



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

ESCUELA DE BIOLOGÍA

Biología floral de *Opuntia decumbens* (Salm-Dyck) Cactaceae y su
dependencia de polinizadores para la producción de semillas en el
Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla

Tesis que para obtener el título de

BIÓLOGO

PRESENTA:

RAÚL BADILLO MONTAÑO

TUTOR: Dr. ROGER E. GUEVARA HERNÁNDEZ



PUEBLA, PUE.

MARZO 2015

DEDICATORIA

*A la que siempre ha sido parte de cada historia
en mi vida "Mi madre"*

AGRADECIMIENTOS

Al CONACYT porque parte de este trabajo fue financiado por el proyecto 192331 “DESARROLLO Y APLICACIÓN DE NUEVAS TECNOLOGÍAS PARA LA ESTABILIZACIÓN SUPERFICIAL DE TALUDES” para el cual se exploró la formación de semillas y métodos para la germinación de semillas de *Opuntia decumbens*.

A mi tutor Dr. Roger Guevara, al que le estoy enormemente agradecido por aceptar guiar mi proyecto de tesis y compartirme parte de su conocimiento, y por sus consejos y orientación para la culminación de este trabajo.

A mis revisoras de tesis la Dra. Rosa Andrés y la Dra. Dulce Figueroa por su enorme contribución a la mejora del trabajo.

A Jimena, que desde 2006 compartimos nuestras vidas y aun en la distancia y aunque pasen más años lo seguiremos haciendo.

A mis amigas Ángeles (mi novia de chocolate) y Paty bonita (mi otra novia de chocolate), por compartir siempre su ánimo conmigo en la culminación de este proyecto y confiar en mí a pesar de lo que los feos digan. Y Ana Lilia solo porque me cae re bien y compartió el cocotazo conmigo en Xalapa.

A mi amigo César (Rubio) por hacer especiales las desveladas académicas y los 5 minutos de charla mientras fumábamos un cigarro, y Pablo (Poly), por compartir muchos momentos de locura y choterías, y aceptar lo más valioso que pude ofrecerle, mi amistad.

A Chanel, Analy y a Pablo otra vez (wey te tocó doble agradecimiento), por su gran ayuda en campo (aunque pablo tus tonterías de que las abejas se llegaban a echar un palito en las flores fue una mamada) y lidiar con mi histeria.

A doña Cristi y toda su familia, por el apoyo brindado en el hospedaje y la comida en Zapotitlán y por ser tan buenas personas e interesarse en nuestras locuras de biólogos.

A mis amigos los Powers Rangers Chavita (power Green por grifero) y Diego (power blue), por su ayuda en campo, sus consejos y por hacer de mi estancia en Xalapa algo bien chévere.

A Marilu por ayudarme a identificar mis bichos y ser tan paciente conmigo al enseñare, a la Dra. Becsa (mi ex cariño) por todo el apoyo en la elaboración de mi escrito de tesis y por enseñarme que el trabajo en campo en equipo aliviana la vida bien chido, a la Dra. Anita (Ranita), por cada consejo, risa, enojo que compartimos y por todo lo que me tuvo que soportar mientras participé en el proyecto de taludes, pero sobre todo por enseñarme a que no debo meterme la pata a mí mismo (EBO, clave solo para ranita).

A Mary Salazar, la mejor secretaria que tiene el INECOL, por su gran ayuda en la organización de mis salidas al campo y para realizar mis comprobaciones fiscales, y a don Pedrito, el poli del edificio A solo porque fue bien chido y me saludaba con muy buena vibra todos los días y siempre me dejó pasar sin mi gafete.

A Edith y Martín solo por ser muy chéveres.

ÍNDICE

RESUMEN	1
LISTA DE FIGURAS	3
LISTA DE TABLAS.....	5
INTRODUCCIÓN	6
Biología floral	8
Síndromes de polinización.....	9
Sistemas sexuales, sistemas de cruzamiento e incompatibilidad.....	11
Depresión por endogamia.....	13
OBJETIVOS	15
Objetivo general.....	15
Objetivos particulares	15
HIPÓTESIS	16
MÉTODO.....	18
Área de estudio.....	18
Especie de estudio	19
Morfología floral	20
Sistema de apareamiento	22
Antesis floral y maduración del estigma	22
Visitantes florales.....	23
Polinizaciones controladas	23
Morfología del fruto y producción de semillas.....	24
Pruebas de germinación.....	25
Depresión endogámica.....	27

RESULTADOS	28
Morfología floral, antesis floral y maduración del estigma	28
Visitantes florales.....	31
Polinizaciones manuales	35
Germinación	39
DISCUSIÓN	41
Biología floral y visitantes florales.....	41
Sistema reproductivo	46
Germinación y depresión por endogamia en <i>Opuntia decumbens</i>	48
LITERATURA CITADA.....	51

RESUMEN

México es el país con mayor riqueza de cactáceas en el mundo, tanto a nivel genérico como específico. El género *Opuntia* incluye aproximadamente 215 especies y sobresale por su amplia distribución y número de endemismos. En México se alberga casi el 50% de las especies del género. Entre las diversas investigaciones sobre el género destacan los estudios de biología reproductiva; sin embargo, hay varias especies aún no estudiadas como lo es *Opuntia decumbens*. En el presente trabajo se caracterizó la biología reproductiva de *O. decumbens* en una población del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla. Con base en flores maduras se realizó un análisis morfométrico y conteo de algunos elementos florales para calcular el Índice de Polinización Cruzada (OCI), con el cual se infirió el sistema de apareamiento. Se hicieron observaciones cada hora (08:00-18:00 h) para determinar la duración de la antesis y detectar el momento de maduración del estigma y liberación del polen. También se realizaron observaciones directas de los visitantes florales durante la antesis (10:00 a 18:00 h), registrando para cada visitante la hora del día, el tiempo de permanencia en la flor y actividad que realiza. La frecuencia de visitas de los diferentes visitantes florales a lo largo del día se comparó mediante una prueba de Ji-cuadrada. El tiempo que pasan los visitantes más frecuentes en las flores de *O. decumbens* se comparó mediante un modelo lineal generalizado. El sistema de cruzamiento de *O. decumbens* se evaluó mediante cinco tratamientos: polinización natural, polinización cruzada, autopolinización, apomixis y polinización automática. En esta población, la antesis comienza entre las 10:00 y 10:30 h y las estructuras masculinas y femeninas maduran simultáneamente (homogamia). Por la tarde, las flores comenzaron a cerrarse a las 16:20 h y para las 18:00 h las flores están completamente cerradas. Respecto a los visitantes florales, los más frecuentes fueron los escarabajos de la Familia Nitidulidae (184), las abejas de la Familia Andrenidae (54) y las moscas de la Familia Bombyliidae (32). De acuerdo con el índice de polinización cruzada ($OCI = 3$) *O. decumbens* es una especie xenógama facultativa. Los experimentos de polinizaciones controladas mostraron que la polinización cruzada produce semillas

con mayor talla y peso; sin embargo, no se encontraron diferencias entre las tasas de germinación entre los distintos tratamientos (autopolinización, polinización cruzada, apomixis y polinización natural). En conclusión, *O. decumbens* tiene como potenciales polinizadores a las abejas de las familias Apidae, Megachilidae, Oxaeidae y Halictidae, y es una especie xenógama facultativa con sistema de cruzamiento mixto.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación del área de estudio: Zapotitlán Salinas, Puebla.....	19
Figura 2. <i>Opuntia decumbens</i> en el Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla.	20
Figura 3. Atributos florales de <i>Opuntia decumbens</i> cuantificados en una población del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla (fotografía tomada de Mandujano <i>et al.</i> , 2010) (A) área de la corola, (B) diámetro de la corola, (C) longitud total, (D) longitud interna, (E) longitud del gineceo, (F) longitud del estigma, (G) longitud del estilo. Se cuantificaron las siguientes estructuras: (H) lóbulos del estigma, (I) número de estambres, (J) hojas rudimentarias, número de pétalos tomados como (K) segmento exterior del perianto, (L) segmento interior del perianto, y (M) número de óvulos.	21
Figura 4. Frecuencia de visitas por hora de los grupos de visitantes florales de <i>Opuntia decumbens</i> en una población del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla.	32
Figura 5. Tiempo de visita de los tres grupos de visitantes florales que mayor tiempo permanecieron en las flores de <i>Opuntia decumbens</i> en una población del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla.....	34
Figura 6. Visitantes florales de <i>Opuntia decumbens</i> en una población del valle de Zapotitlán, Salinas, Puebla. Familias: (A) Halictidae, (B) Apidae, (C) Nitidulidae, (D) Dolichoderinae, (E) Reduviidae.....	35
Figura 7. Producción de semillas (número) a partir de flores de <i>Opuntia decumbens</i> a las que se aplicó diferentes tratamientos de polinización en una población del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla. Las letras diferentes indican diferencias significativas en las medias. AP: autopolinización, APO: apomixis, PC: polinización cruzada, PN: Polinización natural	37
Figura 8. Relación del tamaño de los frutos y la producción de semillas de <i>Opuntia decumbens</i> a las que se aplicó diferentes tratamientos de polinización en una población del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla. AP: autopolinización, APO: apomixis, PC: polinización cruzada, PN: Polinización natural.....	37

Figura 9. Peso promedio de las semillas producidas en flores de *Opuntia decumbens* a las que se les aplicó diferentes tratamientos de polinización en una población del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla AP: autopolinización, APO: apomixis, PC: polinización cruzada, PN: polinización natural, letras diferentes en las medias indican diferencias significativas entre los tratamientos.....38

Figura 10. Área promedio de las semillas producidas en flores de *Opuntia decumbens* a las que se les aplicó diferentes tratamientos de polinización en una población del Valle de Zapotitlán, Salinas, Puebla. AP: autopolinización, APO: apomixis, PC: polinización cruzada, PN: polinización natural. 39

Figura 11. Germinación de semillas de *Opuntia decumbens* producidas de flores a las que se les aplicaron diferentes tratamientos de polinización en una población del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla. A = (Polinización natural), B = (Autopolinización); C = (Polinización cruzada) y D (Apomixis)..... 40

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Promedio \pm error estándar, valor máximo y mínimo de los atributos florales de <i>Opuntia decumbens</i> en una población del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla.	29
Tabla 2. Eventos de antesis de <i>Opuntia decumbens</i> (N=12 flores) en una población del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla.	30
Tabla 3. Frecuencia de visitantes florales y proporción de toques al lóbulo del estigma de <i>Opuntia decumbens</i> en una población del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla, indicando la actividad principal en las flores.	33
Tabla 4. Producción y características morfométricas de frutos de <i>Opuntia decumbens</i> de acuerdo a cada uno de los tratamientos de polinización realizados en una población del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla: AP) autopolinización, PC) polinización cruzada, PN) Polinización natural, APO) apomixis y PA) polinización automática. Los valores presentados son medias \pm error estándar.	36

INTRODUCCIÓN

La Familia Cactaceae es endémica del Continente Americano, siendo México el país con mayor riqueza de especies (850) y considerado como el principal centro de diversificación de la familia, 35% de los géneros y 84% de las especies son endémicas de México (Bravo-Hollis, 1978; Arias, 1993).

Uno de los géneros más sobresalientes debido a su amplia distribución y número de endemismos es *Opuntia* el cual cuenta con aproximadamente 215 especies (CONABIO, 1998; Scheinvar *et al.*, 2011). Este género es de gran importancia biológica ya que contribuye a la regeneración, fijación y retención de suelo, se le considera la principal fuerza contra la desertificación y constituye un alimento básico en la dieta de algunos mamíferos (Palacios-Resendis, 2010). Entre los diversos estudios con plantas del género *Opuntia*, se encuentran aspectos de anatomía, conservación, distribución, genética y biología reproductiva (Esparza, 2010). Sin embargo, dada la gran riqueza de especies en el género, aún existen muchas especies cuya biología floral no ha sido estudiada en detalle (Reyes-Agüero *et al.*, 2006), tal es el caso de *Opuntia decumbens*; para la cual la escasa información existente está enfocada en el uso de los frutos y de los cladodios como alimento para ganado (Baraza *et al.*, 2008).

Los estudios sobre biología floral resultan de gran relevancia porque los rasgos florales permiten la comprensión sobre la diversificación de las flores y la diversificación de los polinizadores de acuerdo a las fuerzas de selección que impone el fenotipo floral, motivo por el cual la polinización en algunas especies es muy específica (Ossa y Medel, 2011).

Dada la importancia que reviste el conocer la biología floral/reproductiva de las especies y la carencia de estudios en esta área para *O. decumbens*, el presente trabajo está enfocado en caracterizar la biología floral y sistemas de polinización, así mismo, evaluar el efecto de la procedencia del polen sobre la producción de frutos y semillas. El estudio se realizó en una población dentro del Valle de Zapotitlán Salinas, uno de los principales centros de diversificación de cactáceas en México (Dávila *et al.*, 2002).

La polinización es el primero de una serie de procesos que conducen a la reproducción sexual en las plantas. Aunque la principal función del polen es la fecundación de los óvulos, en muchas especies que no producen néctar, el polen también actúa como un atrayente para los polinizadores; siendo así, la segunda recompensa floral más importante que las angiospermas ofertan (Murcia, 2002).

La transferencia de polen entre flores es un proceso fundamental para la supervivencia de las especies, ya que permite generar nuevos individuos de origen sexual lo que contribuye a mantener la variación genética dentro de las poblaciones (Escobedo-Sarti, 2007), y cuando el polen viaja entre poblaciones es una de las formas de migración que permite la conectividad genética entre poblaciones (Elistrand, 1992). Pese a la importancia del flujo genético vía la reproducción sexual, muchas plantas se reproducen de manera asexual, siendo este tipo de reproducción muy común en el género *Opuntia* (Carillo-Ángeles y Mandujano, 2011).

En la reproducción sexual, el polen es transferido entre flores de plantas distintas (xenogamia) fecundando los óvulos y así produciendo semillas con una carga genética distinta a las de la planta madre. Sin embargo, también se llevan a cabo procesos de autofecundación como autogamia (fecundación con polen de la misma flor) y la geitonogamia (polinización entre flores de un mismo individuo) e incluso se puede presentar la agamospermia (formación de semillas sin la intervención de polen) (Crawford y Whitney 2010). Esta última estrategia reproductiva se ha reportado en varias especies de *Opuntia*. De todos estos mecanismos, solo la xenogamia permite la dispersión de genes y el reclutamiento de nuevos individuos con características genéticas distintas a la de los progenitores, que podrían enfrentar exitosamente cambios ambientales locales o colonizar nuevos ambientes (Crawford y Whitney 2010). Por otra parte, la reproducción asexual da lugar a unidades potencialmente independientes que son genéticamente idénticas a la planta progenitora y podrán establecerse y formar nuevos individuos bien adaptados al medio local bajo condiciones ambientales estables (Reyes-Agüero *et al.*, 2006; Carillo-Ángeles y Mandujano, 2011).

Biología floral

La biología floral se define como el estudio de la flor y los procesos que residen en ella (Furtado-Campos *et al.*, 2009). La flor es la estructura u órgano reproductor en el grupo de las angiospermas; en ella se desarrollan las células reproductivas, como los óvulos y el polen; y cuando estos entran en contacto se forma la semilla (Arias *et al.*, 2000).

Las flores del género *Opuntia*, al igual que las de otros miembros de la Familia Cactaceae son en su mayoría hermafroditas, algunas diurnas y otras vespertinas, varían interespecíficamente en tamaño y color. La coloración puede variar intraespecíficamente en las fases pre y post antesis. El gineceo y el androceo también varían en forma, tamaño y número entre especies, presentan ovario ínfero, receptáculo corto y algunas especies presentan estructuras a veces sensitivas como los estambres que responden a estímulos mecánicos, las yemas florales se presentan cercanas al ápice de los cladodios generalmente en hilera (Bravo-Hollis, 1978; Scheinvar, 2004; Vázquez-Díaz, 2005; Fuentes-Pérez, 2009).

