



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO  
FACULTAD DE BIOLOGÍA  
POSGRADO INSTITUCIONAL EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

---

Evaluación de barreras reproductivas en dos especies del género *Fuchsia*  
(*Onagraceae*).

TESIS  
DE  
ALEJANDRO LEÓN JACINTO

Como requisito para obtener el grado de Maestro en ciencias biológicas

Asesor de tesis  
Dr. Eduardo Cuevas García

Morelia, Michoacán, Marzo del 2016



## Agradecimientos

Al Dr. Eduardo Cuevas García por abrirme las puertas de su laboratorio para la realización de esta trabajo de posgrado, por su apoyo y tolerancia a mis inexactitudes.

A mis sinodales el Dr. Luis F. Mendoza Cuenca, Dra. Martha Elena Lopezaraiza Mikel, Dra. Silvana Martén Rodríguez y Dra. Lucero Sevillano García-Mayeya, por sus aportaciones y recomendaciones. A cada uno por su tiempo y apoyo para resolver las dudas que surgieron durante el proceso.

Al Dr. Ernesto V. Vega Peña por su tiempo y apoyo invaluable cuando estuve perdido en un mar de datos. Por compartirme su conocimiento y su buen humor en cada sesión.

A mi madre Esther Jacinto Sánchez por su cariño y apoyo incondicionales en los momentos más alegres y penosos de este proceso, así como de toda mi vida...

A mi novia Noemí Judith Ramírez Arrés por todo el amor, paciencia, apoyo, tanto emocional como físico, por el tiempo invertido en mi trabajo de campo, en la revisión de mis artículos y tareas cuando ya no sabía que más hacer, muchas gracias flaca, te amo.

A todos mis compañeros de la maestría. Los cuales me mostraron apoyo y amistad durante nuestras penurias en los primeros semestres. Es un gusto haber compartido este momento de la vida con ustedes.

A la Dra. Yvonne Herrerías Diego por su apoyo, a Lily, Ana y Mago por su buen carácter en el trabajo de aguantarme con los papeleos.

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, mi alma mater y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico de la beca de posgrado.

## Indice

|   |    |
|---|----|
| 1. Resumen general                                      | 4  |
| 2. Summary  | 6  |
| 3. Introducción   | 7  |
| 4. Objetivos  | 10 |
| 4.1 Objetivo general                                    | 10 |
| 4.2 Objetivos particulares                              | 10 |
| 5. Hipótesis  | 11 |
| 6. Materiales y Métodos                                 | 12 |
| 6.1 Especies de estudio                                 | 12 |
| 6.2 Población simpátrica                                | 12 |
| 6.3 Poblaciones alopátricas                             | 15 |
| 7. Resultados   | 18 |
| 7.1 Trabajo en población simpátrica                     | 18 |
| 7.1.1 Fenología de floración                            | 18 |
| 7.1.2 Observación de visitantes                         | 19 |
| 7.1.3 Cruzas interespecíficas                           | 19 |
| 7.1.4 Estimación del polen viable de híbridos putativos | 20 |
| 7.2 Trabajo en el laboratorio                           | 20 |
| 7.2.1 Morfometría polínica                              | 20 |
| 7.2.2 Cruzas en la casa sombra                          | 21 |
| 7.2.3 Seguimiento de la F1                              | 23 |
| 7.2.4 Crecimiento de tubos polínicos                    | 23 |
| 8. Discusión  | 26 |
| 9.- Conclusiones  | 30 |
| 10.- Literatura citada                                  | 31 |
| 11.- Apéndice   | 34 |

## 1. Resumen general

El concepto biológico de especie desarrollado por Mayr trata de resolver un problema fundamental, la delimitación de las especies mediante la evaluación de las “barreras reproductivas”. Dichas barreras actúan antes o después de la formación del cigoto y prácticamente evitan que las especies hibriden entre sí. Sin embargo, en plantas se conocen múltiples casos en los cuales estos mecanismos pueden permitir cierto flujo génico y resultar en la formación de híbridos. En el género *Fuchsia* se han reportado casos de híbridos naturales entre especies cercanamente emparentadas, como es el caso de *F. microphylla* y *F. thymifolia*, dos especies ginodióicas con poblaciones tanto alopátricas como simpátricas. En las poblaciones simpátricas se han reportado individuos con características de ambas especies, proporcionando un excelente modelo para estudiar los mecanismos que promueven o evitan la hibridación entre ambas especies. El objetivo central de este trabajo es evaluar el funcionamiento de barreras pre y postcigóticas en poblaciones naturales y mediante cruza experimentales para determinar su contribución en el aislamiento reproductivo. Con este fin se establecieron plantas de poblaciones alopátricas con las cuales se realizaron cruza intra e interespecíficas y se cuantificó el éxito de la mismas. Posteriormente se germinaron las semillas provenientes de estas cruza para evaluar el desempeño de la F1. En campo, en una población simpátrica se realizó el seguimiento de la fenología de floración en ambas especies, observación de los visitantes florales y cruza interespecíficas. Los resultados indican que en la población simpátrica, existe un traslape entre las floraciones de las dos especies, sin embargo, en las observaciones de polinizadores no se observaron visitas interespecíficas. En las cruza realizadas en la población simpátrica, se obtuvo aproximadamente el mismo porcentaje de frutos interespecíficos cuando ambas especies funcionaron como receptoras de polen. En los híbridos putativos se encontró una alta producción de polen viable. Las cruza en la casa sombra cuando *F. thymifolia* fue la donadora fueron las más exitosas en cuanto a producción de frutos y semillas. Se observó mayor germinación en las semillas provenientes de las cruza híbridas. No se registró diferencia entre la supervivencia de las cruza intra con la interespecíficas.

En general se observó un mejor desempeño de las barreras precigóticas y en particular parece que la fidelidad de los polinizadores juega un importante papel en el mantenimiento

de estas especies cuando están en simpatría. Por el contrario, es probable que las barreras reproductivas postcigóticas se encuentren en fases incipientes de desarrollo.

Palabras clave: Especie, aislamiento reproductivo, hibridación, *Fuchsia*, ginodióico.

## 2. Summary

The aim of biological species concept developed by Mayr is to solve a fundamental problem, the delimitation of species through the evaluation of the “reproductive barriers”. These barriers act before and after of the zygote formation and virtually avoid hybridization between species. However, in some cases plants could allow some gene flow and result in hybrid formation. In the genus *Fuchsia* hybrid have been reported between closely related species, one of these one among *F. microphylla* and *F. thymifolia*, two gynodioecius species with sympatric and allopatric populations. In the sympatric populations have been reported individuals with intermediate characteristics of both species named *F. bacillaris* (Lynd), providing an excellent model for study the mechanisms that promote or avoid hybridization among both species. The central aim of this work is evaluate the performance of pre and post mating barriers in natural populations by means of experimental crosses to establish their contribution to reproductive isolation among them. For this purpose plants from allopatric populations where established into a shade house, with which intra and interspecific crosses where performed and their success was after measured in terms of fruit and seed production, seeds from this crosses where germinated for asses the F1 performance. In a sympatric population flowering phenology of both species where followed and direct observation of the main pollinator where made. Results suggest that in the sympatric population an overlap do exist, nonetheless, in the direct observations of pollinators were not observed any interspecific visit. In the experimental crosses performed in field was obtained almost the same proportion of fruits when both species were pollen donors. In the putative hybrids was estimated pollen production founding high proportion of viable pollen. Crosses in the shade house when *F. thymifolia* is the donor show more success in terms of fruit and seed set. It was observed higher germination in the seeds from hybrid crosses. Equally high survival from this crosses where registered. It is possible that pre zygotic reproductive barriers in this species are in incipient stages of development, however they could participate in the maintenance of this species.

### 3. Introducción

La evolución es un proceso continuo que deriva en unidades discontinuas que denominamos especies (Coyne 1992). En las plantas, la especiación está relacionada con la adaptación a múltiples factores bióticos como los polinizadores y depredadores, y abióticos como el tipo de suelo, precipitación, altitud, entre otros factores ambientales (Kay 2006).

En biología, proponer un concepto de especie ha sido un reto. Los diferentes conceptos de especie que se han desarrollado no han logrado proponer uno general, dado que hacen énfasis en diferentes propiedades de cada grupo de organismos y según el enfoque de la investigación. El concepto biológico propuesto por Mayr (1963) describe a una especie como: “Grupos de poblaciones naturales que actualmente o potencialmente son entrecruzables, las cuales están reproductivamente aisladas de otros grupos”. En este concepto se propone al aislamiento reproductivo como un factor central en la delimitación de una especie. Existen ciertos cuestionamientos a este concepto dado que no puede definir con exactitud los límites del intercambio genético, especialmente en poblaciones de amplia distribución, y su aplicación rigurosa excluye la posibilidad de la hibridación natural. En general se considera que cuando se presenta hibridación las especies aún no están enteramente diferenciadas o están en un proceso incipiente de especiación (Arnold 1997).

En este contexto para algunos investigadores el entendimiento del proceso de especiación está estrechamente relacionado con el de la evolución de las barreras reproductivas (Coyne y Orr 2004). El aislamiento reproductivo puede ocurrir como resultado de la especiación o de selección natural y el reforzamiento de caracteres morfológicos que impidan la hibridación (Rundle *et al.* 2001; Grant *et al.* 1994). Grant *et al.* (1994) mencionan que el aislamiento reproductivo en las angiospermas está relacionado con la especialización de los polinizadores y lo separa en aislamiento mecánico y etológico. El aislamiento mecánico puede ocurrir de dos maneras: cuando cierta especie de flor está adaptada a un polinizador con determinada morfología, o cuando las flores comparten el mismo polinizador pero el polen es depositado en lugares distintos. El aislamiento etológico puede darse como un

efecto secundario del aislamiento mecánico, y se relaciona con la constancia del polinizador o la exclusión de los polinizadores por una barrera física.

La hibridación en plantas se ha debatido ampliamente dado que algunos autores consideran que puede jugar un papel importante en la especiación (Ellstrand *et al.* 1996; Mallet 2007; Rieseberg y Willis 2007; Mallet 2008). Una estimación de la hibridación en plantas fue realizada por Knobloch (1972) hece un recuento del número de híbridos naturales registrados, encontrando que se presenta en aproximadamente el 10% de las especies terrestres. Posteriormente, Ellstrand *et al.* (1996) documentan que la hibridación no se distribuye homogéneamente en todos los grupos de plantas y Whitney *et al.* (2010) coincide en que algunos géneros son más propensos a ella. Mallet (2007) propone que en las cruzas interespecíficas el resultado puede causar la duplicación de la carga genética (Alopoliploidía) y en ocasiones los individuos alopolipliodes pueden expresar rasgos adaptativos que les proporcionen ventajas para su establecimiento. Estas cruzas solo son posibles cuando el aislamiento reproductivo es débil, y se debilitará aún más en la progenie híbrida.

Entender el funcionamiento de las barreras reproductivas y su contribución al aislamiento reproductivo entre especies cercanamente emparentadas puede ayudarnos a entender el proceso de especiación. Generalmente, estas barreras se han clasificado como pre y post cigóticas. Las pre-cigóticas incluyen diferencias geográficas, ecológicas, cambios fenológicos y morfológicos (Mayr 1963; Kay 2006). Las post-cigóticas están ligadas a la baja fertilidad e inviabilidad de los híbridos (Dobzhansky 1937; Muller 1942; Tiffin *et al.* 2001), o a su inferioridad ecológica que se puede reflejar en un bajo éxito reproductivo (Rieseberg *et al.* 1998; Kay 2006; Talluri 2009).

Se ha considerado que el aislamiento reproductivo es el resultado de divergencias fenotípicas y genotípicas que se producen principalmente en poblaciones alopátricas (Dobzhansky 1937; Mayr 1963). Sin embargo, la información que se conoce acerca de los efectos del aislamiento reproductivo es en especies que ocurren en parcial simpatría. Experimentalmente se utilizan taxa cercanamente relacionados para evaluar la acción de las

distintas barreras y el grado en que reducen el flujo de genes entre las mismas (Kay, 2006). En la tabla 1 del apéndice de esta tesis se presenta una revisión y una breve discusión acerca de lo que se ha publicado en trabajos que evalúan el desarrollo y la aportación de las barreras reproductivas al aislamiento genético.

*Fuchsia* es un género con cerca de 110 especies que comúnmente se ha utilizado con fines ornamentales y tiene un importante potencial económico (Berry *et al.*, 2004; Talluri 2009). Se ha reportado la obtención de híbridos interespecíficos a través de cruza manual dando como resultado organismos con características deseables para su comercialización (Talluri 2009, 2011). En México existe información de Breedlove (1969) en la que sugiere que *Fuchsia microphylla* y *F. thymifolia* naturalmente podrían estar formando híbridos en poblaciones simpátricas e identifica como *F. bacillaris* (Lyndl) a los posibles híbridos entre estas dos especies. Sin embargo, estas observaciones en campo solo han sido sugeridas y no se han estudiado a profundidad (Breedlove 1969; Rzedowski *et al.* 2005). En el estado de Michoacán donde se encuentran de manera simpátrica *F. microphylla* y *F. thymifolia* se han detectado plantas que su morfología vegetativa y floral no permite ubicarlas dentro de una de estas especies y podrían ser híbridos (Alvarez-Baños 2012). Lo anterior podría ser reforzado porque se ha documentado que la floración de ambas especies presenta cierto traslape y en ocasiones se ha observado que el abejorro *Bombus ephippiatus* visita a ambas especies durante este periodo (Alvarez-Baños, Obs. Pers).

