plantas (Fig. 6a, b). El análisis de correlación entre los valores de abundancia de especies de colibríes a diferentes densidades de plantas mostró que la abundancia de *Chlorostilbon mellisuga caribaeus* a baja densidad de plantas está positivamente correlacionada con la abundancia de *Amazilia fimbriata obscuricauda* a alta densidad de plantas ($n = 8$; $r = 0,76$; $P < 0,02$) y *Amazilia tobaci feliciae* a baja densidad de plantas ($n = 8$; $r = 0,89$; $P < 0,001$), lo cual indica que las especies de colibríes exhiben patrones de visitas diarias que varían de acuerdo a la densidad de plantas.

Las especies de mariposas *Phoebis sennae* y *Phoebis philea* realizaron mayor número de visitas (Tabla 3). La abundancia de ambas especies fue estadísticamente mayor a alta densidad poblacional de plantas comparado con baja densidad respectivamente (Tabla 3). Además, *Ophrisa statira* también mostró mayor número de visitas a alta densidad de plantas, y *Phoebis argante* sólo fue observada una vez (Tabla 3). El número total de visitas de mariposas a alta densidad de *A. campestris* resultó estadísticamente mayor que a baja densidad (Tabla 3). En otras palabras, a alta densidad de plantas se incrementó aproximadamente tres veces la abundancia de *Phoebis sennae* y cinco veces la de *Phoebis philea* (Tabla 3).

En general, las visitas efectuadas por mariposas fueron mucho más frecuentes en horas del medio día en alta (Fig. 7a) y baja densidad (Fig. 7b) para

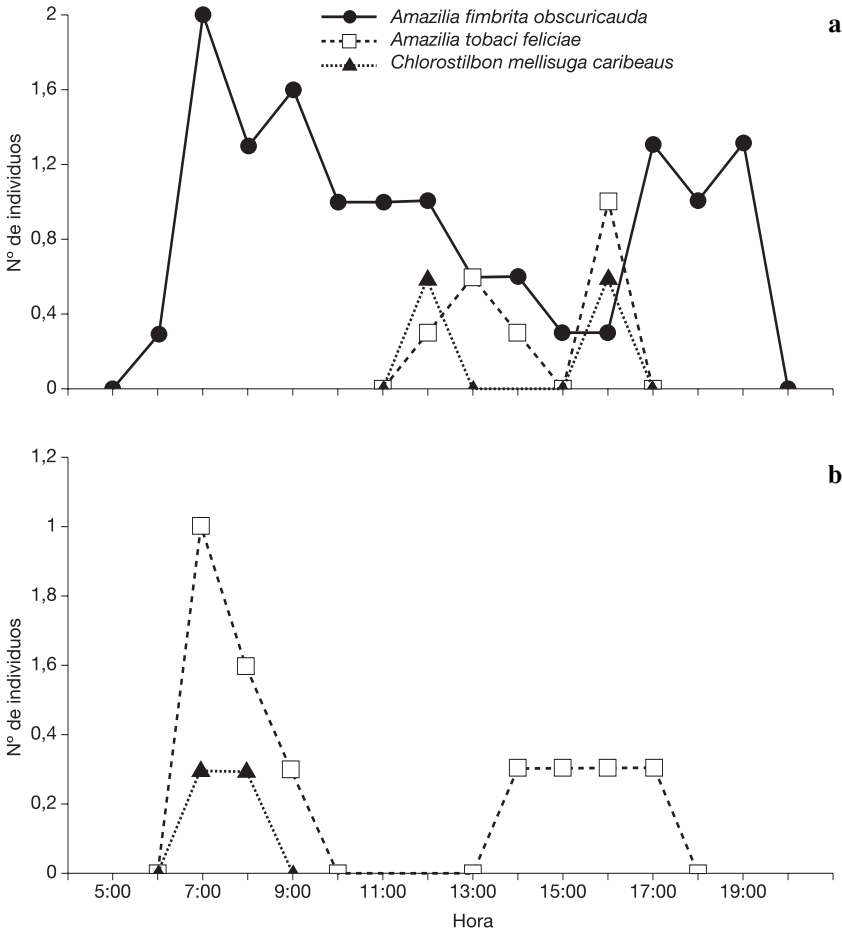


Fig. 6. Número de visitas promedio por hora de tres especies de colibríes *A. campestris*. **a.** A alta densidad de plantas. **b.** A baja densidad de plantas.

Phoebis sennae, aunque hay un desplazamiento de 1/2 h entre los máximos de visitas entre las dos condiciones de densidad (Fig. 7a, b). El análisis de correlación entre los valores de abundancia de especies de mariposas a lo largo del día mostró que *Phoebis sennae* y *Phoebis philea* tienen patrones de visitas similares a baja densidad de plantas ($n = 8$; $r = 0,85$; $P < 0,01$) y alta densidad de plantas ($n = 8$; $r = 0,96$; $P < 0,0001$). *Phoebis argante* mostró patrones diarios de visitas similares a alta y baja densidad de plantas ($n = 8$; $r = 0,89$; $P < 0,001$).

El análisis de correlación entre los valores promedio de abundancia de especies de mariposas y especies de colibríes a lo largo del día mostró que el patrón de visitas de *Amazilia tobaci feliciae* es similar al patrón de visitas de *Phoebis sennae* ($n = 8$; $r = 0,91$; $P < 0,001$) y *Phoebis philea* ($n = 8$; $r = 0,88$; $P < 0,01$)

a alta densidad de plantas. En contraste, el patrón diario de visitas de *Phoebis sennae* está negativamente correlacionado con el patrón de visitas diarias de *Chlorostilbon mellisuga caribaeus* a baja densidad de plantas ($n = 8$; $r = -0,81$; $P < 0,01$) y con el patrón de visitas de *Amazilia fimbriata obscuricauda* a alta densidad de plantas ($n = 8$; $r = -0,76$; $P < 0,01$). Observaciones de campo, en las cuales los colibríes agredían a las mariposas confirman la presencia de interacción negativa entre estas especies de polinizadores.