Aspectos como la biología floral y la ecología de la polinización, son vitales para la comprensión de la biología de la reproducción sexual de las especies y entender los procesos y mecanismos que median en la dependencia mutua entre plantas y polinizadores (Medel *et al.*, 2009). Casi el 85% de las plantas en el mundo (alrededor de 299 mil especies) dependen de agentes bióticos para la reproducción sexual (Ollerton *et al.*, 2011). Además, los recursos florales constituyen la fuente principal de alimentos para varios grupos de animales (Blair y Williamson, 2008; Furtado-Campos *et al.*, 2009). Dado el número de especies involucradas en el proceso de polinización incluyendo plantas, insectos, aves y mamíferos, y considerando las diversas funciones ecosistémicas que desempeñan estos grupos de organismos, se puede decir que la polinización es de suma importancia para sostener la diversidad de la vida y ponen de manifiesto la complejidad de los procesos evolutivos en la naturaleza (del Val y Dirzo, 2004; Medel *et al.*, 2009).

Síndromes de polinización

La convergencia de los fenotipos florales en diferentes grupos de angiospermas sugiere que los conjuntos de características florales han evolucionado en asociación con grupos particulares de polinizadores. Estos fenotipos florales son conocidos como síndromes de polinización (Faegri y van der Pijl, 1978; Escobedo-Sarti, 2007). Los síndromes implican que las flores se han especializado para la polinización por grupos específicos de visitantes florales, es decir, los rasgos florales han evolucionado para aumentar la transferencia de polen por los visitantes más eficaces y para disuadir a los visitantes antagónicos (Martén-Rodríguez *et al.*, 2009).

Para el caso particular de *Opuntia*, se ha registrado un número considerable de especies de insectos que visitan las florales; destacando los órdenes Coleoptera, Lepidoptera, Diptera e Hymenoptera. No obstante, solo ciertos grupos de Coleoptera, como Melyridae, Nitidulidae, Scarabaeidae y algunos grupos de Hymenoptera (abejas nativas en particular) de las familias Anthophoridae, Megachilidae y Halictidae cumplen efectivamente con la función de polinización (Grant *et al.*, 1979).

Grant *et al.* (1979), sugieren que las abejas son los principales polinizadores del género *Opuntia* en el desierto de Texas en EUA, ya que se sabe que para *O. lindheimeri*, *O. phaeacantha* var. *major*, *O. discata*, *O. macrorhiza* y *O. compressa* son visitadas por 11, 8, 5, 3 y 4 especies de abejas, respectivamente. En otras especies de *Opuntia*, como *O. monacantha* una especie de Brasil, se han registrado visitas de cuatro familias de abejas (Apidae, Colletidae, Halictidae y Megachilidae) y una especie de la Familia Colletidae es su principal polinizador ya que es la que con más frecuencia toca el lóbulo del estigma (Lenzi y Orth, 2011). Mientras que *O. sulphurea*, una especie de Argentina, es visitada por cuatro familias de abejas (Apidae, Halictidae, Megachilidae y Andrenidae) (Maldonado *et al.*, 2013).

Así mismo, se ha mostrado en el desierto chihuahuense que las flores de *O. rastrera* son polinizadas exclusivamente por las abejas *Diadasia* sp. y *Lithurge* sp. (Hymenoptera: Apoidea); mientras que las flores de *O. microdasys* solo por *Diadasia* sp. Estas especies de abejas son consideradas oligolécticas, es decir, que se han especializado en la recolección de polen de un género o una especie en particular (Mandujano *et al.*, 1996; Piña, 2007).

Mandujano *et al* (2013), mencionan que una abeja del género *Diadasia* es el visitador más frecuente en *Opuntia macrocentra* en el desierto Chihuahuense; y, aunque esta especie no requiere de polinizadores para la producción de frutos, ya que es una especie capaz de autofecundarse, la visita a las flores por *Diadasia* provoca que el número de óvulos fertilizados aumente, lo cual se ve reflejado en la producción de semillas.

Pese a que algunas especies de coleópteros están involucradas en la polinización de las flores de *Opuntia*, muchas de ellas son meramente incidentales debido a sus actividades intraflorales (Grant *et al.*, 1979). Mcfarlan *et al.*, (1989), encontraron en *Opuntia imbricata* un gran número de escarabajos de la Familia Nitidulidae. Estos pequeños escarabajos generalmente permanecen en lo profundo de las flores donde se alimentan de polen caído, estambres y pétalos, y solo en raras ocasiones se mueven hacia otra flor y cuando lo hacen, por lo general, se posan en los pétalos sin entrar en contacto con el estigma.

Por otro lado, Lenzi y Orth (2011), mencionan que en *O. monacantha* los escarabajos de la Familia Nitidulidae son visitantes abundantes (358 ind.) y muy frecuentes (92%) en las flores. Sin embargo, al consumir grandes cantidades de polen en la base de las flores, y usar estas como arena de apareamiento y de refugio fueron considerados polinizadores incidentales. En el mismo sentido, Grant y Connell (1979), Mcfarlan *et al.*, (1989) y Lenzi y Orth (2011); sugieren que, pese a la frecuente ocurrencia de escarabajos Nitidulidae en las flores de *Opuntia* y a la considerable cantidad de polen que se adhiere a su cuerpo estos escarabajos son polinizadores inefectivos, ya que la tasa de movimientos interflorales es baja y restringen sus actividades a la base de las flores y anteras y rara vez tocan los estigmas.

Por lo anterior, se reconoce que la melitofilia es el principal síndrome de polinización en *Opuntia*, no sólo por la gran cantidad de visitas de abejas sino también por características florales tales como corola en forma de copa o tazón, un perianto de color brillante, generalmente flores diurnas, numerosos estambres, un solo estilo y un estigma lobulado. El perianto generalmente de color amarillo, pero puede variar a colores como rosado, naranja, rojo, magenta o violeta (Pimienta-Barrios y Del Castillo, 2002). Sin embargo, no todas las abejas son polinizadores efectivos en *Opuntia*. Por ejemplo para *Opuntia polyacantha* y *Opuntia phaeacantha* se ha demostrado que las abejas *Ashmeadiela opuntiae*, *Augochorella striata*, *Halictus confusus*, *Megachile montivaga* y *Diadasia diminuta* no son polinizadores efectivos

ya que son de tamaño pequeño (-8 mm) y en la mayoría de los casos no logran tocar el estigma, por lo que han sido consideradas como robadores de polen más que polinizadores (Osborn *et al.*, 1988).

Sistemas sexuales, sistemas de cruzamiento e incompatibilidad

En general, el éxito en la reproducción sexual no depende exclusivamente de la actividad de los polinizadores (Escobedo-Sarti, 2007). Para empezar hay que reconocer que en las plantas se presentan diferentes sistemas sexuales, es decir, diferentes arreglos de las estructuras reproductivas masculina y femenina dentro de las poblaciones. Por una parte están los sistemas cosexuales en las que ambos sexos ocurren en la misma planta y todos los individuos de la población comparten un mismo morfo (Charlesworth 2006). Esto incluye poblaciones con flores hermafroditas y monoicas, es decir, donde los sexos están separados en flores distintas pero ambos tipos de flores existen en cada individuo aunque las proporciones de cada una pueden llegar a variar. Por otra parte, están los sistemas unisexuales en que cada individuo presenta un sexo diferente (dioicismo) existiendo variantes como el androdioicismo (con individuos machos e individuos hermafroditas) el ginodioicismo (con individuos femeninos e individuos hermafroditas) el triocismo (machos, hembras y hermafroditas) (Charlesworth 2006). Estos sistemas sexuales determinan en gran medida el flujo génico entre individuos distintos. En los sistemas unisexuales, el flujo génico entre individuos es estrictamente necesario al menos para una parte de la población. En los sistemas cosexuales, diferentes estrategias o sistemas de apareamiento son posibles. La autopolinización que puede presentar variantes como geitonogamia (polinización con polen de un mismo individuo pero de distinta flor), autogamia (cuando el polen procede de la misma flor), y la polinización automática (cuando una flor es capaz de polinizarse sin la intervención de polinizadores) (Charlesworth 2006). La polinización cruzada (alogamia o xenogamia) es cuando la polinización se da con polen de un individuo distinto al receptor. También suele considerarse dentro de este abanico la apomixis, un tipo de reproducción vegetativa, en la que los óvulos se desarrollan en semillas sin la intervención del polen (Charlesworth 2006). Además hay en muchas plantas cosexuales sistemas de apareamiento mixtos

(Vogler y Kalisz, 2001), es decir, en las que se puede dar simultáneamente la xenogamia y la autogamia, aunque no es aún claro que ventajas evolutivas pueden tener las plantas con esta estrategia (Lande y Schemske, 1985; Barrett, 2002)

Reyes-Agüero *et al.*, (2006), realizaron una revisión sobre el género *Opuntia* que engloba aspectos sobre los sistemas de apareamiento, y mencionan que las especies de *Opuntia* en general realizan autogamia y xenogamia al mismo tiempo, es decir presentan un sistema de apareamiento mixto. Schlindwein y Wittmann (1997) mencionan que en el sureste de Brasil, *O. brunneogemmia* y *O. viridirubra* son moderadamente autocompatibles ya que mediante autopolinización se logra fecundar el 52% de los óvulos, pero que con polinización cruzada la proporción de óvulos fecundados aumenta hasta 84-100%. En Texas, *O. lindheimeri* es esencialmente xenogámica al inicio de la antesis, momento en el cual el estigma se encuentra por encima de las anteras. No obstante, hacia el final de la antesis, las anteras son tan altas como el estigma, por lo que se desarrollan frutos por autopolinización. Los experimentos de polinizaciones manuales revelan que *O. lindheimeri* es autocompatible (capaz de producir frutos cuando son polinizadas con polen de la misma planta) pero no se presenta la polinización automática ya que no se desarrollan frutos en flores que permanecen cubiertas durante toda la antesis (Grant *et al.*, 1979).

La autopolinización también se ha demostrado en especies de *Opuntia* como *O. streptacantha*, *O. cochinera* y *O. rastrera* (Trujillo-Argueta y González-Espinoza, 1991). Mandujano *et al.*, (1996) mencionan que *O. rastrera* en el desierto chihuahuense, es xenogámica facultativa, es decir, que requiere de los servicios de un polinizador y no presenta agamospermia o apomixis, y cuando es autopolinizada presenta una fuerte depresión por endogamia.

Por otro lado, Negrón-Ortíz (1998), menciona que *O. spinosissima* es un nopal que produce semillas por agamospermia (i.e, sin la intervención de gametos masculinos), ya que encontró que en los tratamientos de polinización los tubos polínicos no crecen lo suficiente para alcanzar los óvulos.

En *O. microdasys*, las abejas del género *Diadasia sp.* tienen la peculiaridad de hacer contacto de manera simultánea con ambas estructuras sexuales de la flor, lo que estimula un movimiento de los estambres que tocan el gineceo. Esto puede provocar auto-polinización (además de polinización cruzada provocada por la abeja) debido a la cercanía de las estructuras sexuales de la flor (escasa hercogamia). Por lo tanto *O. microdasys* es susceptible de recibir polen de su misma flor lo que parece afectar el proceso de fecundación de los óvulos y probablemente la formación del fruto ya que estos se abortan, debido a que la planta posee un sistema reproductivo de autoincompatibilidad (Piña, 2007).

Depresión por endogamia

El diferencial del promedio en la adecuación o aptitud darwiniana (fitness) de la descendencia (producción de frutos, semillas, supervivencia de las plántulas y juveniles, etc) entre la polinización cruzada y la autopolinización nos brinda una medida de la depresión por endogamia (Mandujano *et al.*, 2010). De acuerdo con la siguiente fórmula para estimar la depresión por endogamia (θ), $\theta = 1 - (W_a/W_x)$, donde W_a es la aptitud darwiniana de la descendencia formada por autopolinización y W_x es lo correspondiente de la descendencia alógama. Lloyd (1979) mostró que la depresión por endogamia es un parámetro crítico para determinar el resultado de la selección natural que afecta la tasa de autofecundación. La xenogamia debe ser favorecida por selección natural cuando el índice de depresión por endogamia es < 0.5 , mientras que la autofecundación es favorecida y tendería a fijarse en las poblaciones cuando la depresión por endogamia es > 0.5 . Para el género *Opuntia* de 11 especies que han sido estudiadas, solo *O. macrocentra*, *O. engelmannii* y *O. rastrera* presentan depresión por endogamia (Mandujano *et al.*, 2010; 2013).

JUSTIFICACIÓN

Actualmente la Familia Cactaceae es un grupo que presenta disminución en sus poblaciones naturales incluso llevando a algunas especies como *O. abjecta* (Majure y Griffith 2013), *O. chaffeyi* (Hernández *et al.*, 2013) y *O. megarrhiza* (Hernández *et al.*, 2013) al borde de la extinción. Los estudios que se han llevado a cabo en especies del género *Opuntia* son extensos; sin embargo, lo que se conoce acerca de *O. decumbens* es prácticamente nulo, quizá por el hecho de ser un nopal con amplia distribución ha generado poco interés. Por tal razón, el estudio sobre la biología floral y reproductiva son aspectos importantes que nos permiten en primera instancia proporcionar aspectos ecológicos descriptivos de la especie y a su vez conocer las estrategias que implementan para su supervivencia en zonas con condiciones extremas como lo es el Valle de Zapotitlán Salinas. Este primer estudio de la biología reproductiva de *O. decumbens* sienta las bases para estudios comparativos que pudiesen analizar la variación espacial de los visitantes florales, las tasas de entrecruza, etc. bajo diversos escenarios (conservado vs perturbado, poblaciones reducidas vs poblaciones extensas, poblaciones aisladas vs poblaciones con alta conectividad, entre otros).

OBJETIVOS

Objetivo general

- Caracterizar la biología floral de *Opuntia decumbens* y su dependencia de los visitantes florales para la producción de semillas en el Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla

Objetivos particulares

- Describir la morfología floral de *Opuntia decumbens* y en función de ella determinar el sistema de apareamiento en el Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla.
- Describir la antesis floral de *Opuntia decumbens* en el Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla.
- Caracterizar el gremio de visitantes florales y determinar los potenciales polinizadores de *Opuntia decumbens* en el Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla.
- Determinar la dependencia de *Opuntia decumbens* de los polinizadores para la formación de semillas en el Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla.
- Determinar si la procedencia de polen tiene efecto en el volumen de los frutos, área y peso de las semillas de *Opuntia decumbens*.
- Evaluar la depresión por endogamia de *Opuntia decumbens* en función de la proporción de frutos que se forman y la germinación de semillas.