Rodríguez (2012) analizó en varias poblaciones simpátricas y alopátricas de *F. microphylla* y *F. thymifolia* el fenómeno de reforzamiento de caracteres morfológicos de ambas especies y su contribución al aislamiento reproductivo. Comparó caracteres florales y vegetativos entre las dos especies y con los híbridos putativos. Reporta no poder corroborar la hipótesis del reforzamiento dado que las poblaciones en ocasiones presentan características compartidas y que algunas características vegetativas son similares entre los parentales y los híbridos, en conclusión sugiere un reforzamiento parcial y adjudica este resultado al poco tiempo de divergencia entre las dos especies. Con este trabajo se pretende conocer la efectividad de las distintas barreras reproductivas a entre *F. microphylla* y *F. thymifolia*.

## 4. Objetivos

### 4.1 Objetivo general

Evaluar la capacidad de hibridación entre *F. microphylla* y *F. thymifolia* mediante cruzas interespecíficas y determinar la efectividad de las barreras pre y postcigóticas.

### 4.2 Objetivos particulares

- Describir la fenología de floración y documentar la fidelidad de los visitantes florales a cada una de las especies en una población simpátrica de *F. microphylla* y *F. thymifolia*.
- Cuantificar la germinación de polen en estigmas, en cruzas intra e interespecíficas realizadas en con plantas de poblaciones alopátricas.
- Evaluar el éxito de cruzas manuales interespecíficas dentro de la población simpátrica en términos de la producción de frutos y semillas viables utilizando ambas especies como receptoras.
- Evaluar el éxito de las cruzas manuales intra e interespecíficas entre poblaciones alopátricas en condiciones controladas, en términos de la producción de frutos y semillas viables dependiendo de la especie receptora
- Estimar la germinación de semillas resultantes de cruzas intra e interespecíficas, así como la supervivencia de las plántulas.
- Evaluar el crecimiento de la F1 híbrida y compararlo con el crecimiento de los parentales.

## **5. Hipótesis**

Dado que se trata de dos especies muy cercanas filogenéticamente, se espera que las barreras postcigóticas no estén totalmente desarrolladas y que la progenie derivada de las cruza interespecíficas no se vea afectada por barreras postcigóticas. Por lo tanto, se espera que barreras reproductivas precigóticas sean las que intervengan en evitar el flujo génico entre las especies de estudio.

## 6. Materiales y Métodos

### 6.1 Especies de estudio

El género *Fuchsia* (*Onagraceae*), está compuesto por 110 especies agrupadas en 12 secciones con base en las características morfológicas y genéticas que presentan (Berry *et al.*, 2004). Generalmente son plantas arbustivas que presentan un fruto en forma de baya y son polinizadas por colibríes (Breedlove 1969). Se presentan en hábitats húmedos y fríos. Su distribución es casi exclusiva del continente americano, con excepción de una especie en Tahití y tres en Nueva Zelanda. La sección *Encliandra*, se distribuye en México y Centro América, se compone por seis especies entre ellas *F. microphylla* y *F. thymifolia* (Breedlove 1969). La distribución de estas dos especies es principalmente en el centro de México en el eje neo volcánico. Ambas son arbustos perennes que habitan zonas frías de alta montaña. *F. microphylla* se distribuye predominantemente en el centro sur de México y *F. thymifolia* tiene una distribución un poco más norteña, sin embargo tienen poblaciones tanto simpátricas como alopátricas en los estados de Jalisco, Michoacán, Estado de México, Hidalgo, Distrito Federal, Tlaxcala Morelos, Veracruz y Oaxaca (Breedlove 1969; Rzedowski *et al.*, 2005).

*Fuchsia microphylla* es un arbusto ginodioico, de 0.5 a 5 m de alto, densamente ramoso, peciolo glabro o pubescente de 0.5 a 1.5 cm de largo, hojas opuestas o fasciculadas, elípticas a ovadas o lanceoladas, flores solitarias axilares. Las flores hermafroditas sobre pedúnculos de 3 a 15 mm de largo, sépalos generalmente de color rojo-morado, pétalos por lo común rojo-morado, de 1.5 a 5.8 mm de largo, estambres y estigma exertos, frutos con 12 a 36 semillas (Rzedowski *et al.*, 2005)

*Fuchsia thymifolia* es un arbusto ginodioico, de 0.5 a 3 m de alto, de ramificación abierta; peciolos muy delgados, pubescentes, hojas opuestas o fasciculadas, anchamente elípticas a ovadas, flores solitarias, axilares blancas a rosadas, las hermafroditas sobre pedúnculos de 4 a 26 mm de largo, estambres y estigma exertos frutos con 12 a 18 semillas (Rzedowski *et al.*, 2005).

### 6.2 Población simpátrica

La población simpátrica está ubicada dentro del parque nacional cerro de Garnica en el municipio de Queréndaro, Michoacán. Se eligió esta población debido a que se ha utilizado en otros estudios relacionados por la cantidad de plantas que se encuentran en simpatria dentro de la misma, además se tienen registradas 24 plantas híbridas en distintos puntos de esta población.

#### 6.2.1 Fenología Floral

En Puerto Garnica en 2014 durante los meses de agosto y septiembre, se llevó a cabo el seguimiento de la fenología de floración donde se marcaron 60 plantas que se encontraran floreciendo a las cuales quincenalmente se les registró la cantidad de flores que se encontraran en antesis. De la plantas monitoreadas 15 plantas pertenecían a cada morfo de las dos especies. Con el objetivo de obtener información más fina, en 2015 se amplió el periodo de muestreo y se siguieron plantas individuales dentro de un cuadrante de 50 x 5 m que se estableció dentro del parche con mayor abundancia de las dos especies en el cual desde el inicio de la floración se marcaron y monitorearon mensualmente todas las plantas de *F. microphylla* y *F. thymifolia* reproductivas a las cuales se les registró la cantidad de flores que se encontraran en ese momento en antesis, iniciando en junio del 2015 y hasta febrero del 2016.

#### 6.2.2 Observaciones de visitantes florales

Con el objetivo de determinar si los polinizadores realizan movimientos interespecíficos durante sus rutas de visita, se realizó la observación directa de visitantes florales a ambas especies en los meses de julio y agosto en cuatro cuadrantes de aproximadamente 4x4 m<sup>2</sup>. Estos cuadrantes contenían plantas de las dos especies, en las que se contó el número de flores totales en cada periodo de observación. La duración de cada periodo de observación fue de media hora. Se realizaron observaciones focales de polinizadores y en todos los periodos solo se observó al polinizador *Bombus ephippiatus*. Para cada evento se determinó la ruta de visita y el número de flores visitadas para cada especie dentro del cuadrante, hasta que el polinizador salió del mismo.

Se realizaron un total de 32 periodos de observación en 5 visitas al campo, en el transcurso de la mañana entre las 11am y las 2pm, horario en que los polinizadores de estas especies

son más abundantes (Alvarez-Baños 2012). Se estimó la tasa de visita para cada especie por cada periodo de observación.

### 6.2.3 Cruzas interespecíficas

En los meses de septiembre y octubre del 2014 se llevaron a cabo cruas interespecíficas tomando como receptoras a las dos especies la cuales se llevaron a cabo con polen de varios donadores el cual se deposito en el estigma mediante un pincel. Se polinizaron por lo menos 6 flores de 10 plantas de cada especie. Posteriormente se recuperaron los frutos producidos para contar el número de semillas. Se consideraron viables cuando presentaron endospermo desarrollado. Estas semillas se sembraron en macetas de 4 pulgadas a un centímetro de la superficie en sustrato compuesto de marca PRO-MIX (peat moss, tierra negra y vermiculita). Se le dió seguimiento quincenal para determinar la fecha de germinación, medir su crecimiento y comparar la tasa de crecimiento con el la F1 obtenida en las cruas realizadas en la casa sombra. Se comparó la proporción de frutos formados con una prueba de t con el paquete “Stats” R Core Team and contributors worldwide (2008) del programa R Development Core Team (2008).

### 6.2.4 Estimación de polen en híbridos putativos

Con el fin de determinar si los híbridos putativos son afectados por algún tipo de barrera precigótica relacionada a la viabilidad o disponibilidad del polen, se colectaron flores de dos plantas híbridas putativas hermafroditas, y se contó la cantidad de polen viable e inviable contenido en 13 anteras, para ello se empleó la técnica de tinción de Alexander descrita por Inouye *et al.* (1933). Se determinó como polen viable aquellos que se tiñeran de color purpura y se observaran turgentes e inviables si se teñían azul-verdoso y se veía el citoplasma colapsado.

### 6.2.5 Morfometría polínica

Se colectaron flores para extraer el polen y realizar mediciones de largo y ancho. En total se midieron 125 granos. Cada muestra fue tomada de dos flores de dos individuos distintos y se midieron 25 granos provenientes de *F. microphylla* y 25 de *F. thymifolia* de las

poblaciones alopátricas; 25 de *F. microphylla* y 25 de *F. thymifolia* de las poblaciones simpátricas y 25 de los híbridos putativos. Posteriormente se realizaron análisis de ANOVA para contrastar el largo y el ancho usando como grupos *F. microphylla* y *F. thymifolia* de la población simpátrica, de las poblaciones alopátricas y polen de los híbridos de la población simpátrica, las pruebas a *posteriori* fueron de comparaciones múltiples de medias de Tukey con el paquete “Stats” R Core Team and contributors worldwide (2008) del programa R Development Core Team (2008).

### 6.3 Poblaciones alopátricas

En los meses de enero y febrero del 2014 se colectaron frutos para la obtención de semillas en poblaciones alopátricas de cada especie, previamente seleccionadas con base en una revisión de ejemplares en herbario y físicamente en los sitios de colecta. La población elegida para colectar *F. microphylla* se encuentra ubicada en el Parque Nacional Desierto de los Leones ubicado en el Estado de México. Para *F. thymifolia* se eligió una población ubicada en el cerro del Águila, municipio de Morelia, Michoacán. En cada población se colectaron frutos de 20-25 plantas que estuviesen alejadas una de otra entre ocho a diez metros para evitar que pudiesen ser clones.

Las semillas se sembraron siguiendo el procedimiento antes descrito, esto se realizó durante el mes de marzo y se establecieron dentro de un espacio protegido por malla sombra dentro las instalaciones de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Cuando las plantas alcanzaron una altura de 15cm para que tuvieran un desarrollo adecuado se trasladaron a bolsas individuales de 40 litros en un sustrato compuesto por tierra “polvilla” (andosol) y madera estéril triturada adquirida en un vivero local.

#### 6.3.1 Cruzas en la casa sombra con las plantas de poblaciones alopátricas

Después de 8 meses de crecimiento las plantas empezaron a desarrollar flores. En la casa sombra se realizaron 841 cruzas utilizando únicamente plantas hembras, durante los meses de diciembre a marzo, las cuales se repartieron de la siguiente manera: Intraespecíficas: 158 de *F. thymifolia* y 293 de *F. microphylla*; Interespecíficas: 148 donde *F. thymifolia* fue receptora y 242 donde *F. microphylla* fue receptora. Se utilizaron todas las plantas que

florecieron, en total 13 plantas donadoras y 15 receptoras de *F. microphylla*; 15 donadoras y 5 receptoras de *F. thymifolia*. Cada cruce fue marcada con una etiqueta con los datos de la fecha de cruce, tipo de cruce donadorXreceptor. Los frutos desarrollados se dejaron madurar en la planta el mayor tiempo posible. Para comparar la proporción de semillas viables se realizó un modelo lineal mixto generalizado usando como variable de respuesta la proporción de semillas viables y como variable explicativa el tipo de cruce, la planta receptora se estableció como factor aleatorio y la función de error fue binomial. El análisis fue realizado con el paquete estadístico “Lme4” Bates D. et al. (2015) en el programa R Development Core Team (2008).

### 6.3.2 Evaluación de la Progenie F1

Una vez obtenidas las semillas resultantes de las cruces, se sembraron 191 semillas interespecíficas de *F. microphylla* y 176 de *F. thymifolia* como donadoras; 267 intraespecíficas de *F. microphylla* y 290 de *F. thymifolia*. Se contabilizó el total de germinación a partir de la siembra en julio y terminaron de germinar en octubre, a las 24 semanas se contabilizó el total de supervivientes. El crecimiento apical se tomó quincenalmente durante las 24 primeras semanas de crecimiento para contrastarlo entre los tipos de cruce y determinar si los híbridos sintéticos presentan degradación o algún tipo de vigor híbrido. Para evaluar la germinación se utilizó un modelo lineal mixto generalizado (MLMG) donde como variable respuesta se utilizó el porcentaje de semillas germinadas como variable explicativa el tipo de cruce y como variable aleatoria la planta donadora y la receptora, la función de error fue binomial. Para la supervivencia se realizó un MLMG donde se utilizó como variable respuesta el porcentaje de plantas supervivientes y como variable explicativa el tipo de cruce, se establecieron como factores aleatorios a la planta receptora y la donadora, la función de error utilizada fue binomial. Para evaluar la tasa de crecimiento se aplicó un Modelo lineal de efectos mixtos (MLEM), donde la variable respuesta fue la tasa quincenal de crecimiento, la variable explicativa fue el tipo de cruce y la variable aleatoria fue la planta receptora. Todos los análisis se realizaron con el paquete “Lme4” Bates D. et al. (2015) en el programa R Development Core Team (2008).

### 6.3.3 Crecimiento de tubos polínicos

Se realizaron 67 cruzas adicionales, intra e interespecíficas para observar la germinación del polen en el estigma y el desarrollo de los tubos polínicos en las plantas germinadas en la casa sombra. Para esto, se polinizaron las flores de acuerdo al tratamiento respectivo y después de 24hrs se cortaron y se fijaron en alcohol al 70%, posteriormente se siguió el protocolo descrito por Inouye *et al.*, (1933) para lo cual las flores se enjuagaron y se introdujeron durante una hora en una solución de hidróxido de sodio 1N para ablandar el tejido. Posteriormente se enjuagaron de nuevo y se introdujeron durante una hora en la tinción de azul de anilina decolorada. Finalmente, se realizó un corte transversal a lo largo del estilo y el ovario para posteriormente montarlos en portaobjetos con una gota de la solución de anilina, se observaron con un microscopio Zeiss Primo Star ILED de fluorescencia.

