

FUNCIONES MASCULINA Y FEMENINA DE LA REPRODUCCIÓN EN CINCO ESPECIES DE *THALICTRUM* (RANUNCULACEAE) CON DIFERENTES VECTORES DE POLINIZACIÓN¹

D. GUZMÁN

*Instituto Pirenaico de Ecología, CSIC. Apdo. 64. E-22700 Jaca (Huesca)
Dpto. de Medio Ambiente. Gobierno de Aragón. Paseo de María Agustín, 36. E-50071 Zaragoza*

ABSTRACT.— *Plants with hermaphrodite flowers show a trade-off in resource allocation to male and female functions of reproduction. Such a balance can be conditioned by several factors. One of them seems to be pollination vector. Thalictrum is a genus with species that use different ways of pollination. So that we have investigated the resource allocation patterns to each function (male and female) among five species with different pollination vectors. Allocation has been measured as dry weight of the different flower structures. We have found a significative trend, male function relative investment is bigger in anemophilous than entomophilous among the five studied species: Th. macrocarpum (wind pollinated), Th. minus (wind pollinated), Th. aquilegifolium (insect pollinated), Th. tuberosum (insect pollinated) and Th. flavum (insect pollinated). During bloom, the androecium has the the greater biomass in these five species, but when all the reproductive process is taken in account, fruits reach higher values. Furthermore, this temporal separation of the maximum allocation to each function would be a way to make competence for the same limited resources weaker.*

Key words: Resources asignation, male and female reproductive fonctions, investing moment, *Thalictrum*, pollinating vectors, Pyrenees.

RÉSUMÉ.— *Les plantes à fleurs hermaphrodites montrent un compromis entre l'assignation de ressources aux fonctions mâle et femelle de la reproduction. Cet équilibre peut se voir conditionné par des facteurs écologiques divers dont l'agent polinisateur. Thalictrum est un genre présentant des espèces qui comptent différents moyens de polinisation. Nous avons donc recherché les modèles*

¹ Recibido: 26-VIII-2005. Aceptado: 23-XI-2005.

d'assignation de ressources dans chacune des fonctions (mâle et femelle) de cinq espèces du genre qui utilisent différents agents polinisateurs. Cette assignation a été mesurée par le poids sec des diverses structures florales. Une tendance significative à la prédominance d'une assignation plus importante à la fonction mâle dans les plantes anémophiles que dans les plantes entomophiles a été observée sur les cinq espèces étudiées: Th. macrocarpum (anémophile), Th. minus (anémophile), Th. aquilegiifolium (entomophile), Th. tuberosum (entomophile) et Th. flavum (entomophile). Pour ces espèces, pendant la floraison, la plus grande biomasse correspond à l'androcée, mais si on tient compte de tout le processus reproductif, alors la biomasse principale correspondrait aux fruits. De plus, cette séparation temporelle de l'assignation maximale de ressources à chaque fonction peut diminuer la concurrence entre ces fonctions pour les mêmes ressources limitées.

Mots clé: Assignation de ressources, fonctions reproductives mâle et femelle de la reproduction, moment de l'investissement, *Thalictrum*, agent polinisateur, Pyrénées.

RESUMEN.- Las plantas con flores hermafroditas muestran un compromiso entre la asignación de recursos en las funciones masculina y femenina de la reproducción. Dicho equilibrio se puede ver condicionado por varios factores. Uno de ellos parece ser el vector utilizado para la polinización. Thalictrum es un género con especies que se valen de diferentes medios para su polinización. Por ello se han investigado los patrones en la asignación de recursos en cada función (masculina y femenina) entre cinco especies con vectores diferentes. La inversión se ha medido en términos del peso seco de las diferentes estructuras de la flor. Se observa una tendencia significativa a que la inversión relativa a la función masculina sea mayor en las anemófilas que en las entomófilas entre los cinco casos estudiados: Th. macrocarpum (anemófilo), Th. minus (anemófilo), Th. aquilegiifolium (entomófilo), Th. tuberosum (entomófilo) y Th. flavum (entomófilo). Durante la floración, la mayor biomasa corresponde al androceo en las cinco especies, pero si se tiene en cuenta todo el proceso reproductivo, los frutos alcanzan valores más altos. Además, esta separación temporal de la inversión máxima en cada función sería una forma de disminuir la competencia entre éstas por unos mismos recursos limitados.

Palabras clave: Inversión de recursos, función reproductiva masculina y femenina de la reproducción, momento de la inversión, *Thalictrum*, vector de polinización, Pirineos.

1. Introducción

Las plantas con flores hermafroditas pueden dejar descendencia a través de la reproducción sexual de dos formas diferentes: desarrollando óvulos fecundados, función femenina de la reproducción, y fecundando óvulos con su polen, función masculina. Las teorías de *Sex allocation* proponen que ambos papeles utilizan recursos que deben ser tomados de la misma fuente

(GOLDMAN & WILLSON, 1986; CHARLESWORTH & MORGAN, 1991), de forma que un aumento en los recursos asignados a una de ellas irá en detrimento de los asignados en la otra. Existen algunas estrategias para disminuir esta competencia, como la separación de ambas asignaciones en el tiempo o el hecho de que sean diferentes los elementos limitantes para cada función (GOLDMAN & WILLSON, 1986; CRAWLEY, 1997a).

Estas teorías proponen que la aportación de recursos a las funciones masculina y femenina de la reproducción estaría equilibrada en las flores hermafroditas bajo ciertas condiciones como polinización cruzada y ausencia de geitonogamia, [MAYNARD SMITH (1971) citado en LLOYD (1984)]. Pero esta igualdad de las inversiones en cada función puede verse desplazada hacia una de ellas según sea el sistema reproductor y ciertas condiciones ecológicas (LEMEN, 1980; CRUDEN & LYON, 1985; GOLDMAN & WILLSON, 1986; ÅGREN & SCHEMSKE, 1995; BRUNET & CHARLESWORTH, 1995; SEGER & ECKHART, 1996; KLINKHAMER & de JONG, 1997; CRAWLEY, 1997a; BURD & ALLEN, 1998; SAKAI & HARADA, 1998; JONG & *al.*, 1999).

Uno de estos factores ecológicos es el vector utilizado por la planta para su polinización (LLOYD, 1984). Ya desde los primeros estudios de la biología floral (SPENGLER, 1793) se apuntó que las flores anemófilas producían más polen que las entomófilas. Mucho más recientemente, y desde otra aproximación, se observó que la proporción entre granos de polen y número de óvulos (P:O) está correlacionada con el vector de polinización, siendo más alta en anemófilas (PRESTON, 1986). Además, la tendencia a que el equilibrio en la asignación de recursos se desplace hacia la función masculina en anemófilas ha sido apuntada teóricamente (BERTIN, 1988; CHARLESWORTH & MORGAN, 1991; BURD & ALLEN, 1998).