HIPÓTESIS

- El proceso de antesis dentro del género *Opuntia* es muy variado en cuanto a los intervalos de hora de apertura y hora del cierre total de la flor (Osborn *et al.*, 1988; Schlindwein y Wittman 1997). Sin embargo, especies de México como *O. macrocentra* y *O. rastrera* localizadas en el desierto chihuahuense; presentan un horario de apertura a las 8:00 h y de cierre de la flor a las 18:00 h y 19:30 h, respectivamente (Mandujano *et al.*, 1996; 2013), por lo que se espera que el proceso de antesis de *Opuntia decumbens*, este dentro de ese intervalo.
- Para el género *Opuntia* se ha registrado que los insectos son los principales visitantes florales, y que familias de abejas como Apidae, Anthophoridae, Halictidae, Megachilidae, los principales polinizadores (Grant *et al.*, 1979, Mandujano *et al.*, 1996; Piña, 2007; Mandujano *et al.*, 2013), por lo que se espera que *Opuntia decumbens* sea visitada principalmente por insectos y que sus potenciales polinizadores sean abejas.
- Dentro del género *Opuntia* se reconoce que en general presentan un sistema reproductivo mixto (autogamia y xenogamia al mismo tiempo) (Reyes-Agüero *et al.*, 2006; Mandujano *et al.*, 2013), por lo que se espera que *Opuntia decumbens* presente un sistema reproductivo mixto y al mismo tiempo que los servicios de polinizadores incrementen el número de óvulos fecundados, tal como se ha observado en *O. macrocentra* (Mandujano *et al.*, 2013).
- Se sabe que el origen del polen puede influir en algunas características morfológicas de las semillas y los frutos, principalmente los que reciben polen exógeno, es decir, mediante polinización cruzada, siendo estas más grandes o más pesadas (Castillo *et al.*, 2003). Estas características son importantes en los procesos de germinación y establecimiento de las plántulas dentro de una población (Ayala-Cordero *et al.*, 2004). Por lo anterior se espera que los frutos y semillas de *Opuntia decumbens* provenientes de polinización

cruzada sean más grandes y más pesadas, y a su vez estas características influyan positivamente en la germinación de las semillas.

- Depresión por endogamia ha sido reportada en 4 de 11 especies de *Opuntia* estudiadas, esto representa un 36% del total de especies (Mandujano *et al.*, 2010; Mandujano *et al.*, 2013). El porcentaje de especies que presentan depresión por endogamia es relativamente bajo, por lo que se espera que en *Opuntia decumbens* no exista depresión por endogamia.

MÉTODO

Área de estudio

El municipio de Zapotitlán Salinas se localiza al sureste del estado de Puebla y se encuentra enclavado en la porción suroccidental del Valle de Tehuacán. El Valle de Zapotitlán Salinas forma parte de este municipio y comprende una superficie aproximada de 86.76 km²; se ubica en los 18° 20' de latitud norte y 97° 28' de latitud oeste a una altitud de 1060 m (Arias *et al.*, 2000; Ramos-López, 2007) (Fig. 1).

El tipo de suelo que se encuentra en el valle de Zapotitlán Salinas es comúnmente de yeso y caliza, muchas veces con alto contenido de sales (Ramos-López, 2007). Presenta un clima seco o árido, semicálido, con una marcada época de lluvias en el verano. La precipitación anual es de 513.2 mm y su promedio de temperatura a lo largo de todo el año es de 25.1 °C (Arias *et al.*, 2000).

Las lluvias son escasas e irregulares y, cuando se presentan, son de tipo torrencial; además, el suelo retiene poca agua, provocando su rápido escurrimiento hacia los arroyos (Arias *et al.*, 2000). Por otro lado, se dan cambios extremos en la temperatura; por ejemplo, durante el día el sol intenso provoca altas temperaturas llegando hasta 40 °C y durante la noche la temperatura puede descender incluso por debajo de los 0°C (Arias *et al.*, 2000). Estas condiciones determinan que solamente algunos tipos de plantas puedan habitar en esa zona (Arias *et al.*, 2000).

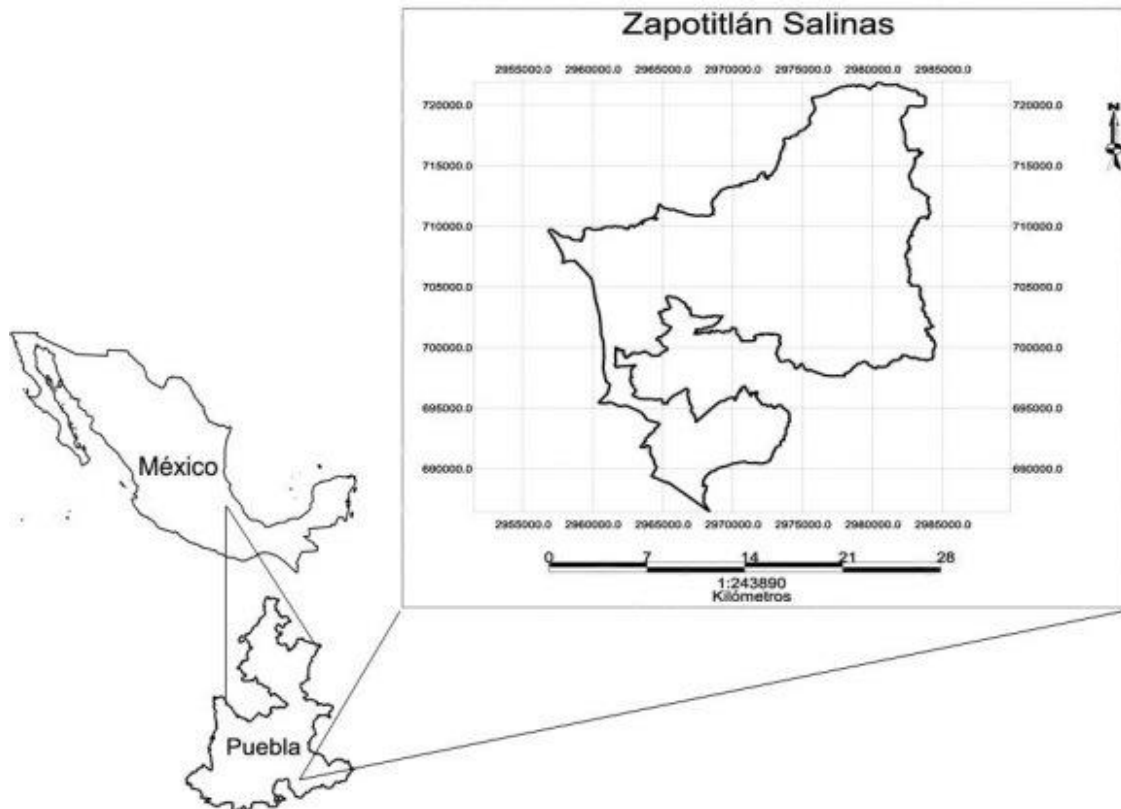


Figura 1. Ubicación del área de estudio en el municipio de Zapotitlán Salinas, Puebla.

Especie de estudio

Opuntia decumbens (Fig. 2), es un nopal rastrero cuya distribución abarca del norte de México, desde Sinaloa por el litoral del Pacífico y de Tamaulipas por el litoral del Golfo, hacia el sur, hasta Costa Rica (Arias y Areola, 1995; Arias *et al.*, 1997). Se distribuye en un rango altitudinal que abarca de 0 a 1300 m, preferentemente en bosques tropicales subcaducifolios, caduciflios y espinosos (Arias y Areola, 1995; Arias *et al.*, 1997).

Son plantas bajas, sin tronco bien definido, de 30 a 40 cm de altura, comúnmente rastreras, que forman a veces grandes matorrales (Bravo-Hollis, 1978). Presenta cladodios ovales, anchos, de 10 a 20 cm de longitud, pubescentes, de color verde amarillento (Bravo-Hollis, 1978). Las aréolas están rodeadas por una mancha rojiza,

provistas cuando jóvenes de glóquidas amarillentas y lana blanca. Las espinas son en general de 1 a 3 cm de longitud pero pueden alcanzar los 4 cm en algunos casos; son delgadas y amarillas (Bravo-Hollis, 1978).

En general se reporta que el periodo de floración es entre marzo y abril (Arias *et al.*, 1997), aunque en el valle de Zapotitlán durante nuestras investigaciones por dos años consecutivos (2013-2014) se le ha visto florecer de febrero a marzo/abril. Las flores son de 5 cm de diámetro y 4 cm de longitud incluyendo el ovario, los segmentos del perianto (pétalos) son amarillos antes de la antesis, y estos pueden cambiar significativamente después de la antesis a color rojizo o anaranjado (Arias y Areola, 1995). El fruto es de 3 cm de longitud, globoso, pubescente, de color rojo púrpura oscuro, con glóquidas abundantes. Las semillas son de 4 mm de diámetro, irregularmente orbiculares (Bravo-Hollis, 1978).



Figura 2. *Opuntia decumbens* en Zapotitlán Salinas, Puebla.

Morfología floral

Se recolectaron 17 flores abiertas de 17 individuos de *O. decumbens* y fueron conservadas en frascos de plástico con alcohol al 70% para posteriormente ser

revisadas. Las muestras se llevaron al laboratorio de Ecología y Evolución de Interacciones del Instituto de Ecología, A.C. para realizar el análisis morfométrico y conteo de algunos elementos de las flores. Con ayuda de un microscopio estereoscópico y vernier se estimaron las medidas de los siguientes atributos florales: (A) área de la corola (el área se obtuvo con el programa ImageJ) (Rasband, 1997), (B) diámetro de la corola, (C) longitud total, (D) longitud interna, (E) longitud del gineceo, (F) longitud del estigma, (G) longitud del estilo. Además se cuantificaron las siguientes estructuras: (H) número de lóbulos del estigma, (I) número de estambres, (J) número de hojas rudimentarias, número de pétalos tomados como: (K) segmento exterior del perianto y (L) segmento interior del perianto. Con ayuda de una hoja de bisturí se hizo un corte longitudinal y transversal del ovario de cada flor para conocer el (M) número de óvulos contenidos dentro de este (Fig. 3). De las variables morfométricas y las cuantificaciones obtenidas se obtuvo el promedio y error estándar, así como el valor máximo y mínimo.

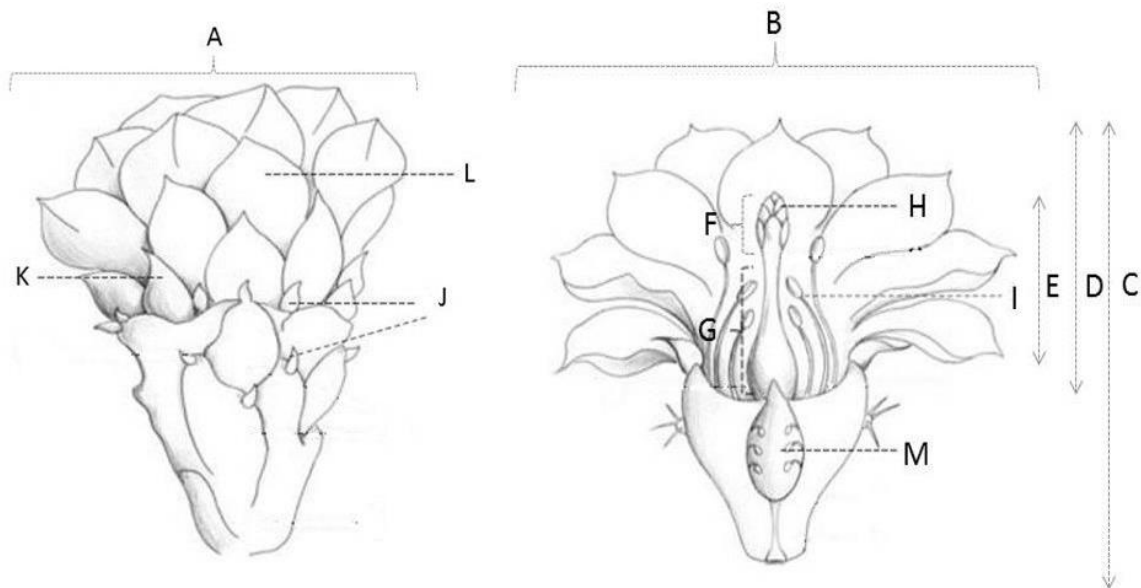


Figura 3. Atributos florales de *Opuntia decumbens* cuantificados en una población del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla (fotografía tomada de Mandujano *et al.*, 2010). (A) área de la corola, (B) diámetro de la corola, (C) longitud total, (D) longitud interna, (E) longitud del gineceo, (F) longitud del estigma, (G) longitud del estilo. Se cuantificaron las siguientes estructuras: (H) lóbulos del estigma, (I) número de estambres, (J) hojas rudimentarias, número de pétalos tomados como (K) segmento exterior del perianto, (L) segmento interior del perianto, y (M) número de óvulos.

Sistema de apareamiento

Con base en las características morfológicas de las flores, se calculó el Índice de Polinización Cruzada (OCI) (Cruden, 1977), con el cual se infirió el sistema de apareamiento de *O. decumbens*. Para el cálculo del OCI a partir de los caracteres morfológicos se asignaron valores a las diferentes categorías con los siguientes criterios:

Diámetro de la corola: Diámetro de la corola ≤ 1 mm (0), $1 \text{ mm} < \text{diámetro de la corola} \leq 2$ mm (1), $2 \text{ mm} < \text{diámetro de la corola} \leq 6$ mm (2), y diámetro de la corola > 6 (3).

Dicogamia: sí la flor presenta homogamia o protoginia (0), o protandria (1).

Hercogamia: si el estigma y anteras están al mismo nivel (0), y si hay diferencia en la altura de estigma y anteras (1).

El OCI se calcula sumando los valores asignados de cada carácter morfológico. Una sumatoria de cero indica que la flor es cleistógama, una sumatoria igual a 1 indica que la flor es autógama obligada, 2 indica autógama facultativa, 3 xénogama facultativa y 4 xenógama obligada (Cruden, 1977).

Antesis floral y maduración del estigma

La duración de la antesis y el ciclo floral de *O. decumbens* se estudió en 12 individuos observando dos flores en cada uno. Los ejemplares se seleccionaron y marcaron a las 8:00 h ya que a esta hora aún no abren las flores y se les dio seguimiento cada hora, hasta las 18:00 h, registrando durante ese intervalo de tiempo el estado de la antesis. Los estados de la flor a lo largo de su ciclo se definieron como: inicio de la antesis, dehiscencia de las anteras, corola completamente abierta, inicio del cierre de la flor y flor cerrada. La receptividad estigmática se evaluó poniendo una solución a base de guayacol y agua oxigenada en el lóbulo del estigma (McInnis *et al.*, 2006). Este ensayo se realizó en 3 estigmas de 3 flores en 5 individuos cada hora durante la fase antesis.

Visitantes florales

Se realizaron observaciones directas de los visitantes florales entre las 10:00 h y las 18:00 h (rango de hora en que se cumple la antesis floral) durante lapsos de 20 minutos espaciados por 10 minutos de traslado/descanso a otra planta. La observación fue realizada en dos flores simultáneamente por individuo. Para cada visita a las flores se registró la hora del día, el tiempo de permanencia en la flor y actividad que realiza el visitador. Se realizaron un total de 24 h de observación en 182 flores durante tres días, en el mes de abril del 2013.

Los visitantes florales fueron colectados y preservados en etanol al 70% y llevados al laboratorio para su posterior identificación con las siguientes claves taxonómicas: himenópteros (Hormigas) (Hölldobler y Wilson, 1990), hemípteros, coleópteros, dípteros e himenópteros (abejas y avispas) (Arnett, 1973; Borror *et al* 1981; Triplehorn y Johnson, 2005).

La frecuencia de visitas de los visitantes florales a lo largo del día se comparó mediante una prueba de Ji-cuadrada. El tiempo que pasan los visitantes más frecuentes en las flores de *O. decumbens* se comparó mediante un modelo lineal generalizado utilizando una estructura de error gamma y una prueba a posteriori de contraste de medias (Crawley, 2007).