## 7. Resultados

### 7.1 Población simpátrica

#### 7.1.1 Fenología de floración

En el censo de fenología realizado durante el 2014 se observó que las dos especies se encontraban en floración durante el mes de agosto (Fig. 1).

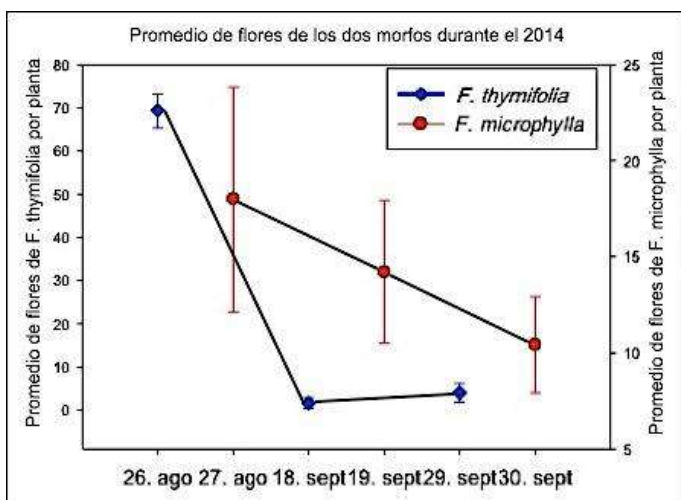


Figura 1.- Promedio ( $\pm 1$  error estándar) de flores por planta de ambos morfos durante el periodo de floración en los censos realizados durante el traslape de *F. thymifolia* (azul, eje derecho) y *F. microphylla* (rojo, eje izquierdo) en 2014.

En 2015 el seguimiento de la fenología describió un patrón similar al del año anterior, la primera de las especies en florecer fue *F. thymifolia* presentando su pico de floración en julio y *F. microphylla* presentó el pico de floración en agosto (Fig. 2).

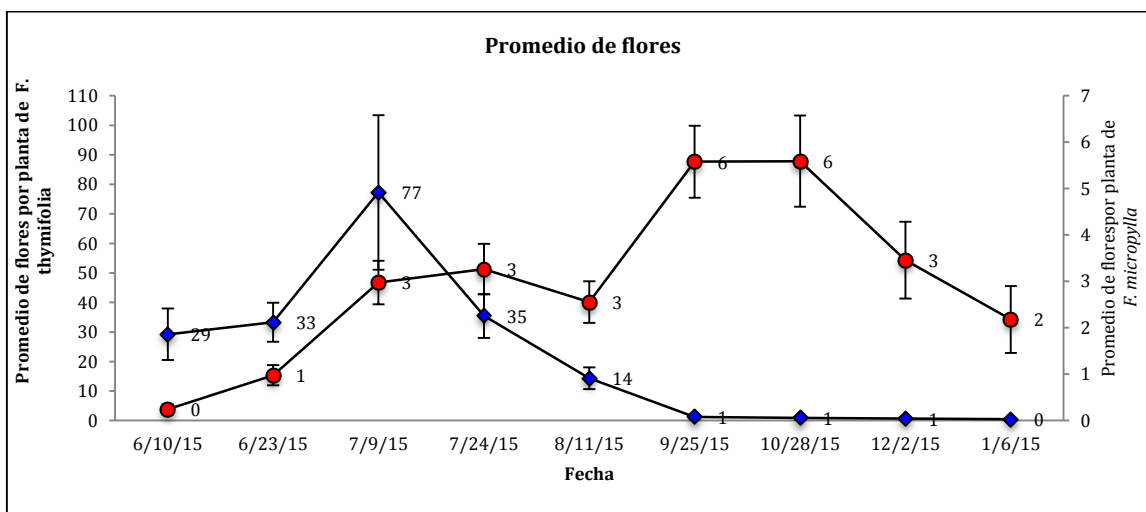


Figura 2.- Promedio de flores ( $\pm 1$  error estándar) de ambos morfos de *F. thymifolia* (azul, eje izquierdo) y *F. microphylla* (rojo, eje derecho) en los censos realizados durante el año 2015.

### 7.1.2 Observación de visitantes florales

La duración total de las observaciones fue de 16 horas y se observaron por cuadrante en promedio 8.4 flores de *F. microphylla* y 27.5 de *F. thymifolia*. En un cuadrante se encontraba un híbrido el cual presentó en promedio 38.5 flores. Solo se observó a *Bombus ephippiatus* como polinizador y no se registró ningún movimiento interespecífico en la secuencia de visitas a las flores del parche. La tasa de visitas fue muy baja y durante las observaciones la más visitada fue *F. microphylla* (Fig. 3). En un intento por registrar movimientos interespecíficos, se siguió a un polinizador por alrededor de 30 metros y se logro observar una visita interespecífica de *F. thymifolia* hacia *F. microphylla*.

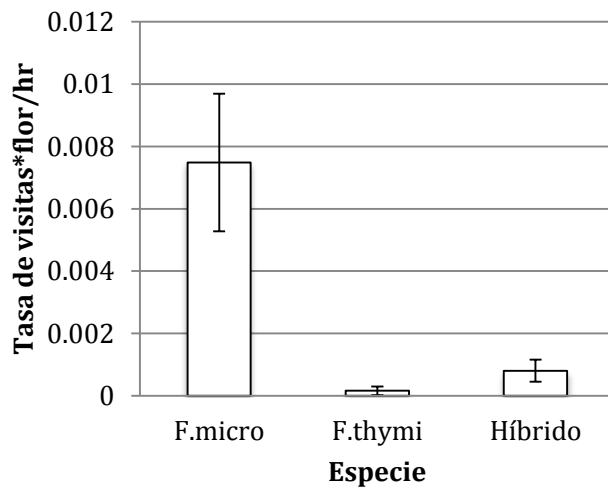


Figura 3.- Promedio de la tasa de visitas por flor por periodo de 60 minutos ( $\pm 1$  error estándar).

### 7.1.3 Cruzas interespecíficas

En las cruas realizadas en la población simpátrica se observó formación de frutos en alrededor del 60% de ellas independientemente de la especie receptora. La prueba de t comparó la cantidad frutos producidos por especie receptora y no muestra diferencia significativa ( $t=-1.55$ , d.f. = 14.01,  $P=0.14$ ,  $n=20$ , Fig. 4).

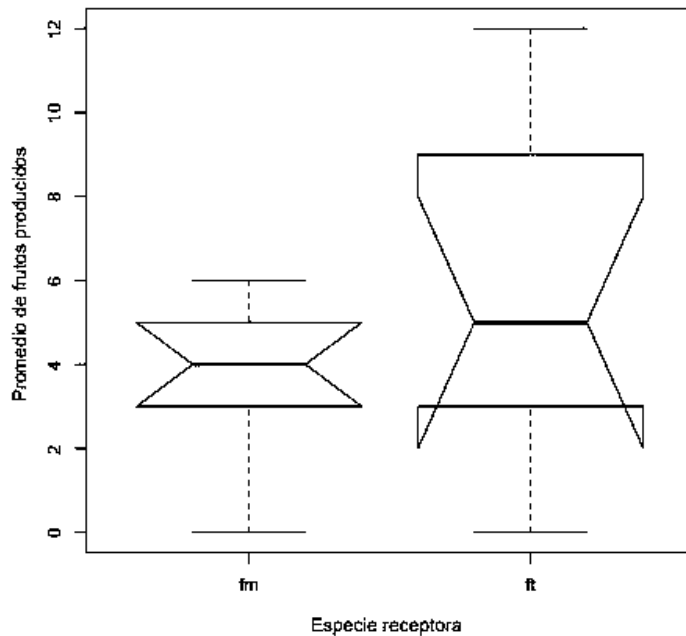


Figura 4.- Promedio de frutos producidos en las cruza manual de la población simpátrica se muestra a *F. microphylla* y a *F. thymifolia* como receptoras.

La mayoría de los frutos de estas cruza se perdieron, probablemente a causa de consumo por aves, se recuperaron 10 frutos pertenecientes a las cruza donde *F. microphylla* fue receptora los cuales presentaron un porcentaje promedio de semillas viables de 77.51% ( $\pm 6.5$  E.E.). Cuando *F. thymifolia* fue la receptora solo se pudo recuperar un fruto el cual presento tres semillas viables y dos inviables.

#### 7.1.4 Estimación de polen en híbridos putativos

El promedio de polen viable en las anteras de los híbridos putativos fue de 1228 ( $\pm 241$  ee) y el de granos inviables fue de 777 ( $\pm 124$  E.E.).

### 7.2 Trabajo en el laboratorio.

#### 7.2.1 Morfometría de polen

Al comparar el largo y el ancho del polen de los híbridos putativos de la población simpátrica con el proveniente de las plantas de poblaciones alopátricas establecidas en la casa de sombra, los análisis muestran que las poblaciones de *F. microphylla* alopátricas y

simpátricas no presentaron diferencias significativas entre ellas pero sí con los demás grupos ( $g.l=124$ ,  $F=16.10$ ,  $P<0.001$ ,  $n=125$ ). Mientras que los híbridos y *F. thymifolia* se conformaron como un grupo separado de *F. microphylla* (Fig. 5).

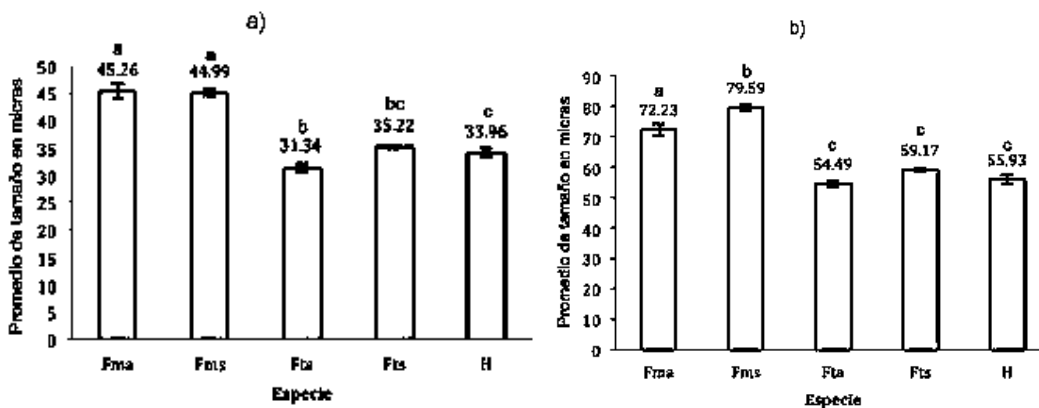


Figura 5.- Ancho (a) y largo (b) promedio del polen en micras por orden de muestra de izquierda a derecha *F. microphylla* alopátrica, *F. microphylla* simpátrica, *F. thymifolia* alopátrica, *F. thymifolia* simpátrica y los híbridos putativos, los promedios con distinta letra son significativamente distintos ( $\pm 1$  error estándar).

### 7.2.2 Cruzas en el casa sombra

De las 841 cruzas, 650 se abortaron, que representan el 77% de las polinizaciones realizadas. Sólo 191 cruzas (23%) produjeron frutos. Cuando *F. thymifolia* fue donadora se polinizaron 148 flores y solo se produjeron 47 frutos. En las cruzas intraespecíficas de *F. thymifolia* 158 donde se produjeron 46 frutos. En las cruzas cuando *F. microphylla* fue la donadora se polinizaron 293 y se formaron 61 frutos; Por último las que presentaron el menor porcentaje de frutos formados fueron las interespecíficas cuando *F. microphylla* fue donadora donde se polinizaron 242 flores y se produjeron 37 frutos (Fig. 6).

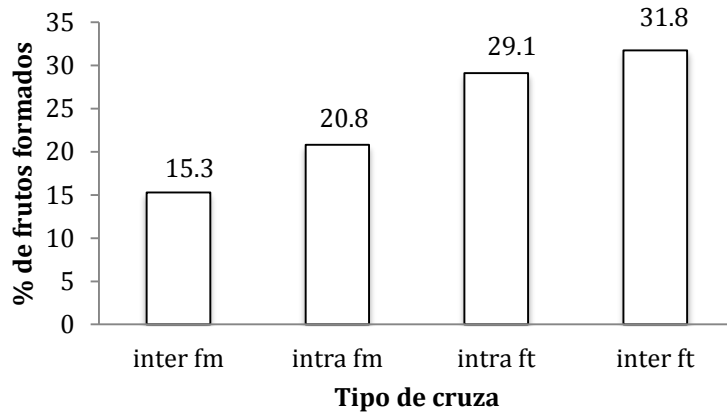


Figura 6.- Porcentajes de frutos formados por tipo de cruza en la casa sombra, se muestra el donador en las cruza interespecíficas e intraespecíficas de *F. microphylla*, intraespecíficas e interespecíficas de *F. thymifolia*.

En cuanto al número de semillas viables el tipo de cruza que presentó la mayor cantidad de semillas fueron las interespecíficas cuando *F. microphylla* fue la donadora seguidas de las cruza de intraespecíficas de *F. thymifolia* (Fig. 7). El MLMG indicó que hubo un efecto significativo en la producción de semillas viables en las cruza intraespecíficas de *F. microphylla*  $g.l.=136$ ,  $z=-3.87$ ,  $P=>.0001$ ; en las interespecíficas de *F. microphylla*  $g.l.=136$ ,  $z=-3.61$ ,  $g.l.=136$ ,  $P=<0.003$  y la interespecíficas de *F. thymifolia*  $g.l. 136$ ,  $z=-3.55$ ,  $P=<0.001$ . La variable aleatoria de la planta madre muestra un efecto bajo  $desvest.=0.07$  y no hay efecto por la variable aleatoria del donador  $desvest.=0.00$ .