En las especies polinizadas por animales, la curva que relaciona los recursos asignados en la función masculina con el número de descendientes no es recta, sino que se acerca asintóticamente a un límite que representa la cantidad de polen que puede ser transportada por el vector, o sea, los polinizadores (LLOYD, 1984; CHARLESWORTH & MORGAN, 1991; SILVERTOWN & LOVETT DOUST, 1993; CAMPBELL, 1998; Figura 1.A). En otras palabras, aunque se produzca más polen no tendrá posibilidad de ser exportado y fecundar más óvulos, debido a la saturación del vector. Por ello, el equilibrio en la inversión estaría desplazado hacia el sexo con ganancias no asintóticas, esto es, el femenino (CAMPBELL, 1998), pues damos por supuesto que su fecundidad está más limitada por la disponibilidad de recursos que por la de "parejas" -acceso a polen en el caso de las plantas-. Este supuesto se ha llamado principio de Bateman (ARNOLD, 1994; WILSON & *al.*, 1994; QUELLER, 1997).

Ahora bien, en las plantas anemófilas el vector de polinización no se satura, de forma que cuanto más polen se produzca más posibilidad habrá de fecundar óvulos [SCHOEN & STEWART (1986), pero véase también BURD & ALLEN (1998)]. Así, la relación entre la asignación de recursos a la función masculina y el número de descendientes conseguidos a través de ella en plantas anemófilas es lineal (Figura 1.B). Es decir, asignando más recursos a la función masculina aumenta linealmente el número de descendientes en la siguiente generación (LLOYD, 1984; GOLDMAN & WILLSON, 1986; BERTIN, 1988; CHARLESWORTH & MORGAN, 1991; SILVERTOWN & LOVETT DOUST, 1993; BURD & ALLEN, 1998).

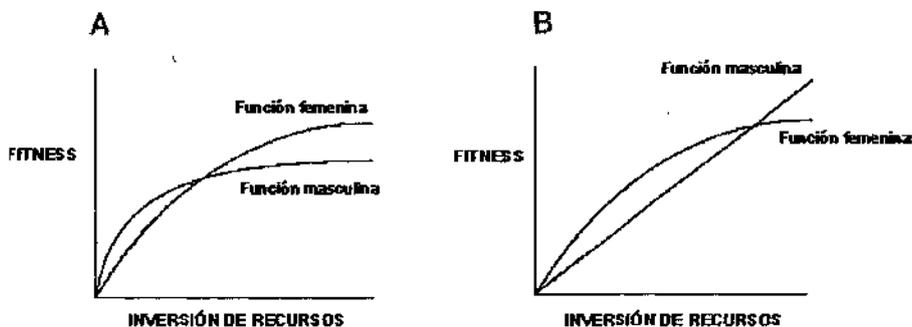


Figura 1. Curvas teóricas donde se describe la relación entre el éxito reproductivo "Fitness" y la inversión de recursos para plantas polinizadas por animales (A) o por el viento (B). Gráfica tomada de KLINKHAMER & de JONG (1997), modificada.

Figure 1. Theoric curves describing the relationship between fitness and resource investment by animal-pollinated (A) or wind-pollinated plants. Graphic from KLINKHAMER & de JONG (1997), modified.

En medios de montaña, como los bosques de coníferas o pastos de gramíneas y ciperáceas, dominan las plantas polinizadas por el viento, por ello se ha relacionado la anemofilia con ambientes limitantes para la actividad de insectos, los cuales resultan más frecuentes en altas altitudes o latitudes (REGAL, 1982; WHITEHEAD, 1983; NIKLAS 1985; BERRY & CALVO, 1989). Además, en la alta montaña, en condiciones de escasez de insectos polinizadores, el viento puede incrementar la cantidad y calidad de semillas producidas (GÓMEZ & ZAMORA, 1996). Es por ello que en grupos con especies montanas la evolución ha llevado a estirpes con flores anemófilas a partir de ancestros con polinización entomófila. Uno de estos casos es el del género *Thalictrum* (Ranunculaceae), ejemplo especialmente adecuado para estudiar ese equilibrio en la inversión de recursos, ya que posee gran

variabilidad en el vector de polinización, de hecho se ha ensayado una aproximación similar para un conjunto de especies norteamericanas utilizando la relación P:O para encontrar una mayor asignación de recursos a la función masculina en anemófilas (STEVEN & WALLER, 2004).

Un factor que puede relajar el conflicto por los recursos entre ambas funciones es la separación temporal de las asignaciones (GOLDMAN & WILLSON, 1986; SEGER & ECKHART, 1996; CRAWLEY, 1997a). La inversión a la función masculina frecuentemente es mayor durante la floración mientras que la función femenina suele requerir un máximo de recursos durante la fructificación. Esto se podría comprobar calculando la inversión en los dos momentos por separado, durante la formación de las flores y en la fructificación. En algunos casos, la inversión en biomasa masculina es mayor que en la femenina durante la floración, pero ocurre lo contrario si se tiene en cuenta la inversión a lo largo de toda la reproducción, es decir, incluyendo los recursos aportados a frutos (CRUDEN & LYON, 1985; GOLDMAN & WILLSON, 1986; SEGER & ECKHART, 1996).

A la hora de calcular la asignación de recursos a las funciones masculina y femenina se plantean varios problemas (BAZZAZ & REEKIE, 1985; GOLDMAN & WILLSON, 1986; REEKIE & BAZZAZ, 1987 a y b; BERTIN, 1988; CHARLESWORTH & MORGAN, 1991). El primero es la unidad de medida. Varios autores han utilizado el peso seco o biomasa porque representa bien la inversión en carbono y otros recursos a las estructuras reproductoras (CRUDEN & LYON, 1985; BAZZAZ & REEKIE, 1985; ÅGREN & SCHEMSKE, 1995). Además, debido a su sencillez, se ha usado frecuentemente y permite hacer comparaciones entre especies (CRAWLEY, 1997).

El segundo inconveniente es saber qué estructuras de la flor se invierten en cada una de las dos funciones. La inversión en el gineceo se asigna a la función femenina y la del androceo a la masculina, pero ¿qué ocurre con las estructuras de la flor no adscribibles claramente a cualquiera de ellas, como por ejemplo el perianto? Algunas veces se han ignorado los recursos aportados a esta estructura (MCKONE & *al.*, 1998). Otras, y puesto que ambas funciones se benefician de ella, se ha propuesto dividir su inversión al 50% (LLOYD, 1984; CRAWLEY, 1997b). Diversos autores (BERTIN, 1988; WILLSON, 1994; DELPH & *al.* 1996) apuntan que la variación en caracteres atrayentes, corola o producción de néctar por ejemplo, se refleja más en la exportación de polen, es decir, que dichos caracteres tienen una mayor importancia en la función masculina. Por último, hay quien ha tenido en cuenta el perianto, pero separándolo de androceo y gineceo (CRUDEN & LYON, 1985).