Polinizaciones controladas

El sistema de cruzamiento de *O. decumbens* se evaluó mediante cinco tratamientos de polinizaciones manuales realizadas en el mes de febrero del 2013. Se seleccionaron de manera dirigida 20 parches de individuos de *O. decumbens* con mínimo cinco botones florales próximos a abrir en cada parche. Cada botón fue cubierto con un cono de papel (excepto las flores que tendrían el tratamiento de polinización natural) para excluir a los visitantes florales. Las flores se marcaron individualmente con etiquetas de aluminio para no perder identidad de cada tratamiento realizado. En total se utilizaron 100 flores, i.e, 20 réplicas para cada tratamiento. Al finalizar el tratamiento de polinización correspondiente las flores fueron cubiertas nuevamente con conos de papel. Los tratamientos de polinización

que se llevaron a cabo fueron los siguientes y fueron asignados aleatoriamente entre las cinco flores de cada parche.

- A. Polinización natural en campo: las flores marcadas se dejaron expuestas naturalmente a los visitantes florales.
- B. Polinización cruzada: las flores se polinizaron con polen exógeno y posteriormente se cubrieron nuevamente con conos de papel para excluir a los visitantes florales. La polinización se realizó recolectando polen de al menos tres individuos distintos y lejanos, y se aplicó en los lóbulos del estigma en la flor experimental hasta saturarlo, esto se realizó con un pincel del número dos.
- C. Autopolinización manual: las flores se polinizaron con polen procedente de la misma flor con un pincel del número dos. Los granos de polen fueron depositados sobre el estigma hasta saturarlo y se cubrieron nuevamente con conos de papel.
- D. Apomixis: dada la cantidad de estambres que presentan las flores de *O. decumbens* fue difícil realizar la emasculación de las mismas, por lo que se procedió a colocar segmentos de popotes de 2 cm de largo sellados con cinta plástica autoadherible transparente (Diurex) en uno de los extremos para mantenerlo cerrado y colocarlos en el estigma de la flor y de esta manera impedir que el polen llegara al estigma de la flor.
- E. Polinización automática: las flores permanecieron cubiertas con conos de papel durante todo el experimento. Con este experimento se espera ver si al momento en que la flor comienza a cerrar se puede autopolinizar.

Morfología del fruto y producción de semillas

Las flores marcadas de cada uno de los tratamientos de polinización que se realizaron en el mes de marzo de 2013, se observaron mensualmente hasta el mes de junio del mismo año, en este último mes se colectaron los frutos maduros. Todos los frutos se llevaron al laboratorio para analizarlos. De cada fruto en fresco se obtuvo el largo y ancho con ayuda de un vernier, y posteriormente se realizó el

conteo de semillas producidas. Ya que el fruto producido por *O. decumbens* asemeja la forma de un cono, usando las medidas de largo y ancho se estimó el volumen de cada fruto a partir de la fórmula propuesta por Hernández-Barrera y Treviño-Carrerón (1998):

$$V = 1/3 \pi (D/2)^2 t$$

Donde:

V = es el volumen aproximado

D = diámetro de la parte más ancha del fruto

t = longitud del fruto

Para conocer si existe relación entre el volumen de los frutos (covariable) y el número de semillas que estos producen, se realizó un análisis de covarianza (ANCOVA) mediante un modelo lineal generalizado utilizando una estructura de error gamma y una prueba a posteriori de contraste de medias entre cada uno de los distintos tratamientos de polinización (Crawley, 2007).

Pruebas de germinación

Para optimizar la germinación de las semillas de *O. decumbens* provenientes de las manipulaciones experimentales de polinización, primero se ensayaron diferentes tratamientos de escarificación con semillas obtenidas de 39 frutos colectados en el sitio de estudio, estos se colectaron de individuos que no tuvieron que ver con los experimentos de polinizaciones manuales. De las semillas de estos frutos se tomaron 400 de forma aleatoria asignando 100 semillas a cada uno de los cuatro tratamientos de escarificación.

Los tratamientos de escarificación utilizados fueron: I) Almacenaje en frío (4 °C) por 14 días, II) remojo en ácido clorhídrico 1N por 1min, III) escarificación mecánica, frotando las semillas entre dos láminas de lija de agua del cero adheridas a superficies rígidas, y IV) sin tratamiento pregerminativo (Control). Una vez terminado este proceso de escarificación se llevó a cabo el desinfectado de las semillas siguiendo el protocolo utilizado por Navarro *et al.*, (2010), las semillas fueron

sumergidas en una solución de cloro comercial (Cloralex) en una proporción 70% cloro y 30% agua durante 2min, después se enjuagaron nuevamente en agua destilada durante 2 min y se introdujeron en una solución de 1g/200ml de fungicida (Stroby DF) durante 2min para evitar la proliferación de hongos.

Una vez escarificadas y desinfectadas, las semillas se sembraron con ayuda de pinzas en charolas de plástico de 14.5x14.5 cm con 170 g de sustrato tomado del sitio de estudio previamente esterilizado en horno de microondas durante 10min. Cada caja de plástico contenía 20 semillas de cada uno de los cuatro tratamientos de escarificación, los lotes de semillas se separaron con barras plastificadas para evitar que se revolvieran. Cada charola fue regada con agua destilada a capacidad de campo cada tercer día. Las charolas se mantuvieron en cámara de germinación con un fotoperiodo de 12 x 12 horas y una temperatura de 28 a 32 °C. Durante 10 semanas las charolas se revisaron diariamente y se registró el número de semillas que germinaron (considerándose una semilla germinada cuando se observó la presencia de radícula).

A la décima semana se observaron diferencias significativas entre los tratamientos de escarificación ($X^2= 14.4$, $gl=3$, $p= 0.00239$), obteniéndose el mayor porcentaje de germinación en el tratamiento de escarificación por frío (80%), seguido del grupo control (74%) y escarificación con ácido clorhídrico (71%), mientras que la escarificación mecánica presentó el menor porcentaje de germinación (56%). La comparación entre grupos indicó que la escarificación en frío, control y ácido clorhídrico no difieren entre sí, siendo la escarificación mecánica la que difiere significativamente de los demás grupos por tener el menor porcentaje de germinación.

Por lo anterior, se decidió iniciar el experimento de germinación con las semillas obtenidas del experimento de polinización sin someterlas a ningún proceso de escarificación. Este experimento se realizó de la misma forma que se describió anteriormente y de igual manera las charolas se revisaron durante 10 semanas diariamente y se registró el número de semillas que germinaron. Dado que se produjeron en total solo 37 semillas del tratamiento de apomixis se optó por incluir

este número de semillas de cada uno de los otros tratamientos, y en todos los casos, excepto el de apomixis, las semillas se seleccionaron aleatoriamente. Adicional a esto cada semilla cada fue pesada en balanza analítica y se obtuvo el área con el programa ImageJ (Rasband, 1997), ya que la masa y talla de las semillas podría estar relacionada con la tasa de germinación (Badano y Schlumpberger, 2001; Moya-Laraño *et al.*, 2008). El peso y área de las semillas se analizó con análisis de varianza de un factor (ANOVA) y una prueba a posteriori de comparación de medias por contrastes (Crawley, 2007).

La supervivencia de las semillas de los tratamientos con escarificación y de las polinizaciones manuales, se analizaron mediante modelos de supervivencia con el método de Kaplan-Meyer, y se utilizó el método de Cox para realizar comparaciones entre cada uno de los tratamientos (Crawley, 2007).

Depresión endogámica

Se estimó la depresión endogámica en *Opuntia decumbens* sobre la base de la proporción de frutos formados y semillas que germinan provenientes de los tratamientos de polinización cruzada y autopolización (ambos manuales) como una medida de adecuación con la fórmula propuesta por Charlesworth y Charlesworth (1987):

$$\bar{d} = 1 - (\omega_s / \omega_x)$$

donde: ω_s y ω_x son la adecuación de la progenie por autopolinización y polinización cruzada respectivamente. Valores de 0.5 a 1 indican depresión por endogamia.

Todos los análisis fueron realizados con el paquete estadístico R (R Development Core Team, 2009) y se usó un alfa crítico (probabilidad para rechazar las hipótesis nulas) de $P = 0.05$ para cada una de las pruebas.

RESULTADOS

Morfología floral, antesis floral y maduración del estigma

Las flores de *O. decumbens* miden en promedio (\pm error estándar) 5.05 ± 0.05 cm de longitud total, el diámetro de la flor es de 5.98 ± 0.12 , la longitud interna mide 2.44 ± 0.04 cm. En promedio presenta 20.17 ± 0.67 hojas rudimentarias y la corola se compone de un primer segmento exterior del perianto con 9.00 ± 0.28 pétalos y un segundo segmento interior del perianto constituido por 16.58 ± 0.32 pétalos en promedio (Tabla 1).

La longitud del gineceo es de 2.67 ± 0.05 cm, el estilo floral mide 1.57 ± 0.009 cm y el estigma mide 2.73 ± 0.07 mm y con 5, 6 o 7 lóbulos en el estigma. El número promedio de estambres que presenta es de 243.82 ± 5.90 dispuestos alrededor del gineceo; presenta estambres cortos y largos, siendo los largos los que sobresalen y los cortos ubicados en la parte interior de la flor, llegando hasta la base del receptáculo floral. El número promedio de óvulos fue de 102.41 ± 3.80 (Tabla 1).

Con base en el índice de polinización cruzada (OCI) *O. decumbens* puede ser clasificada como una especie xenógama facultativa (OCI= 3), ya que el diámetro de la corola es mayor a los 6 mm, presenta homogamia (los verticilos florales reproductivos maduran de manera simultánea), y la hercogamia es pequeña.

Tabla 1. Promedio \pm error estándar y valor máximo y mínimo de los atributos florales de *Opuntia decumbens* en una población del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla.

ATRIBUTO FLORAL	MEDIA \pm EE	MÍNIMO	MÁXIMO
Diámetro de la corola	5.98 \pm 0.12	5.1	6.9
Área de la corola (cm ²)	25.92 \pm 0.70	18.5	31.12
Hoja rudimentaria	20.17 \pm 0.67	16	25
Segmento exterior del perianto	9.00 \pm 0.28	7	11
Segmento interior del perianto	16.58 \pm 0.32	14	19
Long. Total	5.05 \pm 0.05	4.6	5.35
Long. Interna	2.44 \pm 0.04	2.1	2.65
Long. del gineceo	2.67 \pm 0.05	2.2	2.95
Long. del estigma (mm)	2.73 \pm 0.07	2	3
Long. del estilo	1.57 \pm 0.009	1.5	1.7
Número de óvulos	102.41 \pm 3.80	74	135
Número de estambres	243.82 \pm 5.90	194	300
Lóbulos del estigma	6.00 \pm 0.14	5	7

Las flores nuevas de *O. decumbens* son de un color amarillo brillante y la antesis ocurre en solo un día. En la población estudiada, la antesis comenzó entre las 10:00 y 10:30 h de la mañana y la dehiscencia de las anteras se llevó a cabo en promedio (\pm error estándar) 8.5 ± 1.4 minutos después de la apertura de la corola. En general, las flores están completamente abiertas 30 minutos después de que la flor inició el proceso de apertura. La reacción de guayacol con el estigma al inicio del proceso de antesis fue débil ya que sólo se teñían las puntas de cada lóbulo, sin embargo, se puede inferir que el estigma esta receptivo desde el inicio de la antesis, por lo que se sugiere que esta especie presenta homogamia. Por la tarde, las flores comenzaron a cerrarse a partir de las 16:20 h y las primeras flores completamente cerradas se observaron a partir de las 17:15 pero generalmente la antesis concluyó a las 18:00 h, cuando la mayoría de las flores estaban cerradas. Todo el proceso tomó ocho horas; y cuando éste finaliza las flores se tornan de color anaranjado-rojizo (Tabla 2).

Tabla 2. Eventos de antesis de *Opuntia decumbens* (N=12 flores) en una población del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla.

EVENTO	RANGO DE HORA
Inicio de la antesis	10:00-10:30
Dehiscencia de las anteras	10:08-10:39
Corola completamente abierta	11:00-11:20
Máxima turgencia del estigma	*
Inicio del cierre de la flor	16:20-16:35
Flor cerrada	17:15-18:00

*El estigma no abre los lóbulos, y solo se teñen las puntas de los mismos, por lo que el estigma podría estar receptivo desde el inicio de la antesis.

Visitantes florales

Las flores de *O. decumbens* fueron visitadas por insectos de los órdenes Hymenoptera, Diptera, Coleoptera, Lepidoptera, Neuroptera y Hemiptera. La actividad de los visitantes florales fue continua desde el momento de apertura de las flores hasta poco antes de que estas cierren (10:00 a 17:00 h). La frecuencia de los diferentes tipos de visitante florales varió significativamente a lo largo del día ($X^2=86.23$, g.l. = 12, $P < 0.001$, Fig. 4).

El orden de insectos con mayor frecuencia de visitas fue Coleoptera, seguido de los órdenes Hymenoptera y Diptera, siendo dentro de estos órdenes las familias Nitidulidae (184 visitas), Andrenidae (54) y Bombyliidae (32) las más frecuentes. Las familias de abejas fueron las que mayor proporción de toques al lóbulo del estigma tuvieron, la Familia Apidae con 71.43% seguido de las Familias Megachilidae (66.67%), Halictidae (54.17%) y Oxaeidea (44.44%), y la que menos tuvo fue la Familia Andrenidae (14.81). La Familia de moscas Bombyliidae tuvo 40.63% de efectividad, mientras que la familia de escarabajos Nitidulidae fue la menos efectiva con 2.17% (Tabla 3). La actividad de las abejas (Hymenoptera: Apoidea) se registró a lo largo de todo día pero se presentó un pico de actividad entre las 14:00 y las 15:00 h (Fig. 4). Las abejas fueron el grupo con más familias taxonómicas visitando las flores de *O. decumbens* (Tabla 3).

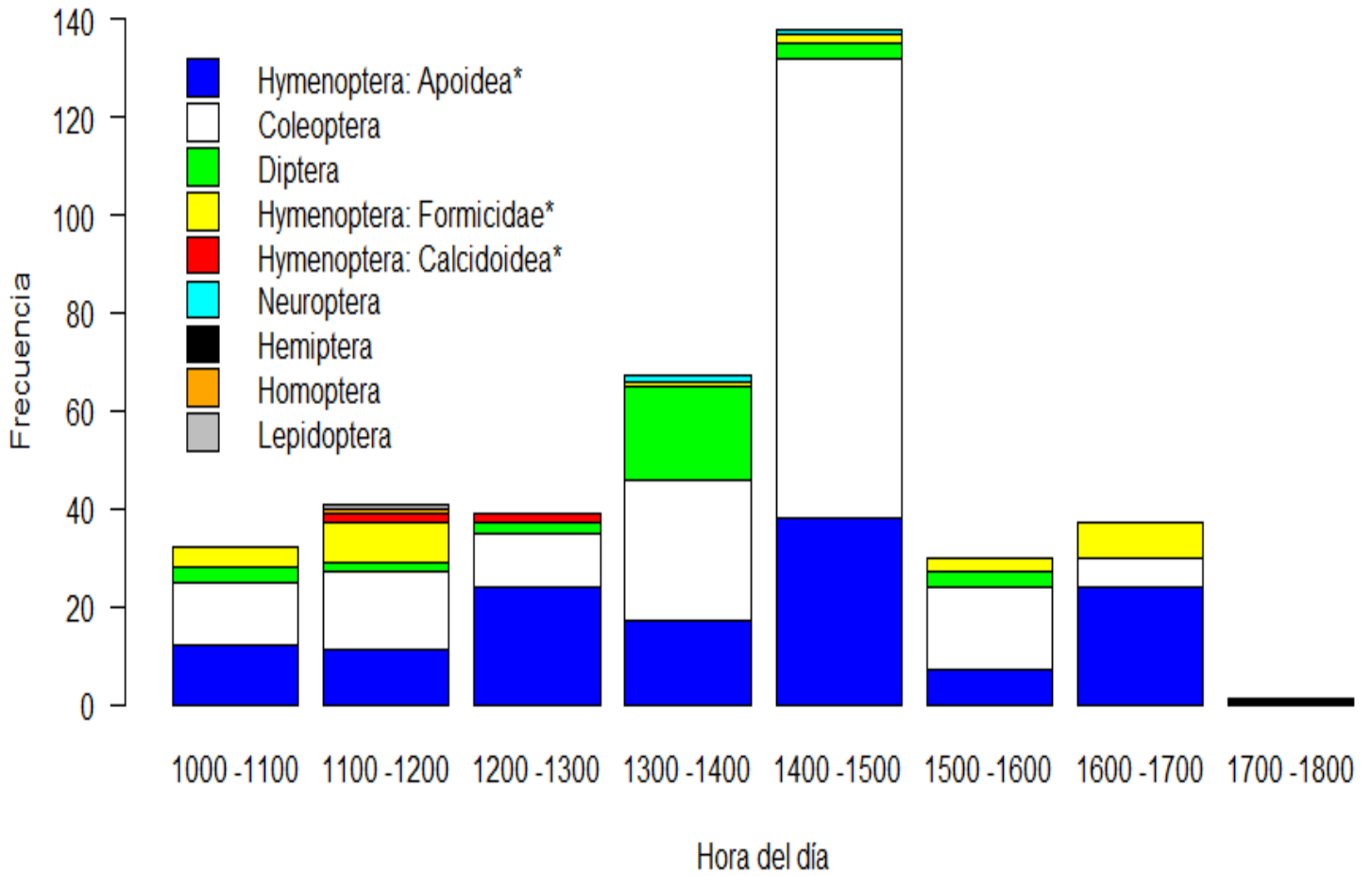


Figura 4. Frecuencia de visitas por hora de los grupos de visitantes florales a lo largo de la antesis de *Opuntia decumbens* en una población del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla.