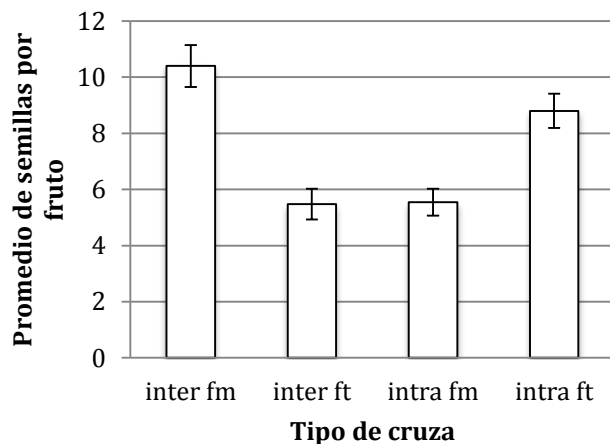


Figura 7.- Promedio de semillas viables de frutos producidos en la casa sombra, se muestra de izquierda a derecha las cruza interespecíficas de *F. microphylla* como donadora, las

interespecíficas de *F. thymifolia* como donadora, las intraespecíficas de *F. microphylla* y las intraespecíficas de *F. thymifolia*,  $\pm 1$  error estándar.

### 7.2.3 Seguimiento de la F1

#### Germinación

El mayor porcentaje de germinación se obtuvo cuando *F. thymifolia* fue donador de polen con un 35.95% seguidas de las intraespecíficas de *F. thymifolia* con un 34.71%. Las semillas pertenecientes a las cruzas interespecíficas cuando *F. microphylla* fue donador con un 18.18%. Y por último las cruzas intraespecíficas de *F. microphylla* fueron las que germinaron en menor porcentaje con un 11.16%. El MLMG muestra poco efecto de las variables aleatorias, el efecto paterno  $\text{desvest.}=0.47$  y el materno  $\text{desvest.}=0.39$ . Los efectos fijos presentan diferencias significativas en la proporción de semillas germinadas para las cruzas intra e interespecíficas de *F. microphylla*  $\text{g.l.}=89$ ,  $z=-2.78$ ,  $P<0.001$ ,  $n=27$  y  $\text{g.l.}=89$ ,  $-4.37$ ,  $P<0.001$ ,  $n=44$ , respectivamente. Las cruzas intra e interespecíficas de *F. thymifolia* no fueron significativas ( $\text{g.l.}=89$ ,  $z=1.48$ ,  $P=0.13$ ,  $n=84$  y  $\text{g.l.}=89$ ,  $z=1.24$ ,  $P=0.21$ ,  $n=87$ , respectivamente).

#### Supervivencia de plántulas

Respecto a la supervivencia de las plántulas después de 6 meses de observación el MLMG muestra que no hay un efecto de las variables aleatorias  $\text{desvest}=0.00$  y no hay diferencias entre la supervivencia en los tipos de cruce  $P=>0.05$ ,  $n=204$ .

#### Crecimiento de plántulas

El MLEM muestra efecto por el donador  $\text{desvest.}=0.57$  y efecto materno  $\text{desvest.}=5.01$  sin embargo no existen diferencias en la tasa de crecimiento entre los tipos de cruce:

Cruzas interespecíficas de *F. microphylla*  $t=6.24$ ,  $n=39$ .

Cruzas interespecíficas de *F. thymifolia*  $t=-1.33$ ,  $n=67$ .

Cruzas intraespecíficas de *F. microphylla*  $t=-1.01$ ,  $n=22$ .

Cruzas intraespecíficas de *F. thymifolia*  $t=-0.31$ ,  $n=74$ .

### 7.2.4 Crecimiento de tubos polínicos

Se observó que tanto en las cruzas intraespecíficas como en las interespecíficas el polen germinó y se desarrollaron los tubos de manera uniforme. El crecimiento de los tubos

alcanzó en la mayoría a desarrollarse hasta el ovario. Sin embargo, los tubos que ingresaron al ovario de cada flor fueron uno o dos y en ninguna ocasión se observó que hubiese interacción entre los tubos y el micrópilo de los óvulos (Fig. 8).

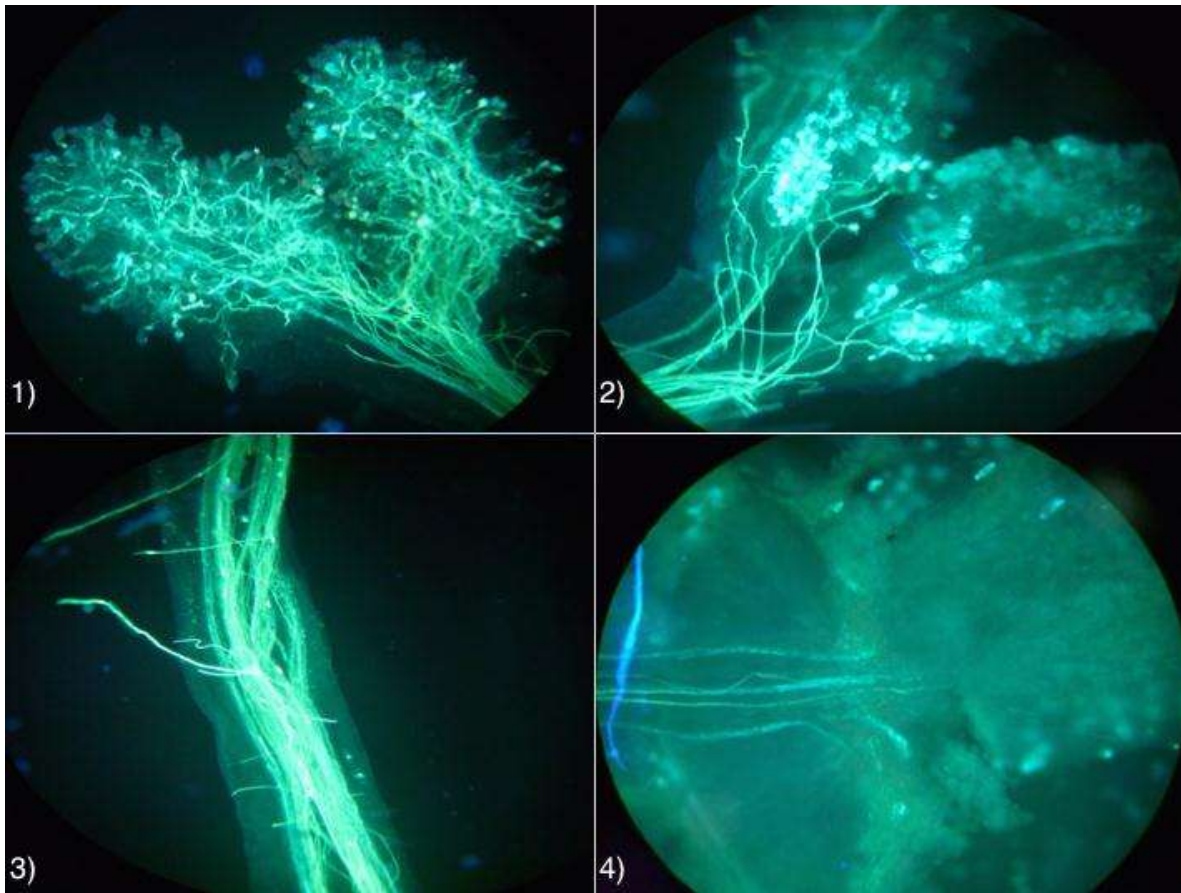


Figura 8.- 1,2) Germinación del polen interespecífico en el estigma de *F. microphylla* y de *F. thymifolia*. 3) Crecimiento de tubos polínicos en el estilo de *F. microphylla*. 4) Ingreso de tubos polínicos al cuello de la flor de *F. thymifolia*

En las cruza interespecíficas cuando *F. microphylla* fue receptora se observó que los tubos polínicos ingresaron en menos ocasiones al ovario que cuando recibió polen de *F. thymifolia*. Las cruza intraespecíficas de *F. thymifolia* fueron en las que más se observó que los tubos polínicos ingresaron al ovario, tampoco en estos casos se observó interacción entre el tubo polínico y el micrópilo de los óvulos (Fig. 9).

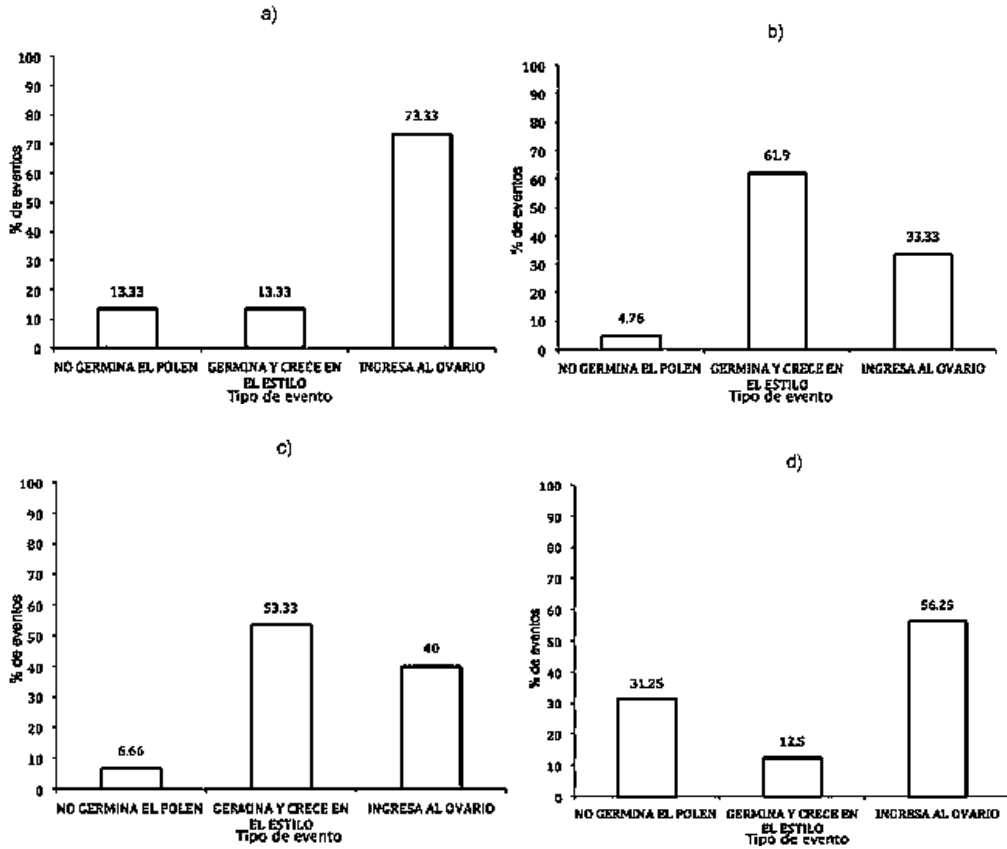


Figura 9.- Porcentaje de eventos del crecimiento de los tubos polínicos por tipo de cruce. a) Cruzas interespecíficas usando *F. microphylla* como donador (n=15). b) Cruzas intraespecíficas de *F. microphylla* (n=21). c) Cruzas interespecíficas usando *F. thymifolia* como donador (n=15). d) Cruzas intraespecíficas de *F. thymifolia* (n=16).

## 8. Discusión

### 8.1 Trabajo en campo

#### 8.1.1 Fenología de floración

Durante los dos años que se realizó el seguimiento de la fenología de floración, se encontró un traslape en las floraciones de las especies de estudio. Es posible que esto se deba a que las especies tienen poco tiempo de divergencia, como se ha observado en otras especies, sus periodos fenológicos no se han separado en su totalidad (Kay 2006, Zahang X. L. *et al.* 2011, Johnson *et al.* 2015). Este resultado coincide con lo reportado por Alvarez-Baños (2012) en los periodos de floración del 2009 y 2010 donde se observó este mismo traslape. Quizá éste fenómeno pueda estar relacionado a la disponibilidad de los recursos hídricos dado que las lluvias varían de un año al siguiente. Observaciones personales durante los censos de fenología indican que cuando *F. thymifolia* ya había terminado de florecer en octubre del 2015, antes del monitoreo mensual se registraron precipitaciones fuertes en la zona y algunas plantas hermafroditas de esta especie volvieron a presentar algunas flores.

#### 8.1.2 Observación de visitantes florales

La literatura menciona que en general las barreras precigóticas tienen una alta efectividad (Ramsey *et al.* 2003, Kay *et al.* 2006). Una de estas barreras se relaciona con los polinizadores y su constancia a una especie cuando existen dos o más cercanamente relacionadas en un área determinada (Marques *et al.* 2007). Otro caso que se ha observado es la deposición diferencial del polen en el polinizador dado que se ha registrado que algunas especies pueden visitar dos o más especies y acarrear el polen en lugares distintos (Grant *et al.*, 1994, Wendt 2008, Stewart *et al.* 2015). Alvarez-Baños (2012) reporta para *F. microphylla* a la abeja *Deltoptila sp.* como el polinizador que realiza la mayor cantidad de visitas y para *F. thymifolia* a *B. ephyppiatus*. Sin embargo en el presente estudio se observó solo a *Bombus ephyppiatus* el cual en su mayoría solo visitó a *F. microphylla* y no se registró ninguna visita interespecífica. Sin embargo, esto puede ser por el tipo de método que se utilizó para la observación de los visitantes.