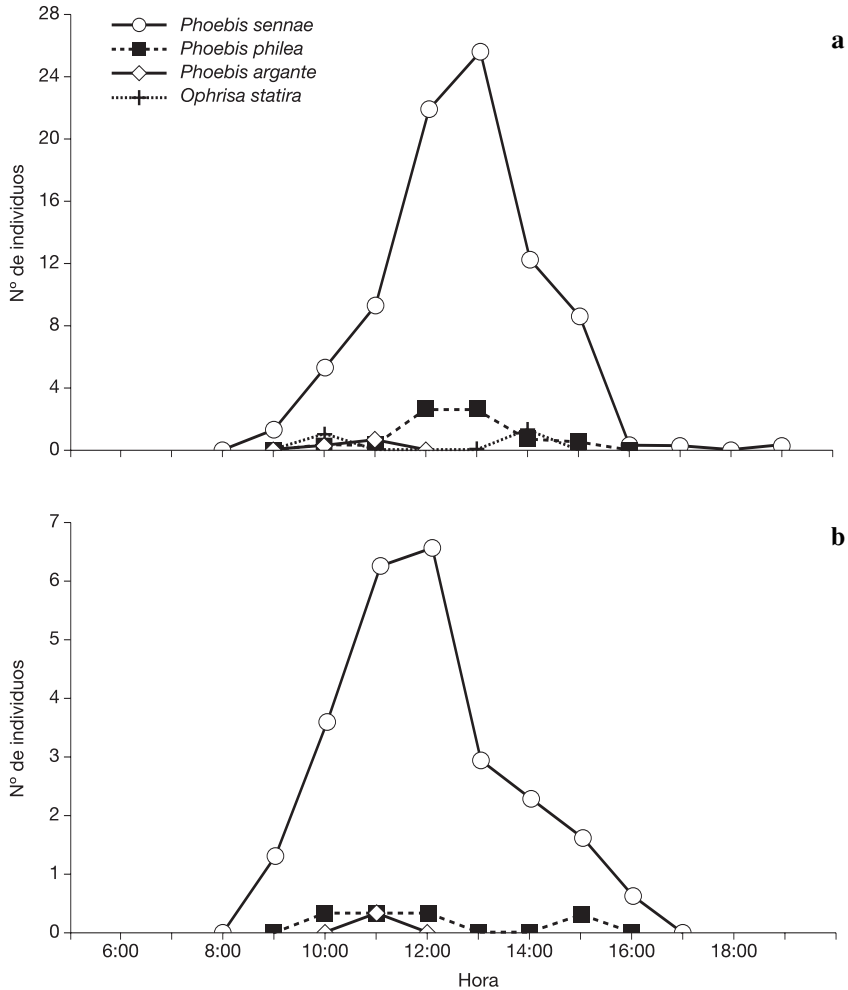


Fig. 7. Número de visitas promedio por hora de cuatro especies de mariposas *A. campestris*. **a.** A alta densidad de plantas. **b.** A baja densidad de plantas.

Eficiencia reproductiva

El número de flores por inflorescencia varía desde 10 hasta 168 con un valor promedio de 44,91 (DS = 27,89), y el número de frutos producidos por infrutescencia varía de 6 a 114 con una media de 28,86 (DS = 20,40). De acuerdo a lo anterior, la producción promedio de frutos por flor fue 64,26%. El número promedio de semillas por fruto fue 2,98 (DS = 1,05). De acuerdo al número promedio de óvulos por flor ($\bar{X} = 4,03$; DS = 0,17), la producción de semillas por óvulo fue 73,94% y el número promedio de semillas abortadas por fruto fue 0,05 (DS = 0,29). Basados en estos valores, la fecundidad relativa o proporción de semillas producidas por óvulo por inflorescencia fue 46,72%, lo cual indica un valor intermedio de fecundidad. Debido a que cada planta individual produce una sola inflorescencia, la fecundidad absoluta anual o número de semillas producidas por óvulo por individuo por año corresponde a 0,47.

DISCUSIÓN

Polinización y biología floral

En general, el síndrome de polinización por colibríes es muy parecido al síndrome de polinización por mariposas diurnas (Faegri & van der Pijl 1979). La morfología y biología floral de *A. campestris* evidencia una serie de atributos florales que corresponden principalmente con la polinización por aves. Muchas de estas características pueden diferir con relación a las flores polinizadas por mariposas diurnas. 1- Las flores polinizadas por colibríes son predominantemente tubulares (Faegri & van der Pijl 1979; Sazima *et al.* 1996) y las polinizadas por mariposas diurnas pueden tener tubos largos y estrechos (Faegri & van der Pijl 1979; Teixeira-Ormond *et al.* 1993; Ramírez 2003a), tipo trompeta de acuerdo a Faegri & van der Pijl (1979). 2- La longevidad de las flores polinizadas por colibríes frecuentemente es mayor que un día (McDade 1986; Stratton 1989; Grases & Ramírez 1998; Cardoso de Castro & Macedo de Oliveira 2001) y en flores polinizadas por mariposas diurnas frecuentemente tienen una longevidad de un día (Arista *et al.* 1997). 3- El volumen de néctar es considerablemente menor en especies polinizadas principalmente por mariposas (Watt *et al.* 1974; Arista *et al.* 1997) comparado con flores polinizadas por colibríes (Stiles 1975; Kodric-Brown *et al.* 1984; Feinsinger 1978). La producción de néctar diario por flor y el volumen total de néctar por flor en *A. campestris* es menor a reportes para otras especies polinizadas por colibríes (Stiles 1975; McDade 1986; Neill 1987; Sazima *et al.* 1996; Grases & Ramírez 1998; Nassar & Ramírez 2004), aunque en otras especies ornitófilas la producción de néctar por flor puede ser menor (Sobrevila *et al.* 1983; Kodric-Brown *et al.* 1984; Feinsinger *et al.* 1986; Hokche & Ramírez 1990; Grases & Ramírez 1998; Cardoso de Castro & Macedo de Oliveira 2001) al registrado en *A. campestris*. 4- El número de flores abiertas por planta es mayor en especies polinizadas por mariposas diurnas (Arista *et al.* 1997) comparado con especies ornitófilas. Además, las flores son ligeramente péndulas lo cual es reco-