Tabla 3. Frecuencia de visitantes florales y proporción de toques al lóbulo del estigma de *Opuntia decumbens* en una población del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla, indicando la actividad principal en las flores.

ORDEN	FAMILIA	FRECUENCIA	PRPORCIÓN DE TOQUES AL LÓBULO	ACTIVIDAD
Hymenoptera	Apidae*	7	71.43	Polinizador
Hymenoptera	Megachilidae*	30	66.67	Polinizador
Hymenoptera	Oxaeidae*	18	44.44	Polinizador
Hymenoptera	Halictidae*	24	54.17	Polinizador
Hymenoptera	Andrenidae*	54	14.81	Ladrón de polen
Hymenoptera	Chalcididae	2	0	Percha
Hymenoptera	Formicidae (Dolichoderinae sp1)	11	0	?
Hymenoptera	Formicidae (Dolichoderinae sp2)	11	0	?
Hymenoptera	Formicidae (Pseudomyrmecinae)	3	0	?
Diptera	Bombyliidae	32	40.63	Polinizador
Coleoptera	Buprestidae	2	0	Percha
Coleoptera	Nitidulidae	184	2.17	Protección/Apareamiento
Neuroptera	Chrysopidae	2	0	Depredador
Lepidoptera	Lepidoptera	1	0	?
Hemiptera	Reduviidae	1	0	Depredador
Homoptera	Aleyrodidae	1	0	Percha

El tiempo de visita de cada uno de los grupos de visitantes florales varió significativamente ($X^2= 19.06$, g.l.= 2, $p < 0.001$, Fig. 5). La familia Formicidae fue la que pasó más tiempo en las flores (28.52 ± 6.31 s, promedio \pm error estándar), seguido de las familias de abejas (10.77 ± 1.54 s) y la Familia Bombyliidae (4.65 ± 1.35 s) siendo todas estas estadísticamente diferentes entre sí ($P < 0.05$), de acuerdo con la prueba de contraste de medias. Los escarabajos no fueron considerados en este análisis ya que durante las observaciones de visitas, no se observó la salida de alguno de estos de la flor (Fig. 6), el resto de los visitantes florales tampoco fueron considerados ya que pasaron muy poco tiempo en las flores.

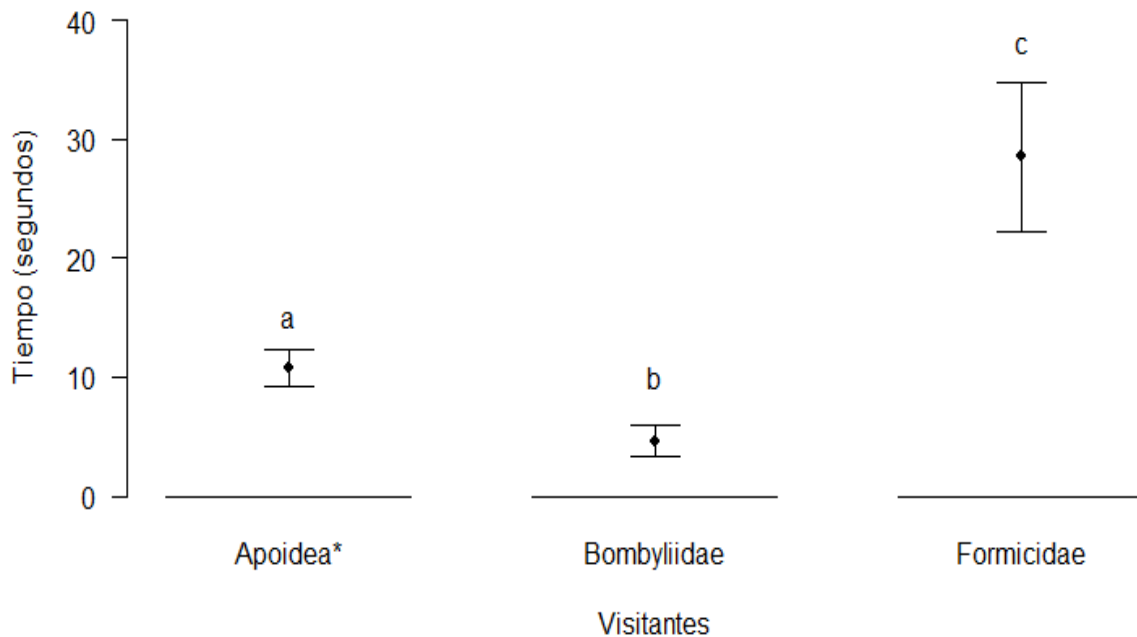


Figura 5. Tiempo de visita de los tres grupos de visitantes florales que mayor tiempo permanecieron en las flores de *Opuntia decumbens* en una población del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla.

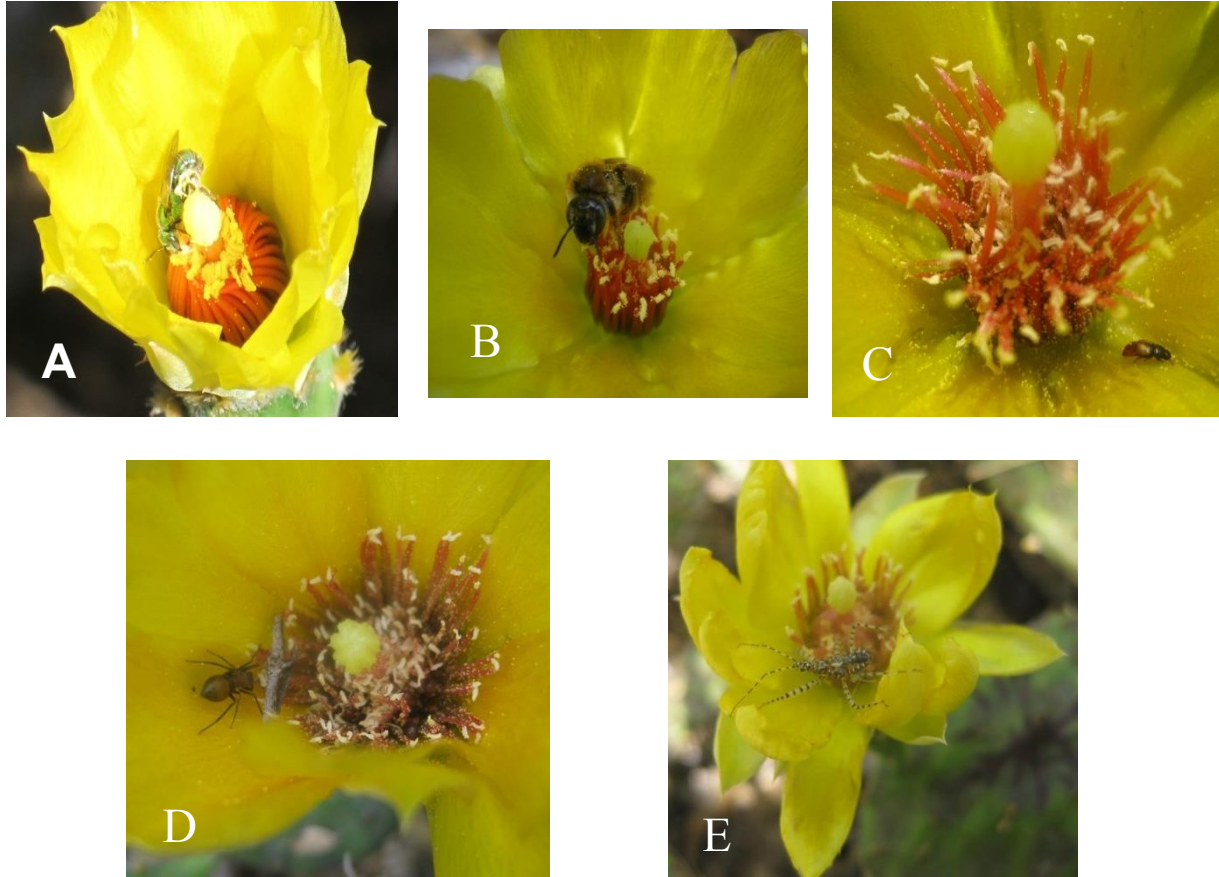


Figura 6. Visitantes florales de *Opuntia decumbens* en una población del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla. Familias: (A) Halictidae, (B) Apidae, (C) Nitidulidae, (D) Formicidae: Dolichoderinae, (E) Reduviidae.

Polinizaciones manuales

Con base a las polinizaciones manuales realizadas, se registró que los tratamientos de autopolinización y polinización natural fueron similares en la producción de frutos (11 respectivamente), seguidos de los tratamientos de polinización cruzada (10) y apomixis (4). En el tratamiento de polinización automática no hubo producción de frutos. Con lo anterior el sistema de cruzamiento que presenta *O. decumbens* es mixto.

El volumen promedio (\pm error estándar) de los frutos en función de cada tratamiento de polinización fue en el de autopolinización ($2.06 \pm 0.18 \text{ cm}^3$) y de polinización natural (2.06 ± 0.19), seguidos del de polinización cruzada (1.48 ± 0.18) y apomixis (0.92 ± 0.22) (Tabla 4).

Tabla 4. Producción y características morfométricas de frutos de *Opuntia decumbens* de cuerdo a cada uno de los tratamientos de polinización realizados en una población del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla: AP) autopolinización, PC) polinización cruzada, PN) Polinización natural, APO) apomixis y PA) polinización automática. Los valores presentados son medias \pm error estándar.

TRATAMIENTO	FRUTOS				
	Producción total	% de producción	Largo (cm)	Ancho (cm)	Volumen (cm ³)
AP	11	55	3.26 \pm 0.08	1.5 \pm 0.05	2.06 \pm 0.18
PC	10	50	2.75 \pm 0.11	1.35 \pm 0.06	1.48 \pm 0.18
PN	11	55	3.11 \pm 0.12	1.56 \pm 0.05	2.06 \pm 0.19
APO	4	20	2.75 \pm 0.13	1.10 \pm 0.11	0.92 \pm 0.22
PA	0	0	0	0	0

El número de semillas producidas por fruto varió significativamente entre los tratamientos de polinización ($X^2= 3.50$ g.l.= 3, $p < 0.001$). Los frutos de PN son los que tuvieron mayor producción promedio de semillas (27.84 \pm 2.12), seguido de AP (20 \pm 2.23), PC (11.27 \pm 1.44) y APO (9.25 \pm 2.92). La prueba de contrastes indicó que los tratamientos de APO y PC fueron similares entre sí, pero ambos difieren de AP y PN (Fig. 7). Así mismo la producción de semillas covarió significativamente con el volumen del fruto entre los tratamientos ($X^2= 23.51$, g.l.= 68, $p < 0.001$), sin embargo, el valor de la pendiente en el tratamiento de polinización natural no fue estadísticamente significativa ($p= 0.63$) (Fig. 8).

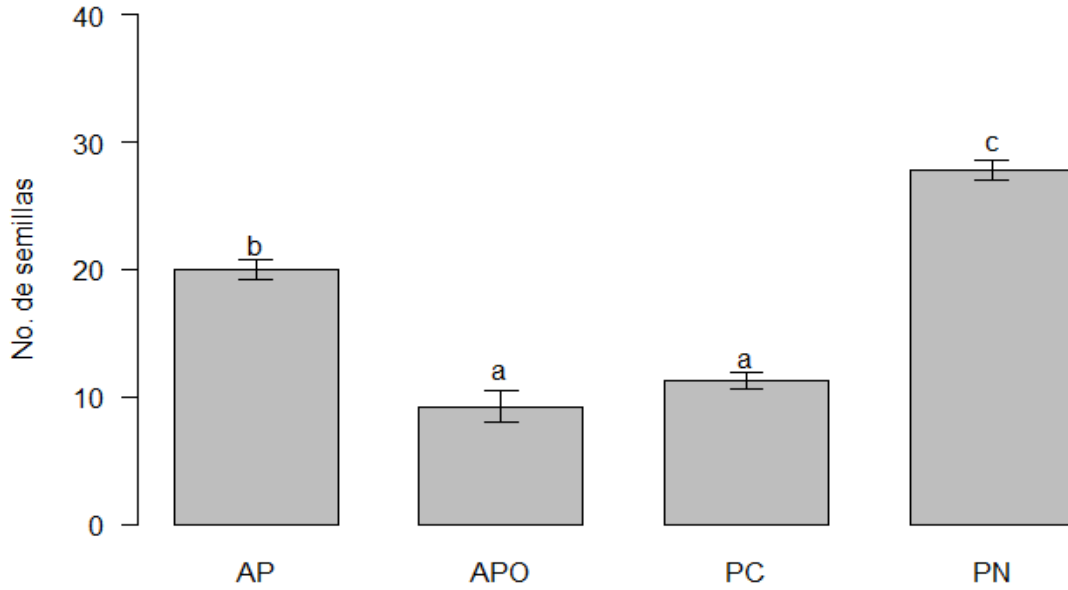


Figura 7. Producción de semillas (número) a partir de flores de *Opuntia decumbens* a las que se aplicó diferentes tratamientos de polinización en una población del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla. Las letras diferentes indican diferencias significativas en las medias. AP: autopolinización, APO: apomixis, PC: polinización cruzada, PN: Polinización natural.