Es probable que los híbridos estén fungiendo como receptores de polen dado que se observó que reciben una proporción de las visitas y en observaciones personales se llegó a

contabilizar que en una sola aproximación un visitante estuvo en contacto con 70 flores de un híbrido putativo. Como se mencionó anteriormente, al seguir a un polinizador, sí se observó una visita interespecífica por lo que el método empleado pudo no haber sido el más adecuado. Por otra parte, desconocemos qué ocurre con la deposición y posible transporte de polen interespecífico por parte de este polinizador.

### 8.1.3 Cruzas en población simpátrica

Debido a que en las cruzas interespecíficas realizadas en campo se observó producción de frutos y los frutos producidos tanto en campo como en la casa sombra presentaron más del 50% de semillas viables, se sugiere que no existe una incompatibilidad genética y que se refuerza con la evidencia del desarrollo de los tubos polínicos en los que se encontró prácticamente el mismo crecimiento en cruzas inter que en las intraespecíficas.

### 8.1.4 Estimación de polen en híbridos putativos

Se determinó que las plantas híbridas presentan polen viable al utilizar un método indirecto de viabilidad por medio de una tinción. Sin embargo, se requiere comprobar este resultado realizando cruzas con polen de estas plantas o de los híbridos sintéticos. Brock (2009) y Zahang (2011) reportan que los híbridos sintéticos de *Potamogeton wrightii* y *P. perfoliatus* presentan polen viable lo que sugiere que tienen la capacidad de fungir como donadores de polen, sin embargo, sus floraciones no se desarrollan normalmente.

## 8.2 Trabajo de laboratorio

### 8.2.1 Morfometría del polen

Los análisis revelaron que existe diferencia significativa en el tamaño del polen entre las dos especies, siendo *F. microphylla* la que presenta las mayores dimensiones. Al comparar el polen entre la población simpátrica con la población alopátrica no se detectaron diferencias, es decir, no existe variación significativa intraespecífica en el tamaño de los granos de polen. Es importante destacar que las plantas híbridas putativas presentan un tamaño y forma de las hojas similar a *F. thymifolia*. Las diferencias detectadas en el tamaño de los granos de polen entre las especies, puede ser de utilidad para posteriores estudios que analicen la carga de polen de los polinizadores en poblaciones simpátricas.

### 8.2.2 Cruzas en la casa sombra

En la casa sombra el 77% de las flores que se polinizaron fueron abortadas, esto coincide con lo observado en otras especies cuando se realizan cruzas artificiales (Udovic *et al.* 1981, Johnson *et al.* 2015). Ha sido reportado en la literatura que las plantas pueden tener una alta proporción de abortos debido a diferentes factores como a la falta de agua, minerales o temperatura extremas. En general, los factores ambientales pueden afectar el desarrollo de los frutos de manera drástica (Sharp 1966; Willson *et al.* 1979; Udovic *et al.* 1981; Piña *et al.* 2007). La cantidad de frutos obtenidos en este experimento es similar a la reportada para otras especies, lo cual sugiere que no fue una falla en la técnica de la polinización (Johnson *et al.* 2015). Las cruzas que involucran a *F. microphylla* presentaron la mayor proporción de flores abortadas en comparación con las cruzas que involucraron a *F. thymifolia*, en los dos tipos de crusa. Solo en las cruzas intraespecíficas de *F. microphylla* se formaron más frutos que en las cruzas interespecíficas. Además, en las cruzas intraespecíficas de las dos especies se formaron menos semillas viables que en las interespecíficas. Este es un resultado interesante y que podría estar relacionado con el vigor híbrido.

### 8.2.3 Seguimiento de la F1

En los primeros 6 meses de monitoreo no se ha observado que los híbridos tengan una alta mortalidad o un mayor crecimiento que los parentales lo cual coincide con lo observado por Johnson *et al.* (2015). Es necesario seguir con la observación de los híbridos sintéticos para determinar si existe algún tipo de barrera postcigótica que pueda estar contribuyendo a la baja frecuencia de los híbridos como lo describe Zahang *et al.* (2011) donde sus plantas F1 híbridas no llegaban a florecer normalmente.

### 8.2.4 Crecimiento de tubos polínicos

Se observó que el polen germinó en el estigma en todos los tipos de cruzas. Algunos trabajos mencionan que cuando existe algún tipo de incompatibilidad genética los tubos polínicos crecen de manera anómala, es decir presentan torceduras o se detienen de manera repentina en el recorrido del estilo. En otros casos se menciona que se observan “tapones” de calosa en los extremos de los tubos, lo cual les impide el crecimiento (Bassiri *et al.*

1987, Facciuto 2007). En el sistema de estudio no se observó la formación de estos tapones de calosa y se observó un desarrollo normal de estos independientemente del tipo de cruza. Por otro lado, fue imposible hacer un conteo de tubos polínicos desarrollados debido a la gran cantidad que se desarrollaron. Una posibilidad es que esta gran cantidad de tubos polínicos desarrollados pueda ser la causa de algunos abortos dado que en la gran mayoría de las observaciones los tubos que se observaron entrando al ovario eran pocos a pesar de que en el cuello entre el ovario y el estilo se observa una gran cantidad de tubos.

## 9. Conclusiones

Los seguimientos de fenología mostraron aislamiento parcial entre las dos especies, por lo que esta barrera reproductiva puede estar en una etapa incipiente de desarrollo y por el momento no contribuir significativamente al aislamiento reproductivo total de las dos especies. Además, puede estar variando de un año a otro dependiendo de factores como la precipitación pluvial. Debido a los resultados de la cruza y la observación de tubos polínicos se infiere que no existe algún tipo de incompatibilidad genética que esté provocando el aislamiento reproductivo. El parcial aislamiento puede estar relacionado a fenología floral y constancia de los polinizadores. Es necesario continuar con el monitoreo de los híbridos sintéticos para evaluar si más adelante presentan alguna desventaja respecto a las especies parentales.

Finalmente, esta información se relacionará con el estudio genético que se desarrolla paralelamente con las mismas especies y que trata de corroborar la existencia de híbridos naturales.

## 10. Literatura citada

- Alvares B. A. 2012. Aislamiento reproductivo entre *Fuchsia microphylla* y *F. thymifolia* (ONAGRACEAE), dos especies simpátricas. Tesis de licenciatura Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Arnold M. L. 1997. Natural Hybridization and Evolution. Oxford University Press. New York.
- Bassiri, A., F. Ahmad, y A. E Slinkard. 1987. Pollen grain germination and pollen tube growth following in vivo and in vitro self and interspecific pollinations in annual Cicer species. *Euphytica*, 36(2), 667-675.
- Bates D. y M. Maechler, B. Bolker, S. Walker, R. Haubo, B. Christensen, H. Singmann, B. Dai, G. Grothendieck. 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1-48
- Breedlove D. E. 1969. The systematics of *Fuchsia* section *Encliandra* (*Onagraceae*). University of California publications in Botany. 53: 1-61
- Brock, M. T. 2009. Prezygotic barriers to gene flow between *Taraxacum ceratophorum* and the invasive *Taraxacum officinale* (Asteraceae). *Oecologia*, 161(2), 241-251.
- Burson, B. L. 1987. Pollen germination, pollen tube growth and fertilization following self and interspecific pollination of *Paspalum* species. *Euphytica*, 36(2), 641-650.
- Coyne J. A. 1992. Genetics and speciation. *Nature*. 355
- Dobzhansky, T. 1937. Genetics and the origin of species. Columbia University Press. New York.
- Ellstrand C. N., R. Whitkus, L. H. Rieseberg. 1996. Distribution of spontaneous plant hybrids. *Proceedings of the National Academy of Sciences* Vol. 93 Pp 5090-5093
- Emms, S. K., S. A. Hodges y M. L. Arnold. 1996. Pollen-tube competition, siring success, and consistent asymmetric hybridization in Louisiana irises. *Evolution*, 2201-2206.
- Facciuto, G., A. Coviella, P. Bologna, M. J. Pannunzio y S. Soto. 2007. Hibridization between pink and yellow *Tabebuia* species native to Argentina (Bignoniaceae). In VI International Symposium on New Floricultural Crops 813 (pp. 127-132).
- Garbutt, K. y F. Buzzaz. 1984. The effects of elevated CO<sub>2</sub> on plants. III. Flower, fruit and seed production and abortion. *New Phytologist* 98, 433-446.
- Grant, V. 1994. Modes and origins of mechanical and ethological isolation in angiosperms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(1), 3-10.
- Harriss, F. y R. J. Whelan. 1993. Selective fruit abortion in *Grevillea barklyana* (Proteaceae). *Australian Journal of Botany*, 41(5), 499-509.
- Hodges, S. A., Burke, J. M. y M. L. Arnold. 1996. Natural formation of *Iris* hybrids: experimental evidence on the establishment of hybrid zones. *Evolution*, 2504-2509.
- Johnson, M. A., D. K. Price, J. P. Price y E. A. Stacy. 2015. Postzygotic barriers isolate sympatric species of *Cyrtandra* (Gesneriaceae) in Hawaiian montane forest understories. *American journal of botany*, 102(11), 1870-1882.
- Kearns, C. A., y D. W. Inouye. 1993. *Techniques for pollination biologists*. University Press of Colorado.
- Kay, K. M. 2006. Reproductive insulation between two closely related hummingbird-pollinated neotropical gingers. *Evolution*, 60(3): 538-552.
- Knobloch I. W. 1972. Intergeneric hybridization on flowering Plants. *Taxon*. 21(1):97-103
- Kuligowska, K., H. Lütken, B. Christensen, I. Skovgaard, M. Linde, T. Winkelmann y R. Müller. 2015. Evaluation of reproductive barriers contributes to the development of novel interspecific hybrids in the *Kalanchoë* genus. *BMC plant biology*, 15(1), 15.

- Mayr, E. 1942. Systematics and the Origin of Species. Columbia University Press, New York.
- Lowry, D. B., R. C. Rockwood y J. H. Willis. 2008. Ecological reproductive isolation of coast and inland races of *Mimulus guttatus*. *Evolution*, 62-9: 2196-2214.
- Luca, A., A. M. Palermo, F. Bellusci y G. Pellegrino. 2015. Pollen competition between two sympatric *Orchis* species (Orchidaceae): the overtaking of conspecific of heterospecific pollen as a reproductive barrier. *Plant Biology*, 17(1), 219-225.
- Mack, J. I., y B. Milligan. 1998. Pollination biology in hybridizing *Baptisia* (Fabaceae) populations. *American Journal of Botany*, 85(4), 500-500.
- Marques, I., A. Rosselló-Graell, D. Draper y J. Iriondo. M. 2007. Pollination patterns limit hybridization between two sympatric species of *Narcissus* (Amaryllidaceae). *American Journal of Botany*, 94(8), 1352-1359.
- Mallet, J. 2007. Hybrid speciation. *Nature*, 446(7133), 279-283.
- Mallet, J. (2008). Hybridization, ecological races and the nature of species: empirical evidence for the ease of speciation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363(1506), 2971-2986.
- Mayr, E. 1963. Animal species and evolution. The Belknap press, Cambridge, MA.
- Muller, H. J. 1942. Isolating mechanisms, evolution, and temperature. *Biology Symposium*. 6, 71–125
- Nghiem, Q. C., J. L. Harbard, C. E. Harwood, A. R. Griffin, T. H. Ha y A. Koutoulis. 2013. Pollen–pistil interactions between autotetraploid and diploid acacia mangium and diploid *a. auriculiformis*. *Journal of Tropical Forest Science*, 25(1), 96-110.
- Parnell, D. R. 1968. Reproductive barriers in *Clarkia deflexa*. *Brittonia*, 20(4), 387-394.
- Piña, H. H., C. Montaña y M. del Carmen Mandujano. 2007. Fruit abortion in the Chihuahuan-Desert endemic cactus *Opuntia microdasys*. *Plant Ecology*, 193(2), 305-313.
- Ramsey, J., H. D. Bradshaw y D. W. Schemske. 2003. Components of reproductive isolation between the monkeyflowers *Mimulus lewisii* and *M. cardinalis* (Phrymaceae). *Evolution*, 57 (7): 1520-1534.
- R Development Core Team. 2008. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>
- Rodríguez R. J. 2011. Comparacion morfológica de *Fuchsia microphylla* H.B.K. y *Fuchsia thymifolia* H.B.K. (Onagraceae) en poblaciones simpátricas y alopátricas. Tesis de licenciatura Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Rieseberg L. H. Y S. E. Carney. 1998. Tansley Review No. 102 Plant hybridization. *New Phytology*. 140, 599-624
- Rieseberg, L. H., y J. H. Willis. (2007). Plant speciation. *Science*, 317(5840), 910-914.
- Rzedowski, G. C. de, J. Rzedowski y colaboradores, 2005. Flora Fanerogámica del Valle de México. Instituto de Ecología, A. C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán.
- Sangduen, N., E. L. Sorensen y G. H. Liang. 1983. Pollen germination and pollen tube growth following self-pollination and intra-and interspecific pollination of *Medicago* species. *Euphytica*, 32(2), 527-534.
- Stewart, A. B., y M. R. Dudash. 2015. Differential pollen placement on an Old World nectar bat increases pollination efficiency. *Annals of botany*.
- Sharp, W. M., y V. G. Sprague. 1967. Flowering and fruiting in the white oaks. Pistillate flowering, acorn development, weather, and yields. *Ecology*, 243-251.
- Talluri R. S. 2009. Advances in hybridization in *Fuchsia*. *International Journal of Agriculture and*

Crop Sciences. 1(1), 14-20

- Talluri, R. S. (2012). Barriers to gene flow in interspecific hybridization in *Fuchsia* L.(Onagraceae). *Journal of genetics*, 91(1), 81.
- Tiffin, P., Olson, S., y Moyle, L. C. 2001. Asymmetrical crossing barriers in angiosperms. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 268(1469), 861-867
- Udovic, D., y C. Aker. 1981. Fruit abortion and the regulation of fruit number in *Yucca whipplei*. *Oecologia*, 49(2), 245-248.
- Waelti, M. O., J. K. Muhlemann, A. Widmer, y F. P. Schiestl. 2008. Floral odour and reproductive isolation in two species of *Silene*. *Journal of evolutionary biology*, 21(1), 111-121.
- Wendt, T., T. S. Coser, G. Matallana y F. A. G. Guilherme. 2008. An apparent lack of prezygotic reproductive isolation among 42 sympatric species of Bromeliaceae in southeastern Brazil. *Plant systematics and evolution*, 275(1-2), 31-41.
- Whitney K. D., J. R. Ahern, L. G. Campbell, L. P. Albert, M. S King. 2010. Perspectives in plant ecology, evolution and systematics. *ScienceDirect*. 12, 175-182
- Willson, M. F., y P. W. Price. 1980. Resource limitation of fruit and seed production in some *Asclepias* species. *Canadian Journal of Botany*, 58(20), 2229-2233.
- Wolf, P. G., D. R. Campbell, N. M. Waser, S. D. Sipes, T. R. Toler y J. K. Archibald. 2001. Tests of pre-and postpollination barriers to hybridization between sympatric species of *Ipomopsis* (Polemoniaceae). *American Journal of Botany*, 88(2), 213-219.
- Vaughton, G. 1993. Nonrandom patterns of fruit set in *Banksia spinulosa* (Proteaceae): interovary competition within and among inflorescences. *International Journal of Plant Sciences*, 306-313.
- Zhang, X. L., X. X. Li, L. Y. Ni. y Y. H. Guo. 2011. When interspecific prezygotic barriers break down: hybridization between two *Potamogeton* species (*P. wrightii* and *P. perfoliatus*) and comparison of the artificial and natural hybrids. *Plant Systematics and Evolution*, 295(1-4), 119-128.

