

ECOLOGÍA REPRODUCTIVA DE LA ESPECIE FUNCIONALMENTE DIOICA *CATASETUM INTEGERRIMUM* (ORCHIDACEAE) EN EL CENTRO DE VERACRUZ, MÉXICO

 ANGÉLICA MARÍA HERNÁNDEZ-RAMÍREZ

Centro de EcoAlfabetización y Diálogo de Saberes. Universidad Veracruzana, Veracruz, México.
Correspondencia: angehernandez@uv.mx

Resumen

Antecedentes: Orquídeas *Catasetum* son dioicas, con mecanismo de polinización tipo catapulta, su sexo está determinado por las condiciones ambientales estresantes y costosas.

Preguntas: ¿Cuál es la ecología reproductiva de *Catasetum integerrimum* desde la expresión de género y mecanismo de polinización asistida por abejas?

Especie de estudio: *Catasetum integerrimum*.

Sitio de estudio: Centro de Veracruz, México.

Métodos: Primero, se utilizó un protocolo experimental de aumento de esfuerzo reproductivo durante cuatro temporadas reproductivas (2016-2019) para evaluar el cambio de sexo en 30 plantas. Segundo, se estudió la polinización libre y asistida por abejas mediante longevidad floral, cambios en la adhesión/desprendimiento del polinario y polinizadores en 20 plantas.

Resultados: *Catasetum integerrimum* exhibió expresión sexual diferencial con pocas flores pistiladas de larga duración y numerosas flores estaminadas de corta duración. Se observó un aumento en los frutos producidos, seguido de una reducción en las flores y frutos producidos en plantas pistiladas. La producción de flores fue similar en plantas estaminadas. Las abejas macho de *Eulaema polychroma* visitaron antes las flores estaminadas que las pistiladas. La adhesión del polinario a las abejas provocó que estas se alejaran de las plantas estaminadas, permaneciendo en las pistiladas. Se determinó la incapacidad de la descarga autónoma del polinario.

Conclusiones: *Catasetum integerrimum* mostró rasgos de dimorfismo sexual y ajuste de la inversión sexual en lugar del cambio de sexo. La especie mostró una fuerte dependencia a las abejas para la polinización. La capacidad de determinación sexual ambiental de *C. integerrimum* aún se desconoce y puede estudiarse en el futuro.

Palabras clave: Polinización euglosinofila, polinización tipo catapulta, desprendimiento del polinario, costos reproductivos, expresión sexual.

Abstract

Background: *Catasetum* orchids are functionally dioecious with a catapult-like pollination mechanism, and its sex is determined by the stressful and costly conditions of environment.

Questions: What is the reproductive ecology of *Catasetum integerrimum* viewed in the light of gender expression and bee-assisted pollination mechanism?

Studied species: *Catasetum integerrimum*.

Study site: Central Veracruz, México.

Methods: First, an experimental protocol of increasing reproductive effort across four reproductive seasons (2016-2019) was used to tests sex change on 30-plants. Second, the role of free- and bee-assisted pollination was studied through floral longevity and changes in pollinarium attach/detach, as well as pollinator behavior on 20-plants.

Results: *Catasetum integerrimum* exhibited a differential sexual expression with few long-lived pistillate flowers and numerous short-lived staminate flowers. An increase in fruit set followed by a reduction in flower and fruit production was observed in pistillate plants. Flower production was similar in staminate plants. Male bees of *Eulaema polychroma* visited earlier the staminate flowers than pistillate ones. The forcible pollinarium attachment to the bees' body caused those bees flew away from the staminate plants, whereas bee remained in pistillate plants. In this research it was possible to determine the inability of autonomous pollinarium discharge.

Conclusions: *Catasetum integerrimum* displayed sexual dimorphic traits and a sexual investment adjustment rather than sex change under an experimental protocol of increasing reproductive effort. The species exhibited a strong dependence of bees to provide the pollinator service. The ability of environmental sex determination in *C. integerrimum* remains unknown, opening new avenues for the future research.

Keywords: euglossinophilous pollination, catapult-type pollination, pollinarium detach, reproductive costs, sex expression.

La región Neotropical alberga un género de orquídeas que exhibe un fascinante mecanismo de polinización, el cual fija el polinario al cuerpo del insecto visitante a través de un mecanismo similar a una catapulta que se activa por un gatillo capilar (Janzen 1981, Romero & Nelson 1986, Whitten *et al.* 1986, Del Mazo Cancino & Damon 2007). Aunque varias angiospermas han desarrollado este mecanismo de polinización, la presencia de este rasgo floral está limitada a unas pocas especies conocidas por familia (Papilionoideae, Alemán *et al.* 2014, Ericaceae, Switzer *et al.* 2018). Por otra parte, *Catasetum* Rich. (Orchidaceae) comprende alrededor de 160 especies que exhiben este notable mecanismo de polinización, las cuales se distribuyen por toda la región Neotropical (Romero & Nelson 1986, Milet-Pinheiro *et al.* 2015).

Darwin denominó “sensibilidad” a este mecanismo de polinización en *Catasetum* y sugirió que este fenómeno se deriva de las presiones selectivas que guían la fertilización cruzada por selección natural y adaptación (Darwin 1862). Además, las flores del género producen una fragancia floral que las abejas euglosinas, especialmente *Eulaema* Lepeletier, 1841 y *Euglossa* Latreille, 1802, recogen y almacenan (Janzen 1981, Romero & Nelson 1986, Whitten *et al.* 1986, Del Mazo Cancino & Damon 2007, Nunes *et al.* 2017). La recompensa floral presente en las orquídeas *Ophrys* L., *Stanhopea* J.Frost ex Hook., y *Catasetum* es importante para atraer a las abejas polinizadoras recolectoras de aceite gracias a su alta especificidad (Romero & Nelson 1986, Raguso 2008). Por ello existe una fuerte dependencia de las abejas euglosinas para proporcionar el servicio de polinización en esas orquídeas (Janzen 1981, Romero & Nelson 1986, Zimmerman 1991, Murren 2003, Milet-Pinheiro *et al.* 2015, Nunes *et al.* 2017, Brandt *et al.* 2020). No obstante, Dodson (1962) informó que *C. macroglossum* Rchb.f. es capaz de descargar automáticamente su polinario en 1-2 días con el más mínimo movimiento del viento.