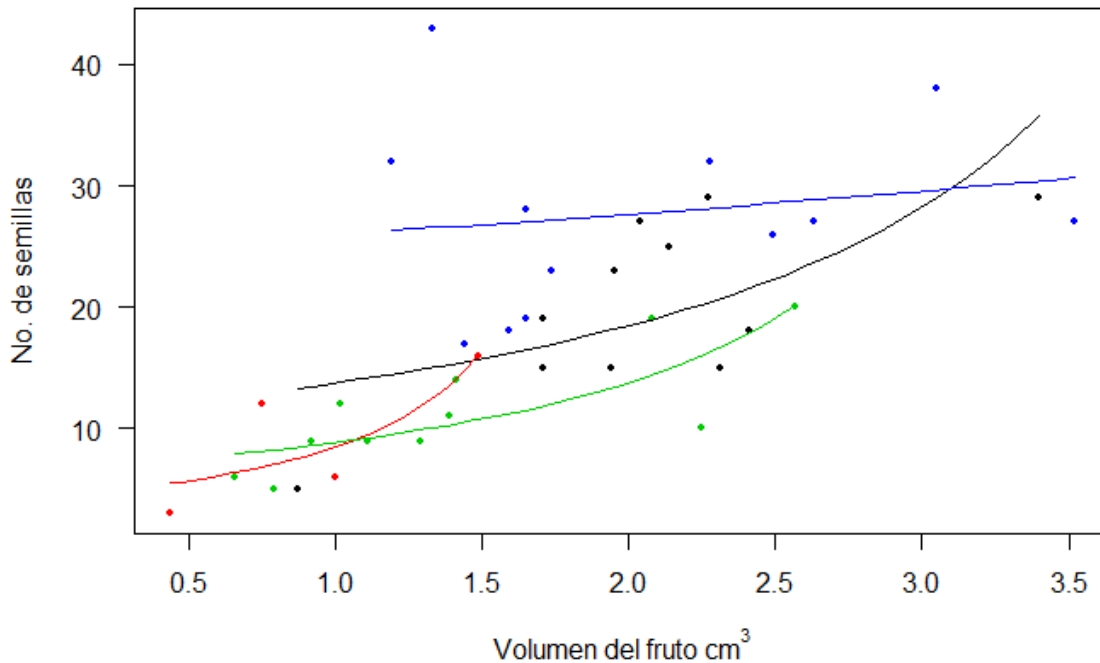


Figura 8. Relación del tamaño de los frutos y la producción de semillas de *Opuntia decumbens* a las que se aplicó diferentes tratamientos de polinización en una población del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla. AP: autopolinización, APO: apomixis, PC: polinización cruzada, PN: Polinización natural.

El peso de las semillas entre los tratamientos de polinización resultó estadísticamente diferente ($F_{3,144} = 2.77$, $P = 0.0438$). En el tratamiento de PC se presentaron las semillas más pesadas (8.55 ± 0.15) ($t = 1.92$, g.l. = 144 $P = < 0.05$), seguido del tratamiento de apomixis (8.10 ± 0.16), autopolinización (8.04 ± 0.19) y polinización natural (7.92 ± 0.15) (Fig. 9).

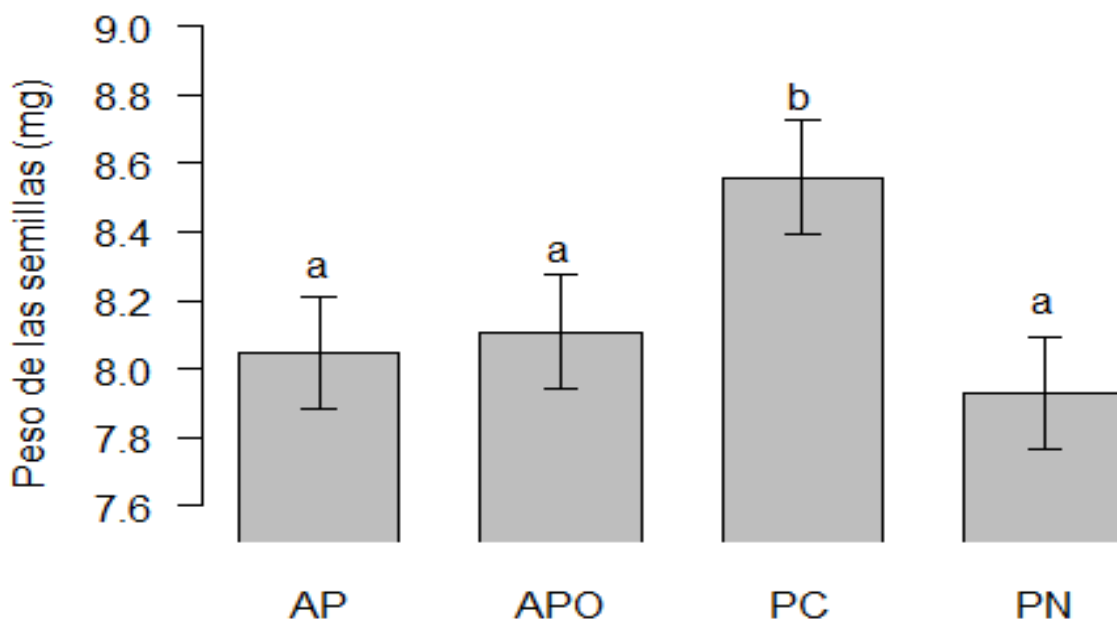


Figura 9. Peso promedio de las semillas producidas en flores de *Opuntia decumbens* a las que se les aplicó diferentes tratamientos de polinización en una población del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla AP: autopolinización, APO: apomixis, PC: polinización cruzada, PN: polinización natural, letras diferentes en las medias indican diferencias significativas entre los tratamientos.

No hubo diferencias significativas del área de las semillas en función de los tratamientos de polinización ($F_{3,144} = 2.3034$, $P = 0.0795$), aunque en el tratamiento de polinización cruzada hubo una tendencia a producir las semillas más grandes (76.27 ± 1.04 mm²) seguido del tratamiento de apomixis (73.02 ± 1.23), polinización natural (72.81 ± 1.36) y autopolinización (71.91 ± 1.33) (Fig. 10).

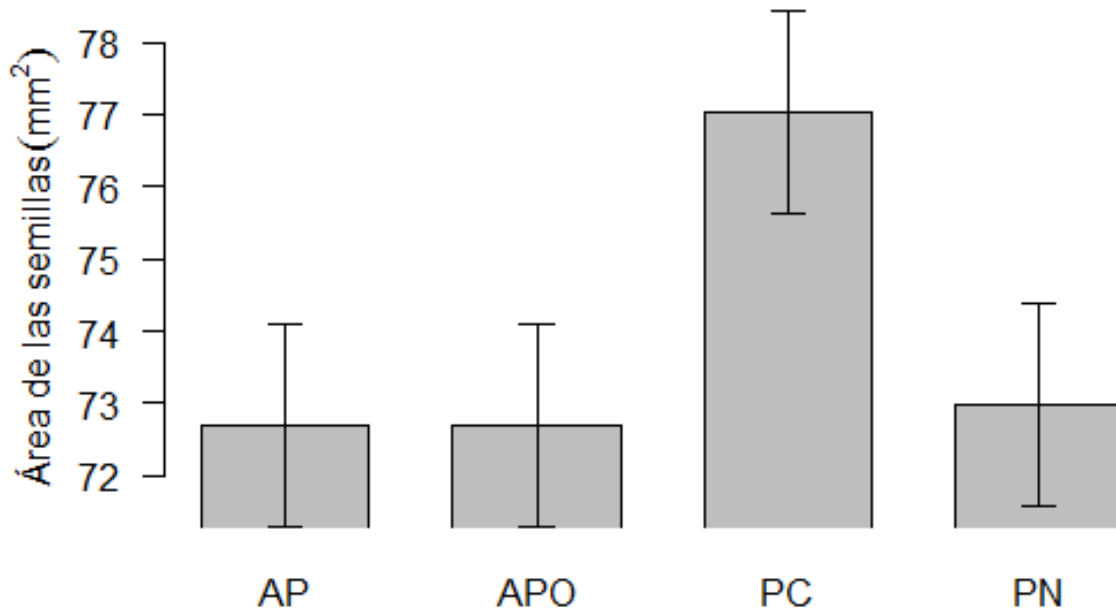


Figura 10. Área promedio de las semillas producidas en flores de *Opuntia decumbens* a las que se les aplicaron diferentes tratamientos de polinización en una población del Valle de Zapotitlán, Salinas, Puebla. AP: autopolinización, APO: apomixis, PC: polinización cruzada, PN: polinización natural.

Germinación

En todos los tratamientos, la germinación inició en la segunda semana de observación. No hubo diferencias significativas entre los tratamientos ($X^2 = 1.02$, g.l.= 3, $P = 0.795$, Fig. 11). No obstante, la mayor germinación se registró en las semillas que se produjeron por apomixis (56.75%), seguido de autopolinización y polinización cruzada con 45.94% en ambos tratamientos, y las semillas de polinización natural fueron las que menos germinaron (43.24%).

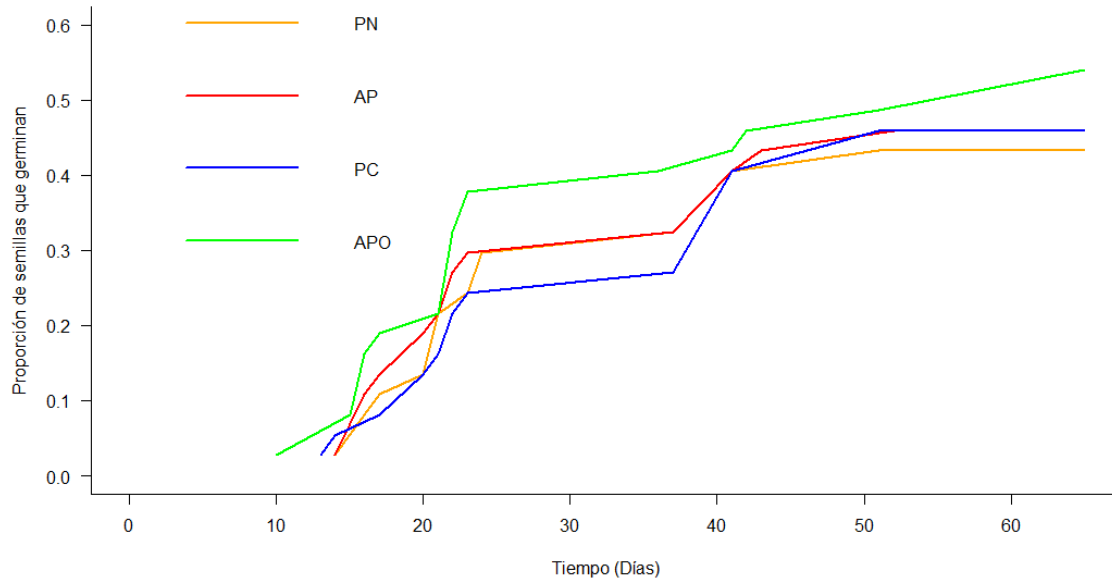


Figura 11. Germinación de semillas de *Opuntia decumbens* producidas de flores a las que se les aplicaron diferentes tratamientos de polinización en una población del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla. A = (Polinización natural), B = (Autopolinización); C = (Polinización cruzada) y D (Apomixis).

No se encontró evidencia de depresión por endogamia en *O. decumbens* ya que los valores de este índice basado en la proporción de frutos producidos y semillas que germinaron fueron $\delta = -0.1$ y 0, respectivamente.

DISCUSIÓN

Biología floral y visitantes florales

La población estudiada de *O. decumbens* en el Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla, presenta un proceso de antesis el cual se cumple aproximadamente en un periodo de 8 horas, iniciando a las 10:00 h de la mañana y culminando a las 18:00 h por la tarde, estas flores son de un día. Comparado con dos especies del desierto chihuahuense, *O. macrocentra* y *O. rastrera* que comparten la característica de un desarrollo postrado con *O. decumbens*, el proceso de antesis en *O. decumbens* fue más corto ya que inicia más tarde por la mañana (10:00 h) mientras que en las especies del desierto Chihuahuense inicia a las 08:00 h y culmina entre las 18:00 h y 19:30 h respectivamente, durando la antesis aproximadamente un periodo de 10 y 11.5 h (Mandujano *et al.*, 1996; 2013) mientras que en *O. decumbens* la antesis duró solo 8 h.

En Río Grande do Soul, Brasil, *O. brunneogermnia* tiene un periodo de antesis de 6 a 8 h, mientras que *O. viridiruba* de 6 a 12 h, y en Colorado E.U. *O. polycantha* y *O. phaeacantha* presentan un periodo de antesis de 7 a 11 h, éstas especies tienen la característica de que no tiene una hora fija para el inicio de antesis, pueden empezar a abrir a medio día o por la tarde y por la noche cerrarse y al día siguiente volver a abrir (Osborn *et al.*, 1988; Schlindwein y Wittman 1997) condición que en *O. decumbens* no sucede.

Con lo anterior se puede notar que el proceso de antesis resulta ser muy variable dentro del género *Opuntia* y que quizá aspectos como la distribución (altitud y latitud) y factores abióticos podrían tener influencia sobre este proceso. En *O. decumbens* se observó que las flores que se encuentran más expuestas a mayor radiación solar comienzan su proceso de antesis antes que las que se encuentran bajo sombra, por lo que es probable que la cantidad de luz o la temperatura ambiental sean factores determinantes para la apertura de las flores siendo este un tema que necesita ser investigado para entender en detalle el comportamiento de la flor en *O. decumbens*.

La liberación del polen de las anteras se da pocos minutos (8 ± 0.45) después de la apertura de la corola y es evidente por el aspecto pulverulento que toman las anteras. Por otra parte, apreciar en que momento el estigma está receptivo resulta difícil debido a que los lóbulos del estigma no se separan y la prueba de guayacol reacciona sólo sobre la punta del lóbulo del estigma y no existen trabajos en los cuales se haya realizado esta técnica en otras especies de *Opuntia*. No obstante, podría inferirse que tanto la parte masculina y la femenina están disponibles casi simultáneamente ya que se ha reportado que en *O. macrocentra* los estigmas están receptivos minutos después del inicio de la antesis, y en *O. rastrera* este proceso se da 30 minutos después de que la flor comienza a abrir (Mandujano *et al.*, 1996; 2013).

Los únicos visitantes florales que se observaron durante el periodo de floración de *Opuntia decumbens* fueron insectos. Los órdenes Coleoptera, Hymenoptera y Diptera son los que generalmente se pudieron observar a lo largo del día. El inicio de la actividad de los insectos coincide con la hora de inicio antesis de las flores (10:00 h), esto podría deberse a que el polen se encuentra disponible poco tiempo después de que inicia la apertura de la corola, o bien, que en esos momentos se presenten las condiciones adecuadas de temperatura, humedad, velocidad de viento, etc. para que los insectos puedan iniciar su actividad de visitas a las flores (Kevan y Baker 1983).

Familias de abejas como Apidae, Megachilidae, Oxaeidae, Halictidae y Andrenidae, de escarabajos Nitidulidae, moscas Bombyliidae y hormigas Formicidae son los visitantes florales más frecuentes en la población de estudio, considerando potencialmente polinizadores a las familias de abejas Apidae, Megachilidae, Oxaeidae y Halictidae, debido a que son las familias que frecuentemente tienen más contacto con los lóbulos del estigma de la flor, además de poseer cuerpos cubiertos de pelos en los que el polen se pega en sus constantes visitas a las flores permitiendo de esta manera llevar a cabo el proceso de polinización (Triplehorn y Jhonson, 2004; Maldonado *et al.*, 2013).

En particular, los escarabajos de la Familia Nitidulidae son los visitantes más frecuentes respecto a los demás grupos de visitantes. Numerosos estudios en otros grupos de plantas, sugieren que los visitantes florales más frecuentes y abundantes son generalmente los principales polinizadores (Gómez y Zamora 1999; Consiglio y Bourne, 2001); sin embargo, para el caso particular de *Opuntia*, a pesar de que los coleópteros están involucrados en la polinización, se ha demostrado que sus actividades están más relacionadas con acciones intraflorales, es decir, alimentarse del polen caído, estambres y pétalos, además de ocupar las flores para reproducirse e incluso protegerse de los depredadores (Grant *et al.*, 1979; de Viana *et al.*, 2001; Figueroa-Castro y Cano-Santana, 2004; McIntosh, 2005).