nocido como un carácter asociado a la polinización por colibríes (Aizen 2003) y en muchos casos la antesis ocurre antes o durante el amanecer (Seres & Ramírez 1995). La antesis en *A. campestris* ocurre antes del amanecer, las visitas de los colibríes comienzan con el alba y la producción de néctar comienza durante las primeras horas del día, tal como ha sido reportado para otras especies ornitófilas (Stiles 1975), mientras que las visitas de mariposas se inician después de las 8:00 h, una hora después del inicio de la secreción de néctar. De acuerdo a lo anterior, los atributos morfológicos y la biología floral de *A. campestris* tienden a corresponder más con el síndrome ornitófilo. Sin embargo, es notable un amplio solapamiento y similitud entre los caracteres de polinización por aves y mariposas.

Las plantas pueden tener co-polinizadores alternativos que también se desempeñan como vectores de polen (Waser *et al.* 1996; Johnson & Steiner 2000). En general, sistemas de polinización mixtos o polifílicos contribuyen al mantenimiento de la diversidad de gremios de polinizadores y reduce la susceptibilidad de fallar en la reproducción (Ramírez 2004b). En este contexto, las especies de mariposas parecen actuar también como polinizadores efectivos por transportar polen y por las altas tasas de visitas. La polinización por mariposas que transportan polen en sus alas ha sido también reportada en *Caesalpinia pulcherrima* (Cruden & Hermann-Parker 1979). La imprecisión del transporte de polen en las alas de las mariposas puede ser compensada con alta cantidad de visitas. Además, una elevada cantidad de néctar aumenta la permanencia de las mariposas sobre las flores, lo cual puede incrementar la probabilidad de polinización (Cruden & Hermann-Parker 1979). Estos agentes pueden dispersar polen a largas distancias (Courtney *et al.* 1981; Murawski & Gilbert 1986), aunque los colibríes pueden dispersar polen a mayores distancias (Webb & Bawa 1983). La mayoría de los atributos de flores ornitófilas y la baja cantidad de polen transportado por las mariposas diurnas las coloca en condición de co-polinizador o polinizador secundario con respecto a los colibríes, lo cual permite suponer que la función polinizadora de las mariposas diurnas en *A. campestris* es secundaria, y que los colibríes representan los polinizadores principales o primarios.

Pautas temporales de polinización y densidad poblacional

Las visitas efectuadas por mariposas fueron mucho más frecuentes en horas del mediodía en alta y baja densidad de plantas, lo cual puede ser asociado al hecho de que los insectos por su condición poiquiloterma tienden a ser más activos en horas con temperaturas más cálidas que durante horas más tempranas en la mañana. La mayor actividad de colibríes durante horas de la mañana y de la tarde, en alta y en baja densidad de plantas, parece estar inicialmente determinada por factores climáticos. En horas del mediodía, las altas temperaturas demandan un alto costo metabólico para el mantenimiento de los colibríes. El patrón diario de visitas de colibríes no está completamente determinado por el patrón de producción de néctar, el cual está concentrado en horas de la mañana. Probablemente, el néctar producido en horas de la mañana no es completamente consumido y permanece en las

flores para su consumo por aves y mariposas en horas de la tarde. Sin embargo, la abundancia de dos especies de colibríes está positivamente correlacionada con los volúmenes de néctar producidos a lo largo del día, lo cual sugiere que la producción de néctar influencia los patrones de alimentación de los colibríes, tal como ha sido reportado para especies de colibríes asociadas a *Heliconia* (Stiles 1975; Gill 1987). Otro factor que podría promover las visitas de las mariposas durante las horas del mediodía es el posible desplazamiento por parte de los colibríes, los cuales son mucho más abundantes durante las horas de la mañana y la tarde. En este sentido, el patrón diario de visitas de mariposas y colibríes puede indicar interacciones negativas por agresiones directas de colibríes a las mariposas. Por lo tanto, la especie más abundante de colibrí (*Amazilia fimbriata obscuricauda*) y de mariposa (*Phoebis sennae*) interactúan negativamente.

Los patrones diarios de visitas de aves y mariposas pueden ser similares a diferentes densidades de plantas. Sin embargo, los patrones de visitas de las especies de colibríes están modificados por la densidad de plantas. De hecho, alta densidad de flores ha sido correlacionada con alta abundancia de colibríes (Stiles 1975; Kodric-Brown *et al.* 1984; Martínez del Río & Egiarte 1987; Feinsinger *et al.* 1991). A alta densidad de plantas *Amazilia fimbriata obscuricauda* realiza visitas durante todo el día, pero disminuye durante las horas con mayores temperaturas, cuando incrementan las visitas de *Amazilia tobaci feliciae* y *Chlorostilbon mellisuga caribaeus*. Por el contrario, a baja densidad de plantas sólo ocurrieron visitas de *Amazilia tobaci feliciae* y *Chlorostilbon mellisuga caribaeus* durante las horas de la mañana y la tarde. Estos resultados sugieren un desplazamiento entre especies polinizadoras, donde *Amazilia fimbriata obscuricauda* parece monopolizar el recurso floral a alta densidad de plantas y probablemente desplaza a las otras especies de colibríes a parches de baja densidad de plantas y en consecuencia de menor recurso.