Para probar si existe una asociación entre los vectores de polinización y la asignación de recursos a las funciones masculina y femenina de la reproducción, se pretende analizar el peso de cada estructura de las flores en un grupo de especies relacionadas filogenéticamente pero con diferentes vectores de polinización. Según la teoría, debería haber una mayor inversión en la función masculina en especies anemófilas y una mayor inversión en la femenina en las entomófilas. Así pues, podemos analizar las desviaciones dentro de un grupo de plantas con características comunes pero con diferente vector de polinización. Entonces, las posibles diferencias que aparezcan no se deberían a diferentes cargas filogenéticas sino a las diferentes adaptaciones a un determinado vector de polinización.

En este contexto, el objetivo específico de este trabajo es analizar y comparar la variabilidad en las inversiones masculina y femenina de las flores y frutos, en términos de peso seco, de cinco especies pirenaicas de *Thalictrum* con diferentes vectores de polinización, planteando la hipótesis de que la asignación masculina será más importante en las especies polinizadas por el viento.

2. Material y métodos

Especies objeto de estudio y metodología

Se ha estudiado la asignación de recursos a las diferentes estructuras de la flor en cinco especies del género *Thalictrum* (*Ranunculaceae*). Se trata de un género en el cual las flores, a partir del modelo primitivo de la familia con forma de bol y polinización entomófila, similar a *Ranunculus*, han evolucionado secundariamente hacia la anemofilia (STEBBINS, 1970; RICHARDS, 1986). Además, presenta una gran variación en cuanto a su sexualidad, sistema reproductor y vector de polinización (KAPLAN & MULCAHY, 1971; LUBBERS & CHRISTENSEN, 1986; RICHARDS, 1986; STEVEN & WALLER, 2004). En el Pirineo crecen varias especies de este género con ciertas características que las hacen idóneas para nuestro objetivo. Se han elegido cinco de ellas que se pueden encontrar en un área geográfica limitada, poseen contrastadas formas florales y muestran diferentes vectores de polinización. Estas especies son *Thalictrum macrocarpum* Gren., *Th. aquilegifolium* L., *Th. flavum* L., *Th. minus* L. y *Th. tuberosum* L.

En la Tabla 1 se muestran los distintos polinizadores de cada especie. Esta variabilidad nos permite probar si realmente ocurre una inversión diferencial de recursos en flores de especies con diferentes vectores, o bien si se trata de un carácter fijado en el grupo. Además, el género *Thalictrum* presenta la

Tabla 1. Características de las especies de *Thalictrum* estudiadas. Para el índice de polinización véase el texto.
 Table 1. Features of the studied *Thalictrum* species. For pollination index see text.

Especie	Población estudiada, altitud	Coordenadas U.T.M., 1 x 1 Km	Sexualidad de las flores	Polinizadores (Si no se cita la fuente, se trata de datos propios)	índice de polinización (KAPLAN & MULKAY, 1971)	Medio donde crece
<i>Th. macrocarpum</i>	Aspe, 1.600 m Larra, 1.650 m	30T XN 9940 30T XN 8059	Hermafroditas y femeninas en el mismo pie	Viento	1,67	Fisuras de rocas, gleras. Medio abierto
<i>Th. aquilegifolium</i>	Aspe, 1.600 m	30T XN 9940	Todas hermafroditas	Insectos: Vespidae (Himenóptero), <i>Gnorimus nobilis</i> (Coleóptero), <i>Muscidae</i> (Diptero)	2,71	Megarforbio, forestal. Medio cerrado
<i>Th. flavum</i>	Artaso, 600 m	30T XN 7717	Todas hermafroditas	Insectos: Syrphidae, <i>Muscidae</i> (Dipteros), abejorros y abejas (Himenópteros) (PROCTOR & YEO, 1973) <i>Syrphidae</i> (Diptero), <i>Oedonza nobilis</i> (Coleóptero)	2,29	Carrizal dentro de una chopera. Medio cerrado
<i>Th. minus</i>	Lescun, 1.850 m	30T XN 8759	Todas hermafroditas	Viento (RICHARDS, 1986)	1,86	Gleras, zonas rocosas. Medio abierto
<i>Th. tuberosum</i>	Jaca, 900 m	30T XN 0014	Todas hermafroditas	Insectos (RICHARDS, 1986) <i>Syrphidae</i> (Diptero), <i>Bombus</i> (Himenóptero)	3,00	Matorrales bajos. Medio abierto

ventaja añadida de que sólo tiene una envuelta de perianto, la cual puede analizarse por separado, toda vez que se dedica fundamentalmente a la protección de la flor y, en algún caso, le da vistosis. Las especies de este género no producen néctar.

Dentro de las cinco especies, dos de ellas, *Th. minus* y *Th. macrocarpum*, presentan típicas flores anemófilas -péndula, con perianto caduco, así como estilos largos y plumosos- y efectivamente son polinizadas por el viento (GUZMÁN, 2002 y RICHARDS, 1986, respectivamente). *Th. aquilegifolium* y *Th. flavum*, por el contrario, son polinizados por insectos y la estructura floral que los atrae son los estambres, bien sea debido a un engrosamiento en el ápice de los filamentos (obs. pers.) o a sus anteras amarillas (PROCTOR & YEO, 1973). En ambas especies se da la circunstancia de que el perianto se cae inmediatamente después de la apertura de la flor. Por último, *Th. tuberosum* tiene una envuelta periántica bastante vistosa, junto a un gran número de estambres, carece de néctar y es polinizado por insectos que recolectan polen (RICHARDS, 1986); este caso representaría el tipo primitivo de flor en el género que nos ocupa.

KAPLAN & MULCAHY (1971) proponen un índice de polinización para las especies de *Thalictrum* que daría una indicación de los vectores utilizados. Este índice se calcula con varios caracteres de las flores: color, tamaño de la flor, de la antera y del estigma, y forma de los estambres y pistilos. Puede tomar valores entre 1 y 3, donde 1 supone anemofilia, 2 sistema mixto y 3 entomofilia. Los valores que estos autores proponen para las especies estudiadas se muestran en la Tabla 1 y se corresponden bastante bien con los datos publicados y nuestras propias observaciones.

Además de diferencias entre especies en el vector de polinización, el tamaño de las flores y de cada una de sus estructuras, también el tamaño del fruto, parece ser distinto. Por último, cada especie crece en medios diferentes (Tabla 1).

Para este estudio seleccionamos al azar y marcamos varios *ramets*¹ reproductores (unidad discreta y reconocible de una planta con crecimiento clonal que puede funcionar independientemente; en este artículo se ha considerado formada por el ápice de un rizoma, la hoja a que da lugar y, en el caso de reproductores, una inflorescencia) durante la época de floración en una población de cada especie, salvo en el caso de *Th. macrocarpum* donde se estudiaron dos poblaciones.