Además del notable mecanismo de polinización observado en estas orquídeas, el género *Catasetum* es funcionalmente dioico, el cual es raro dentro de los miembros de la familia Orchidaceae (cada individuo puede producir flores estaminadas o flores pistiladas en diferentes momentos; Romero & Nelson 1986, Zimmerman 1991, Murren 2003, Milet-Pinheiro *et al.* 2015). Para la subtribu Catasetinae (*Mormodes* Lindl., *Cycnoches* Lindl. y *Catasetum*), estudios empíricos han demostrado que la condición estaminada o pistilada depende tanto de las condiciones ambientales como de las diferencias en los costos de reproducción (determinación sexual ambiental; Dodson 1962, Zimmerman 1991, Pedroso-de-Moraes *et al.* 2016). Específicamente, Dodson (1962) reportó que *Catasetum macroglossum*, *C. platyglossum* Schltr., *Cycnoches lehmannii* Rchb.f. y *Mormodes buccinator* Lindl. produjeron flores pistiladas cuando las plantas crecieron con humedad y luz solar plena, mientras que las flores estaminadas se produjeron en condiciones de sombra y sequía. Zimmerman (1991) sugirió que varias formas de estrés y costos reproductivos favorecen la masculinidad sobre la feminidad en *C. viridiflavum* Hook. Específicamente, el autor reconoció que las flores estaminadas son estructuras menos costosas de producir, mientras que las flores pistiladas son estructuras más costosas de producir debido a los costos que conlleva la producción de frutos y semillas (Zimmerman 1991).

Aunque es ampliamente aceptado que la determinación sexual ambiental es posible en orquídeas de la subtribu Catasetinae, Schlessman (1988) afirma que no hay evidencia del cambio de sexo en poblaciones naturales, solo a través del trasplante de plantas en un diseño experimental (Dodson 1962, Zimmerman 1991, Pedroso-de-Moraes *et al.* 2016). De ahí que existe un vacío de conocimiento asociado a otros factores que pudieran contribuir a explicar la determinación sexual ambiental en Catasetinae bajo condiciones de campo y sujetas a otros protocolos de experimentación distintos a los de trasplantes de plantas.

Catasetum integerrimum Hook (Orchidaceae) es una especie epífitas que se distribuye desde México hasta Centroamérica. Se han registrado poblaciones pequeñas y dispersas de la especie en México (Whitten *et al.* 1986, Del Mazo Cancino & Damon 2007). La especie se encuentra en selvas y encinares (Hágsater & Salazar 1990), desde el nivel del mar hasta cerca de los 1,600 m de altitud. *Catasetum integerrimum* presenta hojas linear-lanceoladas y pseudobulbos fusiformes con inflorescencias compuestas por flores estaminadas o pistiladas. Las flores son unisexuales dimórficas y desprenden una fragancia que atrae a los polinizadores. Florece de junio a septiembre (verano) y sus flores son visitadas por *Eulaema meriana* Olivier, *E. polychroma* Friese, *E. cingulata* Fabricius y *Exaerate frontalis* Guérin-Méneville (Whitten *et al.* 1986, Del Mazo Cancino & Damon 2007)

En esta investigación, se estudió la ecología reproductiva de *Catasetum integerrimum* considerando la expresión de género y el mecanismo de polinización asistido por abejas en el centro de Veracruz, México. Para ello, se investigó si las plantas de *C. integerrimum* son capaces de exhibir un cambio de sexo bajo un protocolo experimental de aumento en el esfuerzo reproductivo a lo largo de cuatro estaciones reproductivas (Snow & Whigham 1989, Montalvo & Ackerman 1987, Zimmerman & Aide 1989, Ackerman & Montalvo 1990, Meléndez-Ackerman *et al.* 2000). La hipótesis planteada fue que el mayor esfuerzo reproductivo desencadenaría un cambio de sexo en *C. integerrimum* (Zimmerman 1991), tal y como lo sugerido en *Catasetum viridiflavum* por Zimmerman (1991).

En segundo lugar, se determinó si *C. integerrimum* podría descargar automáticamente el polinario en sus flores estaminadas sin la intervención de un agente polinizador. Por lo tanto, se planteó la hipótesis que el polinario podría desprenderse automáticamente de forma similar a *Catasetum macroglossum* (Dodson 1962).

Benzing *et al.* (1982) documentaron que *C. integerrimum* es una especie precoz que alcanza su madurez sexual en menos de la mitad del tiempo que les toma a otras especies caducifolias madurar sexualmente. A este respecto, *C. integerrimum* es un sistema modelo de estudio ya potencialmente puede responder rápido a esa posible determinación sexual ambiental desencadenada por un aumento en el esfuerzo reproductivo.

Materiales y métodos

La investigación se llevó a cabo durante la época de floración de la especie de 2016 a 2019. Se localizaron ejemplares de *C. integerrimum* en ramas de árboles de *Citrus* spp. e *Inga jinicuili* Schltdl. a una altura de entre 4 y 8 m sobre el suelo, en una plantación de café con sombra en Coatepec, Veracruz, México (19° 28' N; 96° 55' O, 1,224 m snm). Las plantas de *C. integerrimum* tenían un tamaño similar (entre 4 y 5 pseudobulbos) y florecieron al menos un año antes del inicio del estudio (Figura 1).