La distribución agregada de algunas especies de plantas puede promover la conducta territorial de los colibríes polinizadores (Stiles 1975; Sazima *et al.* 1996). El comportamiento territorial de los colibríes restringe el flujo de polen cuando las áreas están limitadas a pequeños grupos de plantas (Linhart 1973; Kress 1983). Además, plantas en densas agregaciones son visitadas más frecuentemente por polinizadores y consecuentemente aumentan la deposición de polen y producción de frutos (Burd 1994; Corbet 1998), aunque en otros casos la agregación de plantas o abundancia de flores no afecta la fecundidad (Bruna *et al.* 2004). Parches de alta densidad de plantas de *A. campestris* atraen un número significativamente mayor de polinizadores, lo cual concuerda con la hipótesis general sobre la distribución poblacional de las especies y su efecto sobre la atracción de polinizadores (Stiles 1975; Burd 1994; Corbet 1998). Sin embargo, la relativa proporcionalidad entre densidad de plantas y abundancia de visitas parece equiparar las visitas en ambas condiciones poblacionales (relación número de visitas de colibríes/número de plantas a alta densidad = 0,087, y baja densidad = 0,096; relación número de visitas de mariposas/número de plantas a alta densidad = 0,495 y baja densidad = 0,650). La densidad de plantas de *A. campestris* no parece limitar la visita de los

colibríes territoriales a diferentes parches densos, aparentemente los colibríes parecen movilizarse entre varios grupos de plantas. Por el contrario, las visitas de los colibríes no territoriales y de algunas mariposas parecen favorecer el movimiento de polen entre plantas de alta y baja densidad poblacional. Además, el bajo número de flores abiertas por planta (inflorescencias en *A. campestris*) puede promover rutas de visitas por parte de los colibríes (Stiles 1975; Sazima *et al.* 1996).

Sistema reproductivo

Los resultados de los cruces controlados indican que *A. campestris* tiene un sistema reproductivo mixto con alta tendencia a la autoincompatibilidad. La condición de incompatibilidad puede ser mejor interpretada a nivel de semillas debido a que la reacción de incompatibilidad puede estar afectando más la producción de semillas que la producción de frutos cuando los niveles de autoincompatibilidad son incompletos. Además, es conveniente considerar que el número de semillas por fruto representa un mejor estimado reproductivo, ya que los frutos pueden variar ampliamente en el número de semillas por fruto, lo cual puede responder entre muchas variables a relaciones de incompatibilidad. *A. campestris* tiene cierta producción de frutos y semillas por polinización espontánea. Los resultados obtenidos indican autogamia de acuerdo al criterio de Ruiz-Zapata & Arroyo (1978) y Sobrevila & Arroyo (1982), sin embargo, de acuerdo a Lloyd & Schoen (1992) los índices sugieren la condición no autógama.

La polinización espontánea es posible durante el cambio de posición de los estambres y estilo. Sin embargo, la cantidad de frutos y semillas producida por autopolinización espontánea es de tres a cuatro veces menor que la autopolinización manual y mucho menor que la polinización cruzada. Resultados similares han sido reportados para especies protandras ornitófilas (Lange & Scott 1999; Lange *et al.* 2000) y los autores indicaron que no existe selección para autopolinización espontánea en estas especies. Sin embargo, cierta fracción de semillas producidas por autopolinización espontánea puede ser ventajosa bajo limitación de polinizadores. La baja producción de frutos y semillas por autopolinización espontánea comparada con autopolinización manual puede ser asociada con la condición hercógama y dicógama. La hercogamia y la dicogamia son consideradas como atributos que promueven la polinización cruzada o evitan la autopolinización (Lloyd & Webb 1986; Webb & Lloyd 1986; Bhardwaj & Eckert 2001). Sin embargo, la dicogamia en *A. campestris* no es sincrónica a nivel de plantas individuales, por lo tanto no evita la geitonogamia. Probablemente la dicogamia actúa principalmente evitando la interferencia polen-estigma intrafloral y en segundo lugar reforzando la polinización cruzada, la cual puede ser óptima cuando se produce sólo una fase sexual por planta. La protandria y la alta tendencia a la autoincompatibilidad representan características que favorecen el entrecruzamiento (Kalinganire *et al.* 2000). Sin embargo, la protandria en especies autoincompatibles puede ser un mecanismo que reduce la interferencia polen-estigma (Lloyd & Yates 1982; Lloyd & Webb 1986). La condición xenógama en *A. campestris* sugiere que el patrón de visitas de colibríes y mari-

posas, así como la efectividad de polinización, permite mantener un sistema de entrecruzamiento en una especie herbácea perenne. Sistemas reproductivos en los que la condición protandra está asociada a longevidad floral de dos días, anthesis previa al amanecer y son polinizadas principalmente por colibríes, parecen representar una condición frecuente que ha evolucionado en especies ornitófilas de diferentes familias de plantas: Rubiaceae (McDade 1986; Cardoso de Castro & Macedo de Oliveira 2001), Loranthaceae (Galetto *et al.* 1990), Fabaceae (Neill 1987), Onagraceae (Raven 1979), y posiblemente otras familias. Sin embargo, características diferentes pueden estar presentes en especies ornitófilas (Stiles 1975; Snow 1982; Seres & Ramírez 1995; Grases & Ramírez 1998; Nassar & Ramírez 2004).