Se examinaron un total de 30 *ramets* de *Th. macrocarpum*, *Th. aquilegifolium*, *Th. flavum* y *Th. minus*, y 37 en el caso de *Th. tuberosum*. En todos los casos se

¹ Unidad discreta y reconocible de una planta con crecimiento clonal que puede funcionar independientemente. En este artículo sería la estructura formada por el ápice de un rizoma, la hoja a que da lugar y, en el caso de reproductores, una inflorescencia.

comprobó la sexualidad de sus flores y si se observaba alguna diferencia entre las situadas en diferentes posiciones de la inflorescencia. No se encontraron flores unisexuales en cuatro especies (*Th. minus*, *Th. aquilegifolium*, *Th. flavum* y *Th. tuberosum*), pero sí en *Th. macrocarpum*. Éste posee una panícula que porta un número elevado de flores que empiezan a abrirse en su parte superior. La inflorescencia tiene flores hermafroditas y femeninas en el mismo pie (ginomonoecia), las últimas se localizan mayoritariamente en las

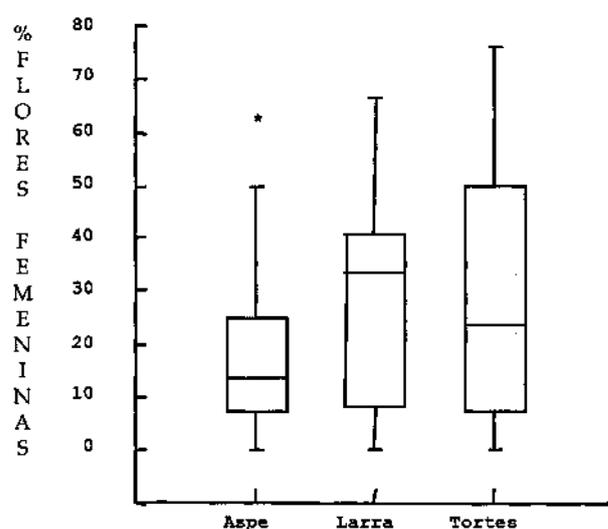


Figura 2. Porcentaje de flores femeninas por ramet en tres poblaciones de *Thalictrum macrocarpum*.
Figure 2. Percentage of female flowers per ramet in three populations of *Thalictrum macrocarpum*.

ramas secundarias, y resultan ser las que más tardan en abrirse. De cualquier forma, el número de flores de cada sexo varía entre los ejemplares de una población, así como entre distintas poblaciones (Figura 2).

Posteriormente se recogieron dos flores al azar en cada ramet excepto en el caso de *Th. macrocarpum*, donde se tomaron dos flores hermafroditas de las dos posiciones de la inflorescencia, primarias y secundarias. Una vez que las flores habían fructificado, se tomaron dos frutos de los mismos ejemplares (también en el caso de *Th. macrocarpum* se recolectaron dos frutos procedentes de flores hermafroditas en cada posición).

Cada flor o fruto se guardó en un sobre de papel debidamente etiquetado y se llevó al laboratorio el mismo día. Entonces se colocó en la estufa a 60 °C para su secado durante 72 h. Posteriormente, en cada flor se separaron sus

tres componentes: estambres (androceo), carpelos (gineceo) y perianto. Todos los aquenios producidos por una sola flor fueron secados y pesados de forma conjunta, dando lugar al peso del fruto, que en sentido estricto es un poliaquenio. Cada uno de estos componentes fue pesado por separado en una balanza, alcanzando una precisión de 10^{-2} mg.

El gineceo y el androceo se han interpretado como la asignación a la función femenina y masculina durante la floración, mientras que el perianto no se ha adscrito a ninguna de las dos, sino que se ha pesado y analizado de forma independiente. Hay que señalar que en cuatro de los cinco casos, estas piezas florales caen poco después de la apertura de las flores. El peso del fruto representa la inversión en la función femenina durante la fructificación.

Para analizar el patrón de asignación de biomasa a cada función se ha comparado la proporción que supone la del androceo respecto a la suma de del androceo y gineceo en cada una de las especies estudiadas.

Por último, en la época de fructificación se tomaron los datos necesarios para calcular varios índices de fertilidad: el porcentaje de óvulos que madura respecto del total en cada flor -*seed set*- y el porcentaje de flores que producen, al menos, un aquenio -*fruit set*-. Para ambos índices se calculó la media en cada *ramet* en los mismos donde se tomaron las flores. En cada especie, el número de flores utilizado fue diferente: en *Th. macrocarpum* se calculó en todas las flores de las cinco primeras ramas, más las dos medias y las dos últimas de cada *ramet*, en *Th. aquilegiifolium* y *Th. minus* en 15 flores por *ramet*, en *Th. flavum* en 26 flores por *ramet*. Finalmente, en *Th. tuberosum* se estudiaron todas las flores de los 37 *ramets*.

Análisis estadísticos

Los pesos de las flores y de los frutos, así como los índices de fertilidad se compararon entre especies mediante varios ANOVA de una vía. En el caso del *seed set*, el *fruit set* y la proporción de peso de los estambres se utilizó la transformación angular, es decir arcoseno de la raíz cuadrada, para ajustarse a los requerimientos del análisis. En cada una de las poblaciones de *Th. macrocarpum* las biomásas de los cuatro componentes de las flores fueron comparadas mediante un ANOVA bifactorial, con la parte de la flor y la posición en la inflorescencia como factores fijos. Para analizar la biomasa de los componentes de la flor dentro de cada una de las otras cuatro especies, *Th. aquilegiifolium*, *Th. flavum*, *Th. minus* y *Th. tuberosum*, también se utilizaron ANOVA de una vía. En cada comparación las diferencias entre los grupos se calcularon mediante la prueba HSD (*honest significant difference*) de Tukey con muestras de tamaño diferente, para mantener $\alpha = 0,05$.

Como se ha dicho, la proporción del peso correspondiente a los estambres también se comparó gracias a un ANOVA, con la variable transformada angularmente. En este caso se preparó un contraste *a priori* para la hipótesis de que las especies anemófilas (*Th. macrocarpum*, en dos poblaciones, y *Th. minus*) invierten más proporción de biomasa a la función masculina que las entomófilas (*Th. aquilegifolium*, *Th. tuberosum* y *Th. flavum*).

3. Resultados

Biomasa de flores y frutos

Dentro de las cinco especies de *Thalictrum* estudiadas la biomasa de las flores es relativamente variable, sobre todo dentro de las dos poblaciones de *Th. macrocarpum*. Hay diferencias significativas entre los pesos medios de ellas ($F = 167,39$; g. l. 5, 426; $p < 0,001$); concretamente, *Th. tuberosum* alcanza el valor mayor y *Th. flavum* el menor, y entre estos dos extremos y las demás hay diferencias muy significativas (Tabla 2).