## 11. Apéndice

En la Tabla 1 se muestran los trabajos abordan la efectividad de las barreras reproductivas y su contribución en el mantenimiento de la identidad de especies cuando ocurren en simpatria.

Tabla 1. Estimación de barreras reproductivas

| Autor                         | Año  | Titulo   | Objetivo  | Resultados   |
|-------------------------------|------|--|---|--|
| Parnell<br>D. R.              | 1968 | Barreras reproductivas en <i>Clarkia deflexa</i> .   | Describir la naturaleza y el tiempo de acción de las barreras reproductivas al intercambio genético entre poblaciones en un gradiente latitudinal de una especie que tiene la tendencia de prevenir la formación de híbridos. | Se encontraron diferencias entre las poblaciones en la forma y tamaño de la planta, así como en el color de los pétalos de la flor, los resultados de las cruzas fue que las poblaciones del norte y las del el sur formaron híbridos por separado, sin embargo al hacer cruzas entre las del norte con las del sur el número de híbridos obtenidos fue mucho menor, al usar a los híbridos como receptores no tuvieron éxito, es probable que el exista algún tipo de incompatibilidad genética que no permita el desarrollo de las cruzas.   |
| Hodges<br>A. S. <i>et al.</i> | 1996 | Formación natural de híbridos de <i>Iris</i> : Evidencia experimental del establecimiento de zonas híbridas. | Evaluar si la velocidad de establecimiento de nuevos híbridos es mayor a la de los híbridos F1 iniciales, a través del establecimiento de híbridos F1 plantados cerca de <i>Iris fulva</i> e <i>I. hexagona</i> .             | Se observó que la fenología de los parentales y la F1 se traslapó, se obtuvieron frutos en los parches establecidos de la F1. La cantidad de semillas fue distinta cuando los frutos se obtuvieron de parches cerca de <i>I. fulva</i> o de <i>I. hexagona</i> , lo que demuestra que hubo cruzas diferentes entre los parches, al analizarlos se observó que las semillas presentaron genotipos significativos para las retrocruzas con <i>I. fluva</i> pero en el caso de <i>I. hexagona</i> no presentaron diferencias significativas. Se analizaron los frutos de los parentales 26 de <i>I. fluva</i> y 26 de <i>I. hexagona</i> de los cuales presentaron 2 y 3 frutos con semillas híbridas respectivamente. <i>I. hexagona</i> produjo significativamente mayor cantidad de semillas híbridas. A pesar de que en este experimento se demuestra que se pueden obtener semillas híbridas, estos resultados son dependientes del contexto del estudio, se observó que la probabilidad de obtener semillas híbridas es mayor en <i>I. fulva</i> y que una vez que las plantas F1 se establecen se aumenta notoriamente la cantidad de semillas con genotipos F2 y retrocruzas con los parentales, lo que puede provocar un evento fundador para el |

|                             |      |  |  |   |
|-----------------------------|------|--|--|---|
|                             |      |  |  | inicio de nuevos linajes evolutivos. El que los parentales tengan diferentes polinizadores principales es una de la explicaciones para la baja formación de híbridos, sin embargo la competencia polínica también puede ser un factor que este reduciendo la hibridación entre estas dos especies   |
| Emms<br>K. S. <i>et al.</i> | 1996 | Competencia de tubos polínicos, éxito al engendrar, y constatación de hibridación asimétrica en los <i>Iris</i> de Luisiana. | Comparar la velocidad de crecimiento de los tubos polínicos en cruza conspecificas y heterospecificas de <i>I. brevicaulis</i> e <i>I. fulva</i> , así como determinar si la velocidad de crecimiento cambia en el tiempo, y si lo hace determinar si el cambio en la velocidad de crecimiento de los tubos es un mejor indicador del éxito reproductivo que el analizar el crecimiento de los tubos en un tiempo predeterminado. Medir el éxito | Se observó que cuando <i>I. brevicaulis</i> fue la receptora no se encontró diferencia significativa en el crecimiento de los tubos polínicos de las dos especies, en cambio cuando <i>I. fulva</i> fue la receptora se observó que en la tercer hora después de la polinización los tubos conspecificos crecieron más rápido. Las semillas producidas en los dos casos fueron significativamente más las producidas conspecificas que las heteroespecificas. Es probable que existan mecanismos precigóticos que estén deteniendo la producción de híbridos en las poblaciones naturales de estas plantas dado que la floración de <i>I. brevicaulis</i> no se traslapa con las otras especies y esta especie habita en lugares pantanosos lejos de las otras especies. En las polinizaciones manuales que se han realizado se ha visto que existe asimetría ya que como parentales <i>I. fulva</i> es un donador más eficiente y un receptor selectivo. |

|                          |      |   |  |  |
|--------------------------|------|---|--|--|
|                          |      |   | reproductivo del polen conspecifico y heterospecifico cuando compiten por fertilizar un ovario y evaluar el alcance que otros mecanismos aparte de el crecimiento de tubos polínicos para la limitación de la producción de semillas |  |
| Mack L. J. <i>et al.</i> | 1998 | Biología de la polinización en poblaciones hibridantes de <i>Baptisia</i> (Fabaceae). | Evaluar el aporte de las barreras reproductivas al aislamiento entre <i>Baptisia leucophaea</i> y <i>B. sphaerocarpa</i> .   | La fenología de las dos especies se traslapa, los polinizadores analizados fueron <i>Xylocopa</i> y <i>Bombus</i> . <i>Xylocopa</i> presenta preferencia por <i>B. sphaerocarpa</i> sin embargo, <i>Bombus</i> no discrimina entre las dos especies y visita las dos especies e incluso a los híbridos. Las cruas realizadas cuando <i>B. leucophaea</i> es receptor presenta mayor producción de semillas cuando el donador es de origen híbrido o interespecifico, cuando <i>B. sphaerocarpa</i> es receptor no hay diferencias significativas tanto en las cruas intra e interespecificas o cuando el donador es híbrido, este resultado es el mismo cuando los híbridos son receptores. En conclusión las barreras reproductivas para en este modelo de estudio son débiles. |
| Wolf P.G. <i>et al.</i>  | 2001 | Análisis de las barreras pre- y post-polinización a la hibridación entre dos especies | Determinar si el polinizador principal tiene la capacidad de acarrear el polen de una especie a otra de manera   | Se encontró que el polinizador principal transfiere de manera equitativa el polen de las dos especies, sin embargo, la cantidad de polen acarreado es mayor en una especie. Las cruas intraespecificas fueron más exitosas que las interespecificas en cuanto al número de semillas producidas. En este caso el flujo génico es detenido por una combinación de los dos tipos de barreras reproductivas.   |

|                      |      |  |   |  |
|----------------------|------|--|---|--|
|                      |      | simpátricas de <i>Ipomopsis</i> (Polemoniaceae).   | eficaz así como examinar en condiciones controladas la viabilidad de las cruzas intra e interespecíficas, además, determinar si hay exclusión del polen heteroespecífico en cruzas con polen mezclado.  |  |
| Ramsey <i>et al.</i> | 2003 | Componentes del aislamiento reproductivo entre flores mono <i>Mimulus lewisii</i> y <i>M. cardinalis</i> (Primaceae) | Tener una aproximación cuantitativa de las barreras reproductivas primarias al flujo génico dentro de estas especies y estima el el aislamiento reproductivo total. Evaluaron el aislamiento ecogeográfico, la fidelidad de los polinizadores, a competición de | Encontraron que geográficamente existe parcial aislamiento ecogeográfico, no encontraron traslape de polinizadores, el ensamblaje de polinizadores para cada especie fue muy específico, la producción de semillas fue mucho mayor en las cruzas intraespecíficas que en las interespecíficas en los dos casos. Las semillas procedentes de cruzas intraespecíficas de <i>M. lewisii</i> germinaron más que las de las cruzas híbridas, para el caso de <i>M. cardinalis</i> la germinación fue similar en los dos tipos de cruzas. En el caso del peso de la semilla en la cruza híbrida se observó que significativamente tienen menos biomasa que las de cruza intraespecífica. En las poblaciones simpátricas solo se observaron dos plantas híbridas de 2336 plantas analizadas, así que el índice de ocurrencia de los híbridos en las poblaciones naturales es muy bajo. El índice de aislamiento reproductivo total es del 99%, esto debido a la acción de los dos tipos de barreras reproductivas combinadas, si embargo según los autores las barreras que actúan primero son las que son capaces de detener el flujo génico de manera más efectiva. |

|           |      |  |   |   |
|-----------|------|--|---|---|
|           |      |  | <p>polen en cruza intra e interespecíficas, medición de producción de semillas y viabilidad de los híbridos, la cantidad de hibridación en simpatria y el aislamiento reproductivo total.</p>   |   |
| Kay M. K. | 2006 | <p>Aislamiento reproductivo entre dos Gengibres neotropicales cercanamente relacionados polinizados por colibríes.</p> | <p>Examinar los mecanismos por los cuales mantienen el aislamiento reproductivo poblaciones simpátricas de <i>Costus scaber</i> y <i>C. pulverulentus</i> dos especies que comparten polinizadores a través del análisis espacial a gran escala, diferencias de microhabitat,</p> | <p>Elevacionalmente las especies llegan a traslaparse muy poco sin embargo esto no se tomo como un componente del aislamiento reproductivo, no se encontró aislamiento en cuanto al micro hábitat ni en cuanto a la fenología, el polinizador principal no mostro constancia floral, en cuanto a la deposición de polen heteroespecifico se determinó que no existe flujo de polen entre las dos especies. En las cruza realizada fue sustancialmente mayor la producción de semillas en las cruza intraespecíficas que en las inter. La germinación de tubos polínicos reveló que <i>C. scaber</i> en las cruza interespecíficas no se desarrollaron y en <i>C. pulverulenteus</i> se desarrollaron al principio de la misma manera pero con el tiempo se detuvieron los de las cruza interespecíficas, la germinación de las semillas producidas de las cruza híbridas para <i>C. pulverulenteus</i> fue baja pero los híbridos se desarrollaron y florecieron normalmente, para <i>C. scaber</i> se observó que los valores de germinación fueron muy bajos. El polen de los híbridos fue menos viable que las cruza interespecíficas para <i>C. pulverulenteus</i> y para <i>C. scaber</i> fue casi igual que los parentales. Al evaluar el aislamiento reproductivo total se determinó que las barreras reproductivas en conjunto detienen alrededor de 100% del flujo genético entre las dos especies</p> |

|                          |      |   |   |  |
|--------------------------|------|---|---|--|
|                          |      |   | la fenología de floración, traslape de polinizadores, su constancia floral, aislamiento mecánico, interacción entre el polen y el pistilo, producción de semillas interespecíficas, supervivencia en el invernadero y la fertilidad de los híbridos F1. |  |
| Marques I. <i>et al.</i> | 2007 | Los patrones de polinización limitan la hibridación entre dos especies simpátricas de <i>Narcissus</i> ( <i>Amaryllidaceae</i> ). | Identificar los factores que limitan la hibridación entre <i>Narcissus cavanillesii</i> y <i>N. serotinus</i> así como evaluar la relevancia que tiene la hibridación en la conservación de la especie en peligro <i>N. cavanillesii</i> .              | El seguimiento de la fenología mostro que la floración estuvo traslapada hasta en un 81% para <i>N. cavanillesii</i> y de 51% para <i>N. serotinus</i> . Los resultados de las cruas autogamas y polinización cruzada mostraron que no hubo diferencias significativas en cuanto a la producción de frutos, semillas y el peso de las semillas. En las cruas interespecíficas, se encontró que cuando <i>N. cavanillesii</i> fue receptor el número de frutos, semillas y porcentaje de germinación fue significativamente más alto. No hubo diferencias significativas en la germinación entre las semillas híbridas y las obtenidas de los controles. En cuanto a los visitantes se observó que compartían un polinizador principal <i>Megachile sp.</i> con una alta constancia floral, las visitas interespecíficas fueron de 2.5-2.9% para <i>N. serotinus</i> y de 33.4-3.9% para <i>N. cavanillesii</i> . |