Así mismo, se ha observado en especies como *O. imbricata* (Mcfarlan *et al.*, 1989) y *O. monacantha* (Lenzi y Orth, 2011) que los escarabajos de la Familia Nitidulidae son los visitantes más frecuentes y abundantes, y se les ha considerado polinizadores incidentales, debido a que muestran una baja frecuencia de movimiento interfloral y sus actividades se restringen a la base de las flores y las anteras y rara vez tocan el estigma y, que en los pocos casos que lo hacen, lo que promueven es autopolización (Grant y connell, 1979; Mcfarlan *et al.*, 1989), por lo que Lenzi y Orth, (2011), mencionan que son considerados para el género *Opuntia* como polinizadores inefectivos.

Otros órdenes de visitantes florales poco frecuentes como hemípteros y neurópteros casualmente podrían encontrarse en las flores ya que son grupos de insectos depredadores y otros como los homópteros que son insectos muy pequeños son chupadores de algunos elementos de la planta, por lo que haber visto estos grupos pudo ser meramente incidental (Triplehorn y Jhonson, 2004).

En el presente trabajo se observaron diferencias significativas en la actividad de visitantes florales a lo largo del día. Entre las 13:00 h y 14:00 h la actividad de los insectos comenzó a aumentar, registrándose el mayor pico de actividad entre las 14:00 h y 15:00 h., estos picos están dados principalmente por las diferentes familias de abejas y las familias Nitidulidae, Bombyliidae y Formicidae. Algunos autores como: Kevan y Baker (1983) y Figueroa-Castro y Cano-Santana (2004), mencionan

que la visita a las flores podría tener relación con algunas variables ambientales ya que en general se ha observado que los periodos de actividad de los insectos están fuertemente y positivamente correlacionados con la temperatura y negativamente con la humedad ambiental. Por lo que se sugiere registrar variables ambientales como temperatura, humedad, velocidad del viento etc, y relacionarlas con la actividad de los insectos en estudios posteriores.

La frecuencia de visitas, la actividad que desempeñan y el tiempo que los insectos pasan en las flores son elementos clave para una efectiva polinización. Para *O. decumbens* se registró a la familia de abejas Andrenidae como la más frecuente, considerando solo el grupo Hymenoptera: Apidae. Estas observaciones son distintas de los visitantes de abejas más frecuentes que se han observado en otras especies del desierto Chihuahuense, donde *O. rastrera* depende de las abejas del género *Diadasia sp.* y *Lithurge sp.* pertenecientes a las familias Apidae y Megachilidae, respectivamente para su polinización (Mandujano *et al.*, 1996). Así mismo en *O. microdasys* y *O. macrocentra* la abeja del género *Diadasia* es la más frecuente y se considera el principal polinizador (Piña 2007; Mandujano *et al.*, 2013). La especie de Andrenidae observada en el presente estudio es una abeja pequeña respecto a las abejas pertenecientes a las familias Apidae y Megachilidae que polinizan a *O. rastrera*, *O. microdasys* y *O. macrocentra*, lo cual pone en duda si esta abeja podría ser el principal polinizador, ya que la frecuencia con la que toca los lóbulos del estigma es baja (14.81%), y justo se sabe que las abejas pequeñas (<8mm) no logran tocar el estigma por lo que son consideradas robadoras de polen (Osborn *et al.*, 1998).

Cabe señalar que los censos de visitantes florales se realizaron en el último mes de floración de *O. decumbens*, por lo cual sería importante realizar más observaciones durante todo el periodo de floración ya que la actividad de los visitantes florales podría variar a lo largo de la temporada de floración. No obstante, es importante resaltar que la proporción conjunta promedio de toques a los lóbulos del estigma por las familias de abejas Apidae, Megachilidae, Oxaeidae y Halictidae es mayor al 50 por ciento.

Para *O. decumbens* se observó que las familias Formicidae (Hymenoptera), Bombyliidae (Diptera) y Apoidea (Hymenoptera) son los que más tiempo pasan en las flores. De estos grupos las hormigas son las que más tiempo pasan en las flores; sin embargo, es poco probable que estas puedan ser consideradas polinizadores, ya que sus actividades usualmente están relacionadas con la búsqueda de néctar (no hay evidencia de que *O. decumbens* produzca alguno de los dos) como lo hace *Crematogaster opuntiae* en *O. acanthocarpa* (Pickett y Clark, 1979), de polen o quizá están siendo atraídas por aromas producidos por las flores como se ha reportado en *O. spinosissima* (Negrón-Ortiz, 1998).

Las visitas de dípteros y coleópteros (estos últimos no considerados en el tiempo ya que cuando llegan a la flor no salen) pueden complementar el proceso de polinización, ya que familia de moscas Bombyliidae conocidas como abejas mosca poseen una probosis grande con la cual se alimentan pudiendo realizar la función de polinización en sus constantes visitas a las flores además de registrar un 40.63% de toques al lóbulo del estigma (Triplehorn y Jhonson, 2004).

Por otro lado, los escarabajos de la Familia Nitidulidae podrían cumplir funciones de polinizadores ya que consumen algunas partes florales y polen mientras se encuentran en la flor y el polen se puede adherir a su cuerpo con la posibilidad de llegar a la misma flor o llevarlo a otra que pudiese visitar (Consiglio y bourne, 2001). No obstante, es un tema que necesita ser explorado a detenimiento, en donde se explore de dónde llegan los escarabajos a las flores de *O. decumbens*, y en sus constantes llegadas observar las cargas de polen que traen y de esta manera obtener información más precisa de si participan o no en el proceso de polinización y si son efectivos polinizadores de *O. decumbens*.

Finalmente, de las familias de abejas observadas, principalmente Apidae, Megachilidae, Oxaeidae y Halictidae por su comportamiento en la flor y el tiempo medio que duraron sus visitas en *O. decumbens*, en conjunto con las moscas podría sugerirse que son los potenciales polinizadores. Por su parte, los coleópteros Nitidulidae podrían estar haciendo llegar cantidades mínimas de polen a las flores

de la misma planta debido a sus actividades intraflorales provocando de esta manera autopolinización.

Sistema reproductivo

Los resultados del OCI basado en los caracteres morfológicos ubica a *O. decumbens* como una especie xenógama facultativa, es decir, que pese a las características que favorecerían la reproducción alógama tiene la capacidad de autopolinizarse. Muchas de las especies que utilizan este sistema y que no se autopolinizan requieren de diversos vectores para lograr el éxito reproductivo (Cruden, 1979). Este sistema de cruzamiento coincide con el de especies como *Opuntia rastrera*, *O. bradtiana*, *O. lindheimeri*, *O. discata*, *O. pheacantha*, *O. brasilaris* para quienes se ha reportado un sistema xenógamo facultativo (Grant *et al.* 1979; Mandujano *et al.* 1996; Plasencia-López 2003). Así mismo, los resultados de las polinizaciones manuales indican que *Opuntia decumbens* tiene un sistema de apareamiento mixto (Reyes-Agüero *et al.*, 2006).

Las proporciones de frutos obtenidas en los tratamientos de autopolinización (AP), polinización cruzada (PC) y polinización natural (PN) fueron de 55%, 50% y 55%, respectivamente. En comparación con otras especies de *Opuntia*, la polinización cruzada y natural muestran bajos valores de éxito reproductivo medido en producción de frutos en *O. decumbens*. Por ejemplo, en *O. rastrera* la proporción de frutos obtenidos mediante PC y PN es de 80.6% - 92.7%, en *O. macrocentra* es de 83.87% (PC) y 96.77% (PN), y en *O. brunneogemmia* y *O. viridirubra* se observa un éxito reproductivo de entre 84% a 100% mediante PC (Schlindwein y Wittmann, 1997; Mandujano *et al.*, 2013). En contraste, el éxito reproductivo de *O. decumbens* derivado de autopolinización (55%) es mayor al observado en *O. rastrera* (11-26%) pero similar al observado en *O. macrocentra* (58%) y *O. brunneogemmia* y *O. viridirubra* (52%) con las que comparte la característica de ser autocompatibles y contrastan con *O. rastrera* que presenta claros indicios de depresión por endogamia (Schlindwein y Wittmann, 1997; Mandujano *et al.*, 2013). Con base en lo anterior se puede inferir que la baja proporción de frutos en *O. decumbens* podría deberse a

la baja disponibilidad de recursos del suelo, o quizá baja cantidad y calidad de polen depositado en el estigma o las condiciones climáticas adversas, estos factores podrían inducir abortos (Richards, 1997; Piña, 2007).

En este estudio, el efecto de la procedencia del polen se ve reflejado en la producción de semillas, siendo las flores que se polinizaron naturalmente las que produce mayor número de semillas lo que sugiere que los visitantes florales presentes aumentan el movimiento del polen promoviendo una mayor fecundación de óvulos. Un resultado similar ha sido observado en *O. macrocentra* (Mandujano *et al.*, 2013).

El tratamiento de apomixis produjo muy pocos frutos (20% de éxito) mientras que en el tratamiento de polinización automática no produjo ningún fruto lo que resulta contradictorio ya que en completa ausencia de polen (apomixis) si se dio la producción de frutos, mientras que donde existía la posibilidad de polinización con el polen de la misma flor o factores abióticos como el viento no se produjo ningún fruto. Si bien se ha reportado la existencia de apomixis en especies como *Opuntia spinosissima*, *O. streptacantha*, *O. robusta*, *O. cochinera*, *O. rastrera* entre otras (Negrón-Ortiz, 1998; Reyes-Agüero, *et al* 2006), en *O. decumbens* este fenómeno podría haberse desencadenado por las cubiertas plásticas utilizadas para aislar los estigmas. Estas cubiertas generan un efecto de invernadero aumentando la temperatura, concentración de CO₂ y etileno en la atmósfera del estilo lo que podría desencadenar la producción de frutos por apomixis (de Martinis y Mariani, 1999).

No obstante, los tratamientos de polinización cruzada y apomixis pueden tener un nivel de error debido a la imposibilidad de emasculas las flores antes de la dehiscencia, por lo que la superposición de las fases masculina y femenina proporcionan las condiciones adecuadas para la autogamia debido a la escasa hercogamia en *O. decumbens* (Grant y Grant, 1979; Mandujano *et al.*, 2013). Otra posibilidad es que algunos de los tubos colocados para aislar los estigmas fueran removidos por el viento durante el periodo de receptividad del estigma permitiendo que los visitantes florales pudiesen polinizar las flores.

Por otra parte, los resultados sugieren que la cantidad de semillas producidas depende fuertemente de la procedencia del polen y del tamaño de fruto. Sin embargo, en el tratamiento de polinización natural no se observó una relación entre volumen y número de semillas pero fue este tratamiento el que más semillas produjo. Así, es posible que el origen del polen determine el número de óvulos que se fecundan y esto a su vez determina la cantidad de recursos que la planta asigna al crecimiento del fruto hasta un límite en el que pese al aumento en el número de semillas el fruto ya no crece más. Cuando los frutos contenían 27 o más semillas (promedio en el tratamiento de polinización natural) no existe la relación entre número de semillas y volumen del fruto. Así mismo, evaluar la relación del volumen del fruto un función de cada tratamiento de polinización no se ha llevado a cabo en el género *Opuntia*, pero en otras cactáceas estudiadas como *Ferocactus robustus* el número de semillas no está relacionado con el volumen del fruto (González-Machorro, 2010), mientras que en *Echinocactus plathyacanthus* sí existe una relación positiva entre el número de semillas y el volumen del fruto (Díaz-Hernández, 2005).

Germinación y depresión por endogamia en *Opuntia decumbens*

Otros de los elementos considerados para ver la importancia de la procedencia del polen fue el peso y tamaño de las semillas, ya que estos caracteres juegan un papel muy importante en el proceso de germinación (Ayala-Cordero et al., 2004). En el presente trabajo se encontró que las semillas provenientes de polinización cruzada fueron las más grandes y pesadas, sin embargo, estas características no parecen tener un efecto significativo en la germinación. Castillo et al. (2003), mencionan que en dos especies de *Hylosereus* no hay evidencia de que la procedencia del polen por polinización cruzada afecte, ya que la longitud de sus brácteas fueron similares entre tratamientos. No obstante, Weiss et al. (1994a) informan que el origen del polen sí influye en el peso de las semillas de pitahaya.

Por otro lado, se ha reportado en especies como *Astrophytum myriostigma* y *Stenocereus beneckeii*, que las semillas grandes tienden a incrementar su viabilidad, germinación y velocidad de emergencia, y sobreviven mejor que las semillas

pequeñas a condiciones adversas (Ayala-Cordero et al., 2004; Sánchez et al., 2006). Sin embargo, estas características parecen tener efecto en algunas especies mientras que en otras no, por lo que es un área que necesita ser más investigada, o bien considerar que estos atributos podrían afectar el desempeño de las plantas a mediano o largo plazo (Valtueña et al., 2014)

La depresión por endogamia es considerada la fuerza más importante en contra de la autopolinización debido a que provoca una reducción en la adecuación y supervivencia de la progenie producto de autocruzas (Delgado, 2014). Depresión por endogamia ha sido reportado en *O. macrocentra* en la proporción de frutos (0.93) y semillas (0.53) y *O. rastrera* en la proporción de frutos (0.87) y germinación de las semillas (0.77) (Mandujano et al., 2010). En el presente trabajo no se encuentra evidencia de depresión por endogamia en la población estudiada de *O. decumbens* ya que para la producción de frutos y de semillas el índice obtenido fue de -0.1 y 0, respectivamente. No obstante, se sugiere realizar estudios que involucren analizar el desempeño de las plántulas ya que la depresión por endogamia podría manifestarse en ésta u otras etapas del desarrollo.

CONCLUSIONES

El proceso de antesis de *O. decumbens* se lleva a cabo en un total de ocho horas, inicia a las 10:00 h y culmina a las 18:00 h, al final de la antesis las flores mueren.

Conocer cuando el estigma se encuentra receptivo es difícil debido a que los lóbulos no se abren completamente y la tinción de guayacol solo hace reacción en las puntas de los lóbulos de estigma y esto se puede observar desde el inicio de la antesis de *O. decumbens*.

Las flores de *O. decumbens* son visitadas solamente por insectos y su actividad coincide con el tiempo que dura la fase de antesis. Las abejas son el grupo de insectos con mayor número de familias taxonómicas que visita las flores de *O. decumbens*, y el grupo antes mencionando en conjunto con la familia de moscas Bombyliidae podrían ser los potenciales polinizadores, ya que son los que con mayor frecuencia tocan los lóbulos del estigma. Así mismo, la familia de escarabajos Nitidulidae es la más frecuente, y las observaciones de sus actividades que realizan en la flor están orientadas a alimentarse de algunos elementos florales y como arenas de apareamiento y su efectividad para tocar los lóbulos del estigma fue muy baja.

De acuerdo al OCI basado en datos morfológicos de las flores, *O. decumbens* presenta un sistema de apareamiento xenógamo facultativo, con un sistema de cruzamiento mixto, por lo que estos resultados sugieren que *Opuntia decumbens* es una especie xenógama facultativa combinando autogamia y alogamia.

La polinización manual cruzada produjo las semillas más pesadas y aparentemente más grandes, no obstante, los resultados obtenidos de la germinación de estas semillas indicaron que no hay efectos en la tasa de germinación entre los tratamientos de polinización, así mismo, en función de la proporción de frutos producidos y la proporción de semillas que germinaron provenientes de los tratamientos de polinización manual cruzada y autopolinización manual no hay evidencia de depresión por endogamia.