El peso seco del fruto también es variable dentro de cada especie y entre ellas. La mayor variabilidad intraespecífica la volvemos a encontrar por un lado en los frutos de las dos poblaciones de *Th. macrocarpum* y por otro en *Th. aquilegifolium*. La biomasa del fruto difiere significativamente entre especies ($F = 147,10$; g. l. 5, 390; $p < 0,001$). Con unos pesos secos más altos destacan las dos poblaciones de *Th. macrocarpum*, en especial Aspe, y *Th. tuberosum*. *Th. aquilegifolium* presenta un peso seco intermedio, mientras que *Th. flavum* y *Th. minus* tienen la menor biomasa (Tabla 2).

Biomasa de las estructuras florales

Las diferencias de biomasa entre los componentes de la flor y el fruto de cada especie se muestran en la Tabla 3. En los seis casos estudiados -cinco especies, en una de ellas dos poblaciones- el androceo es la estructura con mayor biomasa durante la floración, pero todavía menor que la del fruto.

Las dos poblaciones de *Th. macrocarpum* muestran un patrón muy similar, donde los estambres tienen mayor peso seco que el perianto y el gineceo, sin que haya diferencias significativas entre estas dos estructuras (Tabla 3). También aparecen diferencias significativas entre flores de distinto orden en Larra. Aquí, la interacción entre los dos factores resulta significativa (Tabla 4), las diferencias entre las estructuras de las flores primarias y secundarias

Tabla 2. Peso de las flores y frutos en las poblaciones y especies estudiadas, media, desviación típica y coeficiente de variación [CV = (desviación típica / media) x 100], pesos en 10⁻² mg. F peso flores = 167,39 ; g. l. 5, 426; p < 0,001. F peso frutos = 147,10 ; g. l. 5, 390; p < 0,001. En ambos casos las diferentes letras junto a la media indican diferencias significativas (p<0,05).

Table 2. Weight of flowers and fruits in the studied populations and species, mean, standard deviation and coefficient of variation [CV = (standard deviation / mean) x 100], weight in 10⁻² mg. F flower weight = 167.39 ; g. l. 5, 426; p < 0,001. F fruit weight = 147.10 ; g. l. 5, 390; p < 0,001. In both cases, different letters besides the mean show significative differences (p<0.05).

Especie	Flor	dt	n	CV	Fruto	dt	n	CV
Th. macrocarpum Aspe	1057,0 b	461,0	98	43,6%	5318,0 a	1996,9	94	37,5%
Th. macrocarpum Larra	732,4 c	374,3	93	51,1%	3873,5 b	1943,1	63	50,1%
Th. aquilegifolium	314,5 d	87,9	60	27,9%	1564,5 c	807,6	60	51,6%
Th. flavum	138,4 e	37,3	54	26,9%	329,3 d	92,0	54	27,9%
Th. minus	300,0 de	83,5	56	27,8%	752,6 d	270,9	54	36,0%
Th. tuberosum	1380,0 a	300,8	71	21,8%	4086,1 b	1221,2	71	29,9%

tienen todas el mismo sentido pero hay diferente grado en el cambio. El mismo patrón se encuentra en *Th. aquilegifolium*, *Th. flavum* y *Th. minus* (Tablas 3 y 5): los estambres tienen significativamente más biomasa que el gineceo y el perianto, pero no hay diferencias significativas entre estas dos últimas estructuras. En *Th. tuberosum* (Tablas 3 y 5) se observa un patrón diferente: no hay diferencias significativas entre el peso seco de androceo y perianto, pero estas dos estructuras sí las presentan con el gineceo.

En los seis casos estudiados, el peso del fruto resulta significativamente mayor que el de cualquier estructura de la flor (Tabla 3), incluso es mayor que el conjunto de la flor (sumando todos sus componentes durante la floración).

Inversión relativa a la función masculina

A pesar de ese patrón general, sí que se observan diferencias en la inversión relativa a la función masculina, medida como la proporción entre el peso de los estambres y el conjunto de gineceo más androceo (F = 89,324; g. l. 1, 429 ; p < 0,0001): las especies anemófilas -*Th. macrocarpum* y *Th. minus*- presentan una mayor inversión relativa en la función masculina que las entomófilas -*Th. aquilegifolium*, *Th. tuberosum* y *Th. flavum*- (Figura 3), confirmándose la hipótesis planteada.

Tabla 3. Peso en 10^{-2} mg de las diferentes estructuras de la flor en las especies y poblaciones estudiadas: media y error típico (et). Dentro de cada especie diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$).
 Table 3. Weight 10^{-2} mg of the different structures of the flower in the studied species and populations: mean and standard error (et). Different letters show significant differences inside each species ($p < 0,05$).

Especie	Estructura floral							
	Carpelos	et	Periantio	et	Estambres	et	Fruto	et
<i>Th. macrocarpum</i>								
Aspe								
Flor primaria	123,1 c	9,4 (89)	152,2 c	8,1 (88)	924,5 b	59,3 (47)	4256,5 a	211,9 (65)
Flor secundaria	56,6 c	4,7 (94)	69,4 c	5,2 (96)	733,7 b	60,6 (55)	3813,3 a	180,6 (106)
<i>Th. macrocarpum</i>								
Larra								
Flor primaria	128,8 c	6,6 (77)	119,0 c	7,7 (77)	617,9 b	33,7 (60)	3405,4 a	269,1 (49)
Flor secundaria	56,9 c	5,0 (80)	46,8 c	3,7 (83)	298,0 b	33,0 (37)	2129,6 a	146,3 (56)
<i>Th. aquilegifolium</i>								
Th. flavum	60,6 c	4,6 (60)	33,9 c	1,8 (60)	220,0 b	10,8 (60)	1310,5 a	104,6 (60)
Th. minus	32,8 c	1,9 (58)	23,2 c	2,0 (58)	78,4 b	3,5 (60)	225,6 a	11,3 (60)
Th. minus	21,0 c	3,2 (60)	30,9 c	3,1 (60)	215,1 b	9,3 (60)	504,3 a	38,2 (60)
<i>Th. tuberosum</i>	198,2 c	7,2 (71)	589,0 b	22,2 (71)	592,0 b	17,4 (71)	2863,0 a	130,4 (74)