La xenogamia en *A. campestris* también está relacionada con la alta cantidad de biomasa asignada a la flor y a los pétalos de las flores, lo cual indica una alta inversión en atracción relativa a la biomasa sexual. Modelos teóricos consideran el impacto de la atracción de polinizadores en la producción de semillas (Charnov & Bull 1986). Más de 50% de la biomasa total es asignada a la corola en *A. campestris*, lo cual es ligeramente superior a los valores reportados para cinco especies ornitófilas (Grases & Ramírez 1998) y menor que los reportados para la cactácea ornitófila, *Melocactus curvispinus* (Nassar & Ramírez 2004). La alta inversión de biomasa en la corola está asociada con la función de atracción que desempeña este verticilo en especies ornitófilas. Aparentemente, las estructuras florales de atracción a polinizadores representan alta presión selectiva para el proceso de polinización (Antos & Allen 1994) y además están asociados con el sistema reproductivo para lo cual se predice que la asignación en estructuras de atracción decrece con el incremento de la tasa de autofertilización (Brunet 1992). Una alta inversión en pétalos y probablemente en los hipsófilos rojos indica biomasa destinada a la atracción de los polinizadores. Por el contrario, las especies autógamias tienen una inversión relativamente menor en estructuras de atracción (Valerio & Ramírez 2003). La atracción de los polinizadores también está influenciada por el número de flores que abren diariamente, y los niveles de entrecruzamiento estarán determinados por la condición sexual de las flores. Aproximadamente 5% de las flores abren diariamente por inflorescencias en *A. campestris*. Además, la producción de flores grandes en bajo número es considerado un mecanismo adaptativo para evitar la geitonogamia (Inoue 1990). Esto indica un largo período de floración donde las posibilidades de entrecruzamiento obligado varían de acuerdo a la condición sexual de las flores y al comportamiento de los polinizadores. Períodos largos de actividad floral promueven la visita de los polinizadores, el transporte de polen y la oportunidad de entrecruzamiento (Kalinganire *et al.* 2000). La proporción de flores en fase masculina es ligeramente mayor que la proporción en fase femenina en *A. campestris*, lo que indica que la función masculina es mayor que la femenina, condición frecuente en especies con polinización cruzada (Lovett-Doust & Cavers 1982). En contraste, la producción de néctar en flores en fase femenina y masculina no es diferente, lo que parece favorecer similarmente ambas funciones.

La relación peso androceo/peso gineceo está linealmente relacionada con la

tasa de autofertilización (Charnov 1987). Una mayor inversión femenina relativa a la masculina en flores hermafroditas ha sido relacionada con especies autocompatibles alógamas (Inoue 1990; Brunet 1992). La asignación de biomasa femenina no es mucho mayor que la asignación masculina en *A. campestris*, lo cual podría estar relacionado con la capacidad de producir baja proporción de frutos y semillas por autopolinización. El esfuerzo reproductivo masculino o la relación de peso androceo/peso gineceo ha sido asociado con el índice polen/óvulo, lo que sugiere que la expresión biomasa androceo/biomasa gineceo puede ser usada como otro indicador del sistema reproductivo (Inoue 1990). La relación polen/óvulo en *A. campestris* fue 1250, valor de especies xenógamas facultativas de acuerdo a la clasificación propuesta por Cruden (1977) y corresponde con el límite inferior de especies xenógamas polinizadas por animales (Cruden 2000). De acuerdo al índice de entrecruzamiento de Cruden (1977), *A. campestris* presenta los mayores valores para cada carácter considerado en este índice: diámetro floral, protandria y hercogamia. Sin embargo, la relación polen/óvulo es menor que para plantas con los mayores valores del índice. Además, la relación polen/óvulo en *A. campestris* es similar a la de *Salvia coccinea* Buc'hoz ex Etl., especie ornitófila autocompatible (Grases & Ramírez 1998). De lo anterior destaca una relación polen/óvulo comparativamente baja, si es considerada la condición de autoincompatibilidad y protandria en *A. campestris*, indicando un sistema reproductivo mixto con alta tendencia a la polinización cruzada. Una relación polen/óvulo menor a lo esperado podría estar asociada con la capacidad de producir frutos y semillas por autopolinización y además, indicar la eficiencia de polinización (Cruden 2000), lo cual será discutido a continuación.

Eficiencia reproductiva

En dos estudios con más de 200 especies (Sutherland & Delph 1984; Sutherland 1986) se encontró para especies hermafroditas (~42%), autoincompatibles (22-33%), y con polinización por aves (~30%), una relación fruto/flor mucho menor a la producción promedio de frutos por flor registrado en *A. campestris* (64,26%). De manera similar, la producción de frutos por flor para especies hermafroditas (~38%, Ramírez & Berry 1997) y con polinización por aves (~35%, Ramírez 1995) fue menor a la registrada en *A. campestris*. La producción natural de frutos por flor es sólo ligeramente inferior a la producción de frutos por cruces controlados, lo cual sugiere que no hay limitación de polen para la producción de frutos y semillas en *A. campestris*. La alta eficiencia en la producción de frutos puede estar asociada con el bajo número de óvulos por flor o potenciales semillas por frutos en *A. campestris*. La alta eficiencia reproductiva puede estar asociada a la actividad de los polinizadores. En especies ornitófilas autoincompatibles la producción de frutos por flor puede ser comparativamente menor al valor reportado en este estudio, lo cual ha sido asociado con un alto número de óvulos por flor y altos requerimientos de granos de polen transferidos al estigma, además, a la limitación de recursos maternos (Stephenson 1981; Snow 1982). Dos caracteres adicionales parecen tener particular importancia en la producción de frutos y semillas

en *A. campestris*: la condición de hierba perenne y la protandria. La producción de frutos por flor reportada por Sutherland (1986) para hierbas perennes es similar a la registrada en *A. campestris*. La alta producción de frutos en hierbas perennes ha sido asociada al corto tiempo requerido para la maduración, el control del número de flores producidas durante la floración y el bajo costo de los frutos (Sutherland 1986). Las especies protandras presentan en promedio elevada producción de frutos por flor (~58%, Ramírez & Berry 1997). En este contexto, la mayor producción de frutos por flor en *A. campestris* parece soportar la hipótesis de Lloyd & Webb (1986) sobre el papel que desempeña la dicogamia en evitar la interferencia polen-estigma en especies autoincompatibles, lo que parece minimizar el efecto adverso de la autopolinización en estas especies (Sutherland & Delph 1984).