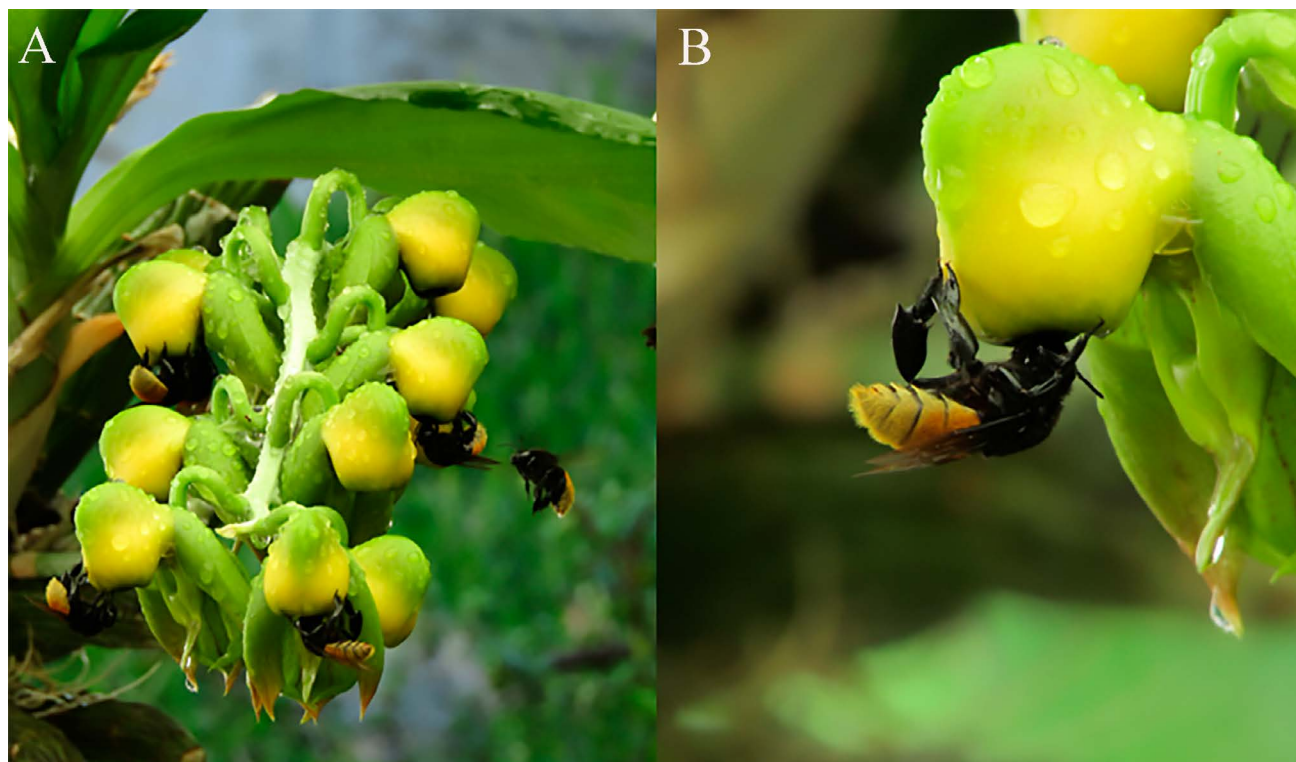


Figura 1. *Catasetum integerrimum* (Orchidaceae) visitadas por abejas macho de *Eulaema polychroma* (Apidae) en el centro de Veracruz, México. A. Inflorescencia con varias abejas. B. Detalle de una flor estaminada

Expresión sexual bajo un protocolo experimental de incremento en el esfuerzo reproductivo. Para probar la hipótesis de que los costos reproductivos diferenciales entre las funciones masculinas y femeninas pueden inducir cambios de sexo en *C. integerrimum* (Zimmerman 1991), se cuantificó el número total de inflorescencias y flores producidas en 15 plantas pistiladas y 15 plantas estaminadas durante cuatro estaciones reproductivas consecutivas, entre 2016 y 2019. Posteriormente, la inducción de la función sexual masculina se hizo a través de la remoción de los polinarios y la inducción de la función femenina fue a través de la deposición de los polinarios en el estigma de las flores. Esta inducción de la función sexual se hizo mediante un protocolo experimental de aumento del esfuerzo reproductivo, tanto en plantas pistiladas como en estaminadas. Para ello, se realizaron dos tratamientos: 1) se indujo la función sexual en el 80 % de las flores mediante la eliminación de los polinarios en flores estaminadas y la deposición del polinario en las flores pistiladas y 2) el tratamiento control consistió en flores intactas y abiertas a la visita de los polinizadores (20 % de las flores restantes en la planta) (Figura 2).

En este estudio se aplicó un protocolo de polinización excesiva con el fin de aumentar el esfuerzo reproductivo de las plantas de acuerdo con Meléndez-Ackerman *et al.* (2000). Las polinizaciones manuales y/o la remoción manual de los polinarios se realizaron utilizando pinzas en un horario de 09:00 a 10:00 hr. Las polinizaciones manuales se realizaron de una flor estaminada de 1 día a una flor pistilada de 1 día elegida al azar, mientras que la remoción

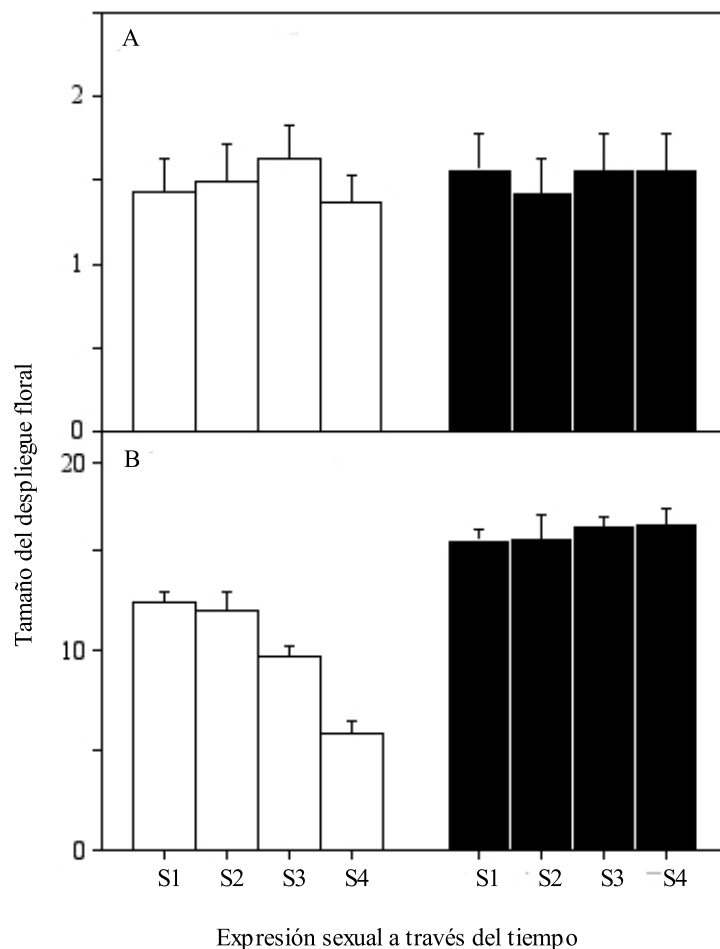


Figura 2. Expresión sexual en términos de tamaño del despliegue floral en plantas de *Catasetum integerrimum* (Orchidaceae) bajo un protocolo experimental de incremento en el esfuerzo reproductivo a lo largo de cuatro estaciones reproductivas (S1-S4). Las barras blancas corresponden a individuos con flores pistiladas, las barras negras a los de flores estaminadas. A. Número de inflorescencias; B) Número de flores producidas.

manual de los polinarios se realizó en flores estaminadas de 1 día. Esas flores manipuladas fueron etiquetadas y embolsadas con una malla mosquitera para evitar alteraciones del tratamiento experimental. Las flores en el tratamiento control estaban intactas y sin embolsar. Se contabilizó el número de cápsulas producidas por cada tratamiento por planta pistiladas al final de la temporada de fructificación. La proporción de frutos se calculó como la relación de flores que produjeron frutos ([Figura S1](#)).

Análisis estadísticos.- Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de medidas repetidas para evaluar las diferencias en el número de inflorescencias y flores producidas a lo largo del tiempo por tipo de planta (estaminadas o pistiladas). En el modelo, el tipo de planta (estaminada o pistilada) fue el factor principal y el número de inflorescencias o flores producidas a lo largo del tiempo fue la medida repetida (Zar 1999). Los conteos (número de inflorescencias o flores) se transformaron mediante la raíz cuadrada para cumplir con los supuestos paramétricos de los análisis (Zar 1999).

También se realizó un ANOVA de medidas repetidas para analizar las diferencias en la proporción de frutos producidos entre tratamientos a lo largo del tiempo. El tratamiento fue el factor principal (cumplimiento de la función sexual inducida o flores con polinización abierta), mientras que la proporción de frutos producidos a lo largo del tiempo fue la medida repetida. La variable de respuesta se transformó mediante arcoseno-raíz cuadrada de la proporción para cumplir los supuestos paramétricos del análisis (Zar 1999).