|                                       |             |  |   |  |
|---------------------------------------|-------------|--|---|--|
| <p>Waelti<br/>M. O. <i>et al.</i></p> | <p>2008</p> | <p>Aroma floral y aislamiento reproductivo en dos especies de <i>Silene</i>.</p> | <p>En este estudio se utilizaron dos especies cercanamente relacionadas de <i>Silene</i> que poseen una amplia distribución y comparten hábitats; poseen características fenotípicas distintas y síndromes de polinización contrastantes dado que una libera su aroma durante el día y la otra durante la noche, sus polinizadores principales son en el día mariposas y por la noche esfíngidos, sin embargo los polinizadores no discriminan totalmente entre las dos especies y la hibridación</p> | <p>Se encontraron 28 compuestos distintos en el aroma de <i>S. latifolia</i> y <i>S. dioica</i> la cantidad de compuestos fue distinta cualitativa y cuantitativamente en las dos especies, tres de los compuestos fueron exclusivos para <i>S. dioica</i>. 18 compuestos mostraron diferentes cantidades cuando fueron muestreados en el día y en la noche. Se encontró que hay una diferencia entre los compuestos volátiles de las dos especies que varían durante el día y la noche, durante el día se producen benzenoides y durante la noche aumenta la cantidad de monoterpenoides. <i>S. latifolia</i> produce significativamente más compuestos aromáticos durante la noche, mientras que <i>S. dioica</i> no presentó variación significativa entre la cantidad de aroma producido entre el día y la noche. Los componentes aromáticos variaron significativamente en <i>S. latifolia</i> durante el día y durante la noche. Se le adjudica esta diferencia a 4 compuestos aromáticos esenciales de los cuales uno no pudo ser determinado. Hubo un efecto significativo en la transferencia de polen teñido en el experimento de manipulación del aroma floral entre el tratamiento y el control, la transferencia se dio más de <i>S. dioica</i> a <i>S. latifolia</i> que viceversa. En este estudio se comprobó que el aroma floral induce el aislamiento etológico y por lo tanto es una barrera precigótica al flujo de genético y que la deposición del polen en lugares distintos del organismo también contribuye a limitar la transferencia de polen interespecífico entre las especies.</p> |
|---------------------------------------|-------------|--|---|--|

|  |  |  |   |  |
|--|--|--|---|--|
|  |  |  | <p>puede llegar a ocurrir. Se muestreo el olor de las dos especies en varias localidades y cuantificaron la composición del aroma y se comparo la emisión durante el día y durante la noche, así evaluaron el efecto que las diferencias en el olor tiene sobre el aislamiento reproductivo, manipulando los compuestos se modifiko el aroma para hacerlo más similar entre las dos especies y observar la cantidad de transferencia de polen entre las dos especies.</p> |  |
|--|--|--|---|--|

|             |      |   |  |   |
|-------------|------|---|--|---|
| Wendt T.    | 2008 | Una aparente falta de aislamiento reproductivo precigótico entre 42 especies de Bromeliaceae en Brasil.                             | Investigar la contribución de algunos mecanismos de aislamiento precigótico como diferencias en microhábitat, fenología y especificidad de polinizadores.  | Se determinó que no existe aislamiento espacial en la distribución de las especies de estudio, aunque la mayoría son epifitas y epifitas facultativas se reportan 5 especies como terrestres, en general se encuentran cohabitando relativamente cerca unas de otras. Sus periodos fenológicos se traslapan entre: 26-62%. Las pertenecientes al mismo género se sincronizan más, las características morfológicas de las flores son similares en algunas especies pertenecientes al mismo género. La mayoría de las especies fueron visitadas principalmente por colibríes, el más frecuente visitó 35 especies, sin embargo existe un ensamblaje de polinizadores entre aves, abejas y mariposas. Dado que en cultivo se han desarrollado híbridos sintéticos con estas especies de <i>Bromelia</i> se especula que tienen débiles barreras postcigóticas y dados los resultados de este estudio se concluye que las precigóticas pueden ser también débiles, sin embargo, la autogamia y la deposición de polen en diferentes partes de los polinizadores podrían estar actuando como barreras a la hibridación en estas especies. |
| Brock T. M. | 2009 | Barreras precigóticas al flujo de genes entre <i>Taraxacum ceratophorum</i> y el invasivo <i>Taraxacum officinale</i> (Asteraceae). | Evaluar las barreras precigóticas que impiden la hibridación entre <i>Taraxacum ceratophorum</i> y <i>T. officinale</i> a través de la observación de los visitantes florales, desarrollo de tubos polínicos y competencia polínica. | No se observó constancia floral por parte de los polinizadores, el movimiento del polinizador de <i>T. officinale</i> a <i>T. ceratophorum</i> que entre <i>T. ceratophorum</i> exclusivamente. Se encontró que <i>T. ceratophorum</i> recibe menor cantidad de polen procedente de <i>T. officinale</i> que polen conspecífico, sin embargo, los resultados no muestran una diferencia significativa. El polen de <i>T. officinale</i> germinó 53% menos que el polen de <i>T. ceratophorum</i> . Los experimentos de polinización no afectaron la producción de semillas, en los casos que se aplicó el polen combinado de las dos especies se tuvo la misma producción de semillas que en los controles, la polinización manual produjo significativamente mayor número de híbridos, sin embargo, fueron menos del 5%, en el caso de la polinización con polen mezclado y los controles mostraron no haber una diferencia significativa en cuanto al número de híbridos formados. En este caso el polen conspecífico tiene una ventaja en la germinación y esto permite que la tasa de hibridación sea baja.                       |
| Zahang      | 2011 | Cuando las  | Evaluar el   | El crecimiento de los tubos polínicos en la cruza artificial fue bastante rápido,   |

|                            |      |  |  |   |
|----------------------------|------|--|--|---|
| X. L. <i>et al.</i>        |      | barreras precigóticas interespecíficas fallan: hibridación entre dos especies de <i>Potamogeton</i> ( <i>P. wrightii</i> y <i>P. perfoliatus</i> ) y comparación de híbridos naturales y artificiales. | potencial de las barreras precigóticas entre las especies parentales al comparar el crecimiento de los tubos polínicos en cruza intra e interespecíficas, investigar las principales barreras a la hibridación y la posible fertilidad de los híbridos, comparar los híbridos artificiales y naturales con sus parentales a través de sus caracteres morfológicos y evaluar la adaptación de los híbridos. | germinando a los 15 minutos de su deposición en el estigma, existió variación entre el número de semillas en los grupos sin embargo no se detectó variación en ninguna barrera reproductiva entre las especies parentales, el tubo polínico del híbrido fue el que se desarrolló más lento y corto, lo que implica que existe aislamiento reproductivo. Se obtuvieron 1000 semillas híbridas de las cuales solo germinaron 78 los cuales se desarrollaron a una etapa reproductiva en cuatro meses, se desarrollaron 9 inflorescencias que se marchitaron rápido después de su floración sin desarrollar ningún fruto. La morfología que presentó la F1 fueron características compartidas entre los dos parentales. Por último los híbridos florecieron de manera normal, la F1 presentó menor cantidad de polen viable y una alta variación en tamaño, comparados con los híbridos naturales presentaron casi la mitad de polen viable y a pesar de su floración normal no se desarrollaron frutos en sus floraciones. Se concluye que el polen de mayor tamaño de uno de los donadores y el pistilo corto del receptor es el responsable de que sean más exitosas las cruza en esas sentido. |
| Johnson A.M. <i>et al.</i> | 2015 | Barreras postcigóticas aislando especies   | Se examinaron las barreras pre y postcigóticas que mantienen el  | Los análisis geográficos demuestran que existe simpatria entre las especies pertenecientes a la isla de Kauai y las pertenecientes a la isla de Hawái, en la fenología se observa traslape en el periodo de realización del estudio sin embargo en una de las especies de la isla de Hawái presentó un periodo corto de floración y   |

|                           |      |  |   |   |
|---------------------------|------|--|---|---|
|                           |      | simpátricas de <i>Cyrtandra</i> (Gesneriaceae) en el sotobosque montano de Hawái | aislamiento reproductivo entre las especies de <i>Cyrtandra</i> en cuatro especies de dos islas hawaianas, las barreras precigóticas evaluadas fueron: fenología de floración, aislamiento geográfico y crecimiento de tubos polínicos. Y las barreras postcigóticas: Fruit set en cruza intra e interespecíficas, número de germinaciones por fruto y supervivencia de la F1 hasta los seis meses. | pocas plantas floreciendo. En las cruza interespecíficas como intraespecíficas se observó que la germinación del polen fue alta, también se determinó que no había diferencia significativas en el crecimiento de los tubos polínicos dependiendo del tipo de cruza. El éxito de las polinizaciones manuales fue del 31.52%, los frutos que se cayeron de la planta antes de alcanzar la madurez fueron considerados como abortados, el fruit set varió entre especies pero no entre los tipos de cruza para las cuatro especies de estudio. Para las especies de Kauai las cruza simpátricas interespecíficas germinaron significativamente menos que las conspecíficas a las 12 semanas, para las dos especies como receptores en las cruza heteroespecíficas hubo menos cantidad de semillas viables, sin embargo, en las cruza alopátricas heteroespecíficas el promedio de germinación a las 12 semanas fue igual de alto que las cruza conspecíficas. Para una de las especies el número promedio de germinaciones por fruto no vario. Entre especies a las 12 semanas las cruza simpátricas heteroespecíficas germinaron significativamente menos. Para la isla Kauai la supervivencia de las plántulas en las cruza alopátricas heteroespecíficas fueron más altas que las simpátricas heteroespecíficas y las conspecíficas. En contraste en las cruza realizadas en la isla de Hawái se observó que los híbridos fallaron en el desarrollo de hojas verdaderas y experimentaron mayor mortalidad a los seis meses, incluso las que sobrevivieron no presentaron hojas verdaderas normales y no presentaron mayor vigor. El aislamiento reproductivo total para la isla de Kauai fue moderado y la barrera que fue la que más contribuyó fue la germinación por fruto. En las especies pertenecientes a la isla de Hawái el aislamiento fue de moderado a esencialmente completo, debido a la baja supervivencia de las plántulas y la fenología de floración. |
| Zhi-Huan H. <i>et al.</i> | 2015 | La transferencia interespecífica   | <i>Salvia przewalskii</i> y <i>Delphinium yuanum</i> son dos  | La observación de visitantes florales reveló que solo <i>Bombus trifasciatus</i> es el polinizador efectivo y el que más visita las dos especies, se encontró que las visitas que realiza a los parches establecidos fueron significativamente mayores cuando   |

|  |  |  |   |  |
|--|--|--|---|--|
|  |  | <p>de polen entre dos especies que florecen al mismo tiempo es minimizada por la fidelidad del abejorro y la deposición diferencial del polen en el cuerpo del abejorro.</p> | <p>especies simpátricas con floraciones traslapadas endémicas del sur de china se conoce que son polinizadas por el mismo vector y en las cuales se estudió como se minimiza la transferencia interespecífica de polen (TIP), esto a través de la observación directa de la fidelidad del polinizador durante el forrajeo, se relazaron cruza interespecíficas para ver el efecto de la TIP en la germinación de polen y la producción de semillas. Se conoce que los</p> | <p>solo visito una especie, sin embargo, se observó que <i>S. przewalskii</i> recibe una mayor cantidad de visitas que <i>D. yuanum</i>. La deposición del polen revela que los estigmas de las dos especies están recibiendo en su mayor proporción polen proveniente de su misma especie, pero sí existe un bajo porcentaje de polen proveniente de la otra especie en los dos casos. Se observó que <i>D. yuanum</i> germinó significativamente menos en los estigmas de <i>S. Perzewalskii</i> aunque cuando <i>S. perzewalskii</i> fue la donadora no se observa que haya diferencias entre la germinación en los estigmas de <i>D. yuanum</i> y los estigmas conspecíficos. La deposición de polen heteroespecífico no fue un factor que disminuyera la cantidad de semillas producidas en las cruza heteroespecíficas realizadas, ya que la cantidad de semillas que se produjeron en estas cruza fue la misma que en las cruza conspecíficas. Por ultimo los análisis que se realizaron para conocer el lugar de la deposición de polen en el abejorro fue significativamente distinta, dado que <i>S. perzewalkii</i> deposita la mayor cantidad de polen en la espalda del abejorro y <i>D. yuanum</i> deposita la mayor cantidad de polen en la parte ventral del insecto. Es posible que una de las barreras más efectivas en este caso se la constancia de los polinizadores y parcialmente la deposición diferencial del polen en el vector.</p> |
|--|--|--|---|--|

|  |  |  |   |  |
|--|--|--|---|--|
|  |  |  | granos del polen de <i>S. przewalskii</i> son de mayor tamaño que los de <i>D. yuanum</i> . |  |
|--|--|--|---|--|

Como se puede observar en la Tabla 1, el análisis del aislamiento reproductivo ha sido estudiado ampliamente en varios géneros de plantas, sin embargo existe un sesgo hacia las plantas herbáceas y arbustivas, esto es por la facilidad que presentan para su germinación y el poco tiempo que lleva desde la germinación hasta la floración. Estos modelos de estudio en ocasiones presentan resultados contrastantes entre las investigaciones dado que las hipótesis no son generalizables en todos los casos. Sin embargo se pueden observar patrones, uno de estos es que las barreras reproductivas precigóticas presentan una alta eficiencia en detener el flujo génico entre las especies y por lo regular es la barrera que contribuye al aislamiento en varios modelos además de ser por su facilidad logística de estudio la más representada en los trabajos, el estudio de las barreras postcigóticas conlleva mayor inversión de tiempo y solo equipos de investigación que tienen tiempo trabajando con algunas especie modelo es capaz de afrontar estos desafíos.