El número promedio de semillas abortadas por fruto fue 5,0%, similar a los valores reportados para especies hermafroditas-protandras (Ramírez & Berry 1997), polinización por aves (Ramírez 1993) y para hierbas perennes (Ramírez 1995). Este nivel de semillas abortadas puede ser considerado alto con relación a los valores reportados; sin embargo, el efecto sobre la eficiencia reproductiva es pequeño y son frecuentemente asociados con la limitación de recursos disponibles para la producción de frutos y semillas (Stephenson & Bertin 1983; Willson & Burley 1983). Otro nivel de eficiencia está representado por la producción de semillas por óvulo, la cual fue alta (73,94%) en *A. campestris* y similar al reportado para especies hermafroditas (Ramírez & Berry 1997), pero menor que los valores reportados para hierbas perennes (Ramírez 1993), especies protandras (Ramírez & Berry 1997) y polinización por aves (Ramírez 1995). La alta relación semilla/óvulo en *A. campestris* parece estar determinada por la alta eficiencia de los polinizadores en el transporte de polen y por el menor requerimiento de polen para la fertilización de un bajo número de óvulos por flor.

La fecundidad relativa o proporción de semillas producidas por óvulo por inflorescencia fue 46,72%, que representa un valor comparativamente alto. Esta comparación permite destacar la alta eficiencia de polinización en *A. campestris*. Valores promedios de fecundidad para especies hermafroditas (~22%, Ramírez & Berry 1997), especies ornitófilas (~21%, Ramírez 1995) y para hierbas perennes (~33%, Ramírez 1993) son menores al registrado en *A. campestris*, aunque el de especies protandras (~41%, Ramírez & Berry 1997) está cercano al valor registrado en *A. campestris*. De acuerdo a los factores que determinan los niveles de producción de frutos por flor y semillas por óvulos, la alta fecundidad en *A. campestris* parece estar relacionada principalmente con la combinación de cuatro caracteres: eficiencia de polinización, bajo número de óvulos por flor, protandria y forma de vida herbácea perenne.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a tres árbitros anónimos por sus comentarios y sugerencias. A A. Seres y H. Briceño por su colaboración en el trabajo de campo y de laboratorio.

Esta investigación fue parcialmente financiada por CDCH N° 03.33.5206.2003. A la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales por permitir el uso de las instalaciones de la Estación Biológica de Los llanos. A M. Lentino por la identificación de los colibríes y J. Clavijo por la identificación de las mariposas. A S. García por la elaboración de las ilustraciones.

BIBLIOGRAFÍA

- Agren, J. 1996. Population size, pollination limitation, and seed set in the self-incompatible herb *Lythrum salicaria*. *Ecology* 77: 1779-1790.
- Aizen, M.A. 2003. Down-facing flowers, hummingbirds and rain. *Taxon* 52: 675-680.
- Antos, J.A. & G.A. Allen. 1994. Biomass allocation among reproductive structures in the dioecious shrub *Oemleria cerasiformis* - a functional interpretation. *J. Ecol.* 82: 21-29.
- Arista, M., P.E. Oliveira, P.E. Gibbs & S. Talavera. 1997. Pollination and breeding system of two co-occurring *Hirtella* species (Chrysobalanaceae) in Central Brazil. *Bot. Acta* 110: 496-502.
- Aristeguieta, L. 1966. Flórua de la estación biológica de los llanos. *Bol. Soc. Venez. Ci. Nat.* 110: 228-307.
- Atkins, S. 2004. Verbenaceae. In: *Flowering plants of the Neotropics* (Smith, N., S.A. Mori, A. Henderson, D.Wm. Stevenson & S.V. Heald, eds.), pp. 387-390. The New York Botanical Garden, Princeton University Press, New Jersey.
- Bhardwaj, M. & C.G. Eckert. 2001. Functional analysis of synchronous dichogamy in flowering rush, *Butomus umbellatus* (Butomataceae). *Amer. J. Bot.* 88: 2204-2213.
- Blackman, G.E. 1942. Statistical and ecological studies in the distribution of species in plant communities. I. Dispersion as a factor in the study of changes in plant population. *Ann. Missouri Bot. Gard.* n.s. 6: 351-370.
- Blydenstein, J. 1962. La sabana de *Trachypogon* del Alto Llano. *Bol. Soc. Venez. Ci. Nat.* 102: 139-206.
- Bruna, E.M., W.J. Kress, F. Marques & O.F. da Silva. 2004. *Heliconia acuminata* reproductive success in independent of local floral density. *Acta Amazon.* 34: 467-471.
- Brunet, J. 1992. Sex allocation in hermaphroditic plants. *Trends Ecol. Evol.* 7: 79-84.
- Burd, M. 1994. Bateman's principle and plant reproduction: The role of pollen limitation in fruit and seed set. *Bot. Rev.* 60: 83-139.
- Cardoso de Castro, C. & P.E.A. Macedo de Oliveira. 2001. Reproductive biology of the protandrous *Ferdinandusa speciosa* Pohl (Rubiaceae) in eastern Brazil. *Revista Brasil. Bot.* 24: 167-172.
- Charlesworth, D. & B. Charlesworth. 1987. The effect of investment in attractive