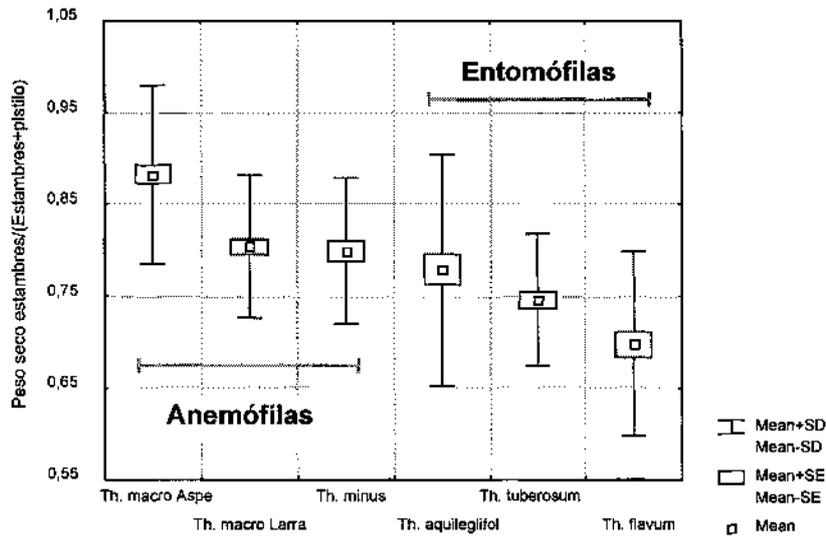


Figura 3. Proporción de la asignación masculina en cada especie de *Thalicttrum*, medida como relación entre el peso seco de los estambres y la suma del peso seco de los estambres y pistilos.
 Figure 3. Proportion of male investment in each *Thalicttrum* species, calculated as the ratio between the stamens dry weight and the sum of the stamens and pistils dry weight.

Fertilidad

Tanto en el porcentaje de semillas cuajadas como en el de flores que fructifican, las diferencias entre grupos son muy significativas ($F_{Seed\ set} = 41,03$; g. l. 5, 177; $p < 0,0001$. $F_{Fruit\ set} = 23,67$; g. l. 5, 177; $p < 0,0001$). El *seed set* se muestra en la Figura 4, donde destacan los valores alcanzados por *Th. tuberosum* y las dos poblaciones estudiadas de *Th. macrocarpum*. Respecto al *fruit set* (Figura 5), el valor más alto es el alcanzado por *Th. aquilegifolium*, seguido por el de *Th. tuberosum*; en este índice las poblaciones de *Th. macrocarpum* no alcanzan valores tan altos.

4. Discusión

En estas cinco especies pirenaicas de *Thalicttrum* se observa que la asignación relativa a la función masculina está significativamente relacionada con el vector de polinización que utilizan. En efecto, tal y como predice la teoría de *Sex allocation* (BERTIN, 1988; CHARLESWORTH & MORGAN, 1991;

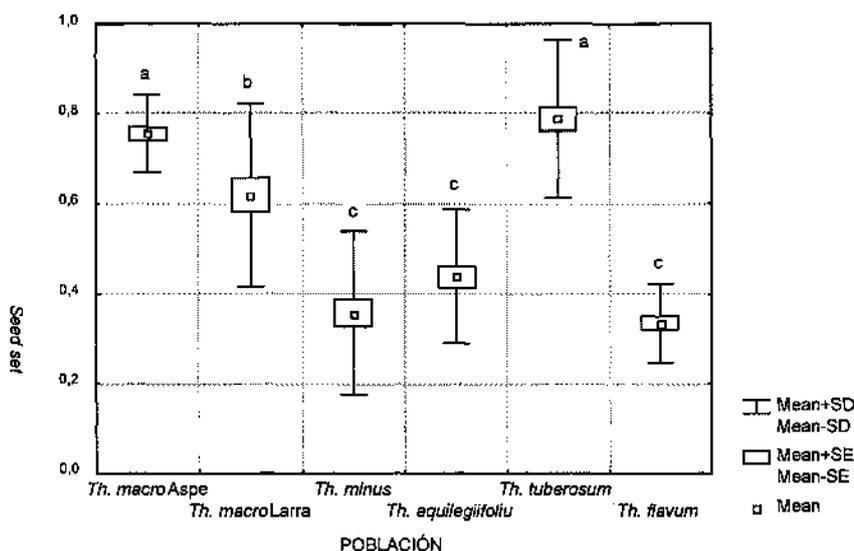


Figura 4. Número medio de semillas viables en cada ramet en las especies y poblaciones estudiadas, las diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Figure 4. Mean seed set by ramet in the studied species and populations, different letters show significant differences ($p < 0.05$).

BURD & ALLEN, 1998), las plantas anemófilas invierten proporcionalmente más biomasa en la producción de polen que las entomófilas. Con este mismo patrón se encontraron STEVEN & WALLER (2004) en cuatro especies de *Thalictрум* de Norteamérica, en su caso la variable estudiada fue la relación P:O. Precisamente, sus conclusiones se refuerzan aquí con el uso de la biomasa como forma de integrar la inversión. Estos autores mostraron en su estudio que además del vector, la capacidad de autopolinizarse también jugaba cierto papel en ese cociente.

También coincide con varios casos de plantas anemófilas donde la inversión está equilibrada entre las funciones masculina y femenina -*Lolium perenne* (LEMEN, 1980), *Carex picta* (DELPH & al., 1993)- o sesgada hacia la función masculina -*Andropogon gerardii* y *Sorghastrum nutans* (MCKONE & al., 1998)-. En estos estudios se trata de gramíneas y ciperáceas anemófilas y autoincompatibles.

Sin duda, se trata de un resultado muy interesante, pues hemos encontrado un patrón en la inversión de recursos a las dos funciones de la reproducción dentro de un grupo de especies relacionadas pero con diferente

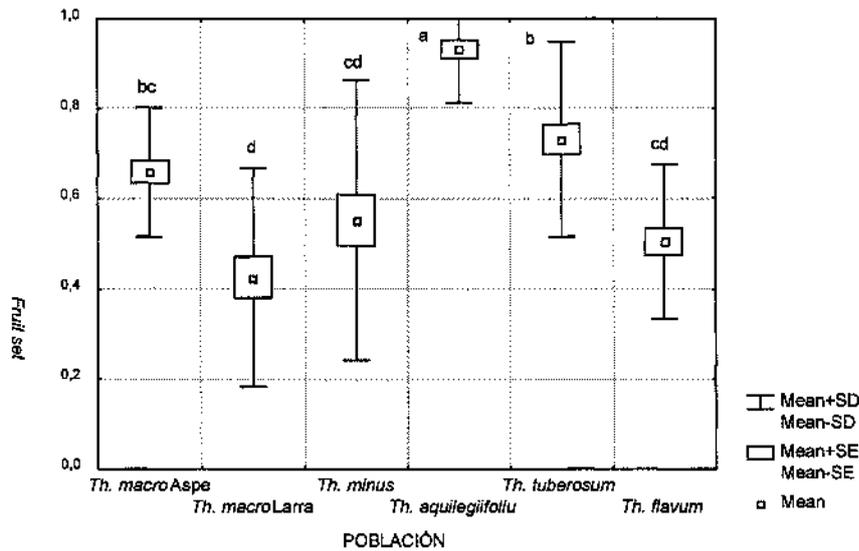


Figura 5. Número medio de frutos viables de cada ramet en las especies y poblaciones estudiadas, las diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$).
 Figure 5. Mean fruit set by ramet in the studied species and populations, different letters show significant differences ($p < 0.05$).

modo de polinización. Estas cinco especies utilizan dos tipos de vectores de polinización y presentan tres morfologías diferentes: dos son especies anemófilas, dos entomófilas donde el atractivo para los insectos se encuentra en los estambres y la quinta es polinizada por los insectos, pero probablemente éstos se sientan atraídos por el perianto.