Descarga autónoma del polinario y servicios de polinización por abejas. Para probar la hipótesis de que el polinario podría ser descargado o desprendido automáticamente según Dodson (1962), se aplicaron tres tratamientos a flores recién abiertas en diez individuos de cada tipo de planta (estaminada o pistilada): (1) Flores intactas en bolsas (la flor se embolsó con una mosquitera para probar tanto el desprendimiento mecánico autónomo del polinario en flores estaminadas como la deposición libre de abejas del polinario en flores pistiladas); (2) desprendimiento/deposición mecánica inducida del polinario (la flor se manipuló para eliminar/depositar de manera controlada y manual el polinario en flores de 1 día); (3) control (la flor se dejó abierta a la eliminación/deposición natural del polinario). Usando pinzas, la eliminación o deposición del polinario se realizó de 9:00 a 10:30 hr. La longevidad floral y los cambios en la unión/desprendimiento del polinario se registraron diariamente hasta que la flor se marchitó ([Figura S2](#)).

Análisis estadísticos.- Se realizó un ANOVA anidado para evaluar las diferencias en la longevidad floral entre tratamientos. En el modelo, el tipo de planta (estaminadas o pistiladas) se consideró como factor principal y el tratamiento (flores intactas en bolsa, desprendimiento/deposición mecánica inducida del polinario y control) se anidó dentro del factor de tipo de planta (Zar 1999). La variable de respuesta (longevidad floral medida en días) se transformó mediante raíz cuadrada para cumplir con los supuestos paramétricos del análisis (Zar 1999).

Mecanismo de polinización asistido por abejas. Para conocer el papel de las abejas euglosinas como vectores para descargar/depositar el polinario y proporcionar el servicio de polinización en la especie, se realizaron observaciones focales en diez plantas pistiladas y diez plantas estaminadas en 2017. Primero, se cuantificó el número total de inflorescencias y flores producidas por cada planta para caracterizar la expresión sexual de *C. integerrimum* que fue encontrada por los polinizadores durante su visita floral (Milet-Pinheiro *et al.* 2015). Segundo, se registró el comportamiento de los polinizadores al visitar las plantas estaminadas y pistiladas. Para eso, todas las flores por planta fueron etiquetadas con anillos de plástico de color para registrar la secuencia de visita de flores dentro de las plantas. Luego, se registró la actividad de los visitantes florales de 08:00 a 16:00 h para cada planta focal (Nunes *et al.* 2017). Se registró la hora del día, la especie de insecto, el número y la secuencia de flores visitadas (Milet-Pinheiro *et al.* 2015). También se registraron los movimientos de polinizadores entre plantas y su comportamiento ([Figura S3](#)). La identidad de los visitantes florales se hizo cotejando estos con ejemplares depositados en la Colección Nacional de insectos del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México (CNIN, Número de catálogo: HYMCH307930).

Análisis estadísticos.- Se realizó un MANOVA, seguido de un ANOVA de una vía, para evaluar las diferencias en la expresión sexual entre las plantas pistiladas y estaminadas que los polinizadores encontraron durante su visita floral. El tipo de planta (pistilada o estaminada) fue el factor principal, mientras que el número de inflorescencias o flores producidas por las plantas estaminadas o pistiladas fue la variable de respuesta (Zar 1999). Las variables se transformaron mediante raíz cuadrada para cumplir con los supuestos paramétricos del análisis (Zar 1999).

Se realizó un Análisis de Supervivencia asociado con la estadística de rango logarítmico para evaluar las diferencias en la probabilidad de que las flores pistiladas y estaminadas fueran visitadas por los polinizadores (Mantel Cox; Muenchow 1986). Para ello, la llegada del polinizador a la flor se trató como un evento de visita y se registró el tiempo de visita como minutos transcurridos desde que inició el periodo de observación (Muenchow 1986).

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando modelos lineales generalizados con los programas Super-Anova y StatView (Abacus Concepts 1996).

Resultados

Expresión sexual bajo un protocolo experimental de incremento en el esfuerzo reproductivo. Tanto las plantas pistiladas como las estaminadas produjeron de 1 a 2 inflorescencias a lo largo del tiempo ($F_{1,14} = 1.85$, $P = 0.21$ tipo de planta; $F_{3,42} = 0.31$, $P = 0.81$ número de inflorescencias a lo largo del tiempo; $F_{3,42} = 1.62$, $P = 0.19$ tipo de planta $\times$ número de inflorescencias a lo largo del tiempo; [Figura 2A](#)). Sin embargo, las plantas pistiladas produjeron un menor número de flores que las plantas estaminadas ($F_{1,14} = 128.39$, $P < 0.0001$ tipo de planta; [Figura 2B](#)). En promedio las plantas pistiladas produjeron 5 flores (rango: 3-5), mientras que las plantas estaminadas produjeron en promedio 16 flores (rango: 12-18).

En las plantas pistiladas se observó una reducción en el número de flores producidas, así como abortos en cerca del 30 % de las flores intactas y polinizadas manualmente de 2-3 días durante el tercer y cuarto año de estudio, lo que provocó una reducción en el número de flores desarrolladas a lo largo del tiempo ($F_{3,42} = 7.36$, $P = 0.0002$ número de flores a lo largo del tiempo, y $F_{3,42} = 13.26$, $P < 0.0001$ tipo de planta $\times$ número de flores a lo largo del tiempo; [Figura 2B](#)). En plantas estaminadas no se observaron cambios en el número de flores producidas durante el período de estudio.

En cuanto a la producción de frutos, la función sexual inducida mejoró la producción de frutos en comparación con las flores de polinización abierta ($F_{1,14} = 31.42$, $P < 0.0001$ factor de tratamiento; [Figura 3](#)). La mayor producción de frutos alcanzada en el primer y segundo año empezó a disminuir durante el tercer y cuarto año de estudio ($F_{3,42} = 23.97$, $P < 0.001$ proporción de frutos producidos a lo largo del tiempo; $F_{3,42} = 17.72$, $P < 0.0001$ tratamiento $\times$ proporción de frutos a lo largo del tiempo; [Figura 3](#)). Los frutos (cápsulas) se desarrollaron en un tiempo promedio de 5.5 meses (rango: 4-7), momento en el cual fueron dehiscentes.

Descarga autónoma del polinario y servicios de polinización por abejas. Las flores estaminadas mostraron una longevidad menor que las flores pistiladas (tipo de planta; $F_{1,2} = 31.20$, $P = 0.005$). El desprendimiento/deposición mecánica inducida del polinario desencadenó la senescencia floral en plantas estaminadas y pistiladas (tratamiento anidado dentro del tipo de planta; $F_{2,57} = 28.58$, $P < 0.0001$; [Tabla 1](#)).

En esta investigación se determinó la incapacidad de descarga autónoma del polinario, debido a que este permaneció adherido a la flor hasta su marchitamiento. En general, el tratamiento de flores intactas excluidas reveló la mayor longevidad tanto de las flores pistiladas como de las estaminadas, las cuales interrumpieron y no alcanzaron a cumplir su función sexual ([Tabla 1](#)).