LITERATURA CITADA

- Arias S. & H. Arreola. 1995. Consideraciones sobre *Opuntia decumbens*. Cactáceas y Suculentas Mexicanas 40: 87-91.
- Arias M. S. 1993. Cactáceas: Conservación y diversidad en México. Revista de la sociedad Mexicana de Historia Natural 64: 109-115.
- Arias M. S., L. S. Gama. & U. L. Guzmán. 1997. Cactaceae A.L. Juss. Flora del Valle Tehuacán-Cuicatlán Fascículo 14. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 146 p.
- Arias A. A., M. T. Valverde. & J. Reyes. 2000. Las plantas de la región de Zapotitlán Salinas, Puebla. Instituto Nacional de Ecología. México. 80 p.
- Arnett H. R. 1973. The Beetles of the United States: a manual for identification. American Entomological Institute. United States of America. 1112 p.
- Ayala-Cordero G., T. Terrazas., L. López-Mata & C. Trejo. 2004. Variación en el tamaño y peso de la semilla y su relación con la germinación en una población de *Stenocereus bneckeii*. Interciencia 29: 692-697.
- Badano E. & B. Schlumpberger. 2001. Sistema de cruzamiento y estimaciones en la eficiencia de polinización sobre *Trichocereus pasacana* (cactaceae) en dos poblaciones del noroeste argentino. Gayana Botánica 58: 115-122.
- Baraza E., Ángeles S., A. García & A. Valiente-Banuet. 2008. Nuevos recursos naturales como complemento de la dieta de caprinos durante la época seca en el Valle de Tehuacán, México. Interciencia 33: 891-896.
- Barrett S. C. H. 2002. The evolution of plant sexual diversity. Nature Reviews Genetics 3: 274-284.

- Blair W. A. & P. S. Williamson. 2008. Effectiveness and importance of pollinators to the star cactus (*Astrophytum asterias*). *The southwestern naturalist* 53: 423-430.
- Borror J. D., D. M. de Long & C. A. Triplehorn. 1981. An introduction to the study of insects. Saunders College. United States of America. 928 p.
- Bravo-Hollis H. 1978. Las cactáceas de México. Vol. I Universidad Nacional Autónoma de México. México. 719 p.
- Castillo M. R., M. M. Livera., A. E. Brechú & J. Márquez-Guzmán. 2003. Compatibilidad sexual entre dos tipos de *Hylocerus* (Cactaceae). *Revista de Biología Tropical* 51: 699-705.
- Carrillo-Ángeles I. G. & M. C. Mandujano. 2011. Patrones de distribución espacial en plantas clonales. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 89: 1-18.
- Charlesworth D. & Charlesworth B. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 18: 237-268.
- Charlesworth D. 2006. Evolution of Plant Breeding Systems. *Current Biology* 16: 726–735.
- CONABIO. 1998. La diversidad biológica de México: Estudio de País. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México.xx p.
- Consiglio T. & G. R. Bourne. 2001. Pollination and breeding system of a neotropical palm *Astrocaryum vulgare* in Guyana: a test of the predictability of syndromes. *Journal of Tropical Ecology* 17: 577-592.
- Crawford K. M. y Whitney, K. D. 2010. Population genetic diversity influences colonization success. *Molecular Ecology*, 19: 1253–1263.

Crawley M. J. 2007. The R Book. John Wiley & Sons. Ltd. U.K. XX p.

Cruden R. W. 1977. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution* 31: 32-46.

Dávila P., M. C. Arizmendi., A. Valiente-Banuet., J. L. Villaseñor., A. Casas & R. Lira. 2002. Biological diversity in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Biodiversity and Conservation* 11: 421–442.

del Val E. & R. Dirzo. 2004. Mirmecofilia: las plantas con ejército propio. *Interciencia* 29: 673-679.

de Martinis D. & C. Mariani. 1999. Silencing gene expression of the ethylene forming enzyme results in a reversible inhibition of ovule development in transgenic tobacco plants. *The Plant Cell* 11: 1061–1071.

de Viana M. L., P. Ortega-Baes, M. Saravia, E. I. Badano & B. Schlumpberger. 2001. Biología floral y polinizadores de *Trichocereus pasacana* (Cactaceae) en el Parque Nacional Los Cardones, Argentina. *Revista de biología Tropical* 49: 279-285.

Delgado R. 2014. Biología floral y éxito reproductivo de dos especies de *Ipomoea* (Convolvulaceae) con diferentes sistemas reproductivos. Tesis de maestría. Instituto de Ecología AC.

Díaz-Hernández H. 2005. Descripción de la morfometría y fenología reproductiva de *Echinocactus platyacanthus* en el municipio de Tecali de Herrera, Puebla. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Puebla.

- Elistrand N. C. 1992. Gene flow by pollen: implications for plant conservation genetics. *Oikos* 63: 77-83.
- Escobedo-Sarti G. J. 2007. Biología de la reproducción de *Tillandsia prodigiosa* (Lem.) Baker Bromeliaceae. Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional.
- Esparza S. 2010. Distribución geográfica del género *Opuntia* (cactaceae) en México. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- Faegri K. & L. van der Pijl. 1979. The Principles of Pollination Ecology. Pergamon Press. Estados Unidos. 242 p.
- Figueroa-Castro D. M. & Z. Cano-Santana. 2004. Floral visitor guilds of five allochronic flowering asteraceous species in a xeric community in central Mexico. *Environmental Entomology* 33: 297-309.
- Fuentes-Pérez M. 2009. Anatomía floral de cinco especies de *Opuntia* (opuntioideae, cactaceae) de México. *Polibotánica* 27: 89-102.
- Furtado-Campos C. C., J. F. Duarte, R. Alves Tristão Borém & D. Melo de Castro. 2009. Floral biology and breeding mechanisms of *Tibouchina heteromalla* cogn. in rocky outcrops in the south of Minas Gerais. *Brazilian Journal of Ecology* 13: 1-12.
- Gómez J. M. & Zamora R. 1999. Generalization vs. specialization in the pollination system of *Hormathophylla spinsa* (Cruciferae). *Ecology* 80: 796 - 805.
- González-Machorro E. M. 2010. Fenología reproductiva de *Ferocactus robustus* en el cerro de San Mateo Tlaíxpan, Tecamachalco, Puebla. Tesis de licenciatura. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

- Grant V. & W. A. Connell. 1979. The association between carophilus beetles and cactus flowers. *Plant Systematics and Evolution* 133: 99-102.
- Grant V. & K. A. Grant. 1979. Pollination of *Opuntia basilaris* and *O. littoralis*. *Plant Systematics and evolution* 132: 321–325.
- Grant V., K. A. Grand. & P. D. Hurd. 1979. Pollination of *Opuntia lindheimeri* and related species. *Plant Systematics and evolution* 132: 313-320.
- Hernández-Barrerá J. T. & J. Treviño-Carreón. 1998. Notas referentes al fruto de *Ariocarpus agavoides* (Castañeda) Anderson. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 43: 80-84.
- Hernández H.M., C. Gómez-Hinostrosa & B.K. Goettsch. 2013. *Opuntia chaffeyi*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.2. Consultado en: <www.iucnredlist.org>. 10 de Noviembre 2014.
- Hernández H.M., C. Gómez-Hinostrosa, B.K Goettsch & M. Sotomayor. 2013. *Opuntia megarrhiza*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.2. Consultado en: <www.iucnredlist.org>. 10 de Noviembre 2014.
- Hölldobler B. & E. O. Wilson. 1990. The ants. Ed. Belknap Press. United States of America. 732 p.
- Kevan P. G. & H. G. Baker. 1983. Insects as bower visitors and pollinators. *Annual Review of Entomology* 28: 407-453.
- Lande R. & Schemske D. W. 1985. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. I. Genetic models. *Evolution* 24-40.

- Lenzi M. & Orth A. I. 2011. Floral visitors of the *Opuntia monacantha* (Cactaceae) in sandbank of the Florianopolis, SC, Brazil. *Acta Biológica Paranaense* 40: 19-32.
- Lloyd D. G. 1979. Some reproductive factors affecting the selection of self-fertilization in plants. *The American Naturalist* 113: 67-79.
- Majure L. & P. Griffith. 2013. *Opuntia abjecta*. The IUCN Red List of Threatened species. Version 2014.2. Consultado en: <www.iucnredlist.org>. 10 de Noviembre 2014.
- Maldonado B., M. Lomascolo & D. Vazquez. 2013. The Importance of Pollinator Generalization and Abundance for the Reproductive Success of a Generalist Plant. *Plos One* 8:1-6.
- Mandujano M. C., C. Montaña. & L. E. Eguiarte. 1996. Reproductive ecology and inbreeding depression in *Opuntia rastrera* (Cactaceae) in the chihuahuan desert: Why are sexually derived recruitments so rare? *American Journal of Botany* 83: 63-70.
- Mandujano M. C., I. Carrillo-Angeles, C. Martínez-Peralta & J. Golubov. 2010. Reproductive biology of Cactaceae. In: Ramawat, K. G. (ed.), *Desert Plants - Biology and Biotechnology*. Springer-Verlag. Alemania. 197-230 pp.
- Mandujano M. C., J. Golubov & L. Huenneke. 2013. Reproductive ecology of *Opuntia macrocentra* (Cactaceae) in the northern Chihuahuan desert. *American Midland Naturalist* 169: 127-285.
- Martén-Rodríguez S., A. Almarales-Castro & C. B. Fenster. 2009. An evaluation of pollination syndromes in Antillean Gesneriaceae: evidence for bat, hummingbird and generalized flowers. *Journal of Ecology* 97: 348-359.

- McFarland J. D., P. G. Kevan & M. A. Lane. 1989. Pollination biology of *Opuntia imbricata* (Cactaceae) in southern Colorado. *Canadian Journal of Botany* 67: 24-28.
- McInnis S., D. C. Emery., R. Porter., R. Desikan., J. T. Hancock. & S. J. Hiscock. 2006. The role of stigma peroxidases in flowering plants: insights from further characterization of a stigma-specific peroxidase (SSP) from *Senecio squalidus* (Asteraceae). *Journal of Experimental Botany* 57: 1835–1846.
- McIntosh M. E. 2005. Pollination of two species of *Ferocactus*: interactions between cactus-specialist bees and their host plants. *Functional Ecology* 19: 727–734.
- Medel R., M. A. Aizen. & R. Zamora. 2009. *Ecología y evolución de interacciones planta-animal*. Primera edición. Editorial universitaria S.A. Chile. 399 p.
- Moya-Laraño J., R. Macías-Ordóñez., W. U. Blanckenhorn. & C. Fernández-Montraveta. 2008. Analysing body condition: mass, volume or density? *Journal of Animal Ecology* 77: 1099–1108.
- Murcia C. 2002. *Ecología de la polinización*. En: Guariguata M. R. & G. H. Kattan (eds.) *Ecología y Conservación de Bosques Neotropicales*. Libro Universitario Regional. Costa Rica. 493-530 pp.
- Navarro M. C., S. Saldivar & H. Eliosa. 2010. Efecto de escarificación y edad de semillas en la germinación de *Mammillaria mystax*. *Zonas Áridas* 14: 20-210.
- Negrón-Ortiz V. 1998. Reproductive biology of a rare cactus, *Opuntia spinosissima* (Cactaceae), in the Florida Keys: why is seed set very low? *Sexual Plant Reproduction* 11: 208–212.

- Ollerton J., R. Winfree & S. Tarrant. 2011. How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos* 120: 321–326.
- Osborn M. M., P. G. Kevan & M. A. Lane. 1988. Pollination biology of *Opuntia polyacantha* and *Opuntia phaeacantha* (Cactaceae) in southern Colorado. *Plant Systematics and evolution* 159: 85-94.
- Ossa G. C. & R. Medel. 2011. Notes on the floral biology and pollination syndrome of *Echinopsis chiloensis* (Colla) Friedrich & G.D.Rowley (Cactaceae) in a population of semiarid Chile. *Gayana Botánica* 68: 213-219.
- Palacios-Rezendis M. P. 2010. Efectos del cambio climático sobre la distribución de nopales (Género *Opuntia* y *Nopalea*: Cactaceae) en la región central de México. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Pickett C. & W. D. Clark. 1979. The function of extrafloral nectaries in *Opuntia acanthocarpa* (Cactaceae). *American Journal of Botany* 66: 618-625.
- Pimienta-Barrios E. & R. F. Del Castillo. 2002. Reproductive Biology. En P.S. Nobel (Ed.), *Cacti: biology and uses* (pp. 86-102). Los Ángeles, Estados Unidos: University of California Press.
- Piña H. H. 2007. Biología reproductiva de *Opuntia microdasys* (lehm.) Pfeiffer en el desierto Chihuahuense. Tesis de Doctorado. Instituto de Ecología AC.
- Plasencia-López L. 2003. Biología reproductiva de *Opuntia bradtiana* (cactaceae) en Cuatro Ciénegas, Coahuila, México. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.

- R Development Core Team. 2012. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Austria. url: www.r-project.org
- Ramos-López A. L. 2007. Estudio poblacional de *Mammillaria dixanthocentron* Baked. ex. Mottram en el valle de Cuicatlán, Oaxaca. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional.
- Rasband W. 1997. Image J v1.37. National Institutes of Health, USA. url: rsb.info.nih.gov/ij/h
- Reyes-Agüero J. A., J. R. Aguirre & A. Valiente-Banuet. 2006. Reproductive biology of *Opuntia*: a review. *Journal of Arid Environments* 64: 549–585.
- Richards A. J. 1997. Plant breeding systems. Chapman & Hall USA. 529 p.
- Sánchez-Salas J., J. Flores & E. Martínez-García. 2006. Efecto del tamaño de semilla en la germinación de *Astrophytum myriostigma* lemaire. (Cactaceae), especie amenazada de extinción. *Interciencia* 31: 371-375.
- Scheinvar L. 2004. Flora cactológica del estado de Querétaro. Fondo de Cultura Económica. México, 392 p.
- Scheinvar L., C. Gallegos-Vázquez & G Olalde-Parra. 2011. Estado del conocimiento de las especies de nopal (*Opuntia* spp.) productoras de xoconostles silvestres y cultivadas (informe final). CONABIO. México. 34 p.
- Schindwein C. & D. Wittmann. 1997. Stamen movement in flowers of *Opuntia* favour oligolectic pollination. *Plant Systematics and Evolution* 204: 179–193.

- Triplehorn A. C. & N. F. Johnson. 2004. Borror and Delong's introductions to the study of insects. Cengage Learning. USA. 888 p.
- Trujillo-Argueta S. & M. González-Espinosa. 1991. Hibridación, aislamiento y formas de reproducción en *Opuntia* spp. *Agrociencia* 1: 39–58.
- Weiss J., A. Nerd & Y. Mizrahi. 1994a. Flowering behavior and pollination requirements in climbing cacti with fruit crop potential. *Hortscience* 29: 1487-1492.
- Valtueña F. J., J. López., A. Ortega-Olivencia., T. Rodríguez-Riaño. & M. González. 2014. Contrasting inbreeding depression in early and late stages of the life cycle of a Mediterranean shrub, *Anagyris foetida* (Leguminosae). *Turkish Journal of Botany* 38: 334-346.
- Vázquez D. E. 2005. Biología floral de *Mammillaria pectinifera* (Stein). Informe final del Servicio Social. Universidad Autónoma Metropolitana. pp.18.
- Vogler D. W. y S. Kalisz. 2001. Sex among the flowers: the distribution of plant mating systems. *Evolution* 55: 202-204.