- structures on allocation to male and female functions in plants. *Evolution* 41: 948-968.
- Charnov, E.L. 1987. On sex allocation and selfing in higher plants. *Evol. Ecol.* 1: 30-36.
- Charnov, E.L. & J.J. Bull. 1986. Sex allocation, pollination attraction and fruit dispersal in cosexual plants. *J. Theor. Biol.* 118: 321-325.
- Corbet, S.A. 1998. Fruit and seed production in relation to pollination and resources in bluebell, *Hyacinthoides nonscripta*. *Oecologia* 114: 349-360.
- Courtney, S.P., C.J. Hill & A. Westerman. 1981. Pollen carried for long periods by butterflies. *Oikos* 38: 260-263.
- Cruden, R.W. 1977. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution* 31: 32-46.
- Cruden, R.W. 2000. Pollen grains: why so many? *Pl. Syst. Evol.* 222: 143-165.
- Cruden, R.W. & S.M. Hermann-Parker. 1979. Butterfly pollination of *Caesalpinia pulcherrima*, with observations on a psychophilous syndrome. *J. Ecol.* 67: 155-168.
- Faegri, K. & L. van der Pijl. 1979. *The principles of pollination ecology*. Pergamon Press, Oxford.
- Feinsinger, P. 1978. Ecological interactions between plants and hummingbirds in a successional tropical community. *Ecol. Monogr.* 48: 269-287.
- Feinsinger, P., H.M. Tiebout III & B.E. Young. 1991. Do tropical bird-pollinated plants exhibit density-dependent interactions? Field experiments. *Ecology* 72: 1953-1963.
- Feinsinger, P., K.G. Murray, S. Kinsman & W.H. Busby. 1986. Floral neighborhood and pollination success in four hummingbird-pollinated cloud forest plant species. *Ecology* 67: 449-464.
- Galetto, L., L.M. Bernardello & H.R. Juliani. 1990. Acerca del nectario, néctar y visitantes florales en *Ligaria cuneifolia* (Loranthaceae). *Darwiniana* 30: 155-161.
- Gill, F.B. 1987. Ecological fitting: use of floral nectar in *Heliconia stilesii* Daniels by three species of hermit hummingbirds. *Condor* 89: 779-787.
- Grases, C. & N. Ramírez. 1998. Biología reproductiva de cinco especies ornitófilas en un fragmento de bosque caducifolio en Venezuela. *Revista Biol. Trop.* 46: 1095-1108.
- Harper, J.L. 1977. *Population biology of plants*. Academic Press, New York.
- Hokche, O. & N. Ramírez. 1990. Pollination ecology of seven species of *Bauhinia* L. (Leguminosae: Caesalpinioideae). *Ann. Missouri Bot. Gard.* 77: 559-572.
- Inoue, K. 1990. Dichogamy, sex allocation, and mating system of *Campanula microdonta* and *C. punctata*. *Pl. Spec. Biol.* 5: 197-203.
- Johnson, S.D. & K.E. Steiner. 2000. Generalization versus specialization in plant pollination systems. *Trends Ecol. Evol.* 15: 140-143.
- Kalinganire, A., C.E. Hardwood, M.U. Slee & A.J. Simons. 2000. Floral structu-

- re, stigma receptivity and pollen viability in relation to protandry and self-incompatibility in silk oak (*Grevillea robusta* A.Cunn.). *Ann. Bot.* 86: 133-148.
- Kodric-Brown, A., J.H. Brown, G.S. Byers & D.F. Gori. 1984. Organization of a tropical island community of hummingbirds and flowers. *Ecology* 65: 1358-1368.
- Kress, W.J. 1983. Self-incompatibility in Central American *Heliconia*. *Evolution* 37: 735-744.
- Kunin, W.E. 1993. Sex and the single mustard: population density and pollinator behavior effects on seed set. *Ecology* 74: 2145-2160.
- Lange, R.S. & P.E. Scott. 1999. Hummingbird and bee pollination of *Penstemon pseudospectabilis*. *J. Torrey Bot. Soc.* 126: 99-106.
- Lange, R.S., S.A. Scobell & P.E. Scott. 2000. Hummingbird-syndrome traits, breeding system, and pollination effectiveness in two syntopic *Penstemon* species. *Int. J. Plant Sci.* 161: 253-263.
- Linhart, Y.B. 1973. Ecological and behavioral determinants of pollen dispersal in hummingbird-pollinated *Heliconia*. *Amer. Naturalist* 107: 511-523.
- Lloyd, D.G. 1965. Evolution of self-compatibility and racial differentiation in *Leavenworthia* (Cruciferae). *Contr. Gray Herb.* 195: 3-134.
- Lloyd, D.G. 1987. Allocation to pollen, seeds and pollination mechanisms in self-fertilizing plants. *Funct. Ecol.* 1: 83-89.
- Lloyd, D.G. & J.M.A. Yates. 1982. Intrasexual selection and the segregation of pollen and stigmas in hermaphrodite plants, exemplified by *Wahlenbergia albomarginata* (Campanulaceae). *Evolution* 36: 903-913.
- Lloyd, D.G. & C.J. Webb. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms. I. Dichogamy. *New Zealand J. Bot.* 24: 135-162.
- Lloyd, D.G. & D.J. Schoen. 1992. Self- and cross-fertilization in plants. I. Functional dimensions. *Int. J. Plant Sci.* 153: 358-369.
- Lovett-Doust, J. & P.B. Cavers. 1982. Sex and gender dynamics in Jack-in-the-pulpit, *Arisaema triphyllum* (Araceae). *Ecology* 63: 797-808.
- Martínez del Rfo, C. & L.E. Egiarte. 1987. Bird visitation to *Agave salmiana*: comparisons among hummingbirds and perching birds. *The Condor* 89: 357-363.
- McDade, L.A. 1986. Protandry, synchronized flowering and sequential phenotypic unisexuality in neotropical *Pantagonia macrophylla* (Rubiaceae). *Oecologia* 68: 357-363.
- Murawski, D.A. & L.E. Gilbert. 1986. Pollen flow in *Psiguria warscewiczii*: a comparison of Heliconius butterflies and hummingbirds. *Oecologia* 68: 161-167.
- Nassar, J.M. & N. Ramírez. 2004. Reproductive biology of the melon cactus, *Melocactus curvispinus* (Cactaceae). *Pl. Syst. Evol.* 248: 31-44.
- Neill, D.A. 1987. Trapliners in the trees: hummingbird pollination of *Erythrina*