Mecanismo de polinización asistido por abejas. La expresión sexual encontrada por los polinizadores durante su visita a *C. interrigum* incluyó diferencias en el despliegue floral (MANOVA, Λ de Wilks = 0.17, $F_{2,8} = 41.07$, $P < 0.0001$). Las diferencias se detectaron en el número de flores producidas por las plantas (pistiladas 6.30 ± 1.12 y estaminadas 16.90 ± 0.23 número de flores; $F_{1,9} = 60.01$, $P < 0.0001$). Como se informó anteriormente, tanto las

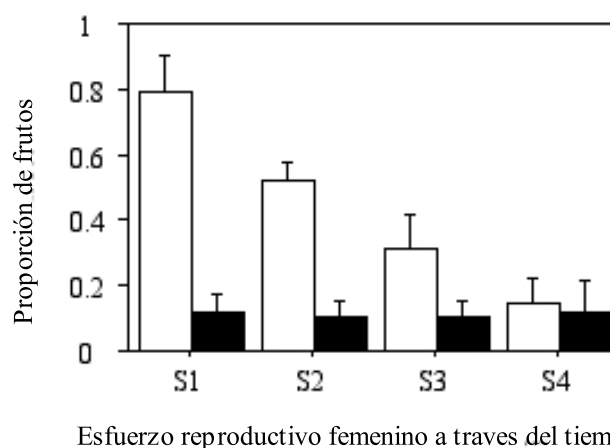


Figura 3. Esfuerzo reproductivo femenino en *Catasetum integerrimum* (Orchidaceae) bajo un protocolo experimental de incremento en el esfuerzo reproductivo a lo largo de cuatro estaciones reproductivas (S1-S4). La función sexual inducida en las flores se muestra con barras blancas y las flores con polinización abierta (control) con barras negras.

Tabla 1. Comparación de la longevidad floral entre flores pistiladas y estaminadas de *Catasetum integerrimum* (Orchidaceae) en la región central de Veracruz, México. Las diferencias significativas se indican con superíndices ($P < 0.001$).

Tratamiento	Flores pistiladas		Flores estaminadas	
	N	Media $\pm$ ES	N	Media $\pm$ ES
Flores en bolsas intactas	10	32.60 ^a $\pm$ 0.63	10	8.9 ^b $\pm$ 0.79
Desprendimiento/deposición del polinario	10	10.6 ^a $\pm$ 0.42	10	2.2 ^b $\pm$ 0.24
Polinización abierta	10	27.7 ^a $\pm$ 3.01	10	9.7 ^b $\pm$ 0.33

plantas pistiladas como las estaminadas produjeron 1-2 inflorescencias ($F_{1,9} = 0.87$, $P = 0.98$). La emisión de aroma detectable por la nariz humana comenzó dentro de los 10 minutos después de la apertura de la flor, tanto en las flores pistiladas como en las estaminadas.

Catasetum integerrimum presentó una secuencia acropétala de apertura floral (desde la base hasta el ápice). El despliegue floral de cada planta se alcanzó después de dos días, tanto para las plantas pistiladas como para las estaminadas. Se observó una sola cohorte de flores que se desarrollaron dentro de cada estación reproductiva. Las flores fueron visitadas por abejas macho de *Eulaema polychroma* (Fries) (Euglossini, Apidae).

Se registraron 106 visitas florales durante 160 hrs de observación (86 % en plantas pistiladas y 14 % en estaminadas). Las abejas visitaron las flores estaminadas antes que las pistiladas (tiempo de llegada de los polinizadores: 189.75 ± 13.20 min plantas pistiladas y 103.13 ± 15.36 min plantas estaminadas; análisis de supervivencia, $\chi^2_1 = 12.78$, $P = 0.0004$; [Figura 4](#)).

Las abejas revolotearon a corta distancia y alrededor de las plantas tanto pistiladas como estaminadas, a veces posándose en el labelo (en contadas ocasiones en la columna), y a veces se posaron entre el labelo y la columna, raspando el interior con sus tarsos anteriores. Las abejas al tocar las extensiones laterales del rostelo de las flores estaminadas provocaron la expulsión del polinario. Este polinario fue fijado de manera forzada con un golpe al tórax de la abeja. Como consecuencia de esto el insecto se alejó de la planta objetivo.

En las flores pistiladas, la visita de las abejas a las flores no desencadenó ningún efecto de catapulta, por lo que permanecieron en la planta, exhibiendo un comportamiento estereotipado con la visita de 3 a 4 flores en una misma inflorescencia (desde la base hacia el ápice). Se observó un bajo número de abejas portadoras de polinarios. Sin embargo, todas estas abejas alojaron su polinario en el estigma de la primera, segunda o tercera flor visitada. Los movimientos de abejas entre plantas pistiladas fueron ocasionales (< 5 %).

No se observaron abejas que cargaran simultáneamente múltiples polinarios.

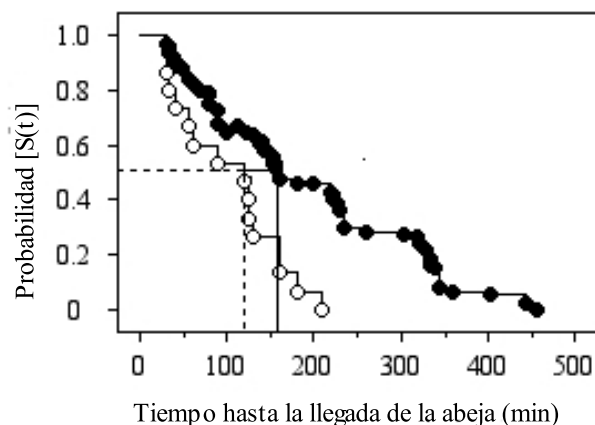


Figura 4. Comparación entre la probabilidad de la visita de abejas macho de *Eulaema polychroma* (Apidae) a flores pistiladas (círculos negros) y estaminadas (círculos blancos) de *Catasetum integerrimum*. La abreviatura $S(t)$ indica la probabilidad de que las abejas macho de *E. polychroma* aún no hayan visitado una planta determinada. El tiempo transcurrido hasta la llegada de las abejas macho de *E. polychroma* corresponde al tiempo transcurrido desde el inicio del período de observación. El tiempo promedio que tarda una flor estaminada en ser visitada se indica con una línea punteada, mientras que el tiempo promedio que tarda una flor pistilada en ser visitada se indica con una línea continua.

Discusión

Catasetum integerrimum exhibe una expresión sexual diferencial en el tamaño del despliegue floral (longevidad floral y número de flores abiertas en un momento dado) y en su diseño floral que incluye un gatillo capilar que se activa y actúa como catapulta única en flores estaminadas. Esta expresión sexual de las plantas puede desempeñar un papel importante en la forma en que los polinizadores se sienten atraídos y se comportan en las plantas, o incluso se alejan de ellas.