En todos los casos se observa que, durante la floración, la mayor inversión de recursos va a la función masculina (androceo) y la menor a la femenina (gineceo). Considerando todo el periodo reproductor, la inversión más alta corresponde a las semillas, con lo que no se solapa el momento de máxima inversión en cada función. Además, esta separación del momento de la inversión máxima a cada función disminuiría la competencia por los recursos en las cinco especies de *Thalictrum* estudiadas, como se ha propuesto de modo general (GOLDMAN & WILLSON, 1986; SEGER & ECKHART, 1996; CRAWLEY, 1997a). En otras palabras, se maximiza la función masculina en las primeras fases de la floración, después se pierden los estambres y la inversión se orienta a los aquenios en formación. Este patrón de mayor inversión en la función femenina se debe a la biomasa del fruto y es fre-

Tabla 4. ANOVA bifactorial del peso seco, con la estructura de la flor y el orden en la inflorescencia como factores fijos en las dos poblaciones estudiadas de *Th. macrocarpum*.

Table 4. Two way ANOVA of dry weight, flower structure and inflorescence order are fixed factors, in two studied populations of *Th. macrocarpum*.

FACTOR	F	g. l.	p	F	g. l.	p
	Aspe			Larra		
ORDEN	,0065	1; 411	,935928	29,8361	1; 350	< 0,00001
ESTRUCTURA	529,4043	3; 411	< 0,00001	223,6326	3; 350	< 0,00001
INTERACCIÓN	1,6811	3; 411	,170432	11,5976	3; 350	< 0,00001

cuenta en flores de plantas hermafroditas (CRUDEN & LYON, 1985; GOLDMAN & WILLSON, 1986; DELPH, & *al.*, 1993; SILVERTOWN & LOVETT DOUST, 1993).

Sin embargo, además del tipo del vector de polinización pueden existir otras causas que modelen la inversión de recursos a cada función (GOLDMAN & WILLSON, 1986; BURD & ALLEN, 1998), como la tasa de autogamia (ÅGREN & SCHEMSKE, 1995) o geitonogamia (JONG & *al.*, 1999), la competencia local por el polen (CHARLESWORTH & MORGAN, 1991), la facilidad para exportar polen según la posición en la inflorescencia (BRUNET & CHARLESWORTH, 1995), la depredación (MUTIKAINEN & DELPH, 1996), etc.

En las tres especies entomófilas, *Th. tuberosum*, *Th. aquilegifolium* y *Th. flavum*, la recompensa ofrecida a los insectos polinizadores es el polen. Quizás ello podría explicar, en parte, una inversión en el peso seco de los estambres mayor de la esperada, en los tres casos superior al 50%. En este contexto, se puede citar la fuerte inversión de *Th. tuberosum* en perianto, cuyo peso seco no difiere del de los estambres. Es la única especie donde esta estructura permanece durante la floración y con un papel atractivo, mientras que en el resto de las especies cae poco después de abrirse la flor.

Tabla 5. ANOVA del peso seco, con la estructura de la flor como factor fijo en las cuatro especies estudiadas de *Thalictrum*.

Table 5. ANOVA of dry weight, flower structure is the fixed factor in the four studied *Thalictrum* species.

Especie	F	g. l.	p
<i>Th. aquilegifolium</i>	133,4509	3; 236	< 0,00001
<i>Th. flavum</i>	233,0121	3; 232	< 0,00001
<i>Th. minus</i>	122,5899	3; 236	< 0,00001
<i>Th. tuberosum</i>	318,7025	3; 283	< 0,00001

Otra condición ecológica que podría explicar una mayor inversión en la función masculina es la falta de un mecanismo especializado para la dispersión de las semillas (RADEMAKER & JONG, 1999). En este supuesto, un aumento de la inversión femenina podría llevar a una mayor producción de semillas que competirían por los lugares adecuados para germinar. Así, las ganancias en la asignación femenina serían asintóticas, desplazándose la inversión óptima hacia la masculina, como se ha comentado.

Por último, no se observa ningún patrón constante respecto a los dos índices de fertilidad estudiados. En cada uno de ellos destacan distintas especies. Tampoco se observa relación entre los índices de fertilidad con el vector de polinización. Probablemente, en ello sólo se refleja la gran variedad de factores que afectan a la fertilidad, ya sea a nivel de individuo, población o especie. Además, nuestros datos corresponden a un solo año y en una sola población en la mayoría de los casos, lo cual no tiene por qué ser necesariamente representativo del conjunto de la especie. De cualquier forma, parece que en varios de estos casos la fertilidad no está limitada por la cantidad de polen que llega a las flores (GUZMÁN, 2002; STEVEN & WALLER, 2004).

En conclusión, el tipo de vector utilizado en la polinización no sólo condiciona la forma de la flor sino también la cantidad de recursos que se invierten en cada estructura. Entre las cinco especies pirenaicas de *Thalictrum* estudiadas, las anemófilas invierten, en terminos relativos, más biomasa en la función masculina que las entomófilas.

Agradecimientos

Este trabajo se desarrolló gracias a una Beca predoctoral del Departamento de Educación y Ciencia del Gobierno de Navarra. Parte de los trabajos se realizaron dentro de la Reserva Natural de Larra (Navarra) y del *Parc National des Pyrénées* (Francia).

Referencias

- ÅGREN, J. & SCHEMSKE, D. (1995). Sex allocation in the monoecious *Begonia semiovata*. *Evolution*, 49(1): 121-130.
- ARNOLD, S. J. (1994). Bateman's principles and the measures of sexual selection in plants and animals. *American Naturalist*, 144 (Suplement): S126-S149.