Uno de los fenómenos involucrados en la hibridación es el grado de incompatibilidad entre el polen y el gineceo de la planta. A continuación se presenta una revisión de algunos artículos en los cuales ha sido caracterizada esta relación:

Tabla 2. Trabajos que han evaluado la germinación de tubos polínicos en especies simpátricas

| Autor                     | Año  | Titulo del trabajo   | Objetivo del trabajo  | Resultados  |
|---------------------------|------|--|---|---|
| Sangduen N. <i>et al.</i> | 1983 | Germinación de polen y crecimiento de tubos polínicos siguiendo autopolinización y polinización intra e interespecífica  | Determinar los factores que impiden las cruzas entre especies anuales y perenes de <i>Medicago</i>  | No se observó algún tipo de incompatibilidad en las cruzas intraespecíficas realizadas entre las especies diploides y tetraploides de <i>Medicago</i> , sin embargo en las cruzas interespecíficas muy pocos granos de polen germinaron y los crecimientos de los tubos polínicos fueron anormales y más lentos en su crecimiento. En las cruzas interespecíficas se observó que en el 43% de las cruzas hubo un ovulo fertilizado.   |
| Bassiri A. <i>et al.</i>  | 1987 | Germinación de granos de polen y crecimiento de tubos polínicos in vivo e in vitro en cruzas auto e interespecíficas en polinizaciones anuales de especies de <i>Cicer</i> . | Determinar la barrera a la hibridación en especies de <i>Cicer</i>  | El polen germinó en la misma proporción en las cruzas inter e intraespecíficas, sin embargo, al descender por el estilo los tubos polínicos se hicieron delgados y decrecieron en la intensidad de luminiscencia bajo en microscopio de fluorescencia. Encontraron que la especie receptora tiene influencia en la velocidad de crecimiento de los tubos polínicos. Se determinó que fue mayor la proporción de tubos polínicos que se desarrollaron en las cruzas intraespecíficas que la interespecíficas. En total de las 960 cruzas realizadas solo en 32 se observó que hubiera por lo menos 1 tubo polínico dentro de un ovulo. |
| Burson B. L.              | 1987 | Germinación de polen, crecimiento de tubos polínicos y fertilización siguiendo polinizaciones auto e interespecíficas de especies de <i>Paspalum</i>                         | Determinar la baja producción de semillas en <i>P. intermedium</i> para determinar si pueden realizarse cruzas interespecíficas con otras especies de <i>Paspalum</i> y determinar las causas de baja fertilidad con otras especies del género. | En las cruzas intraespecíficas que se realizaron en 4 especies diferentes solo en tres se observó que los tubos polínicos fertilizaban los óvulos, en <i>Paspalum intermedium</i> se observó que a pesar de que el polen germinaba es muy baja la cantidad de tubos que alcanzan la base del estilo. En cuanto a las cruzas interespecíficas se observó que en todas las cruzas realizadas el polen germina y se desarrolla pero existe una incompatibilidad en el saco embrionario que provoca que los gametos no se fusionen y por lo tanto tengan un bajo éxito la cruzas realizadas.  |

|                                |      |  |   |   |
|--------------------------------|------|--|---|---|
| Facciuto G.                    | 2007 | Autoincompatibilidad de acción tardía e hibridación interespecífica en el género <i>Tabebuia</i> A.I. Gomez ex DC (Bignoniaceae): estudios relacionados con el desarrollo reproductivo | Evaluar el crecimiento de los tubos polínicos en cruza intra e interespecíficas entre especies de <i>Tabebuia</i> argentinas. | Se observó que existen mecanismos que actúan a nivel del ovario impidiendo la fecundación al crearse tapones de calosa en los tubos en desarrollo.  |
| Nghiem Q. C. <i>et al.</i>     | 2013 | Interacción polen-pistilo entre la autotetraploide y diploide <i>Acacia mangium</i> y la diploide <i>A. auriculiformis</i>   | Evaluar el crecimiento de los tubos polínicos en cruza intra e interespecíficas y autofecundación                             | Se observó que los citotipos iguales presentaron una mayor cantidad de tubos polínicos desarrollados y fue significativamente diferente a las cruza interespecíficas.   |
| Luca A. <i>et al.</i> ,        | 2014 | Competencia polínica entre dos especies de orquídea (orchidaceae): el rebase del polen conspecífico al heterospecífico como una barrera reproductiva                                   | Evaluar la velocidad del crecimiento de los tubos polínicos cuando se usa polen conspecífico y heterospecífico.               | No encontraron diferencias entre el éxito reproductivo al utilizar polen conspecífico o heterospecífico, sin embargo, en las cruza interespecíficas el número de semillas viables fue menor que en las cruza intraespecíficas, además se observó que los tubos polínicos tuvieron un retraso en el desarrollo en las cruza heterospecíficas y alcanzaron el ovario hasta después de 24 hrs que en las cruza intraespecíficas. |
| Kuligowska, K. <i>et al.</i> , | 2015 | Evaluación de la contribución de las barreras reproductivas al   | Identificar la barreras naturales a la hibridación que ocurren en cruza   | Los tubos polínicos se observaron en el ovario a las 24 hr de haberse realizado la polinización, el tiempo teórico de fertilización se determinó en menos de 24 hrs y en casi todos los casos se confirmó que la fertilización era exitosa.   |

|  |  |   |   |  |
|--|--|---|---|--|
|  |  | desarrollo de nuevos híbridos interespecíficos en el género Kalanchoë | reciprocas en algunas especies seleccionadas de Kalanchoë |  |
|--|--|---|---|--|

Como se observa en la Tabla 2. El resultado de las cruzas entre especies emparentadas puede llevar al aborto de los frutos en desarrollo debido a incompatibilidad genética. Sin embargo, en muchas especies puede no estar solamente relacionada a este tipo de incompatibilidad, otras posibles causas pueden deberse al clima, la cantidad de humedad y minerales en el suelo etc. En la Tabla 3. se presentan algunos trabajos que han reportado el fenómeno de la aborción de frutos

Tabla 3. Trabajos que tratan de explicar el papel de distintos factores en la aborción de frutos.

| Autor                             | Año  | Titulo  | Objetivo  | Resultados   |
|-----------------------------------|------|---|---|--|
| Sharp M.<br><i>W.et. al.</i>      | 1966 | Floración y fructificación en los robles blancos. Floración de pistilos, desarrollo de la bellota, clima y rendimiento. | Investigar la fenología, el desarrollo de las bellotas y rendimiento de las castañas en los robles blancos.   | La temperatura es uno de los principales factores influenciando el rendimiento de bellotas en los robles blancos sin embargo no es el único la humedad, el viento y la sequia también son factores que pueden afectarlo. Otro de los factores puede ser el tiempo en el que se fertilicen los arboles ya que pueden afectar la floración y producción de frutos.   |
| Willson F.<br>M. y Price<br>W. P. | 1979 | Limitación de recursos en la producción de frutos y semillas en algunas especies de <i>Asclepias</i>                    | Determinar si la limitación de recursos en tres especies de <i>Asclepias</i> esta limitada por los nutrientes que tienen disponibles al adicionarle o limitarles los recursos vía la adición de fertilizante, la defoliación o limitación de luz. | Las tres especies de <i>Aclepia</i> presentaron una mayor cantidad de biomasa cuando se encuentran en fructificación, al adicionar fertilizantes se observó un aumento en el número de vainas en desarrollo, incluso el número de semillas y el peso se vio aumentado. En cambio cuando se limitaron los recursos se observó una disminución en el número de vainas en desarrollo y a veces también disminuyó el número de semillas por vaina. Se concluye que la producción de frutos y semillas está directamente relacionada a la cantidad de recursos, al obtenerse resultados positivos en la aplicación de fertilizante y negativos a defoliación. En ocasiones la producción de semillas puede estar relacionada a la actividad de los polinizadores. |
| Udovic D.<br><i>et al.</i>        | 1981 | Aborción de frutos y regulación de número de frutos en <i>Yucca whippley</i>  | Determinar si la baja producción de frutos se es resultado de la aborción de frutos y determinar si la aborción de frutos es un componente importante en la regulación de la producción de semillas.  | Las inflorescencias en promedio desarrollaron 2,045 flores de las cuales fallaron en desarrollar frutos un 79.3%, se abortaron durante el desarrollo un 12.4% y solo el 9.4% se desarrollaron como frutos maduros, se espera que el numero de frutos desarrollados este controlado por la cantidad de recursos disponibles y por lo tanto también relacionado a la posición en que se encuentren dentro de la inflorescencia, los frutos desarrollados en la base de la inflorescencia se aborten menos que los desarrollados en la parte superior, lo cual se corroboró con los experimentos en la punta se abortaron 64.9% de los frutos mientras que en la base se abortaron solo el 37.5% de los frutos.   |

|                             |      |  |   |  |
|-----------------------------|------|--|---|--|
|                             |      |  |   | Probablemente la aborción registrada es debida a la cantidad de recursos, seguramente las plantas empezaron a desarrollar más frutos de los que podían mantener y por lo tanto abortaron hasta llegar a un nivel sostenible.   |
| Garbutt K. y F. A. Bazzaz   | 1984 | Efectos de elevado CO2 en plantas. III. Floración, producción de frutos y semillas y aborción. | Investigar los efectos que tiene los niveles elevados de CO2 en los tiempos y patrones de producción de flores y la aborción de flores y frutos, así como la producción de frutos y semillas en tres especies de plantas herbáceas anuales. | A nivel poblacional para una de las especies de estudio <i>Phlox durmmodii</i> el CO2 tuvo el efecto de aumentar la el número total de flores y el tiempo al cual comenzó la floración, así mismo hubo un efecto significativo en el aumento de biomasa. Para <i>Datura stamonium</i> también adelanto la floración, sin tener efecto sobre el número de flores producidas y frutos abortados, hubo un aumento significativo en la biomasa de las plantas y se mostro una ligera tendencia a aumentar el peso y cantidad de semillas producidas. Para la tercer especie de estudio <i>Abutilon theophrasti</i> al incrementar la cantidad de CO2 se registro una disminución en la cantidad de flores, número de frutos y semillas producidas por planta. Es probable que la falta de CO2 pueda estar aumentando la cantidad de frutos y semillas abortadas. |
| Vaughton G. y S. M. Carthew | 1993 | Evidencia de la aborción selectiva de frutos en <i>Banksia spinulosa</i> (Proteaceae)          | Determinar si los frutos autopolinizados se abortan selectivamente en una población natural parcialmente autocompatible   | Las cruza que contienen polen de la misma planta se observó que produjeron la mitad de la producción de semillas que las que fueron polinizadas con gametos de otra planta, demostrando que existe un aborto selectivo de las semillas en las cruza con polen de la misma planta, esto quizá debido competencia por limitación de recursos donde se ven beneficiadas las cruza con genes distintos a los de las cruza autógamas, otra razón podría ser que la misma planta detecta las cruza más vigorosas y detiene el crecimiento de las que presentan crecimiento menos enérgico a través de la regulación de la hipostasa.   |
| Harris F. y R. J. Whelan    | 1993 | Aborto selectivo en <i>Grevillea barklyana</i> (Proteaceae)                                    | Investigar el sistema reproductivo de <i>G. barklyana</i> ssp. <i>macleayana</i> y probar si esta especie tiene la capacidad de abortar   | Los tubos polínicos se desarrollaron de manera uniforme independientemente del tipo de cruza que se realizó y tampoco se observó germinación diferencial de los tubos polínicos dependiendo de la cruza realizada, sin embargo los tubos polínicos fueron más largos en las cruza heterogagamas que en las autogamas. El número de frutos abortados fue igual independientemente del tipo de cruza y se observó  |

|                          |      |  |  |   |
|--------------------------|------|--|--|---|
|                          |      |  | selectivamente frutos autofecundados al realizar cruza autogamas y heterógamas.  | que el porcentaje de frutos totalmente desarrollados fue mucho menor que los frutos que se empezaron a desarrollar cuando se polinizaron las flores. Es posible que los frutos que se hayan abortado sea debido a la limitación de recursos que a una incompatibilidad genética. El desarrollo de frutos por autogamia puede darse cuando la polinización inicial es con polen de la misma planta dado que tiene una ventaja temporal, cuando el polen de otra planta es el que alcanza primero el estigma tiene la ventaja temporal y la ventaja de ser polen heterógamo. Cuando el polen es aplicado a flores de la misma edad el polen heteroespecifico parece ser beneficiado. En esta especie es probable que la autogamia sea un beneficio cuando hay escasez de polinizadores, pero cuando se da la polinización cruzada es probable que por la gran cantidad de flores producidas y la baja cantidad de recursos las polinizaciones con polen heteroespecífico sean beneficiadas. |
| Piña H. H. <i>et al.</i> | 2007 | Aborción de frutos en un cactus endémico del desierto chihuahuense <i>Opuntia microdasys</i> | Evaluar si el aborto de frutos esta relacionado a la limitación de recursos o de polen al aplicar experimentos para observar si puede ser revertido. | <i>O. microdasys</i> es una planta completamente autoincompatible y constantemente debido a sus polinizadores recibe polen incompatible, lo que puede favorecer el aborto de los frutos. El éxito reproductivo esta relacionado a la limitación de recursos y de polen, sin embargo al adicionar nutrientes y realizar polinizaciones manuales solo incrementa en un 11% comparado con los controles, debido que es una especie con capacidad de autopropagación muy eficaz a través de clones. Los frutos abortados también son capaces de generar nuevas plantas lo que estaría asegurando la permanencia del genotipo materno, sin embargo, en las cruza heteroespecificas no se estaría explicando la razón del aborto dado que estaría disminuyendo la adaptación por recombinación, pero se estaría asegurando la permanencia del genotipo.   |