Expresión sexual bajo un protocolo experimental de incremento en el esfuerzo reproductivo. Estudios previos han sugerido que en *Catasetum* el cambio de sexo en las plantas sería una respuesta adaptativa a las condiciones ambientales y a las diferencias en los costos de reproducción (Dodson 1962, Zimmerman 1991, Pedroso-de-Moraes *et al.* 2016). En esta investigación se observó que las plantas de *C. integerrimum* no cambiaron de sexo bajo un protocolo de incremento en el esfuerzo reproductivo tal y como lo sugirió Zimmerman (1991) para *C. viridiflavum*, por lo que se rechazó la hipótesis de que los costos de reproducción desencadenarían el cambio de sexo en la especie.

Estudios empíricos informaron que el incremento en la producción de frutos propició el aborto de flores y frutos dentro de una misma temporada reproductiva en las orquídeas hermafroditas *Ionopsis utricularioides* (Sw.) Lindl. (Montalvo & Ackerman 1987) y *Encyclia krugii* (Bello) Britton & P. Wilson (Ackerman 1989). Estos costos reproductivos a corto plazo también pueden observarse a largo plazo e incluyen la disminución en el crecimiento vegetativo y/o éxito reproductivo futuro. Es decir, se ha reportado la disminución en el número y/o tamaño de los frutos y/o semillas producidas en *Ionopsis utricularioides* (Montalvo & Ackerman 1987), *Aspasia principissa* Rehb.f. (Zimmerman & Aide 1989), *Encyclia krugii* (Ackerman 1989), *Tipularia discolor* (Pursh) Nutt. (Snow & Whigham 1989), *Epidendrum ciliare* L. (Ackerman & Montalvo 1990) y *Comparettia falcata* Poepp. & Endl. (Meléndez-Ackerman *et al.* 2000). Estos estudios demostraron que un mayor esfuerzo reproductivo conlleva costos futuros sobre la aptitud de las plantas a lo largo de su vida. Al respecto, *C. integerrimum* respondió al incremento en el esfuerzo reproductivo con abortos florales a corto plazo (dentro de una temporada de floración) y una reducción en la proporción de frutos producidos a largo plazo (durante las dos últimas temporadas reproductivas) en las plantas pistiladas. Por otro lado, el tiempo que tardó en desarrollarse el fruto fue el doble del tiempo que tardó la orquídea *Calypso bulbosa* (L.) Oakes en desarrollar su cápsula en la única flor que produce la especie bajo un protocolo de polinización manual (Proctor

& Harder 1995). Los resultados de esta investigación demostraron que *C. integerrimum* fue capaz de realizar ajustes en su asignación sexual en términos del número de flores y frutos producidos en las plantas pistiladas en lugar de desencadenar cambios de sexo.

Estudios a futuro contribuirán a entender el proceso de aborto de frutos en *C. integerrimum* desde una perspectiva genética o bien dependiente del tamaño de las plantas. Para ello, será necesario establecer diseños experimentales dirigidos a controlar la polinización entre individuos emparentados (endogamia) y lejanos, así como plantas de distinto tamaño para conocer las disyuntivas entre la supervivencia y la reproducción.

En plantas estaminadas, *C. integerrimum* inició y desarrolló un número similar de inflorescencias y flores a lo largo del tiempo, lo que sugiere una cantidad constante de energía y recursos asignados a la función masculina a lo largo de eventos reproductivos consecutivos. De manera similar a lo observado en este estudio, Meléndez-Ackerman *et al.* (2000) reportaron una producción similar de flores que se asociaron al sexo masculino, mientras que el aborto de frutos se observó como mecanismo de ajuste tardío en la asignación sexual femenina de la orquídea hermafrodita *Compartmentia falcata* bajo un protocolo de polinización manual excesivo. Es decir, *C. integerrimum* y *Compartmentia falcata* exhibieron un comportamiento similar, en el cual el sexo masculino y femenino respondieron diferencial ante un incremento en su esfuerzo reproductivo.

Descarga autónoma del polinario y servicios de polinización por abejas. El desprendimiento/deposición del polinario no se realizó en flores excluidas de *C. integerrimum*, por lo que se rechazó la hipótesis de que el polinario podría descargarse de manera autónoma en la especie. Como consecuencia de ello, se corroboró que *C. integerrimum* exhibe una fuerte dependencia con las abejas euglosinas para su reproducción, tal y como se ha reportado en otras especies de *Catasetum* (Janzen 1981, Romero & Nelson 1986, Zimmerman 1991, Murren 2003, Milet-Pinheiro *et al.* 2015, Nunes *et al.* 2017, Brandt *et al.* 2020). Aunado a esto, en *C. uncatum* se ha registrado una senescencia floral desencadenada por la remoción/deposición del polinario (Milet-Pinheiro *et al.* 2015), así como en *Calypso bulbosa* en (Proctor & Harder 1995), lo cual coincide con los resultados de este estudio de un cambio en la longevidad floral una vez alcanzada la tarea sexual de las flores de *C. integerrimum*, *C. uncatum* y *Calypso bulbosa*.

Mecanismo de polinización asistido por abejas. En especies monoicas y dioicas, el menor tamaño en el despliegue floral de las plantas pistiladas se ha asociado con los costos impuestos por la producción de frutos (Darwin 1862, Charlesworth & Charlesworth 1987). En este sentido, las numerosas flores producidas por las plantas estaminadas podrían ser simplemente un corolario de lo económico que resulta su producción para estas plantas (Stephenson & Bertin 1983, Charlesworth 1993), por lo que no sería en sí mismo un rasgo adaptativo. Sin embargo, los resultados de esta investigación sugirieron que el tamaño del despliegue floral juega un papel importante para alcanzar el éxito de la función masculina en *C. integerrimum*. Específicamente, las abejas macho de *E. polychroma* se acercaron y respondieron a las señales relacionadas con grandes despliegues florales, lo que contribuyó a explicar la llegada temprana de las abejas a las plantas estaminadas de *C. integerrimum*. La ventaja obtenida de los rasgos de visibilidad que atrajeron a las abejas a las plantas estaminadas fue contrarrestada por el mecanismo similar a catapulta presente en las flores estaminadas, lo que provocó una partida temprana de las abejas, las cuales además se alejaron de estas plantas.

El comportamiento aversivo de las abejas causado por la adhesión forzada al polinario se ha descrito previamente en varias especies de *Catasetum* (Janzen 1981, Romero & Nelson 1986, Milet-Pinheiro *et al.* 2015, Nunes *et al.* 2017, Brandt *et al.* 2020). En dichos estudios se ha sugerido que las abejas portadoras de polinarios potencialmente pueden dispersar los gametos masculinos a mayor distancia, lo que disminuiría la competencia entre machos (selección sexual en plantas; Bateman 1948, Stephenson & Bertin 1983). Estudios futuros podrán corroborar dicho supuesto en el género *Catasetum*.