- Sect. *Erythrina* (Leguminosae: Papilionoideae). *Ann. Missouri Bot. Gard.* 74: 27-41.
- Pansarin, E.R. 2003. Biología floral de *Cleistes macrantha* (Barb.Rodr.) Schltr. (Orchidaceae: Vanilloideae: Pogoniinae). *Revista Brasil. Bot.* 26: 73-80.
- Ramírez, N. 1992. Las características de las estructuras reproductivas, niveles de aborto y semillas producidas. *Acta Ci. Venez.* 43: 167-177.
- Ramírez, N. 1993. Producción y costo de frutos y semillas entre formas de vida. *Biotropica* 25: 46-60.
- Ramírez, N. 1995. Producción y costo de frutos y semillas entre modos de polinización en 232 especies de plantas. *Revista Biol. Trop.* 43: 151-159.
- Ramírez, N. 2003a. Floral specialization and pollination: a quantitative analysis and comparison of the Leppik and the Faegri and van der Pijl classification systems. *Taxon* 52: 687-700.
- Ramírez, N. 2003b. Diversidad de especies y estructura de la vegetación de una comunidad de sabana en los Altos Llanos Centrales venezolanos. *Acta Biol. Venez.* 23: 37-65.
- Ramírez, N. 2004a. Ecology of pollination in a tropical Venezuelan savanna. *Pl. Ecol.* 173: 171-189.
- Ramírez, N. 2004b. Pollination specialization and time of pollination on a tropical Venezuelan plain: variation in time and space. *Bot. J. Linn. Soc.* 145: 1-16.
- Ramírez, N. & P.E. Berry. 1997. Effect of sexual systems and dichogamy on levels of abortion and biomass allocation in plant reproductive structure. *Canad. J. Bot.* 75: 457-461.
- Raven, P.H. 1979. A survey of reproductive biology in Onagraceae. *New Zealand J. Bot.* 17: 575-579.
- Ruiz-Zapata, T. & M.K. Arroyo. 1978. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. *Biotropica* 10: 221-230.
- San José, J.J. & M.R. Fariñas. 1983. Changes in tree density and species composition in a protected *Trachypogon* savanna, Venezuela. *Ecology* 64: 447-453.
- Sazima, I., S. Buzato & M. Sazima. 1996. An assemblage of hummingbird-pollinated flowers in a montane forest in Southeastern Brazil. *Bot. Acta* 109: 149-160.
- Schoen, D.J. 1982. Male reproductive effort and breeding system in a hermaphrodite plant. *Oecologia* 53: 255-257.
- Seres, A. & N. Ramírez. 1995. Biología floral y polinización de algunas monocotiledóneas de un bosque nublado venezolano. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 82: 61-81.
- Siegel, S. 1985. *Estadística no paramétrica aplicada a las ciencias de la conducta*. Editorial Trillas, México.
- Snow, A.A. 1982. Pollination intensity and potential seed set in *Passiflora vitifolia*. *Oecologia* 55: 231-237.

- Sobrevila, C. & M.K. Arroyo. 1982. Breeding system in a montane tropical cloud forest in Venezuela. *Pl. Syst. Evol.* 140: 19-37.
- Sobrevila, C., N. Ramírez & N.X. de Enrech. 1983. Reproductive biology of *Paliourea fendleri* and *P. petiolaris* (Rubiaceae), heterostylous shrubs of a tropical cloud forest in Venezuela. *Biotropica* 15: 161-169.
- Sokal, R.R. & F.J. Rohlf. 1998. *Biometry*. Third Edition. W.H. Freeman and Company, New York.
- Stephenson, A.G. 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Annual Rev. Ecol. Syst.* 12: 253-279.
- Stephenson, A.G. & R.I. Bertin. 1983. Male competition, female choice, and sexual selection in plants. In: *Pollination biology* (Real, L., ed.), pp. 110-151. Academic Press, New York.
- Stiles, F.G. 1975. Ecology, flowering phenology, and hummingbird pollination of some Costa Rican *Heliconia* species. *Ecology* 56: 323-351.
- Stratton, D.A. 1989. Longevity of individual flowers in a Costa Rican cloud forest: ecological correlates and phylogenetic constraints. *Biotropica* 21: 308-318.
- Sutherland, S. 1986. Pattern of fruit-set: what controls fruit-flower ratios in plants? *Evolution* 40: 117-128.
- Sutherland, S. & L.F. Delph. 1984. On the importance of male fitness in plants: patterns of fruit set. *Ecology* 65: 1093-1104.
- Teixeira-Ormond, W., M.C.B. Pinheiro, H. Alves de Lima, M.C. Rodrigues-Correia & M. Lopes-Pimenta. 1993. Estuo das recompensas florais das plantas da restinga de Maricá-Itaipuacu, RJ. I. Nectaríferas. *Bradea* 6: 197-195.
- Valerio, R. & N. Ramírez. 2003. Depression exogámica y biología reproductiva de *Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertner (Portulacaceae). *Acta Bot. Venez.* 26: 111-124.
- Walter, H. & E. Medina. 1971. Caracterización climática de Venezuela sobre la base de climadiagramas de estaciones particulares. *Bol. Soc. Venez. Ci. Nat.* 119/120: 212-240.
- Waser, N.M., L. Chittka, M.V. Price, N.M. Williams & J. Ollerton. 1996. Generalization in pollination systems, and why it matters. *Ecology* 77: 1043-1060.
- Watt, W.B., P.C. Hoch & S.G. Mills. 1974. Nectar resource use by *Colias* butterflies: chemical and visual aspects. *Oecologia* 14: 353-374.
- Webb, C.J. & K.S. Bawa. 1983. Pollen dispersal by hummingbirds and butterflies: a comparative study of two lowland tropical plants. *Evolution* 37: 1258-1270.
- Webb, C.J. & D.G. Lloyd. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms II. Herkogamy. *New Zealand J. Bot.* 24: 163-178.
- Willson, M.F. & N. Burley. 1983. *Mate choice in plants: Tactics, mechanisms, and consequences*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.