- BAZZAZ, F. A. & REEKIE, E. G. (1985). The meaning and measurement of reproductive effort in plants. In WHITE, J. (ed.) *Studies on Plant Demography: A Festschrift for John L. Harper*: 373-387. Academic Press Inc., London.
- BERRY, P. E. & CALVO, R. N. (1989) Wind pollination, self-incompatibility, and altitudinal shifts in pollination systems in the high Andean genus *Espeletia* (Astraceae). *American Journal of Botany*, 76 (119): 1602-1614.
- BERTIN, R. I. (1988). Paternity in Plants. In LOVETT DOUST, J. & LOVETT DOUST, L. (eds.) *Plant Reproductive Ecology. Patterns and Strategies*: 30-59. Oxford University Press, New York.
- BRUNET, J. & CHARLESWORTH, D. (1995). Floral sex allocation in sequentially blooming plants. *Evolution*, 49(1): 70-79.
- BURD, M. & ALLEN, T. F. H. (1998). Sexual allocation strategy in wind pollinated plants. *Evolution*, 42(2): 403-407.
- CRAWLEY, M. J. (1997a). Life history and environment. In CRAWLEY, M. J. (ed.) *Plant Ecology*: 73-131. Blackwell Science, Oxford.
- CRAWLEY, M. J. (1997b). Sex. In CRAWLEY, M. J. (ed.) *Plant Ecology*: 156-213. Blackwell Science, Oxford.
- CRUDEN, R. W. & LYON, D. L. (1985). Patterns of biomass allocation to male and female functions in plants with different mating systems. *Oecologia*, 66: 299-306.
- CHARLESWORTH, D. & MORGAN, M. T. (1991). Allocation of resources to sex functions in flowering plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Serie B*, 332: 91-102.
- DELPH, L. F.; GALLOWAY, L. F. & STANTON, M. L. (1996). Sexual dimorphism in flower size. *American Naturalist*, 148(2): 299-320.
- DELPH, L. F.; LU, Y. & JAYNE, L. D. (1993). Patterns of resource allocation in a dioecious *Carex* (Cyperaceae). *American Journal of Botany*, 80(6): 607-615.
- GOLDMAN, D. A. & WILLSON, M. F. (1986). Sex allocation in functionally hermaphroditic plants: A review and critique. *Botanical Review*, 52(2): 157-194.
- GÓMEZ, J. M. & ZAMORA, R. (1986) Wind pollination in high-mountain populations of *Hormatophylla spinosa* (Cruciferae). *American Journal of Botany*, 83(5): 580-585.
- GUZMÁN, D. (2002) *Biología reproductiva y demografía de Thalicttrum macrocarpum Gren.* (Ranunculaceae). Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Madrid.
- JONG, T. J. D.; KLINKHAMER, P. G. L. & RADEMAKER, M. C. J. (1999). How geitonogamous selfing affects sex allocations in hermaphrodite plants. *Journal of Evolutionary Biology*, 12: 166-176.

- KAPLAN, S. & MULCAHY, D. (1971). Mode of pollination and floral sexuality in *Thalictrum*. *Evolution*, 25: 659-668.
- KLINKHAMER, P. G. L. & de JONG, T. J. (1997). Size-Dependent Allocation to Male and Female Reproduction. In BAZZAZ, F. A. & GRACE, J. (eds.) *Plant Resource Allocation*: 211-229. Academic Press, San Diego.
- LEMEN, C. (1980). Allocation of reproductive effort to the male and female strategies in wind-pollinated plants. *Oecologia*, 45: 156-159.
- LUBBERS, A. E. & CHRISTENSEN, N. L. (1986). Intra-seasonal variation in seed production among flowers and plants of *Thalictrum thalictroides* (Ranunculaceae). *American Journal of Botany*, 73(2): 190-203.
- LLOYD, D. G. (1984). Gender allocations in outcrossing co-sexual plants. In DIRZO, R. & SARUKÁN, J. (eds.) *Perspectives on plant Population Ecology*: 277-300. Sinaur Associates Inc., Sunderland.
- MCKONE, M. J., LUND, C. P. & O'BRIEN, J. M. (1998). Reproductive biology of two dominant prairie grasses (*Andropogon gerardii* and *Sorghastrum nutans*, Poaceae): Male-biased sex allocation in wind-pollinated plants? *American Journal of Botany*, 85(6): 776-785.
- MUTIKAINEN, P. & DELPH, L. F. (1996). Effects of herbivory on male reproductive success in plants. *Oikos*, 75: 353-358.
- NIKLAS, K. J. (1985) The aerodynamics of wind pollination. *Botanical Review*, 51(3): 328-386.
- PRESTON, R. Z. (1986). Pollen-ovule ration in the Cruciferae. *American Journal of Botany*, 73(12): 1732-1740.
- PROCTOR, M. & YEO, P. (1973). *The Pollination of Flowers*. Collins, London.
- QUELLER, D. (1997). Pollen removal, paternity and the male function of flowers. *American Naturalist*, 149(3): 585-594.
- RADEMAKER, M. C. J. & JONG, T. J. D. (1999). The shape of the female fitness curve for *Cynoglossum officinale*: Quantifying seed dispersal and seedling survival in the field. *Plant Biology*, 1: 351-356.
- REEKIE, E. G. & BAZZAZ, F. A. (1987a). Reproductive effort in plants. 1. Carbon allocation to reproduction. *American Naturalist*, 129(6): 876-896.
- REEKIE, E. G. & BAZZAZ, F. A. (1987b). Reproductive effort in plants. 2. Does carbon reflect the allocation of other resources? *American Naturalist*, 129(6): 897-906.
- REGAL, P. J. (1982) Pollination by wind and animals: Ecology and geographic patterns. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 13: 497-524.
- RICHARDS, A. J. (1986). *Plant Breeding Systems*. George Allen & Unwin Ltd, London.
- SAKAI, S. & HARADA, Y. (1998). Does the trade-off between growth and reproduction select for female-biased sexual allocation in co-sexual flowers? *Evolution*, 52(4): 1204-1207.

- SCHOEN, D. J. & STEWART, S. C. (1986). Variation in male reproductive investment and male reproductive success in the white spruce. *Evolution*, 40(6): 1109-1120.
- SEGER, J. & ECKHART, V. M. (1996). Evolution of sexual systems and sex allocation in plants when growth and reproduction overlap. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* 263: 833-841.
- SILVERTOWN, J. W. & LOVETT DOUST, J. (1993). *Introduction to Plant Population Biology*. Blackwell Science, Oxford.
- SPENGEL, C. K. (1793). Discovery the secret of nature in the structure and fertilization of flowers. In LLOYD, D. G. & BARRETT, S. C. H. (eds.)(1996) *Floral Biology: Studies on Floral Evolution in Animal-Pollinated Plants*: 3-43. Chapman & Hall, New York.
- STEBBINS, G. L. (1970). Adaptative radiation of reproductive characteristics in Angiosperms, I: Pollination mechanisms. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1: 307-327.
- STEVEN, J. C. & WALLER, D. M. (2004) Reproductive alternatives to insect pollination in four species of *Thalictrum* (Ranunculaceae). *Plant Species Biology*, 19(2): 73-80.
- WHITEHEAD, D. R. (1983) Wind pollination: Some ecological and evolutionary perspectives. In REAL, L. (ed.) *Pollination Biology*: 97-108. Academic Press, Inc., Orlando.
- WILSON, P.; THOMSON, J. D.; STANTON, M. L. & RIGNEY, L. P. (1994). Beyond floral batemanian: gender biases in selection for pollination success. *American Naturalist*, 143(2): 283-296.
- WILLSON, M. F. (1994). Sexual selection in plants: Perspective and overview. *American Naturalist*, 144 (Supplement): S13-S39.