En las plantas pistiladas, las abejas euglosinas exhibieron un comportamiento estereotipado, lo que promovió la deposición del polinario en la primera, segunda o tercera flor visitada. Además, la llegada tardía de las abejas a las flores pistiladas favoreció el cumplimiento de la función femenina en la especie (secuencia de transferencia del polinario de macho a hembra).

Determinación sexual ambiental. En esta investigación se hipotetizó que las plantas que exhiben determinación sexual ambiental podrían responder al aumento de los costos reproductivos a través del cambio de sexo para maximizar la aptitud reproductiva de los individuos a lo largo de su vida, tal y como lo reportado en *C. viridiflavum* por Zimmerman (1991). No obstante, los resultados de esta investigación mostraron que los costos reproductivos no fueron lo suficientemente fuertes como para desencadenar el cambio de sexo en *C. integerrimum*. Pedroso-de-Moraes *et al.* (2016) sugirieron que la concentración endógena de etileno es necesaria para la DSA en *C. fimbriatum* en conjunto con los estresores ambientales. A este respecto, se sabe que la DSA en plantas es un fenómeno complejo y difuso, por lo que la capacidad de DSA en *C. integerrimum* sigue siendo desconocida, lo que abre nuevas vías de investigación sobre las circunstancias en las que puede tener lugar la DSA y cuál sexo podría ser sensible a dichos estresores ambientales en la especie.

La determinación sexual ambiental se ha considerado como una forma extrema de plasticidad fenotípica (Sammarco *et al.* 2025) que implica un cambio de sexo en respuesta a las señales ambientales de luminosidad (sol/sombra) durante la vida de un individuo y que se ha comprobado experimentalmente en especies de *Catsetum*. Por ejemplo, ♀ → ♀ 100 % y ♀ → ♂ 87 % en *Catsetum macroglossum* (Dodson 1962) y ♀ → ♀ 100 % y ♀ → ♂ 24 % en *Catsetum viridiflavum* (Zimmerman 1991). De manera similar, se han observado cambios en la expresión sexual hacia la feminidad o masculinidad en respuesta a las condiciones ambientales de sol/sombra y presencia/carencia de nutrientes para especies monoicas, dioicas y ginodioicas. Por ejemplo, 47 % de las especies sesgaron su expresión sexual hacia la masculinidad en condiciones de sombra y 71 % de las especies modificaron su expresión sexual hacia la feminidad con nutrientes en el suelo (Golenberg & West 2013). Para estas especies los reguladores epigenéticos desencadenan rutas y respuestas fisiológicas para una sobreproducción ya sea de flores pistiladas o estaminadas que modifican el fenotipo sexual de los individuos (Golenberg & West 2013, Sammarco *et al.* 2025). A pesar de la respuesta similar que se ha observado en diferentes especies con respecto a los estresores ambientales, la DSA se considera un rasgo exclusivo de *Catsetum*, *Cynoches* y *Mormodes* (Dodson 1962, Zimmerman 1991).

Pedroso-de-Moraes *et al.* (2016) corroboraron la presencia de DSA en 164 especies de Catsetinae basales, aunque en otras especies está ausente y se sabe que se ha perdido más fácilmente de lo que se ha ganado en el curso de la evolución. De acuerdo con su análisis, Pedroso-de-Moraes y colaboradores concluyeron que el DSA es un rasgo homoplásico que no representa una ventaja evolutiva y adaptativa para los linajes que lo poseen. A este respecto, Sammarco *et al.* (2025) reconocieron que los cambios de sexo -en sentido amplio- permiten a los individuos responder a las condiciones cambiantes del entorno. No obstante, reconocieron que la flexibilidad en el cambio sexual no necesariamente les confiere una ventaja a los individuos ya que depende del contexto ecológico (Sammarco *et al.* 2025). Para el género *Catsetum*, los cambios en el despliegue floral (número de flores abiertas en un tiempo dado) y/o en la proporción sexual a nivel poblacional podría propiciar cambios en el comportamiento y eficiencia de los polinizadores. Específicamente, las variaciones en la proporción de plantas/flores pistiladas o estaminadas puede propiciar cambios en la disponibilidad de recompensas específicas al sexo para atraer a las abejas polinizadoras (*C. integerrimum*, Del Mazo Cancino & Damon 2007; *C. arietinum* F.E.L.Miranda & K.G.Lacerda., Brandt *et al.* 2020) o afectar la tasa de visita de las abejas a las flores de *Catsetum* por la presencia del mecanismo de catapulta en las flores estaminadas (Janzen 1981, Romero & Nelson 1986, Milet-Pinheiro *et al.* 2015, Nunes *et al.* 2017, Brandt *et al.* 2020), lo que potencialmente se traduciría en costos en la adecuación de los individuos a nivel poblacional.

Se concluye que *C. integerrimum* mostró ajustes en su asignación sexual bajo un incremento del esfuerzo reproductivo al que se sometieron las plantas durante cuatro estaciones reproductivas consecutivas, sin evidenciar un cambio de sexo en las condiciones evaluadas. Con base en el servicio de polinización observado que realizan las abejas macho de *E. polychroma* se puede considerar como ventajosa y estable la actual expresión sexual de *C. integerrimum*. Este trabajo destaca la importancia de conocer los mecanismos que determinan los cambios del fenotipo sexual y sus efectos sobre la ecología reproductiva de las especies, los cuales pueden promover o limitar los cambios en la expresión sexual de las plantas polinizadas por animales.

Agradecimientos

A dos revisores anónimos que contribuyeron a mejorar el manuscrito con sus comentarios positivos.

Material suplementario

El material suplementario de este trabajo puede consultarse aquí: <https://doi.org/10.17129/botsci.3872>

Literatura citada

- Abacus Concepts. 1996. *Abacus Concepts. StatView Reference*. Berkeley, California, USA: Abacus Concepts, ISBN: 1580251625
- Ackerman JD. 1989. Limitations to sexual reproduction in *Encyclia krugii* (Orchidaceae). *Systematic Botany* **14**: 101-109. DOI: <https://doi.org/10.2307/2419054>
- Ackerman JD, Montalvo AM. 1990. Short- and long-term limitations to fruit production in a tropical orchid. *Ecology* **71**: 262-272. DOI: <https://doi.org/10.2307/1940265>
- Alemán M, Figueroa-Fleming T, Etcheverry A, Sühling S, Ortega-Baes P. 2014. The explosive pollination mechanism in Papilionoideae (Leguminosae): an analysis with three *Desmodium* species. *Plant Systematics and Evolution* **300**: 177-186. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00606-013-0869-8>
- Bateman A. 1948. Intra-sexual selection in *Drosophila*. *Heredity* **2**: 349-368. DOI: <https://doi.org/10.1038/hdy.1948.21>
- Benzing DH, Bent A, Moscow D, Peterson G, Renfrow A. 1982. Functional correlates of deciduousness in *Catasetum integerrimum* (Orchidaceae). *Selbyana* **7**: 1-9. <https://www.jstor.org/stable/41759560>
- Brandt K, Machado IC, Navarro DMAF, Dötterl S, Ayasse M, Milet-Pinheiro P. 2020. Sexual dimorphism in floral scents of the neotropical orchid *Catasetum arietinum* and its possible ecological and evolutionary significance. *AoB Plants* **12**: 1.12. DOI: <https://doi.org/10.1093/aobpla/plaa030>
- Charlesworth D. 1993. Why are unisexual flowers associated with wind pollination and unspecialized pollinators? *American Naturalist* **141**: 481-490.
- Charlesworth D, Charlesworth B. 1987. The effect of investment in attractive structures on allocation to male and female functions in plants. *Evolution*, **41**: 948-968. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1987.tb05869.x>
- Darwin C. 1862. *On the various contrivances by which British and foreign orchids are fertilised by insects, and on the good effects of intercrossing*. Cambridge: Cambridge University Press. ISBN: 1904078451
- Del Mazo Cancino A, Damon A. 2007. Fragrance analysis of euglossine bee pollinated orchids from Soconusco, south-east Mexico. *Plant Species Biology* **22**: 129-134. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1442-1984.2007.00185.x>
- Dodson CH. 1962. Pollination and variation in the subtribe *Catasetinae* (Orchidaceae). *Annals of Missouri Botanical Garden* **49**: 35.56. DOI: <https://doi.org/10.2307/2394740>
- Golenberg EM, West NW. 2013. Hormonal interactions and gene regulation can link monoecy and environmental plasticity to the evolution of dioecy in plants. *American Journal of Botany* **100**: 1022-1037. DOI: <https://doi.org/10.3732/ajb.1200544>
- Hágsater E, Salazar GA. 1990. Icones Orchidacearum Fascicle 1 Orchids of Mexico Part 1. Asociacion Mexicana de Orquideología, A. C.
- Janzen DH. 1981. Bee arrival at two Costa Rican female *Catasetum* orchid inflorescences, and a hypothesis on euglossine population structure. *Oikos* **36**: 177-183. DOI: <https://doi.org/10.2307/3544443>
- Meléndez-Ackerman E, Ackerman JD, Rodríguez-Robles JA. 2000. Reproduction in an orchid can be resource-limited over its lifetime. *Biotropica* **32**: 282-290. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2000.tb00471.x>
- Milet-Pinheiro P, Navarro DMAF, Dötterl S, Carvalho AT, Pinto CE, Schlindwein C. 2015. Pollination biology in the dioecious orchid *Catasetum uncatum*: How does floral scent influence the behavior of pollinators? *Phytochemistry* **116**: 149-161. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.02.027>

- Montalvo AM, Ackerman JD. 1987. Limitations to fruit production in *Ionopsis utricularioides* (Orchidaceae). *Biotropica* **19**: 24-31. DOI: <https://doi.org/10.2307/2388456>
- Muenchow G. 1986. Ecological use of failure time analysis. *Ecology* **67**: 246-250. DOI: <https://doi.org/10.2307/1938524>
- Murren CJ. 2003. Spatial and demographic population genetic structure in *Catasetum viridiflavum* across a human-disturbed habitat. *Journal of Evolutionary Biology* **16**: 333-342. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.2003.00517.x>
- Nunes CEP, Gerlach G, Bandeira KDO, Gobbo-Neto L, Pansarin ER, Sazima M. 2017. Two orchids, one scent? Floral volatiles of *Catasetum cernuum* and *Gongora bufonia* suggest convergent evolution to a unique pollination niche. *Flora* **232**: 207-216. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.flora.2016.11.016>
- Pedroso-de-Moraes C, Souza-Leal TD, Saoncella AL, Almeida MD. 2016. Floral sexual differentiation in *Catasetum fimbriatum* (Catasetinae, Orchidaceae) exposed to different light intensities. *Lankesteriana* **16**: 43-52. DOI: <http://dx.doi.org/10.15517/lank.v16i1.23746>
- Proctor HC, Harder LD. 1995. Effect of pollination success on floral longevity in the orchid. *Calypso bulbosa* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* **82**: 1131-1136. DOI: <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1995.tb11584.x>
- Raguso RA. 2008. Wake up and smell the roses: the ecology and evolution of floral scent. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* **39**: 549-569. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.38.091206.095601>
- Romero GA, Nelson CE. 1986. Sexual dimorphism in *Catasetum* orchids: forcible pollen emplacement and male flower competition. *Science* **232**: 1538-1540. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.232.4757.1538>
- Sammarco I, Krtilová E, Slovák M, Lafon Placette C. 2025. Reversibility of sex changes in the plant kingdom: more important than we thought? *Biological Reviews* **100**: 2199-2216. DOI: <https://doi.org/10.1111/brv.70043>
- Schlessman MA. 1988. Gender diphasy ('sex-choice'). In: Lovett-Doust J, Lovett-Doust L eds. *Plant Reproductive Ecology: Patterns and Strategies*. pp. 153-193. New York: Oxford University Press, ISBN: 0-19-505175-0
- Snow AA, Whigham DF. 1989. Costs of flower and fruit production in *Tipularia discolor* (Orchidaceae). *Ecology* **70**: 1268-1293. DOI: <https://doi.org/10.2307/1938188>
- Stephenson AG, Bertin RI. 1983. Male competition, female choice, and sexual selection in plants. In: Real L. ed. *Pollination Biology*. Pp. 110-149. New York: Academic Press, ISBN: 0125839804
- Switzer CM, Combes SA, Hopkins R. 2018. Dispensing pollen via catapult: explosive pollen release in mountain laurel (*Kalmia latifolia*). *American Naturalist* **191**: 767-776. DOI: <https://doi.org/10.1086/697220>
- Whitten WM, Williams NH, Armbruster WS, Battiste MA, Strekowski L, Lindquist N. 1986. Carvone oxide: an example of convergent evolution in euglossine pollinated plants. *Systematic Botany* **11**: 222-228. DOI: <https://doi.org/10.2307/2418960>
- Zar JH. 1999. *Biostatistical Analysis*. (Fourth Edition), Prentice Hall, Upper Saddle River.
- Zimmerman JK. 1991. Ecological correlates of labile sex expression in the orchid *Catasetum viridiflavum*. *Ecology* **72**: 597-608. DOI: <https://doi.org/10.2307/2937200>
- Zimmerman JK, Aide TM. 1989. Patterns of fruit production in a neotropical orchid: pollinator vs. resource limitation. *American Journal of Botany* **76**: 67-73. DOI: <https://doi.org/10.2307/2444775>

Editor de sección: Pablo Cuevas Reyes

Contribución de autores: AMHR planeó y diseñó la metodología, llevó a cabo el trabajo de campo, los análisis y la escritura del artículo.

Agencias de apoyo: No se aplica.

Conflictos de interés: La autora declara que no existe ningún conflicto de interés, financiero o personal, en la información, la presentación de datos y los resultados del artículo.